



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**ESTRATEGIAS BIOLÓGICAS, BOTÁNICAS Y QUÍMICAS PARA EL
MANEJO DE *Hypothenemus hampei* FERRARI, EN TRES ZONAS
CAFETALERAS DE HONDURAS**

IRIS DANELIA GUARDADO MATEO

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencias Agrícolas

Palmira, Colombia

2023

**ESTRATEGIAS BIOLÓGICAS, BOTÁNICAS Y QUÍMICAS PARA EL
MANEJO DE *Hypothenemus hampei* FERRARI, EN TRES ZONAS
CAFETALERAS DE HONDURAS**

IRIS DANELIA GUARDADO MATEO

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias Agrarias

Director

Eyder Daniel Gómez Ph. D

Codirector

Isaura Viviana Rodríguez PhD

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Maestría en Ciencias Agrarias,

Línea de investigación en Protección de cultivos

2023

Dedicatoria

A Dios todo poderoso quien ha sido mi guía, fortaleza y su mano de fidelidad y amor han estado conmigo siempre.

A mis padres Domingo Guardado y Delma Mateo, por sus innumerables sacrificios que han realizado, por su amor, comprensión y cariño.

A mis hermanos, Fani Patricia y Carlos Domingo por su cariño, comprensión y apoyo.

A mi sobrina Hazel Samira.

Para ellos con todo mi amor y cariño.

Agradecimientos

A Dios todo poderoso por permitirme culminar una etapa más en mi formación académica.

A mis padres, Domingo Guardado y Delma Mateo, quienes con su incansable esfuerzo me han brindado la oportunidad de realizarme profesionalmente, por creer en mis expectativas, por sus consejos, su amor comprensión y apoyo.

A mi familia por estar ahí siempre brindándome amor y apoyo cada día.

A mi director, Eyder Daniel Gómez y mi codirectora Isaura Viviana Rodríguez, por su orientación, su apoyo, por haber compartido sus conocimientos de manera profesional e invaluable. Para ustedes siempre mi respeto y cariño.

A la profe Nora Cristina Mesa por abrir las puertas para este gran proyecto, por ser más que una consejera a lo largo de esta formación académica, por ser una profesional humilde, sencilla y que busca siempre lo mejor para sus estudiantes.

A Dianita Herrera, más que mi apoyo mi amiga, al Ingeniero Ángel Trejo por brindarme las herramientas necesarias para llevar a cabo dicha investigación, a Jesús Montufar, Bryan Manuel, don Miguelito y todo el equipo de manejo integrado de plagas del IHCAFÉ de Ilima y de Las Lagunas, San José, la Paz, campo por su amistad y por todo el apoyo que me brindaron en el lapso de la investigación, a Rodolfo Cáceres por el apoyo en ensayos de

A, Alexis Josué Vallecillo Godoy, por su disposición y apoyo incondicional.

A Jairo Chalarca, Norbey Marín, Héctor Achica por su apoyo en los análisis de datos.

A la Universidad Nacional de Colombia por abrirme las puertas de su campus y a todos los profesores que con su enseñanza hicieron posible culminar con éxito esta misión.

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Luis D. ...", is written above a horizontal line. The signature is stylized and includes a large flourish.

Nombre

Fecha 05/03/2023

Resumen

Estrategias biológicas, botánicas y químicas para el manejo de *Hypothenemus hampei*
FERRARI, en tres zonas cafetaleras de Honduras

Con el objetivo de reducir los niveles de incidencia y la disminución del daño causado por *Hypothenemus hampei* en el cultivo de café, se evaluaron estrategias biológicas, botánicas y químicas. El estudio se realizó en el laboratorio de fito protección del (IHCAFE) donde se realizó un aislamiento de *Beauveria bassiana* nativo de la zona, obteniendo un rendimiento de 5.49×10^8 con/g de arroz. Se evaluó características de calidad del hongo *B. bassiana* y de tres formulaciones comerciales del mismo (T1, T2 y T3). Se evaluó la mortalidad de 11 tratamientos en condiciones de laboratorio, en mangas entomológicas y campo abierto (3 regiones de Honduras), en campo abierto también se evaluó la posición de penetración de la broca al fruto. Se realizaron análisis estadísticos y de comprobación. En laboratorio se encontró que el T10, T7, T6 y T8 registraron los mejores resultados matando el 100% de *H. hampei* en todas las evaluaciones, el tratamiento 5 causó una mortalidad del 95% para todas las horas evaluadas y en tercer lugar fue para el tratamiento 9, con una mortalidad de 69%. En campo el tratamiento (T10) fue el que registró la mayor mortalidad a través de las evaluaciones, con un rango de 80.9% en la primera evaluación y 5% a 35 DDA, seguido de los tratamientos (T8, T2, T7 y T4) con un rango de 30 y 7%. Para la mortalidad en manga según el análisis probit, el TL50 varió entre 16.8 a 42.7 días. Los tratamientos (T10, T7 y T4) fueron los únicos tratamientos que alcanzaron en menos de 28 días el tiempo requerido para causar la mortalidad del 50% de la población de la broca. Según los resultados del análisis de agrupamiento para la variable posición a los 14 días después de la aplicación los tratamientos (T10, T5 y T8), agrupados en el cluster 3 fueron el grupo más eficaz al controlar la broca con un porcentaje únicamente del 12% en la posición C, en cambio, para los 35 días los tratamientos con un bajo porcentaje de brocas en las últimas posiciones (C y D) fueron (T4, T5, T2 y T3) agrupados en el clúster 2 (C; 36% y D; 2.5%) y el T10 y T8 ubicados en el clúster 4 (C; 22% y D; 0.4%).

Palabras claves: Broca del café, *Beauveria bassiana*, parámetros de calidad, mortalidad, posición de penetración.

Abstract

Biological, botanical and chemical strategies for the management of *Hypothenemus hampei* FERRARI, in three coffee areas of Honduras

This research aimed to reduce the incidence levels and the damage caused by *Hypothenemus hampei* in coffee (*Coffea arabica*). This study evaluated biological, botanical, and chemical strategies for managing the coffee berry borer. This project was conducted in the Plant Protection Laboratory at the National Institute of Coffee (IHCAFE, by its acronym in Spanish). A native isolate was isolated, obtaining a yield of 5.49×10^8 with/g of rice. Quality characteristics of the fungus *Beauveria bassiana* and three commercial formulations made from it (T1, T2 and T3) were evaluated. The mortality using 11 treatments was evaluated under laboratory conditions, sweep nets, and in an open field (three regions of Honduras). Also, the penetration position in the fruit was considered and carried out in outdoor conditions. Analysis of variance (ANOVA), mean comparison, probit, and cluster analysis were performed according to the minimum distance algorithm (K-means). Laboratory results showed that insecticides Brusko® (T10), Bio-Insect® (T7), Bestfly® (6), and Pírex® (T8) registered 100% of mortality in all the evaluations. BestGrow® treatment (T5) caused a mortality of 95% for all the hours evaluated, and treatment 9 (Cadexsa) was 69% of the death rate. In field conditions, treatment T10 registered the highest mortality throughout the evaluations, with a range of 80.9 and 5%, followed by the treatments T8, T2, T7 and T4 with a range of 30 and 7%. According to the probit analysis, the TL50 varied between 16.8 to 42.7 days for the mortality in sweep nets. The treatments T10, T7 and T4 were the only insecticides that reached the time required to kill 50% of the *H. hampei* population in less than 28 days. Grouping analysis for the Position variable at 14 days after application showed that T1, T5 and T8 (grouped in cluster 3) were the most significant in controlling the coffee borer (12% in position C). On the other hand, for 35 days, the insecticides with a low percentage of coffee borers in the last positions (C and D) were T4, T5, T2 y T3 grouped in cluster 2 (C; 36% and D; 2.5%) and treatments T10 and T8 located in cluster 4 (C; 22% and D; 0.4%).

