

**Epizootiología de tres hongos
entomopatógenos en parcelas de café con tres
prácticas de recolección de frutos residuales
para el control de la broca del café
(*Hypothenemus hampei*)**

Franz Erick Miralles Goytia

ZAMORANO

Departamento de Protección Vegetal

Noviembre, 1999

**Epizootiología de tres hongos
entomopatógenos en parcelas de café con tres
prácticas de recolección de frutos residuales
para el control de la broca del café
(*Hypothenemus hampei*)**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura.

Presentado por

Franz Erick Miralles Goytia

**Zamorano, Honduras
Noviembre, 1999**

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
Físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Franz Miralles Goytia

Zamorano, Honduras
Noviembre, 1999

Epizootiología de tres hongos entomopatógenos en parcelas de café con tres prácticas de recolección de frutos residuales para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*)

presentado por

Franz Miralles Goytia

Aprobada:

Sarah Gladstone, Ph. D.
Asesor Principal

Alfredo Rueda, Ph. D.
Jefe de Departamento

Ronald D. Cave, Ph. D.
Asesor

Antonio Flores, Ph. D.
Decano Académico

Mario Contreras, Ph. D.
Asesor

Keith Andrews, Ph. D.
Director

Maria M. Doyle, Ph. D.
Cordinador PIA

DEDICATORIA

A Dios, creador de la Naturaleza.

A mis padres por el cariño, apoyo y la confianza depositada en mí.

A mi hermana, mi ejemplo.

A Carmen.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Sally Gladstone, por la guía y apoyo logístico durante la realización de este estudio. Gracias Sally por el tiempo invertido, tus consejos profesionales y tu amistad.

Al Dr. Ronald D. Cave, por los consejos e ideas durante la realización y culminación de este estudio.

Al Dr. Mario Contreras, por sus valiosos comentarios y consejos que enriquecieron este trabajo.

Al Ing. Oscar García, por todo el apoyo técnico y su valiosa colaboración.

A la Dra. Kathie Hodge, por la colaboración en la identificación de hongos.

A todo el personal del Departamento de Protección Vegetal, por su amistad y apoyo.

A mis amigos, por todos los momentos compartidos.

A la Escuela Agrícola Panamericana, por la formación profesional que me brindó durante estos cuatro años.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Agradezco a la Deutsche Stiftung fur Internacionale Entwicklung (D. S. E.) por financiar mis estudios en el Programa Agrónomo.

A mis padres, Fernando Miralles Sánchez y Asunta G. de Miralles por financiar mis estudios en el Programa Ingeniero Agrónomo.

A la Empresa Mycotech por el financiamiento de la Tesis.

A la familia Bueso Quan, por abrirme las puertas y permitir la realización de este estudio en su finca.

RESUMEN

MIRALLES, F. 1999. Epizootiología de tres hongos entomopatógenos en parcelas de café con tres prácticas de recolección de frutos residuales para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*). Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras.

El uso de hongos entomopatógenos y la recolección de frutos residuales, son alternativas para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*). Si queremos que este control sea exitoso, es imprescindible entender el sistema natural en el que está ocurriendo la interacción patógeno-plaga. El objetivo de este estudio fue conocer la ecología (natural y bajo intervenciones culturales) de los hongos entomopatógenos en cafetales, para mejorar su aprovechamiento en el manejo de la broca. El estudio fue realizado en una finca cafetalera en el municipio de Güinope (1261 m.s.n.m.), Departamento El Paraíso, Honduras, en la que se presentó una epizootia natural del hongo *B. bassiana* entre octubre, 1998 y febrero, 1999. Se delimitaron cuatro parcelas de 980 m² en las que se midió la densidad de conidias de hongos entomopatógenos en el suelo, hojas, frutos viejos en el suelo, frutos viejos y nuevos en la planta, la prevalencia de micosis causada por hongos entomopatógenos en la broca y los cambios poblacionales en brocas encontradas en diferentes refugios. Los tratamientos fueron: recolección de frutos viejos en la planta (repela), en el suelo (pepena), en el suelo y en la planta (pepena + repela) y el testigo (epizootiología natural). Mediante el lavado de frutos, hojas, y suelo se extrajeron suspensiones que se sembraron en medio selectivo para *Beauveria bassiana*. Los hongos entomopatógenos que se encontraron en el suelo y en frutos viejos en el suelo fueron *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces* sp. El hongo que se encontró en mayor cantidad en el suelo fue *Paecilomyces* sp. y tendió a incrementar de mayo a octubre. En las hojas del cafeto se presentaron los hongos *B. bassiana* y *Paecilomyces* sp. En los frutos nuevos y viejos en la planta se presentó solamente *B. bassiana*. La densidad de conidias de *B. bassiana* en frutos nuevos fue baja comparando con los frutos viejos en la planta. La población de broca en los frutos viejos en la planta aumentó del 4 de junio al 19 de julio debido a la migración de brocas del fruto viejo en el suelo y a la metamorfosis de brocas inmaduras a adultas. La población de broca en el fruto viejo en el suelo disminuyó del 17 de mayo al 18 de junio. La prevalencia de micosis por *B. bassiana* en brocas encontradas en los frutos viejos en la planta estuvo significativamente afectada por la pepena. La repela y la pepena + repela disminuyó la población de broca en los frutos nuevos en la planta.

Palabras claves: pepena, repela, microambiente, prevalencia, micosis, población, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces* sp.

Nota de Prensa

¿QUÉ SUCEDE CON LOS HONGOS QUE ATACAN A LA BROCA CUANDO RECOLECTAMOS LOS FRUTOS DEL CAFÉ?

Esta pregunta se planteó el investigador durante un estudio realizado entre mayo y octubre, 1999, en plantaciones de café en Güinope, El Paraíso, Honduras. Se encontró que algunas prácticas de recolección de frutos viejos de café, pueden influir en la aparición de hongos que atacan de forma natural a la broca del café (*Hypothenemus hampei*).

La broca del café, es considerada la plaga más limitante en los lugares donde se produce este cultivo. Esta plaga, destruye los frutos tiernos, maduros y sobremaduros causando pérdidas cuantitativas y cualitativas considerables. El insecticida (químico) más usado para el control de la broca es el endosulfán, pero debido a que es bastante tóxico se están buscando alternativas de control eficaces, menos tóxicas y a la vez compatibles con el ambiente.

En muchos cafetales, se presenta de forma natural un hongo de color blanco (*Beauveria bassiana*) que ataca a la broca del café. Este hongo se encuentra presente en el suelo, en las hojas y en los frutos viejos y nuevos.

Para entender mejor donde, como y cuando el hongo causa la enfermedad y la muerte de la broca en cafetales donde se realizaron prácticas de recolección de frutos viejos en el suelo (pepena) y en la planta (repela), se extrajeron brocas de los frutos viejos en la planta y en el suelo y se observó la presencia o no del hongo atacando a la broca.

La recolección de frutos viejos en el suelo disminuyó considerablemente el ataque de *B. bassiana* en la broca pero la recolección de frutos viejos en la planta no presentó ningún efecto negativo. Además, se observó que la broca se concentró en los frutos viejos en la planta porque no encontró frutos nuevos donde poder reproducirse y alimentarse.

La posibilidad de disminuir la población de broca sin afectar el ataque del hongo es muy prometedora, por esta razón se recomienda realizar más estudios para ver cual es el momento más oportuno para realizar la recolección de frutos viejos de café en la planta.

CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría.....	ii
	Páginas de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimiento a patrocinadores.....	vi
	Resumen.....	vii
	Nota de prensa.....	viii
	Contenido.....	ix
	Índice de Figuras.....	xi
	Índice de Anexos.....	xiii
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
2.1	UBICACIÓN DEL ESTUDIO.....	5
2.2	DISEÑO DEL ESTUDIO.....	5
2.3	MUESTREO Y VARIABLES MEDIDAS.....	6
2.3.1	Densidad de conidias de hongos entomopatógenos en diferentes microambientes.....	6
2.3.1.1	Densidad de conidias en el suelo.....	7
2.3.1.2	Densidad de conidias en hojas.....	7
2.3.1.3	Densidad de conidias en frutos nuevos producto de la floración en 1999.....	7
2.3.1.4	Densidad de conidias en frutos viejos en el suelo producto de la floración en 1998.....	7
2.3.1.5	Densidad de conidias en frutos viejos en la planta producto de la floración en 1998.....	8
2.3.2	Densidad de la broca y prevalencia de micosis causada por hongos entomopatógenos en brocas encontradas en diferentes refugios.....	8
2.3.2.1	Frutos viejos en la planta producto de la floración en 1998.....	8
2.3.2.2	Frutos viejos en el suelo producto de la floración en 1998.....	9
2.3.2.3	Frutos nuevos en la planta producto de la floración en 1999.....	9
2.3.3	Densidad de broca en frutos nuevos.....	9
2.4	ESTACIÓN CLIMATOLÓGICA.....	9
2.5	ANÁLISIS DE DATOS.....	10

3.	RESULTADOS Y DISCUSION	11
3.1	DENSIDAD DE CONIDIAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN DIFERENTES MICROAMBIENTES.....	11
3.1.1	Densidad de conidias en el suelo.....	11
3.1.2	Densidad de conidias en las hojas.....	14
3.1.3	Densidad de conidias en frutos nuevos en la planta.....	16
3.1.4	Densidad de conidias en frutos viejos en la planta.....	17
3.1.5	Densidad de conidias en frutos viejos en el suelo.....	18
3.2	CAMBIOS POBLACIONALES DE BROCA Y PREVALENCIA DE MICOSIS CAUSADA POR HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN LOS FRUTOS VIEJOS EN LA PLANTA.....	20
3.2.1	Densidad poblacional de broca	20
3.2.2	Micosis causada por los hongos entomopatógenos.....	21
3.3	CAMBIOS POBLACIONALES DE BROCA Y PREVALENCIA DE MICOSIS CAUSADA POR HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN LOS FRUTOS VIEJOS EN EL SUELO.....	22
3.3.1	Densidad poblacional de broca	22
3.3.2	Micosis causada por hongos entomopatógenos.....	23
3.4	PREVALENCIA DE MICOSIS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN FRUTOS NUEVOS BROCADOS.....	24
3.5	EFFECTOS DE PRÁCTICAS CULTURALES EN INFESTACIÓN POR BROCA EN FRUTOS NUEVOS DE CAFÉ.....	25
3.6	DISCUSIÓN GENERAL.....	28
4.	CONCLUSIONES	30
5.	RECOMENDACIONES	31
6.	BIBLIOGRAFÍA	32
7.	ANEXOS	34

INDICE DE FIGURAS

Figura

1.	Densidad de conidias de <i>Beauveria bassiana</i> en el suelo en cuatro parcelas de café sometidas a diferentes prácticas culturales.....	11
2.	Densidad de conidias de <i>Metarhizium anisopliae</i> en el suelo en cuatro parcelas de café sometidas a diferentes prácticas culturales.....	12
3.	Densidad de conidias de <i>Paecilomyces</i> sp. en el suelo en cuatro parcelas de café sometidas a diferentes prácticas culturales.....	13
4.	Densidad de conidias de <i>Beauveria bassiana</i> en las hojas del arbusto de café en cuatro parcelas sometidas a diferentes prácticas culturales.....	14
5.	Densidad de conidias de <i>Paecilomyces</i> sp. en las hojas del arbusto de café en cuatro parcelas sometidas a diferentes prácticas culturales.....	15
6.	Densidad de conidias de <i>Beauveria bassiana</i> en frutos nuevos de café en cuatro parcelas sometidas a diferentes prácticas culturales.....	16
7.	Densidad de conidias de <i>Beauveria bassiana</i> en frutos viejos de café en la planta en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la pepena..	17
8.	Densidad de conidias de <i>Beauveria bassiana</i> en frutos viejos de café en el suelo en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela....	18
9.	Densidad de conidias de <i>Paecilomyces</i> sp. en frutos viejos de café en el suelo en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela.....	19
10.	Densidad de conidias de <i>Metarhizium anisopliae</i> en frutos viejos de café en el suelo en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela.....	19
11.	Número de brocas adultas recolectadas de 100 frutos viejos en la planta en dos parcelas de café sometidas a prácticas culturales.....	20

12.	Porcentaje de micosis causada por <i>Beauveria bassiana</i> en brocas encontradas en los frutos viejos de café en la planta en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la pepena.....	21
13.	Número de brocas recolectadas de 100 frutos viejos de café en el suelo en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela.....	22
14.	Porcentaje de micosis causada por <i>Beauveria bassiana</i> en brocas encontradas en los frutos viejos de café en el suelo en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela.....	23
15.	Porcentaje de micosis causada por <i>Beauveria bassiana</i> en broca extraída de 25 frutos nuevos de café en cuatro parcelas sometida a diferentes prácticas culturales.....	24
16.	Porcentaje de infestación promedio de frutos de café por <i>Hypothenemus hampei</i> en cuatro parcelas sometidas a diferentes prácticas culturales.....	25
17.	Precipitación y horas durante el día a más de 70 % de humedad relativa.....	26
18.	Precipitación y horas durante el día a más de 90 % de humedad relativa.....	27
19.	Movimiento de la broca del café <i>Hypothenemus hampei</i> en los diferentes refugios del cafetal.....	29

INDICE DE ANEXOS

Anexo

1. Protocolo para la preparación de medio de cultivo selectivo para *Beauveria bassiana*..... 34
2. Datos promedio de UFC de *Beauveria bassiana*..... 35
3. Datos promedio de UFC de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces* sp..... 36

1. INTRODUCCIÓN

La broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Curculionidae: Scolytidae) es considerada en todo el mundo y en especial en lugares bajos como la plaga más limitante del cultivo del café (Sponagel, 1994).

Esta plaga, puede destruir los frutos tiernos, los frutos maduros y los sobremaduros provocando pérdidas cuantitativas y cualitativas considerables como la caída anticipada de frutos, la pérdida de peso por la actividad alimenticia de las larvas de la broca, la presencia de patógenos secundarios (Vega, 1998) y la disminución de la calidad del café en la taza (Sponagel, 1994).