Keywords: Coffee borer, *Beauveria bassiana*, quality parameters, mortality, penetration position.

Contenido

Resumen	6
Lista de figuras	10
Lista de tablas.....	11
Lista de anexos.....	12
I. Introducción	13
II. Objetivos.....	15
2.1 Objetivo general:	15
2.2 Objetivos específicos:.....	15
III. Revisión de literatura.....	16
3.1. Generalidades del café.....	16
3.1.1 Importancia del café en Honduras.....	16
3.1.2. Zonas productoras de café en Honduras	16
3.1.3 Clasificación y Taxonomía del café: (<i>Coffea arabica</i>).....	17
3.2. Problemas fitosanitarios en el cultivo de café	18
3.2.1. Importancia y distribución geográfica de <i>H. hampei</i>	18
3.2.2 Clasificación taxonómica de <i>H. hampei</i>	19
3.2.4 Dispersion de <i>H. hampei</i>	19
3.2.5 Daños provocados por el insecto	20
3.2.6 Ciclo de vida de <i>H. hampei</i>	21
3.3 Métodos de control	22
3.3.2 Control Cultural	23
3.3.3 Control Biológico	23
3.3.4 Control Químico.....	25
3.4 Características de las moléculas evaluadas.....	26
IV. Materiales y métodos.....	28
4.1 Ubicación del estudio.....	28
4.2. Fase de campo	28
4.2.1 Recolección del hongo <i>B. bassiana</i>	28
4.3 Fase de laboratorio	28
4.3.1 Aislamiento del hongo <i>B. bassiana</i> , cepa silvestre	28
4.3.2 Purificación del hongo <i>B. bassiana</i>	29

4.3.3 Selección de impurezas, lavado e hidratado del arroz	29
4.3.4 Propagación y maduración del hongo <i>B. bassiana</i>	30
4.3.5 Cosecha del Hongo <i>B. bassiana</i>	30
4.4 Evaluación de parámetros de calidad de <i>B. bassiana</i>	32
4.4.1 Pureza.....	32
4.4.2 Porcentaje de germinación o viabilidad de los conidios.....	33
4.4.3 Crecimiento Radial.....	33
4.5 Aplicación de los tratamientos en laboratorio.....	34
4.5.1 Metodología de aplicación de los tratamientos	34
4.5.2 Tratamientos y dosis de aplicación en laboratorio	35
4.5.3 Diseño experimental.....	35
4.5.4 Variables de respuesta	37
4.6 FASE DE CAMPO	37
4.6.1 Descripción de las áreas en estudio	37
4.6.2 Aplicación de los tratamientos	38
4.6.3 Tratamientos y dosis de aplicación en campo.....	40
4.6.4 Variables evaluadas.....	40
4.6.5 Aplicación de tratamientos con infestación artificial	41
V. Resultados.....	45
5.1 Caracterización morfológica	45
5.2 Pruebas de calidad.....	46
5.3 Mortalidad de tratamientos en laboratorio	50
5.4 Mortalidad en campo	52
VI. Discusión.....	66
VII. Conclusiones.....	77
VIII. Anexos	79
IX. Bibliografía.....	80

Lista de figuras

Figura 1 Regiones cafetaleras de Honduras.....	17
Figura 2. Posiciones de penetración en el fruto	20
Figura 3. Ciclo de vida de la broca del café, <i>H. hampei</i> (Ferrari)	21
Figura 4. (A) Broca atacada por un entomopatógeno; (B) Broca atacada por un parasitoide	25
Figura 5. Procedimiento para realizar el aislamiento del aislado nativo.....	31
Figura 6: Procedimiento para la evaluación de la variable Pureza	32
Figura 7. Base de madera para la toma de fotografía diariamente	34
Figura 8. Procedimiento para la evaluación de tratamientos bajo condiciones de laboratorio.....	36
Figura 9: Ubicación geográfica de las tres fincas donde se realizaron los ensayos.....	38
Figura 10. Procedimiento para la evaluación de tratamientos en condiciones de campo. 39	
Figura 11. Niveles de posición de penetración de la broca en frutos de café.	41
Figura 12. Procedimiento para la evaluación de tratamientos de manera artificial usando mangas entomológicas.....	42
Figura 13. Crecimiento de Colonias multiesporicas de <i>B. bassiana</i>	45
Figura 14. A. Bolsas con arroz el día de la inoculación con <i>B. bassiana</i> . B. día 15 después de la inoculación en sustrato arroz.....	46
Figura 15: Aislados de hongos contaminantes encontrados en el tratamiento 1 y T2 A. Vista de <i>Penicillium</i> en medio PDA y bajo microscopio B. Vista de <i>Aspergillus</i> en medio PDA y bajo microscopio C. Vista de <i>Fusarium</i> y bajo microscopio.....	48
Figura 16: Aislamiento contaminante (<i>Trichoderma</i>) del T1.....	49
Figura 17. Comportamiento de la variable crecimiento radial en productos a base de <i>Beauveria bassiana</i> según los días de evaluación.	49
Figura 18. Mortalidad en laboratorio.....	50
Figura 19. Tiempo letal de mortaidad.....	51
Figura 20. Mortalidad de <i>H. hampei</i> en tres Zonas cafetaleras de Honduras	53
Figura 21. Tiempo letal de mortalidad en dos zonas cafetaleras	57
Figura 22. Tiempo letal de mortalidad en la zona de Márcala	58
Figura 23. Agrupamiento de cluster 14 días después de la aplicación.....	59
Figura 24. Agrupamiento de cluster 35 días después de la aplicación.....	61
Figura 25. Tiempo letal de mortalidad usando infestación artificial.....	65

Lista de tablas

Tabla 1. Comparación de medias de cuatro productos a base de <i>B. bassiana</i> para las variables pureza, viabilidad y diámetro de crecimiento radial.	47
Tabla 2. Análisis de varianza combinado con su significancia para la variable mortalidad de <i>H. hampei</i> ocasionada por el uso de tratamientos evaluados en tres zonas cafetaleras de Honduras.	52
Tabla 3. Análisis de media para la variable mortalidad en poblaciones de adulto <i>H. hampei</i> ocasionada por el uso de 10 tratamientos evaluados en tres zonas cafetaleras de Honduras.	55
Tabla 4. Tiempo letal medio de poblaciones de adulto <i>Hypothenemus hampei</i> ocasionada por el uso de 10 tratamientos evaluados en tres regiones cafetaleras de Honduras.	56
Tabla 5. Prueba de media para los Clúster según el porcentaje de broca de acuerdo a la posición en el fruto	60
Tabla 6. Prueba de media para los clústeres según el porcentaje de broca <i>H. hampei</i> de acuerdo a la posición en el fruto a los 35 días después de la aplicación de tratamientos.	63
Tabla 7. Tiempo letal medio de adulto <i>H. hampei</i> en condiciones de mangas entomológicas.	64

Lista de anexos

Anexo 1. Analisis Fitopatológico de Medio de Cultivo	79
---	----

I. Introducción

El café, esa bebida estimulante y aromática tan difundida a nivel mundial, se conoce su origen en las tierras de Abisinial, (actual Etiopia) (Figuroa, Pérez, & Godínez, 2012). (*Coffea arábica*) es uno de los cultivos de mayor importancia a nivel mundial, debido a que presenta gran impacto económico en especial en países en vías de desarrollo (Villalta & Gatica, 2019). El café se considera después del petróleo el producto de mayor importancia internacionalmente en el mercado, en este se basa la economía de más de 50 países formando así el 75% de las exportaciones de diversos países de Latinoamérica (Romero & Rojas, 2004). En Honduras el café se introdujo de Guatemala, su cultivo inició cerca del año 1778, y en la actualidad es de suma importancia para la economía del país; 102 mil familias se dedican a su producción en 15 de los 18 departamentos del país, alcanzando así a cultivar 229,816 hectáreas (Álvarez, 2018), siendo esta producción proveniente de productores pequeños con áreas cultivadas de menos de 2 hectáreas (Rosales, 2020).