La broca es atraída por el olor, color y forma del fruto. Normalmente, los frutos de café empiezan a ser susceptibles al ataque de la broca cuando el grano presenta 20% o más de materia seca (100-150 días de desarrollo después de la floración, dependiendo de la latitud). Una vez que la broca se establece en un fruto apto para su desarrollo, permanece en su interior depositando huevos y cuidando de su prole. Para el tiempo en que los frutos completan su desarrollo, el insecto ha alcanzado como mínimo el desarrollo de una generación y en el interior del fruto se pueden encontrar muchos adultos y estados inmaduros. Si los frutos maduros brocados no se recogen, éstos pueden caer al suelo o permanecer en el árbol en donde se secan y la broca continúa desarrollándose. Cuando el período de lluvias llega, se inicia la emergencia de las brocas desde estos frutos que van a colonizar nuevos frutos en el árbol.

El insecticida más usado para el control químico de la broca en muchos países productores de café es el endosulfan. Este insecticida, mata a la broca cuando entra en contacto directo con ésta o también cuando es ingerida o inhalada ya que posee ciertas propiedades de gasificación (Sponagel, 1994). Sin embargo, éste insecticida es de alta toxicidad, causa un impacto adverso al ecosistema y a la fauna benéfica, además no existen antídotos para tratar casos de envenenamiento. Por esta razón, se han buscado alternativas de control eficaces, menos tóxicos y a la vez compatibles con el ambiente.

Una de estas alternativas es la manipulación de patógenos de insectos o productos a base de éstos para reducir la población de la plaga conocida como control microbioal.

Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes), es uno de los hongos entomopatógenos más estudiados y usados por su amplio rango de hospederos, entre ellos *H. hampei*. En todos los continentes productores de café, se ha encontrado a *B. bassiana* atacando naturalmente a los adultos de la broca del cafeto. El hongo inicia su ataque cuando las conidias entran en contacto con el cuerpo de la broca. Cuando existe en el ambiente una temperatura de 23 a 25°C y una humedad relativa del 70 % o más, las conidias de *B. bassiana* germinan y el tubo germinativo penetra en la broca. Luego del proceso de penetración, comienzan a circular las células de hifas en la hemolinfa, siguiendo luego el crecimiento masivo del micelio en el cuerpo. Cuando el insecto ha muerto por la micosis a consecuencia de las toxinas (beauvericin) y destrucción del tejido, las hifas finalmente proliferan en todo el cuerpo, atravesando el tegumento desde el interior y formando un micelio aereo de color blanco algodonoso característico en el cual se forman las conidias en los conidióforos. Las conidias maduras pueden ser desplazadas por vectores bióticos (la broca, el hombre y otros insectos) y abióticos (viento, lluvia).

Metarhizium anisopliae Metchnikoff (Deuteromycotina: Hyphomycetes), es otro hongo entomopatógeno bastante utilizado para combatir plagas que se encuentran en el suelo. Está ampliamente distribuido y en Brasil y Colombia, se ha reportado a *M. anisopliae* atacando a la broca del café. Este hongo, tiene una gran variabilidad genética que resulta en la presencia de razas con diferentes grados de virulencia, especificidad y producción de conidias (Alves, 1986).

El género *Paecilomyces* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) comprende diversas especies entomopatogénicas siendo las más frecuentes *P. farinosus*, *P. tenuipes* y *P. fumosoroseus*. Se ha reportado a *Paecilomyces* spp. en lepidópteros, coleópteros, homópteros y ortópteros (Alves, 1986).

Los países latinoamericanos productores de café que han realizado más investigaciones sobre el uso de entomopatógenos para el control de plagas son México, Colombia y Brasil. Colombia actualmente cuenta con un cepario de 92 aislamientos de *B. bassiana* y 14 de *M. anisopliae* provenientes de diferentes localidades y condiciones agroecológicas (Bustillo *et al.*, 1998). Han desarrollado técnicas de bioensayo para seleccionar los aislamientos más patogénicos y producir conidias de *B. bassiana* de manera industrial y artesanal. Además, se ha evaluado varios métodos de aplicación de micoinsecticidas.

Debido a la falta de conocimientos en el proceso de contacto e infección natural de los hongos entomopatógenos en los insectos, muchos proyectos de control de plagas basados en el uso de hongos entomopatógenos no tuvieron el éxito esperado. Es así, que investigaciones sobre aplicación de conidias de *B. bassiana* contra la broca del café en Colombia mostraron resultados muy erráticos obteniendo niveles bajos de la enfermedad (20-30%) hasta niveles altos (60-70%) (Bustillo *et al.*, 1998). Cuando se reconoció la influencia de los factores ambientales en la infección exitosa de insectos por parte de los hongos entomopatógenos, éstos fueron entendidos en términos muy generales. La falta de entendimiento es un problema limitante y ha causado que la epizootiología sea la mayor prioridad de investigación entre los patólogos de insectos (Carruthers y Soper, 1987).

Según Tanada (1968), la epizootiología es la ciencia que nos ayuda a explicar la dinámica de las enfermedades, involucrando a poblaciones animales tanto en tiempo como en espacio. El objetivo de la epizootiología de insectos es determinar cómo, cuándo y dónde los patógenos regulan la población del insecto (Tanada y Kaya, 1993).

La frecuencia con que las epizootias se presentan en las poblaciones de insectos, está muy asociada con la capacidad de sobrevivencia de los patógenos entre el huésped y dentro del medio ambiente del mismo (Tanada, 1968). Por esta razón, estudios epizootiológicos se basan en métodos directos (recolección y observación de insectos) e indirectos (colectar esporas del suelo, hojas, frutos, etc.) para determinar cambios en la presencia y prevalencia del patógeno en diferentes microambientes ocupados por su insecto hospedero a través del tiempo.

Para utilizar bien los patógenos como agentes de control de plagas, es imprescindible entender el sistema natural en el que está ocurriendo la interrelación patógeno-plaga.

El aspecto práctico de este estudio fue la generación de información para explicar y entender la ecología y cuantificar el patrón de la presencia de los hongos entomopatógenos en el cafetal para así recomendar prácticas de manejo adecuadas e incrementar los niveles de la enfermedad en la población de la broca.

El hombre con el propósito de minimizar el ataque de broca en el cafetal, realiza diferentes prácticas culturales como la pepena que es la recolección de frutos caídos en el suelo después de la cosecha y la repela que es la recolección de frutos que quedaron después de la cosecha. Sin embargo, no se ha evaluado el impacto que tienen estas prácticas en la epizootiología natural de los hongos entomopatógenos. No se sabe con certeza, que prácticas de manejo favorecen o desfavorecen una epizootia en determinado momento.

El objetivo general de este estudio fue conocer con profundidad la ecología natural y bajo intervenciones culturales de los hongos entomopatógenos *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *Paecilomyces* sp. en cafetales para mejorar su aprovechamiento en el manejo de la broca del café.

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

- Documentar los cambios en la densidad de conidias de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *Paecilomyces* sp. en el suelo, en las hojas, frutos en la planta (nuevos y viejos) y frutos caídos de café en los meses de mayo a octubre.

- Determinar la prevalencia de micosis causada por *B. bassiana* y otros hongos entomopatógenos en brocas encontradas en los frutos viejos en la planta y en el suelo al finalizar la época seca y en los frutos nuevos en la planta durante la época lluviosa a través del tiempo.
- Describir la influencia de las prácticas culturales pepena y repela en el desarrollo de una epizootia de *B. bassiana* y otros hongos entomopatógenos en broca, y en la densidad de conidias en los diferentes microambientes.
- Confirmar el impacto de las prácticas culturales en la infestación de frutos nuevos de café por broca.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en los meses de mayo a octubre (1999) en la finca cafetalera Bueso Quan ubicada en el Municipio de Guinope, Departamento de El Paraíso, Honduras.

El cafetal de 15 años de edad, tenía sembrado café de la variedad *Villa Sarchi* con una sombra homogénea (60 %) de *Inga* sp. (Fabales: Mimosaceae).

La estructura de la plantación fue de 1.5 metros entre plantas y 2.0 metros entre surcos en un terreno plano (pendiente menor al 5%). El suelo presentaba una textura franco arcillosa y tenía un pH de 4.6.

El lugar es clasificado como bosque húmedo subtropical, tiene una altura de 1261 m.s.n.m., una temperatura promedio de 18°C y una precipitación promedio de 1179 milímetros anuales.

Cada año, parte del cafetal es fertilizado con gallinaza antes de la formación del fruto, así sucesivamente se fertilizan diferentes lugares año tras año hasta fertilizar todo el cafetal. No se realizan podas de formación y la aplicación de fungicidas depende de la incidencia de las enfermedades. En el año 1998 no se aplicó endosulfan para controlar la broca del café y se observó una epizootia natural de *B.bassiana* entre los meses de octubre, 1998 y febrero, 1999. El corte de café finalizó a principios de febrero, 1999 y se presentó solo una floración el 7 de mayo.

2.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

El área total de estudio fue de 5624 m². Se delimitaron cuatro parcelas de 980 m². En la primera parcela, se estudió la epizootiología natural (testigo) de hongos entomopatógenos, en la segunda parcela se realizó la pepena, en la tercera parcela se realizó la repela y en la cuarta parcela se realizó la pepena y repela.

La repela que consistió en la eliminación de frutos de café que quedaron en la planta después de la cosecha fue realizada por tres personas el 7 de abril, 1999. Se removió de la planta 35 libras de café viejo en la parcela repela y 23 libras de café viejo en la parcela pepena + repela.

La pepena que consistió en la eliminación de frutos de café que cayeron al suelo fue realizada por tres personas el 8 y 9 de abril, 1999. Se removió del suelo, 27 libras de café viejo en la parcela pepena y 12 libras de café viejo en la parcela pepena + repela.

Cada parcela tenía cuatro sitios de muestreo de 3.0 m² que fueron seleccionados para tener aproximadamente el mismo porcentaje de sombra, frondosidad de las plantas y distancia entre ellos. Cada sitio de muestreo consistía de cuatro plantas y el suelo entre ellos, que fueron muestreados a lo largo del estudio.

2.3. MUESTREO Y VARIABLES MEDIDAS

Para estudiar la densidad de conidias de los hongos entomopatógenos, se muestrearon los posibles microambientes (suelo, hojas, frutos viejos en la planta, frutos viejos en el suelo y frutos nuevos) donde la broca puede entrar en contacto con ellos.

Para estudiar la prevalencia de micosis causada por hongos entomopatógenos, se muestrearon adultos de broca en los refugios donde ellas permanecen en verano, frutos viejos en el suelo y frutos viejos en la planta, y en invierno, frutos nuevos en la planta.

2.3.1 Densidad de conidias de hongos entomopatógenos en diferentes microambientes

Se midió la densidad de conidias de los hongos entomopatógenos en los diferentes microambientes utilizando un medio selectivo previamente desarrollado (Anexo 1) que evita la contaminación con otros hongos (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.) y bacterias gram positivas y negativas que están presentes en el ambiente (Carpio, 1999).

Al obtener la suspensión de conidias de *B. bassiana* de cada sitio de muestreo y con la ayuda de un agitador para recoger una cantidad suficiente de las mismas, se sembraron 100 ml por sitio mediante la técnica de barrido haciendo un total de cuatro platos petri por parcela en cada microambiente.

Los platos petri sembrados se colocaron en una cámara de incubación a una temperatura de 28 °C. A los 30 días de sembrado se cuantificaron las Unidades Formadoras de Colonia (UFC).

Las UFC fueron reconocidas de acuerdo a sus características de color y forma de la colonia, además de la observación de las estructuras de los hongos entomopatógenos en un microscopio (K. Hodge¹, comunicación personal, 1999)

Las colonias de *B. bassiana* son de color blanco pálido, de forma redondeada y densa. Sus estructuras presentan la parte basal dilatada terminando en zig-zag con conidias globosas.

Metarhizium anisopliae presenta colonias de color verde de forma redondeada en el cual se observan columnas compactas. Las conidias son redondas y se presentan en cadenas.

¹ K. Hodge. Assistant Profesor. Dept. of Plant Pathology. Cornell University, EEUU.

Paecilomyces sp. presenta conidias elípticas y las colonias tienen forma redondeada, en un principio son de color blanco y luego cambian a un color rosado.

2.3.1.1 Densidad de conidias en el suelo. El muestreo de conidias en el suelo se realizó cada 15 días del 4 de junio al 15 de octubre.

De cada sitio se sacó una muestra de los primeros dos centímetros del suelo, removiendo previamente la hojarasca.

Se midió 10 cc de la muestra y se mezcló con 90 ml de agua destilada estéril y dos gotas de Tween 20 en una licuadora.

La mezcla se batió durante un minuto y la suspensión de conidias se coló con una malla fina de tela en un biker de 100 ml (Goettel e Inglis, 1997).

2.3.1.2 Densidad de conidias en hojas. El muestreo de conidias en las hojas se realizó cada 15 días del 4 de junio al 15 de octubre.

De cada planta se sacaron tres hojas al azar utilizando pinzas para no afectar las conidias allí adheridas haciendo un total de 12 hojas por sitio.

La suspensión de conidias resultó del lavado de las hojas de cada sitio de muestreo frotándolas individualmente dentro de una bolsa plástica con 25 ml de agua destilada estéril y dos gotas de Tween 20.

2.3.1.3 Densidad de conidias en frutos nuevos producto de la floración de 1999. El muestreo de conidias en los frutos nuevos se realizó el 13 de agosto, 17 de septiembre y el 15 de octubre.

En cada sitio se recolectaron un total de 25 frutos al azar utilizando pinzas para no afectar las conidias allí adheridas haciendo un total de 100 frutos por parcela.

La suspensión de conidias resultó del lavado de los frutos nuevos frotándolos dentro de una bolsa plástica con 25 ml de agua destilada estéril y dos gotas de Tween 20.

2.3.1.4 Densidad de conidias de frutos viejos en el suelo producto de la floración en 1998. Debido a la escasez de frutos viejos en el suelo, se realizaron solo dos muestreos en la parcela repela y la en parcela testigo el 4 y 18 de junio.

En cada sitio se recolectaron 25 frutos viejos al azar utilizando pinzas para no afectar las conidias allí adheridas, haciendo un total de 100 frutos por parcela.

La suspensión de conidias resultó del lavado de los frutos viejos del suelo frotándolos dentro de una bolsa plástica con 25 ml de agua destilada estéril y dos gotas de Tween 20.

2.3.1.5 Densidad de conidias en frutos viejos en la planta producto de la floración en 1998. El muestreo de conidias en los frutos viejos se realizó el 4 y 18 de junio en la parcela pepena y en la parcela testigo.

En cada sitio se recolectaron 25 frutos viejos al azar utilizando pinzas para no afectar las conidias allí adheridas, haciendo un total de 100 frutos por parcela

La suspensión de conidias resultó del lavado de los frutos viejos de la planta frotándolos dentro de una bolsa plástica con 25 ml de agua destilada estéril y dos gotas de Tween 20.

2.3.2 Densidad de la broca y prevalencia de micosis causada por hongos entomopatógenos en brocas encontradas en diferentes refugios

Para estudiar la prevalencia de micosis en la población, las brocas fueron extraídas de sus refugios de verano y sus sitios de reproducción en invierno y se colocaron dentro de cámaras húmedas individuales. Estas fueron construidas con tubos ependorf cortadas en un extremo y tapadas con algodón húmedo para mantener condiciones óptimas de humedad (90% HR).

Las cámaras de cría se dejaron durante 15 días en una incubadora a 25°C para simular las condiciones óptimas de temperatura.

Se anotó la presencia o ausencia de síntomas externos de micosis y con la ayuda de un microscopio se determinó la especie de hongo entomopatógeno causal.

2.3.2.1 Frutos viejos en la planta producto de la floración en 1998. Cada 15 días se recolectaron al azar 100 frutos viejos en la planta en la parcela testigo y en la parcela pepena del 4 de junio al 19 de julio, fecha en que no se encontró más frutos. Los frutos se colocaron en bandejas aisladas previamente esterilizadas en una solución de hipoclorito de sodio (10 ppm) dentro de una cámara de cría oscura.

Las brocas fueron extraídas de los frutos a los 3 y 7 días hacia una fuente de luz blanca colocada en un extremo de la cámara de cría. Las brocas se colocaron en cámaras húmedas individuales dentro de una incubadora por dos semanas y se anotó la presencia de síntomas externos de micosis.

2.3.2.2 Frutos viejos en el suelo producto de la floración en 1998. Cada 15 días se recolectaron al azar 100 frutos viejos en el suelo en la parcela testigo y en la parcela repela del 17 de mayo al 18 de junio fecha en la que no se encontraron más frutos. Los

frutos se colocaron en bandejas aisladas previamente esterilizadas en una solución de hipoclorito de sodio (10 ppm) dentro de una cámara de cría oscura.

Las brocas fueron extraídas de los frutos a los 3 y 7 días hacia una fuente de luz blanca colocada en un extremo de la cámara de cría. Las brocas se colocaron en cámaras húmedas individuales dentro de una incubadora por dos semanas y se anotó la presencia de síntomas externos de micosis.

2.3.2.3 Frutos nuevos en la planta producto de la floración en 1999. Una vez presentándose frutos nuevos que tenían el tamaño y la consistencia adecuada (20% materia seca) para el ataque de la broca, se recolectaron 25 frutos nuevos brocados por parcela. Las recolectas se hicieron el 6, 17 y 27 de agosto y el 10 de septiembre.

Con la ayuda de un bisturí y unas pinzas estériles, se extrajeron las brocas. Estas fueron colocadas en cámaras húmedas individuales dentro de una incubadora por dos semanas y se anotó la presencia de síntomas externos de micosis.

2.3.3 Densidad de broca en frutos nuevos.

Se realizaron tres muestreos de infestación (uno cada mes) en agosto, donde se observó los primeros ataques de broca en frutos nuevos, septiembre y finales de octubre, 1999.

Se muestrearon seis plantas al azar en cada parcela. Se anotó la presencia de broca en 20 frutos escogidos al azar en diferentes ramas de cada planta hasta hacer un total de 120 frutos por parcela.

2.4 ESTACIÓN CLIMATOLÓGICA

En la finca se colocó un hidrotermógrafo para registrar continuamente la humedad relativa y la temperatura durante el estudio.

Los datos de precipitación fueron dados por la Secretaría de Recursos Naturales y Medio Ambiente (Secretaría de Recursos Hídricos) tomados de la estación climatológica de Güinope.

Por el período del estudio, se graficó la variable precipitación diaria, temperatura mínima y máxima diaria, número de horas diarias con humedad relativa mayor o igual a 90% (condiciones favorables para la esporulación de conidias) y número de horas diarias con humedad relativa mayor o igual a 70% (condiciones favorables para la germinación de conidias)

2.5 ANALISIS DE DATOS

Se realizó una prueba de contingencia X^2 (Chi cuadrado) en cada tipo de refugio (frutos viejos en el suelo, frutos viejos en la planta y frutos nuevos en la planta) para comprobar la siguiente hipótesis:

Ho: La presencia de micosis causada por hongos entomopatógenos en la broca es independiente de realizar las prácticas culturales pepena, repela y pepena + repela.

Para el cálculo de X^2 en los frutos viejos en la planta y frutos viejos en el suelo se agruparon el número de brocas enfermas de todas las fechas de muestreo en una tabla de contingencia 2 x 2.

Para el cálculo de X^2 en los frutos nuevos en la planta se agrupó el número de brocas enfermas de todas las fechas de muestreo en una tabla de contingencia 4x2.

Para la infestación de frutos nuevos de café por broca se realizó una prueba de contingencia X^2 se probó la siguiente hipótesis:

Ho: La infestación de broca en los frutos nuevos de café es independiente de realizar las prácticas culturales pepena, repela y pepena + repela.

Para el cálculo de X^2 en la infestación en los frutos nuevos por broca se agrupó el número de frutos infestados de los 3 muestreos en una tabla de contingencia 4 x 2.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 DENSIDAD DE CONIDIAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN DIFERENTES MICROAMBIENTES.

3.1.1 Densidad de conidias en el suelo

Se presentaron los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana*., *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces* sp. en el suelo.

La densidad de conidias de *B. bassiana* en el suelo se mantuvo estable en el tiempo en todas las parcelas con un rango entre 4×10^3 y 21×10^3 UFC/10cc de suelo (Figura 1). El 6 de agosto, la parcela testigo presentó mas UFC de *B. bassiana*, pero luego disminuyó debido a la escasez de humedad en el ambiente (Figura 18).

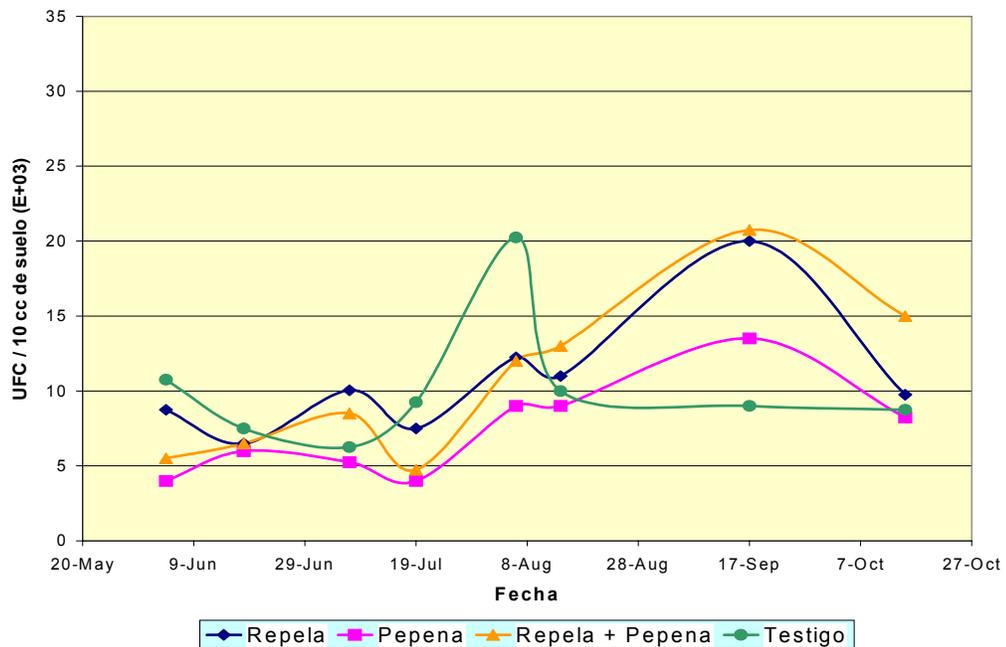


Figura 1. Densidad de conidias de *Beauveria bassiana* en el suelo en cuatro parcelas de café sometidas a diferentes prácticas culturales.

El incremento el 7 de julio, el 6 de agosto y el 17 de septiembre en la densidad de conidias de *B. bassiana* coincidió con las semanas que presentaron, durante varios días, condiciones ambientales favorables para la esporulación del hongo (90% HR) (Figura 18). Existe la posibilidad de que en esas fechas, brocas enfermas con *B. bassiana* que se

encontraban en los frutos viejos en el suelo esporularon y aumentaron la densidad de conidias en el ambiente.

En el microambiente del suelo existe una buena fuente de conidias de *B. bassiana* que puede llegar a contactar a la broca que sale de los frutos viejos en el suelo. Esta densidad no varía grandemente en el tiempo y se mantiene por lo menos en los meses donde existe emergencia de la broca de los frutos viejos en el suelo.

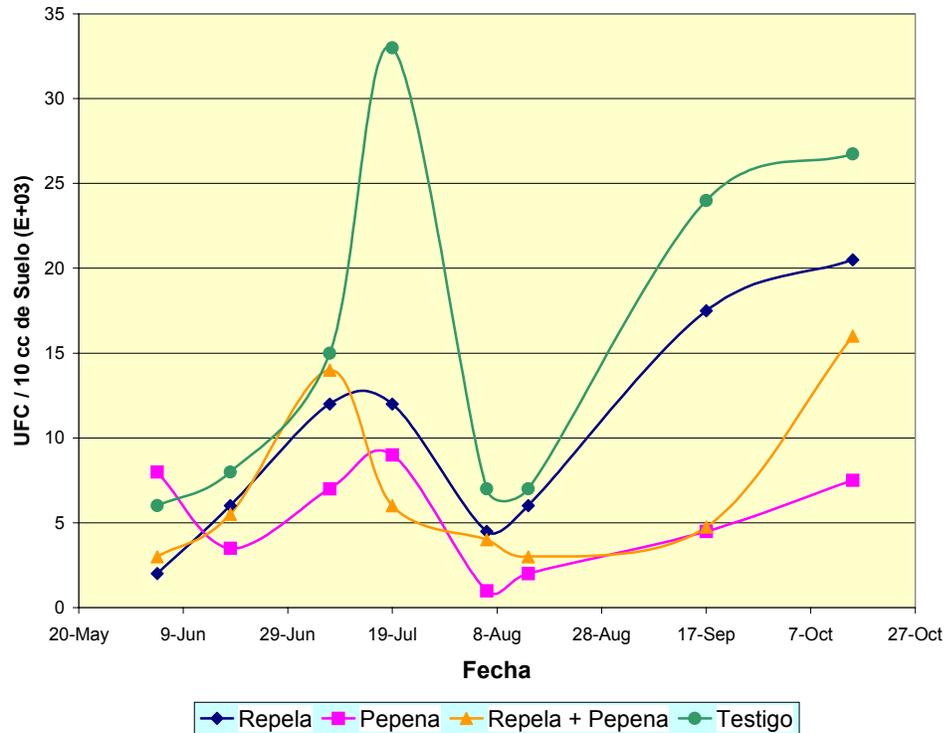


Figura 2 Densidad de conidias de *Metarhizium anisopliae* en el suelo en cuatro parcelas de café sometidas a diferentes prácticas culturales.

El rango de densidad de conidias de *M. anisopliae* estuvo entre 1×10^3 y 27×10^3 UFC/10 cc de suelo, excepto el 19 de julio donde se contabilizaron un total de 33×10^3 UFC/10 cc de suelo en la parcela testigo (Figura 2). El aumento en la densidad de conidias de *M. anisopliae* en el suelo coincidió con períodos donde hubo precipitación durante algunos días (Figura 18). El aumento en la densidad de conidias que se observó a partir de septiembre probablemente pudo ser por la presencia de algún insecto hospedero que pudo estar esporulando.

El hongo que se encontró en mayor cantidad en el suelo fue *Paecilomyces* sp. (Figura 3) Se contabilizó en promedio hasta 90×10^3 UFC/10 cc de suelo, casi de 4 a 5 veces más que la cantidad observada en *B. bassiana* y *M. anisopliae*. El descenso que se observó la última semana coincidió con un descenso brusco en el número de horas que se mantuvo el ambiente a 90% de humedad relativa (Figura 18)

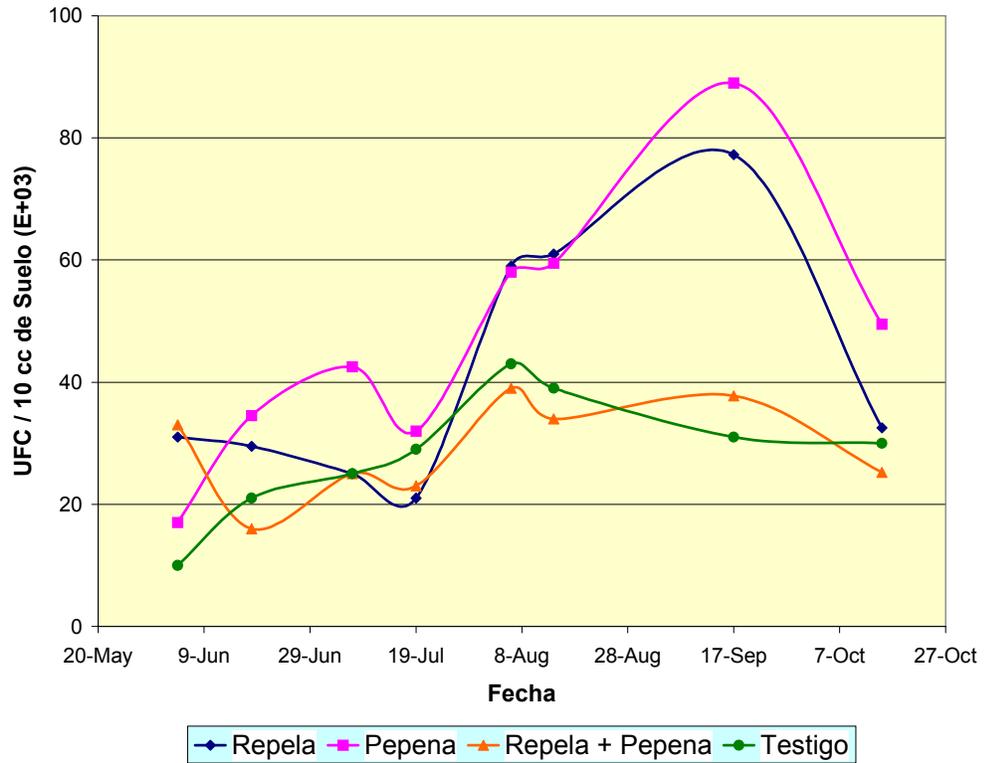


Figura 3 Densidad de conidias de *Paecilomyces* sp. en el suelo en cuatro parcelas de café sometidas a diferentes prácticas culturales.