Datos del Instituto Hondureño del café (IHCAFE, 2010-2011), el 97% de la producción de café en Honduras es destinada para exportación y el 3% restante de la producción nacional es procesado y destinado para el consumo interno. Honduras se sitúa en el quinto país exportador a nivel mundial, desplazando a la India que pasó al sexto lugar, aportando 5% del café producido mundialmente (IHCAFE, 2017). En los cultivares de café siempre existen factores limitantes para su producción extensiva, tales como; artrópodos plagas que atacan diversos órganos de la planta, entre ellas se destaca a *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) considerado como el insecto plaga de mayor importancia de la caficultura en todos los países productores de café, debido a los daños económicos que ocasiona, siendo un factor limitante para la exportación y comercialización del producto en el mercado (Morris & Perfecto, 2016).

La idea de convivir con esta plaga se ha tomado en cuenta, por lo que se debe lidiar para disminuir los niveles de infestación a valores que sean aceptables económicamente; el manejo de *H hampei* debe enfocarse a un programa de Manejo Integrado para que sea eficaz, donde se integren factores económicos y de impacto ambiental, considerando los componentes del ecosistema cafetalero y sus múltiples interacciones (Camilo, Olivares, & Jimenez, 2003). Constantemente se toma en cuenta evaluar diversos productos que causen

efectos adversos sobre *H. hampei*, así como; la muerte y repelencia de adultos de broca o la disminución en su reproducción y daños en el desarrollo de los estadios en fase inmaduros (Tapias, Martínez, Benavides, & Gongora, 2017).

Debido a la necesidad por encontrar nuevas alternativas naturales para el manejo de artrópodos plaga y en lo posible sustituir los plaguicidas de síntesis química se muestran los insecticidas de origen botánico, ofreciendo una alternativa mas segura que los sintéticos (Bustamente, 2007). Es importante tomar en cuenta que dentro de un plan de manejo integrado de *H. hampei*, se realice el empleo de hongos entomopatógenos, ya que son considerados ambientalmente seguros y económicos (Diaz *et al.*, 2003). *B. bassiana* ha sido utilizado en la mayoría de las zonas cafetaleras infestadas con broca, posicionándose en el factor de mortalidad natural de mayor relevancia para este artropodo.

En Honduras las investigaciones relacionadas al tema son pocas y existe la necesidad de ofrecer una mayor confianza en la adopción de nuevas tecnologías a los caficultores y extensionistas, ya que cada dia hay mas exigencia por los mercados internacionales de certificación en el uso de pesticidas, por tal razón, esta investigación tiene como objetivo la implementación de nuevas técnicas de manejo de *H. hampei*, incluyendo estrategias de control con insecticidas botánicos, biológicos y a ultima instancias el control quimico, complementado con el uso de un aislamiento nativo de *B. bassiana* adaptado a las condiciones agroclimáticas de la zona, este ocurre de forma natural en los cafetales, además su producción masiva es sencilla y de bajo costo; siendo esta, una estrategia que desde el punto de vista científico hace posible explotar el enorme potencial biológico de *B. bassiana*, y a corto, largo y mediano plazo beneficiara a pequeños caficultores a tener menos carga residual en los frutos de café y favorecer la caficultura organica de manera que el producto final sea mas competitivo en el mercado.

II. Objetivos

2.1 Objetivo general:

Evaluar estrategias biológicas, botánicas y químicas para el manejo de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari, en el cultivo de café (*Coffea arabica*) en condiciones de Honduras.

2.2 Objetivos específicos:

Evaluar un aislamiento nativo del hongo entomopatógeno *B. bassiana* y su efectividad sobre la broca del café (*H. hampei*).

Evaluar los parámetros de calidad de dos tratamientos a base de *Beauveria bassiana* (T1 y T2) y el (T3) a base del mismo en mezcla con *Metharrizium anisopliae*.

Determinar en condiciones de laboratorio la mortalidad de las aplicaciones de extractos botánicos (T5, T6, T7, T8) hongos entomopatógenos (T1, T2, T3) el ingrediente activo Clorpirifos (T10) y un testigo absoluto (T11).

Evaluar en condiciones de campo el efecto sobre la broca de café (*H. hampei*), de las aplicaciones de extractos botánicos, hongos entomopatógenos, el ingrediente activo (Clorpirifos) y un testigo absoluto en tres zonas cafetaleras de Honduras

Determinar el efecto que causan las aplicaciones de extractos botánicos, hongos entomopatógenos, el ingrediente activo Clorpirifos sobre la broca de café (*H. hampei*), usando infestación artificial.

III. Revisión de literatura

3.1. Generalidades del café

El café es uno de los más importantes cultivos, por lo que se evalúa en diversos ámbitos; agronómicos, genéticos, culturales, económicos y turísticos (Enríquez, Retes, & Vásquez, 2020). Las especies de café que presentan relevancia económica, propiedades botánicas y calidad de taza, en base a lo exigido en el mercado internacional, son: *Coffea arabica*, *Coffea canephora* y *Coffea liberica*. (Gómez, Ramos, Alegría, Rodríguez, & Martínez, 2010). Se atribuye su origen en las tierras de Abisinial, “actual Etiopía” a alturas de 1500 msnm. En los países productores de café, el 85% de caficultores siembran *Coffea arábica* y el 15% otras especies de interés económico para cada país (Decazy, 1981)