El microambiente suelo favorece la permanencia de conidias de hongos entomopatógenos, evita su desecación porque no existe mucha variación en temperatura y humedad, además, la hojarasca y sombra proporcionada por las plantas evita el contacto directo con los rayos solares que pueden inactivar a las conidias. La densidad de conidias de los hongos *B. bassiana* y *Paecilomyces* sp. tendió a disminuir a partir de septiembre mientras que *M. anisopliae* aumentó. Períodos con poca precipitación coincidieron con una disminución en la densidad de conidias de *M. anisopliae* en el suelo (Figura 18). También, el pH en el suelo del cafetal estuvo ácido y esto pudo favorecer la presencia de hongos Hyphomycetes. Las prácticas culturales pepena y repela no afectaron notablemente la densidad de los hongos entomopatógenos en el suelo.

3.1.2 Densidad de conidias en las hojas

Se recuperó en las hojas del café conidias del hongo *B. bassiana* y *Paecilomyces* sp. Las densidades de conidias de *B. bassiana* que resultaron del lavado de las hojas fueron muy similares en las parcelas repela, pepena y penena + repela, pero en la parcela testigo se observó una mayor densidad de conidias de *B. bassiana* a partir del 18 de junio. El rango en la presencia de UFC resultante del lavado de 12 hojas estuvo entre 0.375×10^3 a 5.38×10^3 (Figura 4).

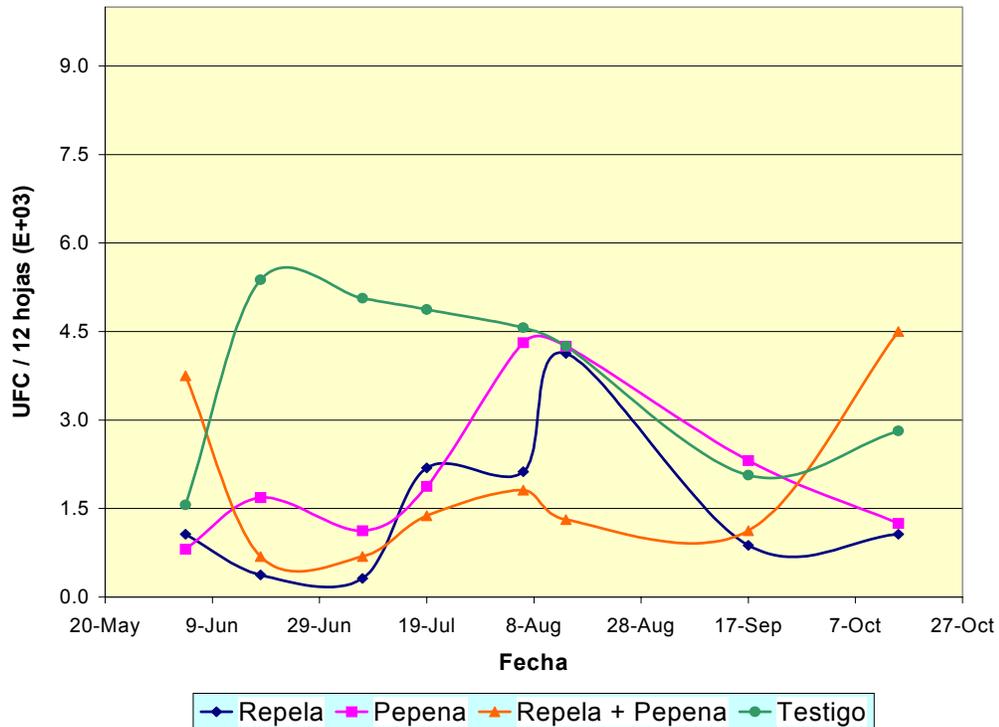


Figura 4 Densidad de conidias de *Beauveria bassiana* en las hojas del arbusto de café en cuatro parcelas sometidas a diferentes prácticas culturales.

La alta densidad de conidias de *B. bassiana* en la parcela testigo con relación a las otras parcelas, pudo deberse a la presencia de brocas enfermas que esporularon en la parte aérea de la planta efecto de la migración de la población de broca que se encontraba en los frutos viejos en el suelo (Figura 12). Del 4 de junio hasta la presencia de los primeros frutos nuevos de café (mediados de agosto) con el tamaño y la consistencia adecuada, fueron fechas críticas para la broca que encontraba en el fruto viejo en el suelo que con el inicio de las primeras lluvias en junio (Figura 18) buscó un refugio en la planta. Al salir de los frutos viejos en el suelo pudo contactar conidias de *B. bassiana* y empezar una epizootía.

La baja densidad de conidias en las hojas de las parcelas repela, pepena y pepena + repela pudo haberse presentado por la acción de quitar los frutos viejos en la planta y los frutos viejos en el suelo que son también fuentes de inóculo.

Clerck y Madelin (1965) encontraron tasas de sobrevivencia del 13 y 72% cuando expusieron conidias de *B. bassiana* durante 6 meses a 18°C durante el día y la noche respectivamente. No sería raro, que rangos similares (13%) de sobrevivencia de *B. bassiana* se presenten en el microambiente de las hojas en este estudio.

En las hojas se presentó una baja densidad de conidias de *Paecilomyces* sp. (Figura 5). El 17 de septiembre se presentó un aumento considerable en tres de las cuatro parcelas en la densidad de *Paecilomyces* sp. que coincidió con el aumento en la densidad de conidias en el suelo (Figura 3). Posiblemente muchas de las conidias presentes en el suelo pasaron a las hojas por efectos de viento o salpique de la lluvia. No se observó un efecto claro en la densidad de conidias de *Paecilomyces* sp. por realizar las prácticas culturales pepena y repela.

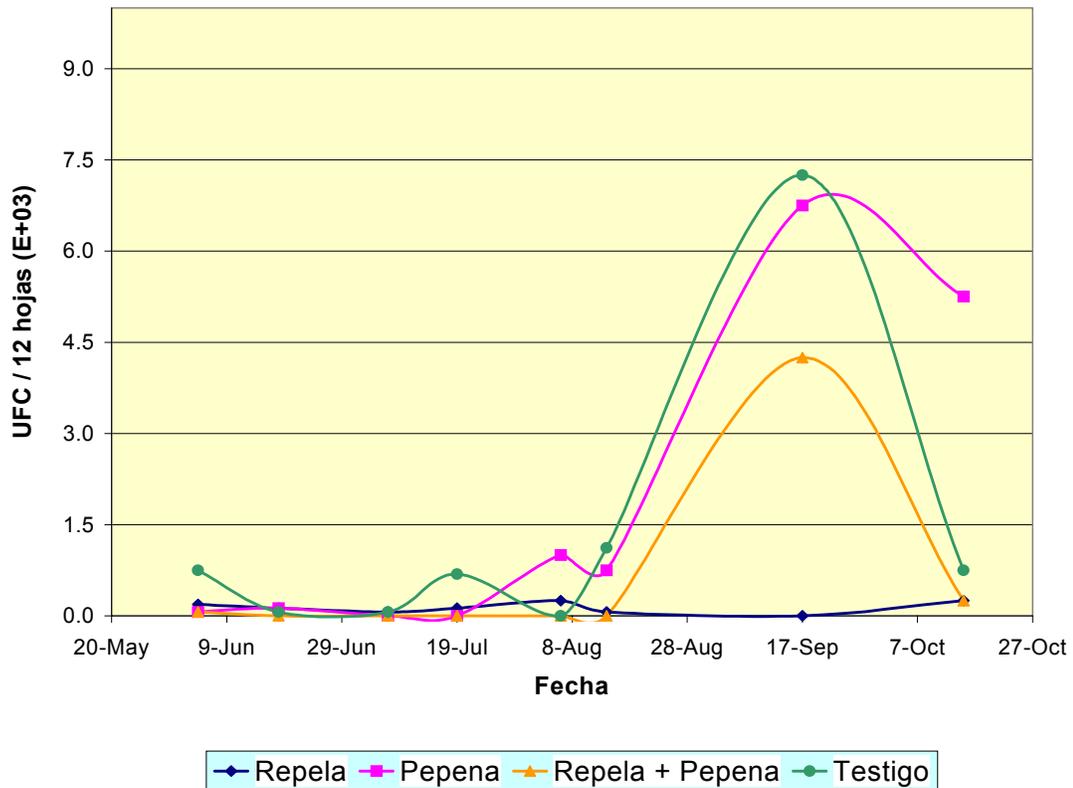


Figura 5 Densidad de conidias de *Paecilomyces* sp. en las hojas del arbusto de café en cuatro parcelas sometidas a diferentes prácticas culturales

No se encontraron conidias de *M. anisopliae* en las hojas, posiblemente por la ausencia de brocas enfermas con *M. anisopliae* en la parte aérea de la planta. Este hongo, es afectado por la exposición a más de cuatro horas de luz, y valores de humedad relativa entre 33 y 75 % son letales para *M. anisopliae* (Benz, 1988). Estudios realizados en Brasil concluyeron que la luz ultravioleta (UV) es la que más afecta a *M. anisopliae* ya que con solo 120 segundos de irradiación directa de luz UV (2357Å) se presentó 95% de inhibición en la germinación de las conidias (Alves, 1986).

3.1.3 Densidad de conidias en frutos nuevos en la planta

Solo se recuperó *B. bassiana* en los frutos nuevos en la planta. El rango de UFC/25 frutos nuevos estuvo entre 0.06×10^3 y 1.3×10^3 (Figura 6). La parcela testigo fue la que presentó la mayor cantidad de UFC/25 frutos nuevos pero decrementó en el tiempo. La baja densidad de conidias de *B. bassiana* en los frutos nuevos en la planta pudo deberse a la presencia de pocas brocas esporulando en la planta o al lavado de los frutos por la lluvia (Figura 18)

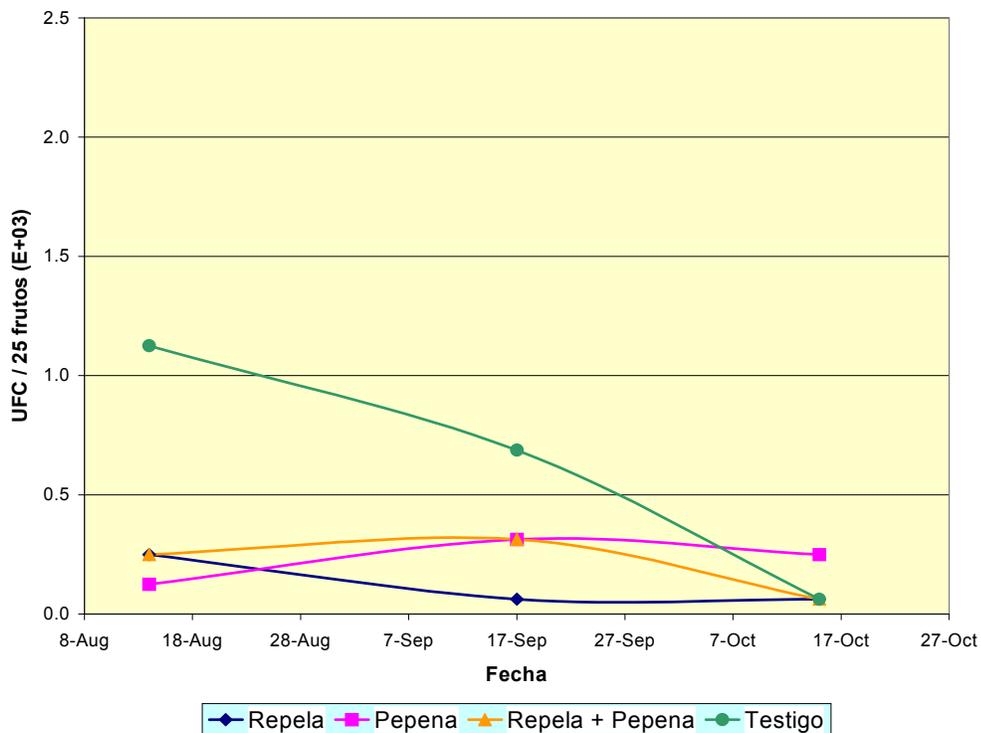


Figura 6 Densidad de conidias de *Beauveria bassiana* en frutos nuevos de café en cuatro parcelas sometidas a diferentes prácticas culturales.

3.1.4 Densidad de conidias en frutos viejos en la planta

Se encontró únicamente *B. bassiana* en los frutos viejos en la planta en las dos fechas de muestreo. La densidad de conidias fue mayor en la parcela testigo (Figura 7). Se observó en el testigo, un incremento de 12×10^3 a 17×10^3 UFC/25 frutos viejos entre fechas, mientras que en la parcela pepena la densidad de conidias de *B. bassiana* decreció de 8.1×10^3 a 5.9×10^3 UFC/25 frutos.