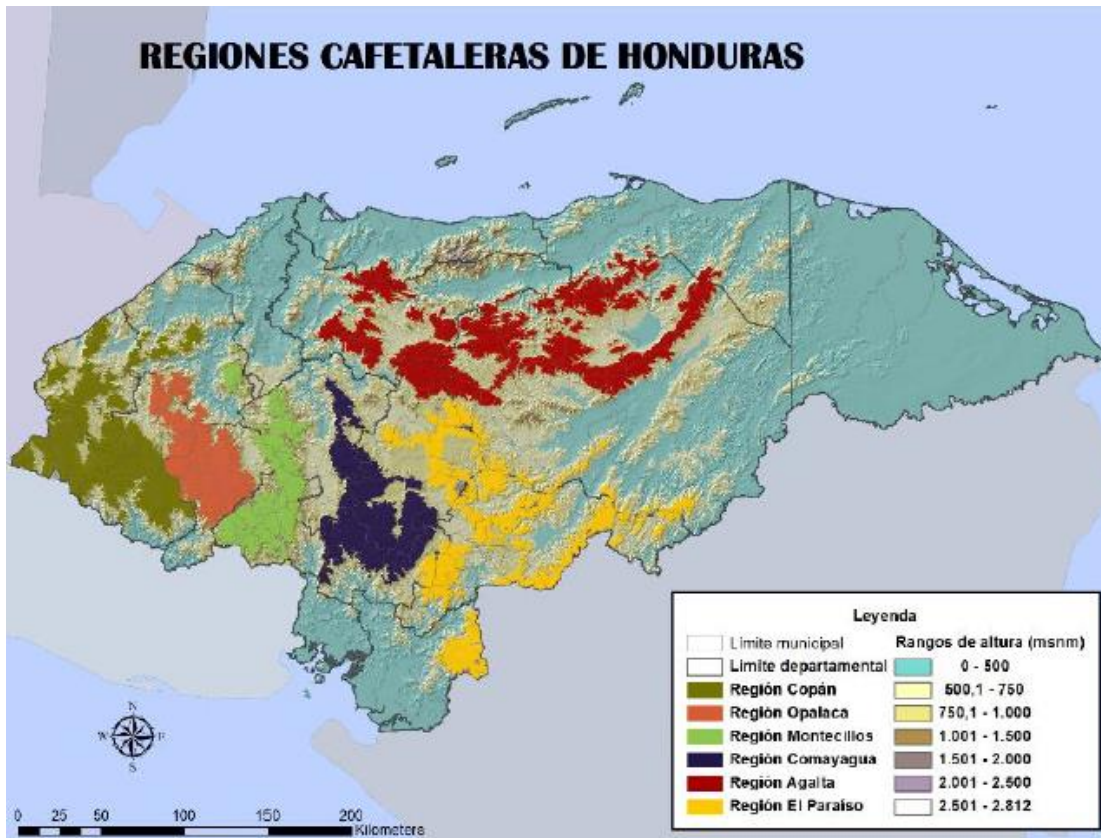
3.1.1 Importancia del café en Honduras

La cadena del café de Honduras coopera al desarrollo económico del país, tanto por las exportaciones y producción, como por su contribución a las finanzas públicas. Es una sección dinámica con potencial de mayor desarrollo en la calidad, productividad y precios (Ruerd, Paul, Ponsioen, & Meneses, 2018). Según reportes del IHCAFE se registran más de 100,000 familias dedicadas a este rubro, alcanzando a cultivar 229.816 ha en 15 departamentos del país, esta producción proviene de productores pequeños con áreas cultivadas de menos de 2 hectáreas (Rosales, 2020).

3.1.2. Zonas productoras de café en Honduras

En Honduras se cultiva café en 15 de los 18 departamentos de la república, a excepción de las Islas de la Bahía, Gracias a Dios y Valle (Romero & Sibrian, 2016). Debido a la relevancia de este sector y al número de familias que están relacionadas en el rubro de la producción y comercio de dicho cultivo, se han definido 6 regiones cafetaleras con distintas cualidades a lo largo de su cadena productiva-comercial. Estas regiones cafetaleras dan origen a las producciones con superior volumen en el territorio: Copán, Opalaca, Montecillos, Comayagua, Agalta y El Paraíso (Romero, 2019). Cada región presenta características diferentes en crecimiento de la cadena, infraestructura, comercialización, organización y especialización en mercados internacionales (Ruerd *et al.*, 2018).

Figura 1 Regiones cafetaleras de Honduras



Tomado de: (Ruerd *et al.*, 2018).

3.1.3 Clasificación y Taxonomía del café: (*Coffea arabica*) según (Mazorca, 1986)

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Sub División:	Angiosperma
Clase:	Magnoliopsida
Familia:	Rubiaceae
Género:	<i>Coffea</i>
Especie:	<i>C. arabica</i> , <i>C. canephora</i> , <i>C. liberica</i>

3.2. Problemas fitosanitarios en el cultivo de café

Se han reportado diferentes artrópodos plaga en áreas donde se cultiva café, pero solamente algunas son de interés económico para este cultivo, tales como; la broca del café *Hypothenemus hampei*, las cochinillas harinosas de las raíces (Hemiptera: Pseudococcidae), el minador de las hojas, *Leucoptera coffeellum* (Lepidoptera: Lyonetiidae), entre otras (Gil, 2010), estas plagas pueden afectar desde la fase de semillero, llegando hasta la etapa de almacenamiento, atacando diversas partes de la planta (raíces, hojas, tallos, ramas, flores y frutos), causando bajos rendimientos y baja calidad del café. El daño causado puede diferir de acuerdo a las condiciones climáticas, la especie, la edad del cultivo y las condiciones de la planta (Gómez *et al.*, 2010).

3.2.1. Importancia y distribución geográfica de *H. hampei*

H. hampei, (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) se considerada el insecto plaga más importante de la caficultura en Colombia y en todos los países productores de café (Bustillo, 2006). Este al pasar el mayor tiempo de su ciclo de vida alimentándose del grano de café causa pérdidas considerables en cantidad y calidad de la producción (Barrera, Herrera, Villacorta, Garcia, & Cruz, 2006). En el continente Americano la broca fue introducida a Brasil en 1913 (Bustillo, 2008). Un análisis de distribución universal de la broca, a través de herramientas moleculares y ampliación de cientos de loci, a partir de muestras procedentes de 17 países en 3 continentes (África, América y Asia), señalan que la broca del café primeramente fue introducido a Asia y seguidamente a América con insectos que provenían del Occidente de África por medio de la comercialización de este grano (Bustillo, 2006).

En Colombia se registró por primera vez en el sur del departamento de Nariño en 1988, y debido a condiciones favorables su dispersión fue rápida, así mismo en Honduras la plaga fue detectada en 1977 (Bustillo, 2008), por falta de conocimientos por parte de los técnicos y agricultores, sobre los enemigos naturales, de su biología y comportamiento, esta plaga se incrementó y fue diseminada en todas las zonas cafetaleras del país (Barrantes, 2007).

3.2.2 Clasificación taxonómica de *H. hampei* según (Bonilla, 1997)

Reino	metazoa
Filo	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Coleoptera
Sub orden	Polyphaga
familia	Curculionidea
Sub familia	Scolytinae
Género	<i>Hypothenemus</i>
Especie	<i>H. hampei</i>

3.2.3 Plantas Hospedantes

Las plantas hospedantes se clasifican en dos categorías; hospedantes primarias que se encuentran aquellas que son indispensables para que *H. hampei* pueda alimentarse y reproducirse, la mayoría de los investigadores citan a los granos de diferentes especies del género *Coffea* como único hospedero primario; mientras que a las plantas hospedantes secundarias o alternas que son aquellas que el insecto utiliza como alimento o escondijo temporal pero no puede reproducirse en ellas, se menciona a las especies *Oxyanthus* spp., *Dalium laucortinana* y *Cajanus cajan*. (Decazy, 1981).

3.2.4 Dispersion de *H. hampei*

H. hampei como muchos insectos, emplea la migración como mecanismo de supervivencia, el fenómeno de dispersión se ve directamente influenciado por factores abióticos y bióticos, como la intensidad lumínica, temperatura, lluvia, condición del fruto, fisiología del insecto etc. y en él participan únicamente las hembras colonizadoras ya que los machos no tienen capacidad para volar (López *et al.*, 2011).

3.2.5 Daños provocados por el insecto

Las hembras adultas en promedio llegan a medir 1.8 mm. El daño que provoca este insecto, sucede cuando perforan frutos utilizándolos para su reproducción, alojándose primero en uno de los frutos en formación, para construir un orificio donde acondicionara sus huevos, que luego de eclosionar, emergen larvas que se alimentan del tejido del fruto de café provocando su deterioro, pérdida en la calidad del grano, lo que lleva a presentar mayores pérdidas económicas al momento de comercializar el producto final (Hernandez, 2015).

Según datos registrados por (Bustillo, 2006), “el tiempo que requiere una hembra para perforar e ingresar a un fruto puede variar dependiendo del estadio fisiológico en que se encuentre el fruto así: frutos verdes tardan de 5 horas 36 minutos en promedio, mientras que frutos a mitad de maduración 5 horas 54 minutos, frutos maduros 4 horas 50 minutos y frutos secos 11 horas 21 minutos”.