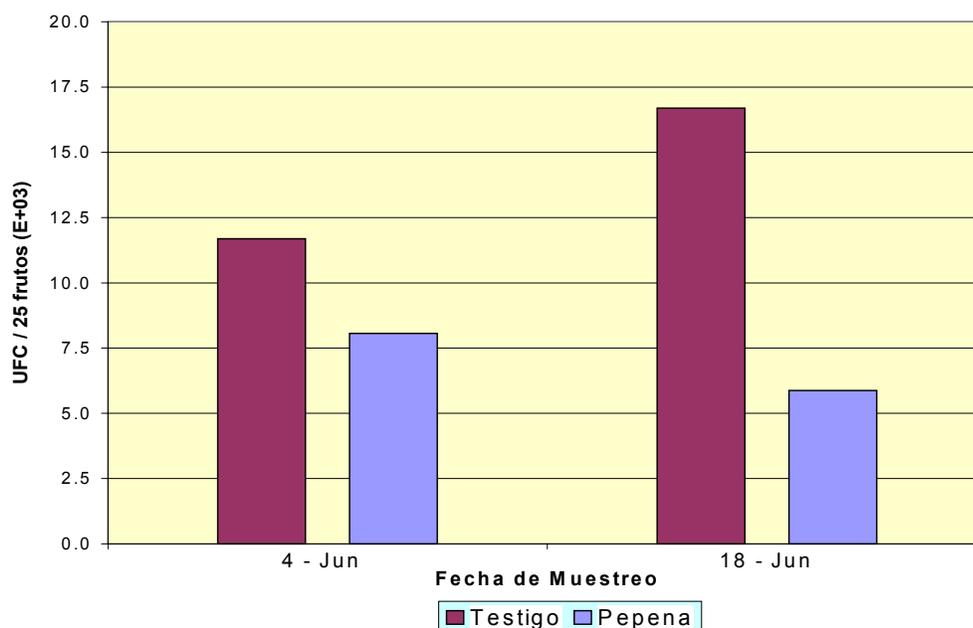


Figura 7 Densidad de conidias de *Beauveria bassiana* en frutos viejos de café en la planta en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la pepena.

Al extraer los frutos viejos caídos en el suelo, aparentemente también se está disminuyendo la densidad de conidias de *B. bassiana* que al final residirá en el fruto viejo en la planta. La probabilidad de que la broca se contagie en los frutos del suelo y disemine la enfermedad a la parte aérea puede estar siendo afectada por la pepena.

Tobar *et al.* (1998) menciona que el inóculo producido por una sola broca esporulando con el hongo *B. bassiana* es equivalente al aplicado por árbol en las aspersiones con formulaciones comerciales. El reducir brocas de cualquier microambiente de refugio de verano, aparentemente disminuye el inóculo natural presente en las partes aéreas.

Existe una buena densidad de conidias de *B. bassiana* en los frutos viejos en la planta (0.58×10^3 UFC/fruto) comparado con los frutos nuevos en la planta (0.054×10^3 UFC/fruto) por lo tanto, este puede ser un lugar importante para infectar a la broca de la primera generación.

Según Benz (1987), *B. bassiana* tolera condiciones ambientales (30 – 100 % HR) a las que está sometido el fruto que se encuentra en la planta y las conidias que se encuentran en el refugio de la broca pueden entrar en contacto con ésta.

3.1.5 Densidad de conidias en frutos viejos en el suelo

Se encontraron los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *Paecilomyces sp.* en los frutos viejos en el suelo. La densidad de conidias de *B. bassiana* en los frutos viejos en el suelo al principio de junio fue similar en ambas parcelas, pero disminuyó en el tiempo (Figura 8). En la parcela testigo se observó una mayor formación de UFC/fruto que en la parcela repela a mediados de junio.

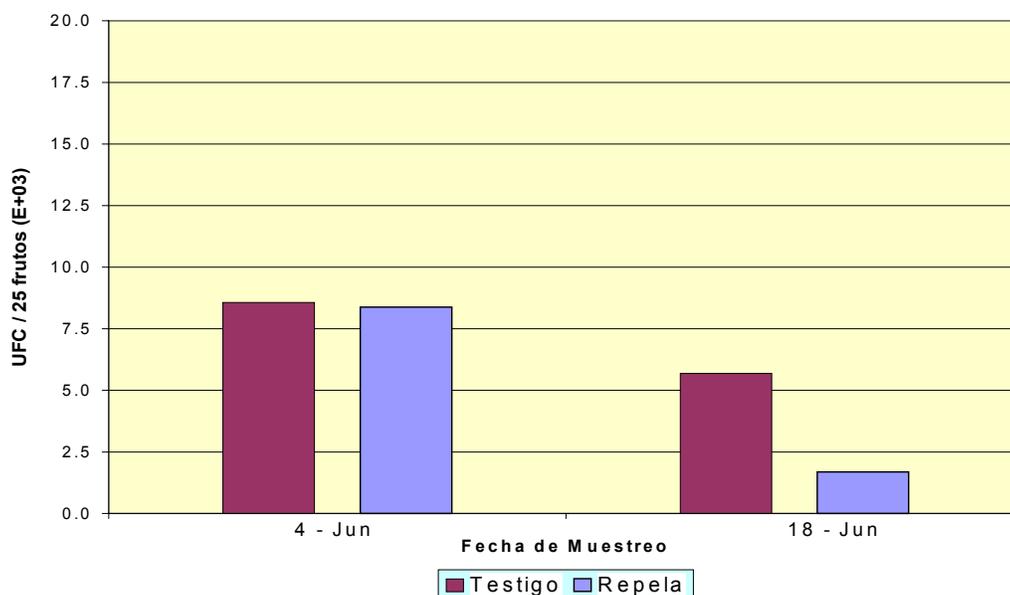


Figura 8 Densidad de conidias de *Beauveria bassiana* en frutos viejos de café en el suelo en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela.

Según Tobar *et al.* (1998), la broca es fundamental para la supervivencia y dispersión de *B. bassiana* en el ecosistema cafetero. La broca que se encuentra dentro de los frutos viejos en el suelo, en algún momento, tiene que salir a buscar un nuevo refugio como ser los frutos viejos en la planta o los primeros frutos nuevos de la cosecha. Por lo tanto, los frutos viejos en el suelo pueden ser el primer lugar donde la broca entre en contacto con conidias de *B. bassiana* que serán diseminadas durante la migración (Figura 19). La

densidad de conidias *B. bassiana* en los frutos viejos en la planta fue mayor que en los frutos viejos en el suelo, por lo tanto, la superficie del fruto viejo en la planta además de la hoja, es un reservorio de conidias.

Paecilomyces sp. presentó la mayor densidad de conidias en los frutos viejos en el suelo. En la parcela repela la densidad de conidias aumentó de 5.5×10^3 a 16.8×10^3 UFC/25 frutos, sin embargo, en la parcela testigo la densidad de conidias disminuyó de 5.3×10^3 a 3.1×10^3 UFC/25 frutos viejos. (Figura 9). La presencia de *Paecilomyces* sp. en frutos viejos en el suelo, confirma que el mejor lugar para este hongo es el microambiente suelo.

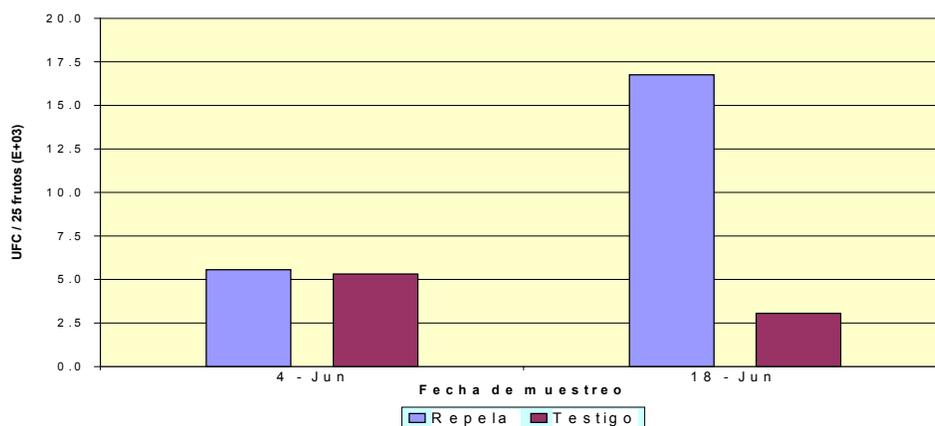


Figura 9 Densidad de conidias de *Paecilomyces* sp. en frutos viejos de café en el suelo en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela.

El hongo que presentó la menor densidad de conidias en los frutos viejos en el suelo fue *M. anisopliae* (Figura 10). A pesar de que *M. anisopliae* tuvo mayor densidad de conidias en el suelo que *B. bassiana*, el reservorio de conidias en los frutos viejos en el suelo es muy reducido disminuyendo la probabilidad de contacto de las conidias con broca.

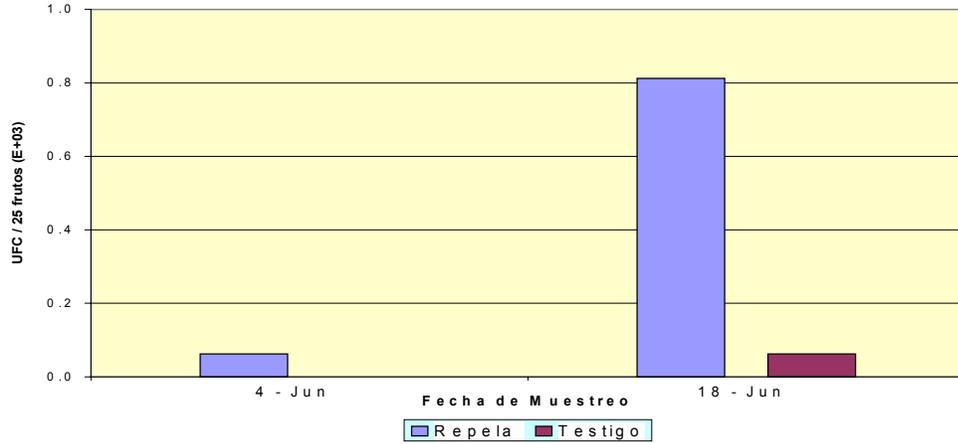


Figura 10 Densidad de conidias de *Metarhizium anisopliae* en frutos viejos de café en el suelo en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela.

3.2 CAMBIOS POBLACIONALES DE BROCA Y PREVALENCIA DE MICOSIS CAUSADA POR HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN LOS FRUTOS VIEJOS EN LA PLANTA

3.2.1 Densidad poblacional de broca

La densidad de brocas adultas en los frutos viejos en la planta tanto en la parcela testigo como en la parcela pepena aumentó de dos a tres veces más en los últimos muestreos (Figura 11). Muchos de los frutos viejos en la planta presentaron varias perforaciones a los lados y no solamente una perforación cerca al ombligo del fruto que es lo que generalmente sucede.

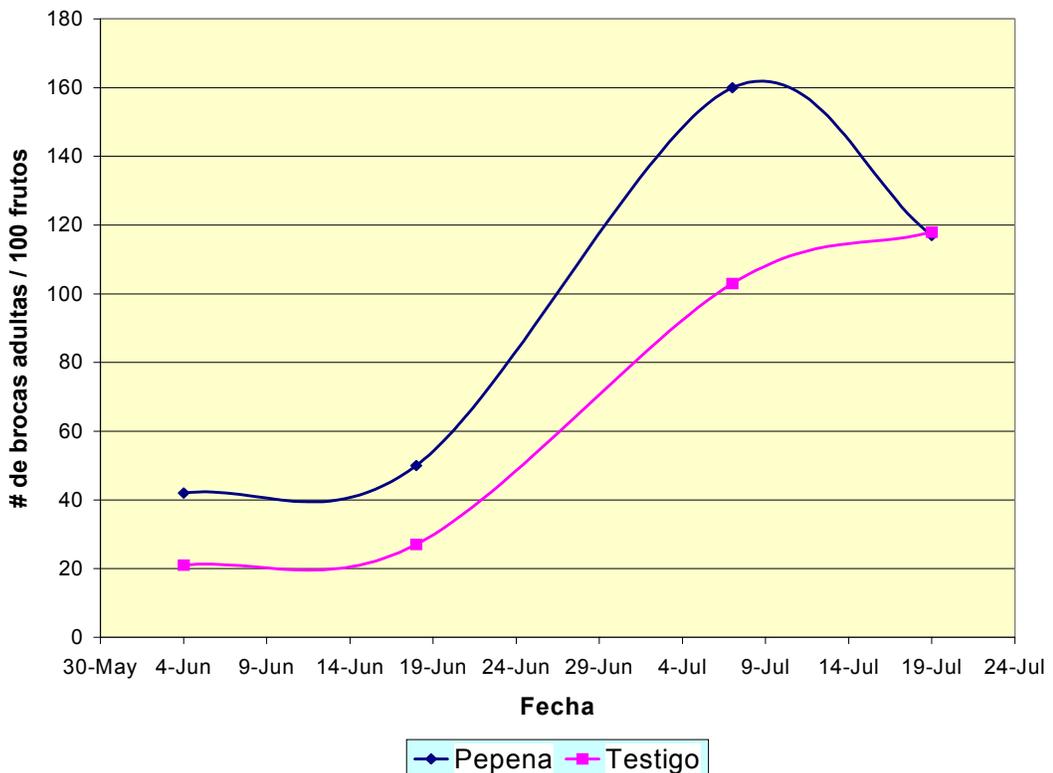


Figura 11 Número de brocas adultas recolectadas de 100 frutos viejos en la planta en dos parcelas de café sometidas a prácticas culturales.

El aumento en la densidad de brocas adultas tiene dos explicaciones. La broca salió de los frutos viejos del suelo antes de la presencia de frutos nuevos en la planta de tamaño y consistencia adecuada (20 % de materia seca). Al salir al comienzo de las lluvias, la broca se dirigió a los frutos viejos en la planta y esperó en este lugar hasta que los nuevos frutos estén listos para ser perforados. El aumento puede deberse también a la metamorfosis de larvas a adultos en los individuos que se reprodujeron en el fruto viejo. Probablemente cuando la mayor parte de la población de broca en el fruto viejo en el suelo ha migrado al fruto viejo en la planta, sería el mejor momento para realizar la repela, y así eliminar a la broca que estaba anteriormente en el fruto viejo en la planta y la broca que migró del fruto viejo en el suelo.

3.2.2 Micosis causada por hongos entomopatógenos

El único hongo que se observó causando micosis en la broca fue *B. bassiana*. La parcela testigo presentó mayor prevalencia de micosis por *B. bassiana* que la parcela pepena sumando los datos de todas las fechas de muestreo (Figura 12). En la parcela testigo, la prevalencia se mantuvo alrededor de 60% del 4 de junio al 7 de julio, luego se observó una disminución hasta un 11 % el 19 de julio. La curva de prevalencia de micosis en la parcela pepena se mantuvo entre un 5 y 12 %. Al igual que la parcela testigo, se observó una disminución de la prevalencia hasta llegar al 6 % el 19 de Julio.

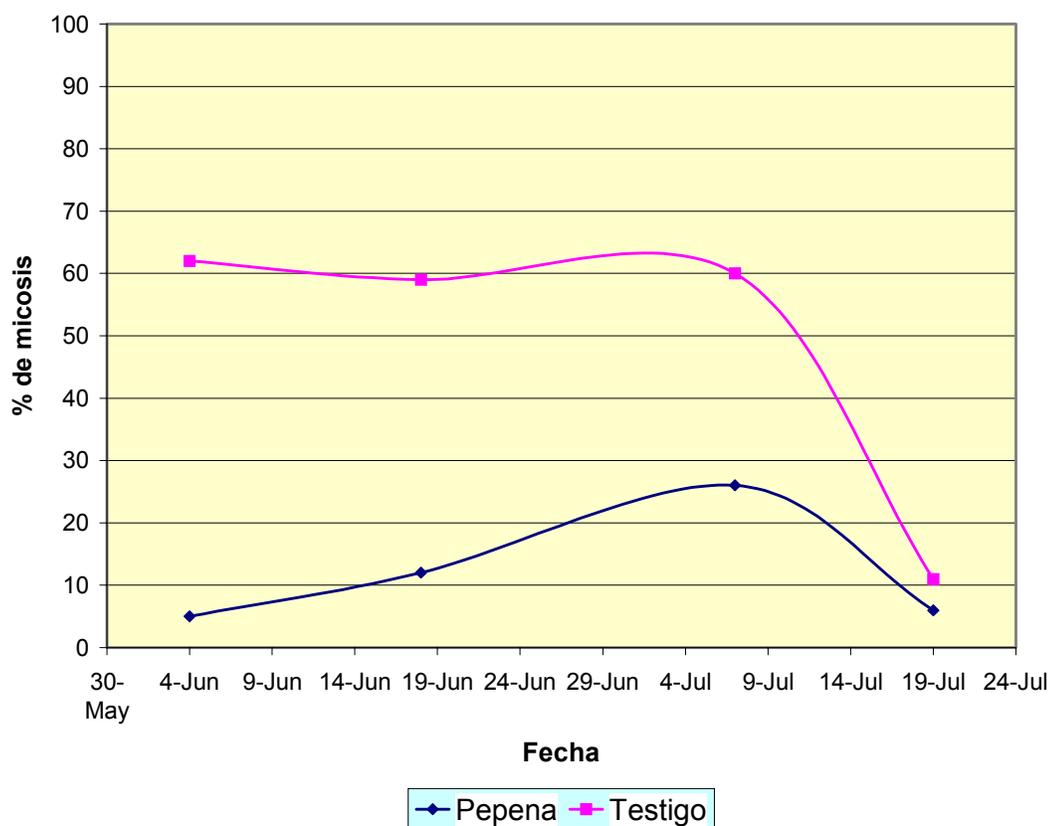


Figura 12 Porcentaje de micosis causada por *Beauveria bassiana* en brocas encontradas en los frutos viejos de café en la planta en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la pepena.

La prueba de independencia χ^2 nos indica que sí existió diferencia ($\chi^2=16.16$; $gl=1$; $P<0.005$) entre la prevalencia de micosis causada por *B. bassiana* en la población de broca en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la pepena. Cuando realizamos la pepena estamos afectando la prevalencia de la micosis en la broca que se encuentra en el fruto viejo en la planta.

La población de brocas adultas recolectadas en los frutos viejos en la planta en la parcela pepena no incluía brocas que emigraron desde el suelo. Esto indica la importancia del reservorio de conidias en frutos del suelo y el contacto de éstas con la broca para iniciar una epizootia.

Probablemente la disminución en la prevalencia de micosis que se observó en ambas parcelas del 9 al 19 de julio fue efecto de una alta concentración de la población de broca en el fruto viejo en la planta, muchas de las cuales pasaron posiblemente recién al estado adulto (Figura 12).

3.3 CAMBIOS POBLACIONALES DE BROCA Y PREVALENCIA DE MICOSIS CAUSADA POR HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN LOS FRUTOS VIEJOS EN EL SUELO

3.3.1 Densidad poblacional de broca

La densidad de brocas adultas en el fruto viejo en la planta fue el doble de la densidad de brocas adultas en el fruto viejo en el suelo que disminuyó en el tiempo en ambas parcelas. Se recolectó mayor cantidad de brocas en la parcela repela que en la parcela testigo en todas las fechas de muestreo (Figura 13).

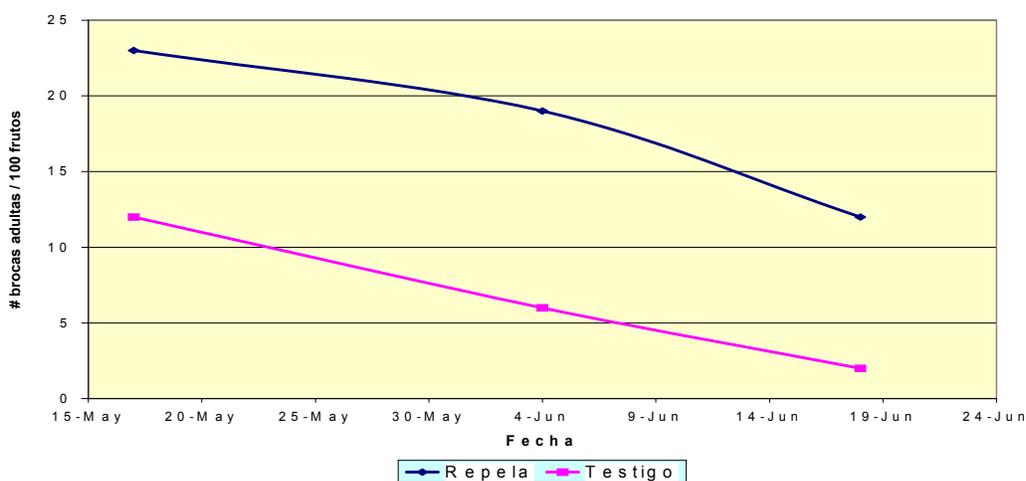


Figura 13 Número de brocas recolectadas de 100 frutos viejos de café en el suelo en la parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela.

La disminución en la densidad poblacional de broca en los frutos viejos en el suelo pudo deberse a que muchos de los frutos que caen al suelo germinan y otros frutos viejos en el suelo se descomponen más rápido que los frutos viejos en la planta por el ataque de hongos y otros microorganismos, esto obliga a la broca a dejar su refugio en el suelo y migrar a los frutos viejos en la planta.

3.3.2 Micosis causada por hongos entomopatógenos

Igual como en brocas refugiadas en los frutos viejos en la planta, el único hongo que causó micosis fue *B. bassiana*. El máximo porcentaje de micosis en la parcela testigo fue de 25% el 17 de mayo hasta llegar al 0 % en el último muestreo el 18 de junio. En la parcela repela, el porcentaje de micosis disminuyó en el tiempo observándose el máximo porcentaje el 17 de Mayo con un 52% hasta llegar al 25% el 18 de junio (Figura 14).

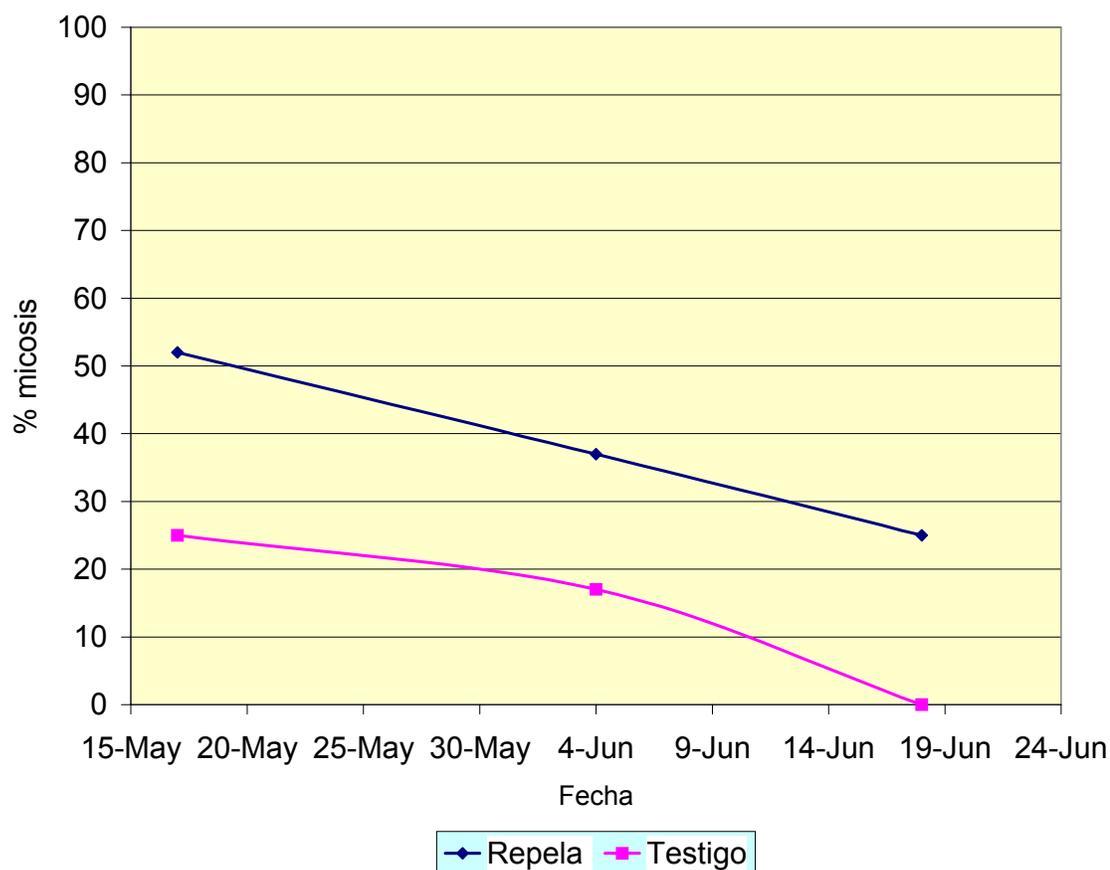


Figura 14 Porcentaje de micosis causada por *Beauveria bassiana* en brocas encontradas en los frutos viejos de café en el suelo en las parcela testigo y en la parcela donde se realizó la repela.

La prueba de independencia χ^2 nos confirma ($\chi^2=0.93$; $gl=1$; $P<0.05$) que el porcentaje de brocas con micosis causada por *B. bassiana* en los frutos viejos del suelo, no está influenciado por la realización de la repela.

Desde el fruto viejo en el suelo, la broca portadora del patógeno disemina la enfermedad a la parte aérea cuando migra al fruto nuevo o viejo en la planta. La persistencia de las conidias en frutos viejos en el suelo o en la planta, el contacto con el huésped y la germinación juegan un papel fundamental para el inicio de una epizootía (Gaugler *et al.*, 1989).

Aunque se recuperaron conidias de *M. anisopliae* en los frutos viejos en el suelo, no se observó infección por *M. anisopliae* en la broca en estos frutos. Probablemente, la cantidad de conidias fue insuficiente para iniciar infecciones en la broca en los frutos viejos en el suelo o puede ser falta de patogenicidad de la raza y por lo tanto, no hubo diseminación de conidias de *M. anisopliae* hacia la parte aérea. Esto y la rapidéz de

degradación por el sol explicaría la ausencia de conidias de *M. anisopliae* en los frutos viejos en la planta.

3.4 PREVALENCIA DE MICOSIS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN FRUTOS NUEVOS BROCADOS

Los primeros frutos nuevos brocados aparecieron a principios de agosto. Solo se presentó micosis causada por *B. bassiana* en las brocas extraídas de los frutos nuevos. La prevalencia promedio (6 de agosto al 10 de septiembre) de micosis por *B. bassiana* en la parcela repela fue 12%, en la parcela pepena 7%, en la parcela pepena + repela 8% y en la parcela testigo 13% (Figura 15).

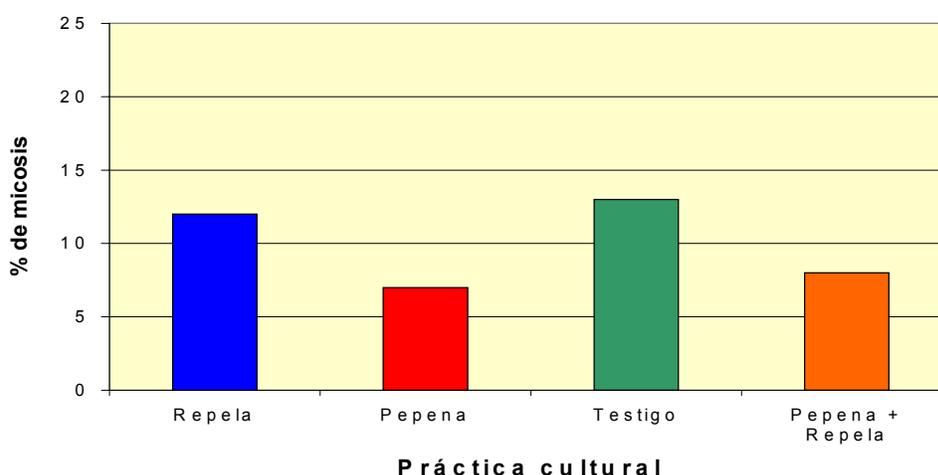


Figura 15 Porcentaje promedio (cuatro fechas de muestreo) de micosis causada por *Beauveria bassiana* en broca extraída de 25 frutos nuevos de café en cuatro parcelas sometidas a diferentes prácticas culturales.

En las condiciones de la finca, las prácticas culturales pepena y repela no influyeron ($\chi^2=2.22$; $gl=3$; $P<0.05$) en el porcentaje de micosis en broca en los frutos nuevos. Probablemente el efecto observado de micosis en broca en los frutos viejos se disipó debido al tamaño de las parcelas y al movimiento de la broca. Sin embargo, en la figura 15 todavía se observa la influencia de la pepena en el porcentaje de micosis en broca en los frutos nuevos.