Figura 2. Posiciones de penetración en el fruto



Nota. Posiciones A, B (la broca está iniciando la penetración a los frutos). Posiciones C, D (La broca ha penetrado la almendra). Tomado de (Benavides *et al.*, 2013).

3.2.6 Ciclo de vida de *H. hampei*

La hembra de la broca del café una vez emerge de la pupa puede aparearse y unos tres días después puede iniciar posturas. La etapa de oviposición es de unos 20 días y coloca entre 2 y 3 huevos/día. En Colombia se estima 15 días que puede permanecer ovipositando, y en algunas ocasiones es posible que una broca tenga períodos de intermitencia y la reanude. La incubación del huevo dura 7,6 días a (23°C) y el estado de larva 15 días para los machos y 19 días para las hembras, la prepupa 2 días y la pupa 6,4 días a (25,8°C). El ciclo total de huevo a emergencia de adulto se estima en 27,5 días (24,5°C). Sin embargo, en las zonas cafetaleras de Colombia el tiempo que tarda en formarse otra generación del insecto bajo condiciones de campo se estima en 45 días a una temperatura de 22°C en promedio, y de unos 60 días para una temperatura de 19°C (Bustillo, 2007b). Así mismo, (Muñoz, 1989) en su investigación al evaluar el ciclo de vida bajo condiciones de laboratorio encontró que, a $23.3 \pm 25^\circ\text{C}$ la duración media en días del ciclo biológico completo fue de 35.8 días.

Figura 3. Ciclo de vida de la broca del café, *H. hampei* (Ferrari)



Tomado de (Benavides *et al.*, 2013).

3.3 Métodos de control

El manejo de *H. hampei* es una labor difícil ya que una buena parte de su ciclo biológico transcurre dentro de los frutos, donde los productos de síntesis química no pueden ejercer su acción y a la presión del clima que influye en gran manera en la densidad poblacional de los insectos (Constantino, 2010). El problema de la broca no se resuelve con una sola medida de control, sino con la integración de varias prácticas de control. Cenicafé ha desarrollado para el control de esta plaga un programa de manejo integrado (MIB), el cual está compuesto por el control cultural (Re-Re), componentes de control biológico (*Beauveria bassiana*), control químico con insecticidas de categoría toxicológica III, muestreos y prácticas de control durante la postcosecha (Bustillo, 2002).

Cuando se usan insecticidas de síntesis química para el manejo de *H. hampei* es importante tomar en consideración algunos factores como son una dosificación correcta, la selección y eficacia del ingrediente activo a utilizar, la formación y conocimiento de los empleados, las condiciones topográficas del terreno, las condiciones medioambientales predominantes al momento de realizar las aspersiones (Villalba, Bustillo & Chaves, 2006). En el momento que la broca se encuentra perforando la cereza del café se considera el uso de los insecticidas puede ser más eficaz, independientemente de la formulación (Pulgarin, 2016).

3.3.1 Control Etológico

En la agricultura, el control etológico es una herramienta en programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP), el cual está enfocado a la reducción de la utilización de plaguicidas y así minimizar el impacto al medio ambiente por la utilización de insecticidas químicos (Romero, 2004). En Honduras el (IHCAFE, 2017), indica que en el mes de mayo-junio es el tiempo límite para colocar trampas artesanales compuestas por etanol, metanol y fragancia aromatizante, mas una mezcla con agua jabonosa que rompe la tensión superficial del agua e impide la salida de la broca una vez que cae en el agua. Esta actividad se debe realizar con el propósito de capturar todas las hembras progenitoras que migran a las cosechas nuevas de café con la llegada de las lluvias; se recomienda que al finalizar la cosecha se realice el trampeo con atrayente, ya que en campo las presencias de frutos consistentes reducen la eficiencia de estas (Barrantes, 2007).

El uso de trampas es un procedimiento eficiente y fácil de manejar, por lo que se constituye como una herramienta importante de la cosecha sanitaria ya que elimina este insecto de las cerezas no recolectadas (colecta de frutos maduros y sobre maduros) (Acacio & Gil, 2013). La utilización de trampas con atrayentes es una herramienta para la captura de los insectos plagas (Leiva, Oliva, Rubio, Maicelo, & Milla, 2019). En la producción convencional, las trampas utilizadas incluyen mezclas alcohólicas (etanol y metanol en relación 3:1) como atrayente (Borbón, Mora, Oehlschlager, & González, 2002).

3.3.2 Control Cultural

El control cultural está enfocado en prácticas para reducir la cantidad de alimento y refugio para *H. hampei*, y modificar las condiciones propicias para la etapa reproductiva (Yanez, 2014). Estas labores incluyen prácticas como realizar una buena práctica de poda para asegurarle ventilación a la planta, realizar de manera regular una poda de árboles de sombra en el cafetal, manejo de arvenses y una adecuada fertilización (Posada, Villalba, & Bustillo, 2004). Según investigaciones realizadas por (Trejo & Funez, 2004), recomiendan que todo productor de café debería realizar en su cafetal las prácticas de “pepena” (recolección de frutos que quedan en la planta y en el suelo después de la cosecha) y “repela” (recolección antes de la cosecha). Según (Moreno, Bustillo, Benavides & Montoya, 2001), estas practicas representan el 80% de éxito en el control del insecto plaga y se confirma en estudios realizados en Cafetales en Colombia donde un 64 y 75% de la población llega al beneficio durante la cosecha. Así mismo (Posada *et al.*, 2004), menciona que el Re - Re y el impedimento del escape de la broca en el beneficio son un pilar fundamental para evitar altas infestaciones en las cosechas subsiguientes.

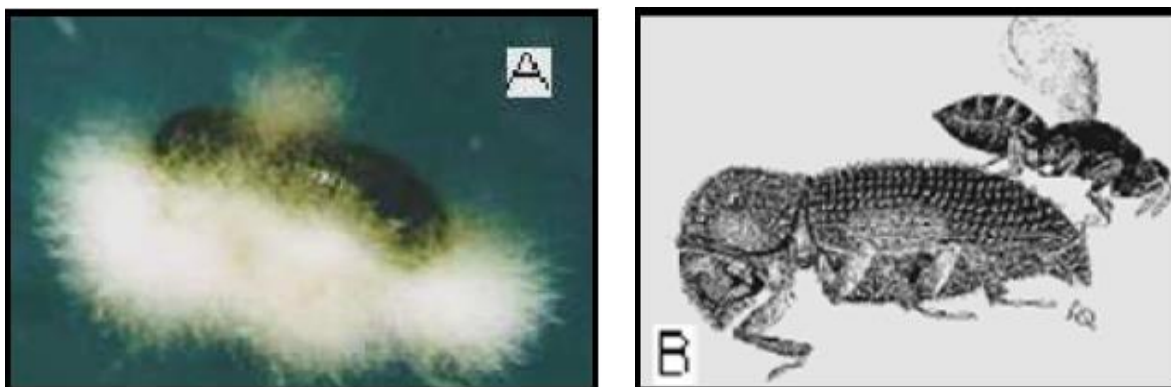
3.3.3 Control Biológico

El control biológico se realiza utilizando parasitoides y hongos entomopatógenos que ha tenido un amplio rango de uso en los últimos años para el manejo de esta plaga en zonas cafetaleras de América (Barrera, Herrera, Villacorta, Garcia, & Cruz, 2006). *H. hampei* presenta enemigos naturales como algunos parasitoides y hongos entomopatógenos que interfieren en sus diferentes etapa de desarrollo, se menciona algunos parasitoides como son; *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethylidae), *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethylidae), *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) y

Heterospilus coffeicola (Braconidae), estos insectos al igual que la broca su origen es África (Henaó, 2008). Con el objetivo de criarlos en laboratorio y ser liberados en diferentes zonas cafetaleras para disminuir la incidencia de esta plaga del café, se introdujeron en Honduras a *C. stephanoderis* en 1990, en 1993 a *P. nasuta*; y en 1999 a *P. coffea* (Muñoz, 2010). En el grupo de los hongos entomopatógenos esta *Beauveria bassiana* y *Metarrizhium anisoplae*, quienes han sido ampliamente estudiados como controladores biológicos de insectos plaga, muchos investigadores han realizado experimentos en campo, con la finalidad de conocer cuál es la eficiencia de *B. bassiana*, donde los resultados han sido muy variables ya que se encuentran influenciados la calidad de la cepa utilizada, por las condiciones del cultivo y condiciones agroclimáticas, las formulaciones utilizadas y el equipo y mecanismo de aspersión (Bustillo, 2007).

De forma natural se puede encontrar a *B. bassiana*, colonizando a *H. hampei* en todas las zonas donde el insecto está presente (Bustillo, 2002). Según Pucheta, Flores, Rodríguez, & De La Torre (2006): Se ha demostrado que *B. bassiana* es un excelente enemigo natural, con excelente potencial como agentes de control, estos hongos inician su proceso de infección cuando las esporas se fijan a la superficie del Tegumento, es ahí cuando el hongo inicia la generación del tubo germinativo, haustorio, iniciando a secretar varias enzimas principalmente: quitinasas, proteasas, quitobiasas y lipasas. Estas enzimas se encargan de degradar la cutícula del *H. hampei* y coadyuvan con el desarrollo de penetración por presión mecánica iniciado por el apresorio, que es una estructura especializada formada en el tubo germinativo. Una vez dentro del insecto, el entomopatógeno se desarrolla como cuerpos hifales (conidiósporas) que se van expandiendo a través del hemocele, irrumpiendo diversos tejidos musculares, cuerpos grasos, tubos de Malpighi, mitocondrias y hemocitos, causando la muerte del insecto después de 3 a 14 días del inicio de la infección. Una vez muerto el insecto y ya gastados la mayoría de los nutrientes, el hongo inicia un crecimiento micelar e invade todos los órganos del insecto. Finalmente, las hifas invaden la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie, si estas cuentan con las condiciones ambientales apropiadas inician la formación de nuevas esporas

Figura 4. (A) Broca atacada por un entomopatógeno; (B) Broca atacada por un parasitoide



Nota: Tomado de (Bustillo, 2002)

Debido a la demanda y necesidad de disminuir los daños causados por plaguicidas sintéticos, paralelamente en la actualidad la mayoría de los caficultores no cuentan con herramientas químicas que presenten una alta eficacia, por lo tanto, se requiere herramientas de manejo biológico como son una mayor propagación de hongos entomopatógenos que ejerzan como controladores biológicos, la generación de nuevas formulaciones que presenten mayor viabilidad en la interacción con los factores medio ambientales, que su aplicación sea fácil y eficaz y que a su vez los costos de producción sean menores en comparación con otros productos del mercado (Espinoza & Vallejos, 2016).

3.3.4 Control Químico

El uso de insecticidas de síntesis química es eficaz para el manejo de focos de *H. hampei*; sin embargo, para el uso de este tipo de control se deben seguir criterios técnicos, aplicándolos en el momento justo de ataque de la plaga con equipos de aspersión debidamente calibrados, operarios capacitados y utilizando la formulación apropiada de categoría toxicológica III para no causar efectos negativos al ecosistema cafetero (Bustillo, 2007). Hasta el 2012, el insecticida Endosulfán era el más utilizado a nivel mundial. Sin embargo, el uso de esa molécula organoclorada fue prohibida por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), en la actualidad en Honduras se está usando el insecticida Clorpirifos que contiene una molécula organofosforada de largo efecto residual (Stillman, 2016). Debido a las posibilidades de inducir resistencia, este método se utiliza como alternativa en casos estrictamente necesarios cuando el nivel de infestación es

mayor del 2% en la época crítica del fruto verde cuando los adultos inician el daño y otros métodos de control ya han sido utilizados (Bustillo *et al.*, 1993).

3.4 Características de las moléculas evaluadas

Actualmente los mercados internacionales son más estrictos en el uso de plaguicidas para el control de plagas, y en café principalmente para *H. hampei*, ya que esta plaga ataca al fruto y las aplicaciones se deben realizar directamente al mismo, en Honduras se está buscando evitar el uso de pesticidas químicos, por lo que en esta investigación se están evaluando nuevas alternativas biológicas y botánicas que pueden tener menos carga residual en los frutos de café y que favorezcan los productores de la caficultura orgánica que comercializan café certificado de manera que se vean favorecidos.

El T1 y T2 son insecticidas comerciales a base de esporas de una cepa de *Beauveria bassiana*, mientras que el T3 contiene *B. bassiana* en mezcla con *Metharizium anisopliae* y T4 es un aislamiento nativo de la zona. Estos hongos entomopatógenos de origen natural de amplio espectro inician su proceso de infección con una primera fase que comprende la adhesión de las esporas a la cutícula del insecto hasta causar la muerte. El ataque del hongo al insecto puede ocurrir a través de la cutícula del insecto o vía oral. En el proceso de invasión produce gran cantidad de metabolitos como: Beauvericina, Beauveriloides, Bassianolide, Isarolide, Enniatinas, Oosporeina y Destruixinas. Después de la muerte del insecto y en condiciones adecuadas de humedad, las conidiosporas pueden extenderse en todo el cuerpo cubriéndolo con micelio. El insecto patogenizado presenta síntomas como pérdida de sensibilidad, parálisis, incoordinación en los movimientos y muerte (DEMETER, s/f). Según el IRAC su modo de acción aún es desconocido o incierto (IRAC, 2019).

El T5 es un insecticida orgánico a base *Sophora flavescens*. El T6 es un insecticida multifuncional a base de extractos de cítrico, el T7 es un insecticida orgánico, derivado de aceites esenciales provenientes de extracto de naranja, el T8 es un insecticida ecológico de origen botánico a base de extracto de *Chrysanthemum* que es una piretrina de origen natural. Estos insecticidas son de origen botánico con Modo de Acción desconocido o incierto. Grupo UNE. El T9 es un insecticida repelente compuesto de azufre y cal viva, es

eficaz para el manejo de insectos plaga, debido a que acelera el ciclo de vida de los insectos plaga debido a la lesión que este le provoca cuando hace contacto con el cuerpo del mismo su modo de acción aun es desconocido o incierto. Con el uso de los insecticidas organosintéticos, el uso de los caldos sulfocálcicos fue abandonado, con el crecimiento actual de la producción orgánica, se ha retomado el uso del azufre calizo, principalmente por el bajo costo, facilidad de preparación y aplicación y por su aceptación en la mayoría de los certificadores (Venzon *et al.*, 2008).

El T10 pertenece al grupo de los organofosforados, son unos de los más utilizados a nivel mundial, se deriva su química del ácido fosfórico (H_3PO_4), ácido fosforoso (H_3PO_3) o ácido hipofosforoso (H_3PO_2), pertenece al grupo químico de los organofosforados (1B), es un inhibidor de la acetilcolinesterasa (AChE), causa hiperactividad del sistema nervioso en el insecto. AChE es la enzima que termina la acción del neurotransmisor excitatorio (IRAC, 2019).