3.5 EFECTOS DE PRÁCTICAS CULTURALES EN INFESTACIÓN POR BROCA EN LOS FRUTOS NUEVOS DE CAFÉ

Las prácticas culturales afectaron ($X^2=12.43$; $gl=3$; $p<0.01$) la infestación por broca en los frutos nuevos de café (Figura 16). La pepena + repela resultó en promedios más bajos de infestación. La parcela pepena presentó porcentajes de infestación más elevados que el testigo. Esto pudo deberse a la presencia de un foco de infestación en la parcela pepena o por el movimiento de broca desde otras parcelas. Repela solo fue menos eficaz que repela + pepena, pero en promedio superó a pepena.

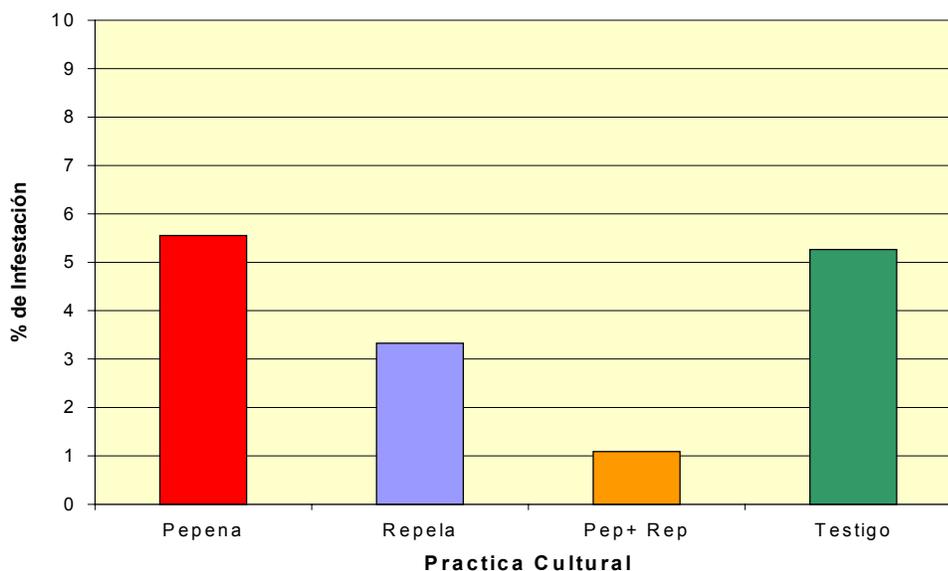


Figura 16 Porcentaje de infestación promedio (tres fechas de muestreo) de frutos de café por *Hypothenemus hampei* en cuatro parcelas sometidas a diferentes prácticas culturales

La práctica de la pepena (recoger los frutos viejos de café caídos en el suelo) es una labor tediosa y muy tardada. Muchas veces, es difícil conseguir gente que quiera realizar este trabajo. Aunque la pepena puede disminuir la infestación de broca en los frutos nuevos, pagar esta práctica solo resulta rentable cuando el precio del café es alto.

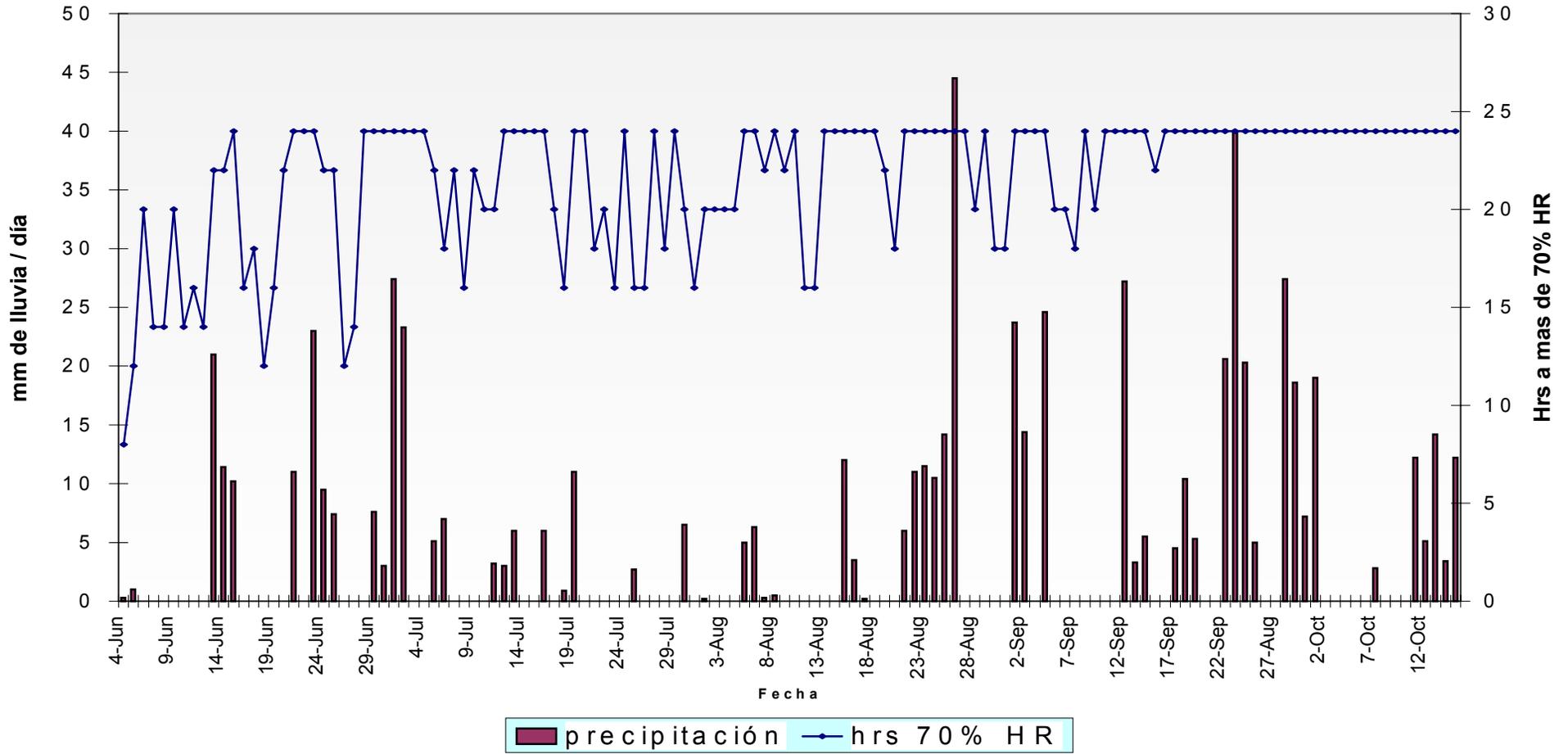


Figura 17 Precipitación y horas durante el día a más de 70% de humedad relativa.

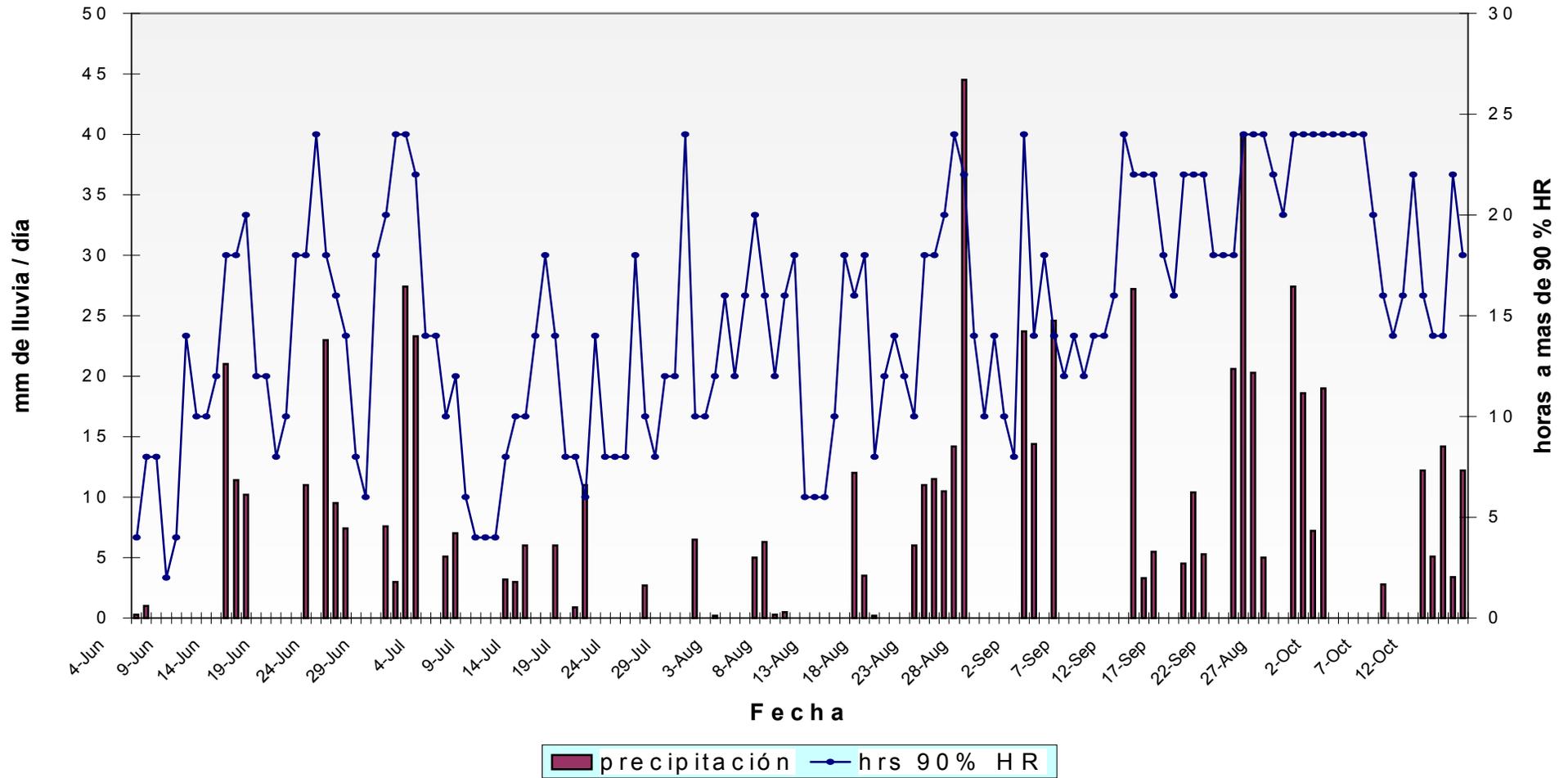


Figura 18 Precipitación y horas durante el día a más de 90% de humedad relativa.

3.6 DISCUSIÓN GENERAL

Uno de los factores limitantes de este estudio fue el tiempo, debido a que no se pudo determinar la curva epizootiológica en su totalidad. Además, el difícil manejo de un número elevado de muestras en términos de tiempo y costo limitó la cantidad de muestras tomadas. El impacto de las prácticas culturales (pepena y repela) es cuantificable en áreas grandes, por ésta razón no se tuvieron réplicas del experimento esto limitó el uso de pruebas estadísticas más complejas. La confiabilidad de la comparación de las prácticas de recolección de frutos residuales está sujeta al movimiento de broca desde refugios afuera de las parcelas evaluadas.

La persistencia de los hongos entomopatógenos en los diferentes microambientes es uno de los factores más determinantes para iniciar y mantener una epizootia. Una alta densidad de conidias y una distribución de las mismas en los microambientes donde frecuenta el hospedero incrementan la probabilidad de contacto entre el patógeno y el huésped (Tanada y Kaya, 1993).

El suelo en el cafetal y su microambiente es uno de los lugares más propicios para la persistencia de los hongos entomopatógenos. Según Gaugler *et al* (1989), el suelo actúa como un estabilizador de los extremos de temperatura y humedad reduciendo la pérdida de viabilidad de los hongos entomopatógenos.

Después de la cosecha en los cafetales donde se presenta una sola floración al año, la broca permanece en los frutos viejos en la planta y en los frutos viejos en el suelo (Figura 19). La broca que se encuentra en el fruto viejo en el suelo tiene más posibilidades de contactar conidias de *B. bassiana* que están en el suelo (12×10^3 UFC/10 cc de suelo) y en la superficie del fruto (7×10^3 UFC/25 frutos) y diseminar el patógeno hacia la parte aérea. En las condiciones de la finca y suponiendo que hubo poco movimiento de brocas desde refugios afuera de las parcelas evaluadas, la pepena influyó en la presencia de brocas enfermas en los frutos viejos en la planta. La prevalencia de micosis en los frutos viejos en la planta puede llegar a disminuir hasta en 6 veces en parcelas donde se realiza la pepena (Figura 12). Sin embargo, ni la pepena, ni la repela o ambas influyeron en la prevalencia de micosis en los frutos nuevos.

El fruto viejo en la planta también presenta en su superficie una buena densidad de conidias de *B. bassiana* (14×10^3 UFC/25 frutos). Esta densidad se mantiene a pesar de los factores de humedad relativa y luz, y puede ser un lugar potencial de contagio especialmente para brocas que llegan al fruto viejo en la planta buscando un nuevo refugio. La repela no afectó la prevalencia de micosis de *B. bassiana* en la broca que se encontraba en el fruto viejo en el suelo y presentó menor porcentaje de infestación (3.3%) de broca en los frutos nuevos que la pepena (5.55%).

La mejor manera de aprovechar la prevalencia natural de micosis causada por *B. bassiana* en la población de broca y a la vez disminuir la población de broca en los frutos nuevos sería esperar a que la mayor parte de la población de broca que se encuentra en el fruto viejo en el suelo salga a los frutos viejos en la planta. Este sería el mejor momento para

realizar la repela y así disminuiríamos la población de broca que ataca a los frutos nuevos sin afectar la prevalencia natural de micosis en los frutos nuevos. Probablemente, ésta práctica por sí sola no bajaría las poblaciones por debajo de los niveles críticos (1% de infestación) debido a que los frutos nuevos no presentan naturalmente una alta densidad de conidias que contacte a la broca. También sería importante evaluar cual sería el efecto neto de no hacer la repela cuando se presente una epizootía grande el año anterior.