IV. Materiales y métodos

4.1 Ubicación del estudio

El estudio de laboratorio se realizó en el Centro de investigación y capacitación “Dr. Jesús Aguilar Paz” (CIC–JAP), ubicada en la aldea de La Fe, en el municipio de Ilama, Departamento de Santa Bárbara, Honduras con coordenadas N 14988205-W 88.050603, a una altitud de 850 msnm donde se registra una temperatura anual promedio de 22.3°C, humedad relativa del 79%, y precipitación promedio anual de 812 mm.

4.2. Fase de campo

4.2.1 Recolección del hongo *B. bassiana*

Se realizó un muestreo en una finca perteneciente a la señora Onoria Canales, ubicada en Peña Blanca, Cortez, Honduras, localidad que no había sido sometida a ningún tratamiento anteriormente. Dentro del cafetal se seleccionaron cinco sitios por hectárea (INIFAP, 1994). En cada sitio se realizó una inspección de todos los frutos de diez plantas contiguas de café para recolectar aquellos que estaban atacados por la broca y con evidencia externa de la presencia de *B. bassiana*, lo cual se pudo corroborar por el polvo blanco parecido a talco que se observa en la corona de los frutos, emergiendo de la perforación hecha por la hembra del insecto. Los frutos fueron extraídos de la planta, se colocaron en viales previamente esterilizados, el orificio de entrada se selló con tela organza para permitir el paso de oxígeno, posteriormente se llevaron al laboratorio del Centro de Investigación y Capacitación “Jesús Aguilar Paz” (CIC-JAP) para su identificación, aislamiento, producción masiva y evaluación del aislado nativo.

4.3 Fase de laboratorio

4.3.1 Aislamiento del hongo *B. bassiana*, cepa silvestre

Siguiendo la metodología descrita por (Monzón, 2001), de los frutos de café que se colectaron, se seleccionaron los que mostraron un mayor crecimiento fungoso de color blanco en el disco o corona, cada fruto fue sometido a un procedimiento de desinfección en

una solución de hipoclorito de sodio a una concentración de 1% durante 3 minutos para su desinfección superficial, luego se enjuagaron tres veces con agua estéril y se colocaron sobre papel filtro estéril para eliminar restos de humedad. Seguidamente para brindarle las condiciones favorables al entomopatógeno y permitir su desarrollo, los insectos fueron colocados de manera individual en cámaras húmedas a 25 °C, 90% HR y se incubaron por un periodo de 8 días.

4.3.2 Purificación del hongo *B. bassiana*

Usando la técnica de aislamiento directo, con un asa bacteriológica debidamente esterilizada, se raspó el micelio del *B. bassiana* de cada insecto, el cual se sembró en cajas petri conteniendo un medio de cultivo PDA, previamente esterilizado en autoclave a 121 °C, 15 lbs de presión durante 20 minutos. Las cajas petri con los medios de cultivo, se identificaron con la fecha y hora correspondiente al momento de la siembra. Los medios de cultivos fueron incubados durante 8 días a una temperatura de 25°C con un fotoperiodo de 12 horas luz/oscuridad. Cuando aparecieron las colonias del hongo, se efectuaron nuevas siembras del micelio, se realizó tomando micelio del borde de la colonia anteriormente inoculada, sembrándola en una nueva placa con PDA, hasta lograr colonias puras para los aislamientos (Villamil y Martínez, 2014). Se considera un cultivo puro a una fuente de inóculo para iniciar el proceso de producción en matrices, por lo que no debe contener partículas contaminantes (Monzón, 2001).

4.3.3 Selección de impurezas, lavado e hidratado del arroz

Se usaron granos de arroz entero, se separaron elementos no deseados como cascara, piedrecillas, semillas de malezas, granos perforados. El arroz se lavó con agua corriente durante 2 minutos, luego se hidrato en agua a punto de ebullición, aproximadamente a 70°C durante 5 minutos, con el fin de ganar humedad que beneficio en un mayor desarrollo para el hongo, posteriormente con un colador se escurrió el exceso de agua y se depositó en una zaranda hasta que el sustrato estaba frio, seco y listo para su embolsado.

Para el desarrollo del hongo en arroz se usaron bolsas de polipropileno con una cantidad de sustrato de 50g/bolsa, asegurando el cerrado con 3 dobleces con separación de 1 cm entre dobles y se engraparon con la finalidad que el sustrato mantuviera la humedad en el

proceso de esterilización y posterior desarrollo del hongo. La esterilización se realizó en una autoclave a 1.0 de presión atmosférica, 120° C por un tiempo de 20 minutos y luego se esperó a que la presión bajara a cero antes de abrir la autoclave. Las bolsas esterilizadas se trasladaron a la cámara de flujo laminar donde se enfriaron por un tiempo de 6 horas para su posterior inoculación (Ramírez, Granja, Aguila, & Cantoral, 2014).

4.3.4 Propagación y maduración del hongo *B. bassiana*

Para el incremento de *B. bassiana* de los tratamientos (aislamiento + sustrato de arroz), a partir de cultivos purificados, se preparó una solución de inóculo a partir del cultivo puro (PDA), este inóculo mostro un buen crecimiento y estaba libre de contaminantes. El inóculo de las cajas se raspo con mucho cuidado hasta obtener un polvo de conidios del hongo, esta concentración fue de 1×10^6 conidios /ml (Monzón, 2001).

Se realizó la inoculación en la cámara de flujo laminar (previa desinfección) inyectando 5 ml de la solución en cada una de las bolsas de arroz y sellando con cinta masking tape donde se inyectó la bolsa. Finalmente se colocaron las bolsas en estantes metálicos en forma ordenada; se efectuó un seguimiento por un periodo de tiempo de 15 días a una temperatura de 25 °C, incubándose durante los tres primeros días en oscuridad, condición que favorece el desarrollo del micelio, pasados los tres días se encendió la luz en el cuarto de incubación. Las bolsas inoculadas se agitaron cada 4 días para diseminar los conidios y acelerar el contacto y germinación respectiva.

4.3.5 Cosecha del Hongo *B. bassiana*

El contenido de las bolsas se secó durante 7 días y fue depositado en un tamiz de 1 mm, mismo que por agitación y frotación, se separó el polvo de los granos de arroz. El polvo recolectado se depositó en recipientes para evaluar el rendimiento y el material retenido por el tamiz se descartó. Los conidios cosechados expuestos al ambiente pueden ser afectados por la luz, humedad, altas temperaturas entre otros factores; por lo que, el hongo cosechado debe mantenerse en refrigeración para alargar el tiempo de viabilidad (Ramírez *et al.*, 2014)

Figura 5. Procedimiento para realizar el aislamiento del aislado nativo



4.4 Evaluación de parámetros de calidad de *B. bassiana*

4.4.1 Pureza

Siguiendo la misma metodología para el aislamiento nativo y para los 3 tratamientos comerciales de origen biológico (T1, T2 y T3), se procedió a efectuar diluciones seriadas, la primera dilución se obtuvo colocando 1g del producto en un tubo de ensayo conteniendo 9 ml de agua destilada con Tween 80 al 0,1%, la dilución siguiente se obtuvo transfiriendo con una pipeta estéril 1ml de la primera dilución a un tubo que contenía 9 ml de agua destilada y así consecutivamente hasta lograr la disolución de 10^{-10} . Luego se sembró 0,1 ml de cada dilución en placas que contenían medio de cultivo PDA. Posteriormente, se incubaron durante cinco días a temperatura de 25 °C. Se evaluó y calculo el número promedio de unidades formadoras de colonias (UFC) de los contaminantes y el número de UFC del hongo evaluado. Se multiplico por la inversa de la dilución y el volumen empleado. A los datos obtenidos se les aplico la siguiente formula (Gómez *et al.*, 2014).