No se observaron los patógenos *M. anisopliae* y *Paecilomyces* sp. infectando broca a pesar de haber encontrado conidias en el microambiente suelo, y en la superficie del fruto viejo en el suelo. Probablemente, las razas que se presentaron no son patógenicas para la broca del café.

Es necesario entender el complejo sistema plaga-planta-refugios-entomopatógenos-intervenciones humanas-ambiente para decidir el mejor manejo de la broca del café.

Figura 19. Movimiento de la broca del café *Hypothenemus hampei* en los diferentes refugios del cafetal

4. CONCLUSIONES

Los hongos entomopatógenos que se encontraron en el suelo fueron *B. bassiana*, *M. anisopliae* y en mayor cantidad *Paecilomyces* sp.

En el microambiente suelo existe una buena fuente de conidias de *B. bassiana* que puede contactar a la broca que sale de los frutos viejos. Esta densidad no varía grandemente de mayo a octubre.

Se recuperaron en las hojas del cafeto conidias del hongo *B. bassiana* y *Paecilomyces* sp. No se recuperó *M. anisopliae*, probablemente porque no hay diseminación de éste hongo hacia la parte aérea de la planta o porque es muy sensible a la luz.

En los frutos nuevos y frutos viejos de café en la planta, solo se recuperó *B. bassiana*. La densidad de conidias en los frutos nuevos en la planta fue baja comparando con los frutos viejos en el suelo.

Se encontraron los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *Paecilomyces* sp. en los frutos viejos en el suelo pero solamente se presentó micosis por *B. bassiana* en brocas extraídas de estos frutos.

La densidad poblacional de broca en los frutos viejos en la planta aumentó de junio a julio debido a la migración de brocas del fruto viejo en el suelo y a la metamorfosis de brocas inmaduras a adultas pero la densidad poblacional de broca en los frutos viejos en el suelo disminuyó de mayo a junio debido a que muchos de los frutos que cayeron al suelo germinaron y otros fueron invadidos por hongos saprófitos obligando a la broca a abandonar el refugio. La escasez de frutos nuevos de tamaño y consistencia adecuada por la falta de floraciones secundarias hizo que la broca se refugiara en los frutos viejos en la planta.

La pepena influyó en la prevalencia de micosis de *B. bassiana* en broca en los frutos viejos en la planta.

No hubo influencia de prácticas culturales pepena y repela en la prevalencia de micosis de *B. bassiana* en las brocas en los frutos nuevos en la planta posiblemente por el movimiento de brocas desde refugios afuera de las parcelas evaluadas.

La repela no influyó en la prevalencia de micosis en los frutos viejos en el suelo, además disminuyó la población de broca en los frutos nuevos.

5. RECOMENDACIONES

Debido a que el fruto viejo en el suelo es un lugar donde existe bastante probabilidad de contagio por conidias de *B. bassianana* en el exterior del mismo, y por las condiciones óptimas que se presentan, no es recomendable quitar los frutos viejos del suelo, además, esta labor es muy tardada, y muchas veces no hay mano de obra dispuesta a realizar este trabajo. Se recomienda validar el estudio en fincas comerciales en parcelas con una mayor área.

En el caso de que no se presenten floraciones secundarias, sería prudente realizar muestreos de los frutos viejos en el suelo y los frutos viejos en la planta, y esperar el momento en que la mayor parte de la población de broca haya migrado hacia los frutos viejos para realizar la repela y disminuir con una sola práctica la población del fruto viejo y del fruto nuevo. En este caso sería recomendable realizar estudios de prácticas de recolección de frutos residuales en diferentes épocas.

Debido a que en los frutos nuevos en la planta no existe una buena densidad de conidias de *B. bassiana* sería recomendable aumentar el inóculo del patógeno para disminuir pérdidas en la cosecha por broca.

6. BIBLIOGRAFIA

- ALVES, S. B. 1986. Controle Microbiano de Insectos. Ed. Manolo. Sao Paulo, Brazil. 407 p.
- BAKER, P. S.; BARRERA, J. F.; RIVAS, A. 1992. Life history of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*: Scolytidae) on coffee trees in southern Mexico. *Journal of Applied Ecology* 29: 656-662.
- BAKER, P. S.; BARRERA, J. F. 1993. A field study of a population of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), in Chiapas, Mexico. *Trop. Agric. (Trinidad)* 70(4): 351-355.
- BENZ, G. 1987. Environment. En: Epizootiology of Insect Diseases. J. R. Fuxa y Y. Tanada (eds.), John Wiley, New York. pp. 177-199.
- BERNAL, M. G.; BUSTILLO A. E.; CHAVEZ B. C.; BENAVIDES P. 1999. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en brocas (Coleoptera: Scolytidae) que emergen de frutos en el suelo. *Revista Colombiana de Entomología* 55 (1-2): 11-16.
- BUSTILLO, A. E.; CÁRDENAS, R. M; VILLALBA, D. A.; BENAVIDES, P. M; OROZCO, J. H.; POSADA, F. J. 1998. Manejo Integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. CENICAFE, Chinchiná, Colombia. pp. 30-102.
- CARPIO, C. 1999. Evaluación de procedimientos de laboratorio y muestreo para estudios de persistencia de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin en frutos de café. Tesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras. 60 p.
- CARRUTHERS, R. I.; SOPER, R. S. 1987. Fungal diseases. En: Epizootiology of Insect Diseases. J. R. Fuxa y Y. Tanada (eds.), John Wiley, New York. pp. 357-416.
- CLERCK, G. C; MADELIN , M. F.1965. The longevity of conidia of three insect parasitizing Hyphomycetes. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 48: 193.
- FERRON, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. En: Microbial Control of Pest and Plant Diseases. Burgues, H. D. (Ed). Academic Press, London. pp. 465-482.
- GAUGLER, R.; COSTA, D. S.; LASHOMS, J. 1989. Stability and efficacy of *Beauveria bassiana* soil inoculations. *Environ. Entomol.* 18(3): 412-417.
- GLARE, T. R.; MILNER, R. J. 1991. Ecology of entomopathogenic fungi. En:

Handbook of Applied Mycology: Humans, Animals and Insects. Dilip K. Arora, Libero Ajello y K.G. Muekerji (eds.). Marcel Deckker Inc. N. Y. Vol 2. pp. 547-612.

- GOETTEL, M. S.; INGLIS, D. 1997. Fungi: Hyphomycetes. En: Manual of Techniques in Insect Pathology. Biological Techniques Series. pp. 213-249.
- JAMES, R. R.; CROFT, B. A.; SHAFER B. T.; LIGHTHART, B. 1998. Impact of temperature and humidity on host-pathogen interactions between *Beauveria bassiana* and a coccinellid. *Environmental Entomology* 27(6): 1506-1513.
- QUINTELA, E. D.; LORD, J. C.; ALVES, S. B.; ROBERTS, D. W. 1992. Persistencia de *Beauveria bassiana* em solo de cerrado e sua interacao com microorganismos do solo. *An. Soc. Ent. Brasil* 21 (1): 69-82.
- SPONAGEL, K. W. 1994. La broca del café *Hypothenemus hampei* en plantaciones de café robusta en la Amazonía Ecuatoriana. Giessen. Alemania Wissuchftlicher Kachverlag. 279 p.
- TANADA, Y. 1968. Epizootiología de las enfermedades de insectos. En: Control Biológico de las Plagas de Insectos y Malas Hierbas. P. de Bach (ed.). Mexico D.F. Continental. pp.647-678
- TANADA, Y.; FUXA, J. R. 1988. The pathogen population. En: Epizootiology of Insect Diseases. J. R. Fuxa y Y. Tanada (eds.), John Wiley, New York. 113-157
- TANADA, Y.; KAYA, H. 1993. Insect Pathology. Academic Press Inc. Ca. USA. 666 p.
- TOBAR, N.; GONZALEZ, M. T.; POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E. 1998. Desarrollo de un bioensayo para evaluar la patogenicidad de *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei*. *CENICAFÉ* 44(3): 93-102.
- VEGA, F. 1998. Entomogenous fungi in tropical forest ecosystems: An appraisal. *Ecological Entomology* 7: 47-60

ANEXO 1

**Protocolo para la preparación de medio de cultivo
selectivo para *Beauveria bassiana***

Materiales para 1L de medio de cultivo (aproximadamente 50 platos petri):

20 g de Gerber Oat Meal
20 g de Bacto agar
500 mg de Cloranfenicol
250 mg de Ciclohexamida
10 mg de Cristal violeta
0.6 g de Dodine
1,000 ml de agua destilada

Preparación:

1. Autoclave los 20 g de Gerber Oat Meal con los 1,000 ml de agua de destilada por un periodo de 20 minutos.
2. Filtre la suspensión y agregue agua destilada hasta llegar a 1 L
3. Agregue Dodine y Cloranfenicol y autoclave nuevamente por un periodo de 20 minutos.
4. Deje enfriar la suspensión hasta que esté a la temperatura de su mejilla (40°C).
5. Agregue la Ciclohexamida y el Cristal violeta y mezcle la solución.

ANEXO 2

Datos promedio de UFC de *Beauveria bassiana*

SUELO

Muestreo	Repela	Pepena	Rep + Pep	Testigo
4-Jun	8.8E+03	4.0E+03	5.5E+03	1.1E+04
18-Jun	6.5E+03	6.0E+03	6.5E+03	7.5E+03
7-Jul	1.0E+04	5.3E+03	8.5E+03	6.3E+03
19-Jul	7.5E+03	4.0E+03	4.8E+03	9.3E+03
6-Aug	1.2E+04	9.0E+03	1.2E+04	2.0E+04
14-Aug	1.1E+04	9.0E+03	1.3E+04	1.0E+04
17-Sep	2.0E+04	1.4E+04	2.1E+04	9.0E+03
15-Oct	9.8E+03	8.3E+03	1.5E+04	8.8E+03

HOJAS

Muestreo	Repela	Pepena	Rep + Pep	Testigo
4-Jun	1.1E+03	8.1E+02	3.8E+03	1.6E+03
18-Jun	3.8E+02	1.7E+03	6.9E+02	5.4E+03
7-Jul	3.1E+02	1.1E+03	6.9E+02	5.1E+03
19-Jul	2.2E+03	1.9E+03	1.4E+03	4.9E+03
6-Aug	2.1E+03	4.3E+03	1.8E+03	4.6E+03
14-Aug	4.1E+03	4.3E+03	1.3E+03	4.3E+03
17-Sep	8.8E+02	2.3E+03	1.1E+03	8.3E+03
15-Oct	1.1E+03	1.3E+03	4.5E+03	2.8E+03

FRUTOS NUEVOS DE LA PLANTA

Muestreo	Repela	Pepena	Rep + Pep	Testigo
14-Aug	2.5E+02	1.3E+02	2.5E+02	1.1E+03
17-Sep	6.3E+01	1.8E+03	3.1E+02	6.9E+02
15-Oct	6.3E+01	2.5E+02	6.3E+01	6.3E+01

FRUTOS SECOS EN EL SUELO

Muestreo	Repela	Testigo
4-Jun	8.E+03	9.E+03
18-Jun	2.E+03	6.E+03

FRUTOS SECOS EN LA PLANTA

Muestreo	Pepena	Testigo
4-Jun	8.1E+03	1.2E+04
18-Jun	5.9E+03	1.7E+04

ANEXO 3

Datos promedio de UFC de *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces* sp.**SUELO *Metarhizium anisopliae***

Muestreo	Repela	Pepena	Rep + Pep	Testigo
4-Jun	2.0E+03	8.0E+03	3.0E+03	6.0E+03
18-Jun	6.0E+03	3.5E+03	5.5E+03	8.0E+03
7-Jul	1.2E+04	7.0E+03	1.4E+04	1.5E+04
19-Jul	1.2E+04	9.0E+03	6.0E+03	3.3E+04
6-Aug	4.5E+03	1.0E+03	4.0E+03	7.0E+03
14-Aug	6.0E+03	2.0E+03	3.0E+03	7.0E+03
17-Sep	1.8E+04	4.5E+03	4.8E+03	2.4E+04
15-Oct	2.1E+04	7.5E+03	1.6E+04	2.7E+04

SUELO *Paecilomyces* sp.

Muestreo	Repela	Pepena	Rep + Pep	Testigo
4-Jun	3.1E+04	1.7E+04	3.3E+04	1.0E+04
18-Jun	3.0E+04	3.5E+04	1.6E+04	2.1E+04
7-Jul	2.5E+04	4.3E+04	2.5E+04	2.5E+04
19-Jul	2.1E+04	3.2E+04	2.3E+04	2.9E+04
6-Aug	5.9E+04	5.8E+04	3.9E+04	4.3E+04
14-Aug	6.1E+04	6.0E+04	3.4E+04	3.9E+04
17-Sep	7.7E+04	8.9E+04	3.8E+04	3.1E+04
15-Oct	3.3E+04	5.0E+04	2.5E+04	3.0E+04

HOJAS *Paecilomyces* sp.

Muestreo	Repela	Pepena	Rep + Pep	Testigo
4-Jun	1.9E+02	6.3E+01	6.3E+01	7.5E+02
18-Jun	1.3E+02	1.3E+02	0.0E+00	6.3E+01
7-Jul	6.3E+01	0.0E+00	0.0E+00	6.3E+01
19-Jul	1.3E+02	0.0E+00	0.0E+00	6.9E+02
6-Aug	2.5E+02	1.0E+03	0.0E+00	0.0E+00
14-Aug	6.3E+01	7.5E+02	0.0E+00	1.2E+03
17-Sep	0.0E+00	6.8E+03	4.3E+03	7.3E+03
15-Oct	2.5E+02	5.3E+03	2.5E+02	7.5E+02

FRUTOS EN EL SUELO

Paecilomyces sp.

Fecha	Repela	Testigo
4-Jun	5.56E+03	5.31E+03
18-Jun	1.68E+04	3.06E+03

FRUTOS EN EL SUELO***Metarhizium anisopliae***

Fecha	Repela	Testigo
4-Jun	6.25E+01	0.00E+00
18-Jun	8.13E+02	6.25E+01