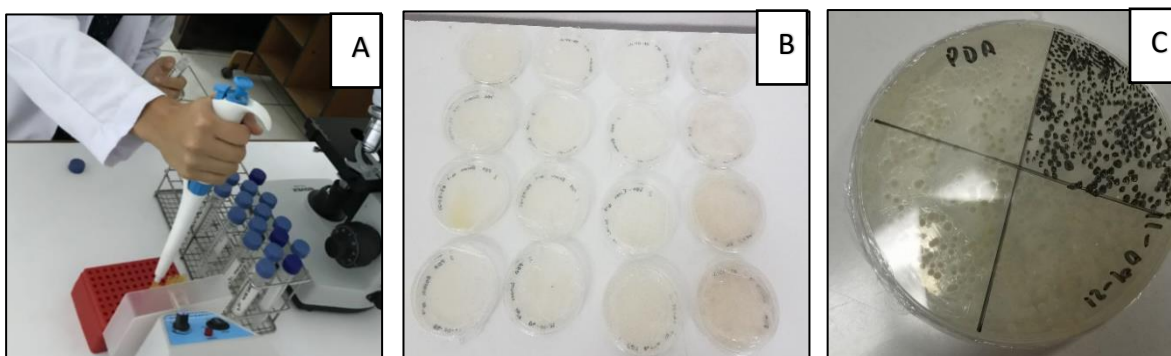
$$\% \text{ Pureza} = \frac{\text{UFC he}}{\text{UFC t}} \times 100$$

Donde:

UFC he = Unidades Formadoras de Colonias del hongo evaluado

UFC t = Unidades Formadoras de Colonias totales

Figura 6: Procedimiento para la evaluación de la variable Pureza



Nota. **A.** preparación de diluciones seriadas **B.** Placas petri conteniendo PDA con sus respectivas diluciones a dos días de la siembra **C.** placas petri por el reverso.

4.4.2 Porcentaje de germinación o viabilidad de los conidios

Siguiendo la metodología descrita por (Malpartida, Narrea, & Larraburre, 2013), con algunas modificaciones y a partir de cultivos monospóricos, con una pipeta pasteur en cinco puntos al azar de cada caja petri conteniendo PDA, se depositaron cinco alícuotas de la última dilución de la suspensión del hongo, las placas petri se sellaron con parafilm se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 25 °C. Por último, en un microscopio se contabilizó el número de conidios germinados de la totalidad de colonias presentes.

El cálculo del porcentaje de germinación se realizó usando la fórmula siguiente (French y Hebert, 1982, como se citó en Espinoza & Vallejos, 2016):

$$\text{Germinación (\%)} = \frac{\text{No. de conidios germinados}}{\text{No. de conidios totales}} \times 100$$

4.4.3 Crecimiento Radial

Para determinar el Diámetro de Crecimiento Radial, la inoculación se realizó colocando en el centro de las placas Petri, un trozo del cultivo monospórico de cada producto. Se utilizaron tres replicas para cada aislado, manteniéndose en cámara de incubación a 25 °C. Cada placa se colocó diariamente en una base de madera (Fig.7) que permitía tomar a una misma altura, hora y en un mismo ángulo una fotografía con una cámara marca Nikon durante seis días, después de ese tiempo los datos fueron analizados por un programa de procesamiento de imagen digital (ImageJ) que es un programa de procesamiento de imágenes diseñado para imágenes científicas que proporciona los resultados obtenidos en mm por día.

Se usó la siguiente fórmula para la evaluación de crecimiento radial Vela *et al.* (2018)

$$V = \frac{x \text{ (mm)}}{t \text{ (d)}}$$

Donde:

V: Velocidad de crecimiento radial

X(mm): radio de colonias en mm

T(d): tiempo en días de ensayo

Figura 7. Base de madera para la toma de fotografía diariamente



4.5 Aplicación de los tratamientos en laboratorio

Se evaluaron 11 tratamientos con 5 repeticiones para cada uno; tres formulaciones biológicas del entomopatógeno *B. bassiana*, (T1, T2 y T3), un aislamiento nativo (T4), cuatro formulaciones de origen botánico (T5, T6, T7, T8 y T9) una formulación química (T10) y un testigo absoluto (T11).

Siguiendo la metodología propuesta por CENICAFE (1996), las brocas utilizadas se tomaron de una cría masiva ya establecida en granos de café. Los granos desecados, se abrieron para obtener brocas que estuvieran activas, luego las brocas se desinfectaron durante 5 minutos por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%, agua destilada se lavaron con agua destilada y se secaron en papel absorbente estéril. Se realizaron 55 grupos con 20 brocas cada uno, posteriormente se depositaron en las cajas petri junto a los frutos de café donde se realizó la respectiva aplicación de los tratamientos.

4.5.1 Metodología de aplicación de los tratamientos

Para cada repetición se colocaron en una caja Petri, 20 brocas activas y 10 frutos de café, para evitar mortalidad por hambre, se colocó un algodón embebido en agua estéril en la parte central del plato para darle humedad y facilitar el desarrollo del hongo sobre la broca. Las formulaciones de los productos fueron asperjadas de manera independiente simulando la aplicación en campo con un atomizador rociador con una boquilla chorro conico de 50 μ L de tamaño de gota, cada plato se cubrió con su tapa, se colocó en un cuarto de incubación

a 25 °C, con un fotoperiodo de 12 horas luz/oscuridad. Cada tratamiento se identificó para registrar sus respectivos resultados diariamente.

4.5.2 Tratamientos y dosis de aplicación en laboratorio

Ttos	Dosis	Ingrediente	Modo de acción
T1	3.5 ml/L	<i>B. Bassiana M. anisopliae</i>	UNF
T2	2cc/L	<i>Beauveria bassiana</i>	UNF
T3	2cc/L	<i>Beauveria bassiana</i>	UNF
T4		<i>Beauveria bassiana</i>	UNF
T5	3.5ml/L	<i>Sophora flavescens</i>	SNC
T6	3.5ml/L	Extractos cítricos	Neurotóxico
T7	3.5ml/L	Extractos de naranja	Neurotóxico
T8	3.5ml/L	Extracto de crisantemo	SNP
T9	37.5ml/L	Azufre y Cal	Osmótico
T10	3.5ml/L	Clorpirifos	SNC
T11	N/A	N/A	N/A

*SNC= Sistema Nervioso Central, SNP= Sistema Nervioso Periferico, UNF= Agentes Fungicos de MoA desconocido o incierto.

4.5.3 Diseño experimental

En la primera fase de evaluación (Laboratorio) se usó un diseño completamente al azar (CA) con cinco (5) repeticiones, empleando 20 brocas y 10 frutos de café por repetición, para un total de 100 brocas y 50 frutos por tratamiento. Los tratamientos fueron 10 concentraciones de productos diferentes y un testigo absoluto (agua).

Figura 8. Procedimiento para la evaluación de tratamientos bajo condiciones de laboratorio.



4.5.4 Variables de respuesta

Mortalidad

El porcentaje de mortalidad de los insectos se evaluó a intervalos de 24 horas durante 10 días, observando bajo estereoscopio (Cruz, Gaitan, & Gongora, 2006).

Fórmula para calcular mortalidad

$$M = [(A / B) \times 100]$$

M= Porcentaje de mortalidad

A= número de insectos muertos

B= número total de insectos evaluados

4.6 FASE DE CAMPO

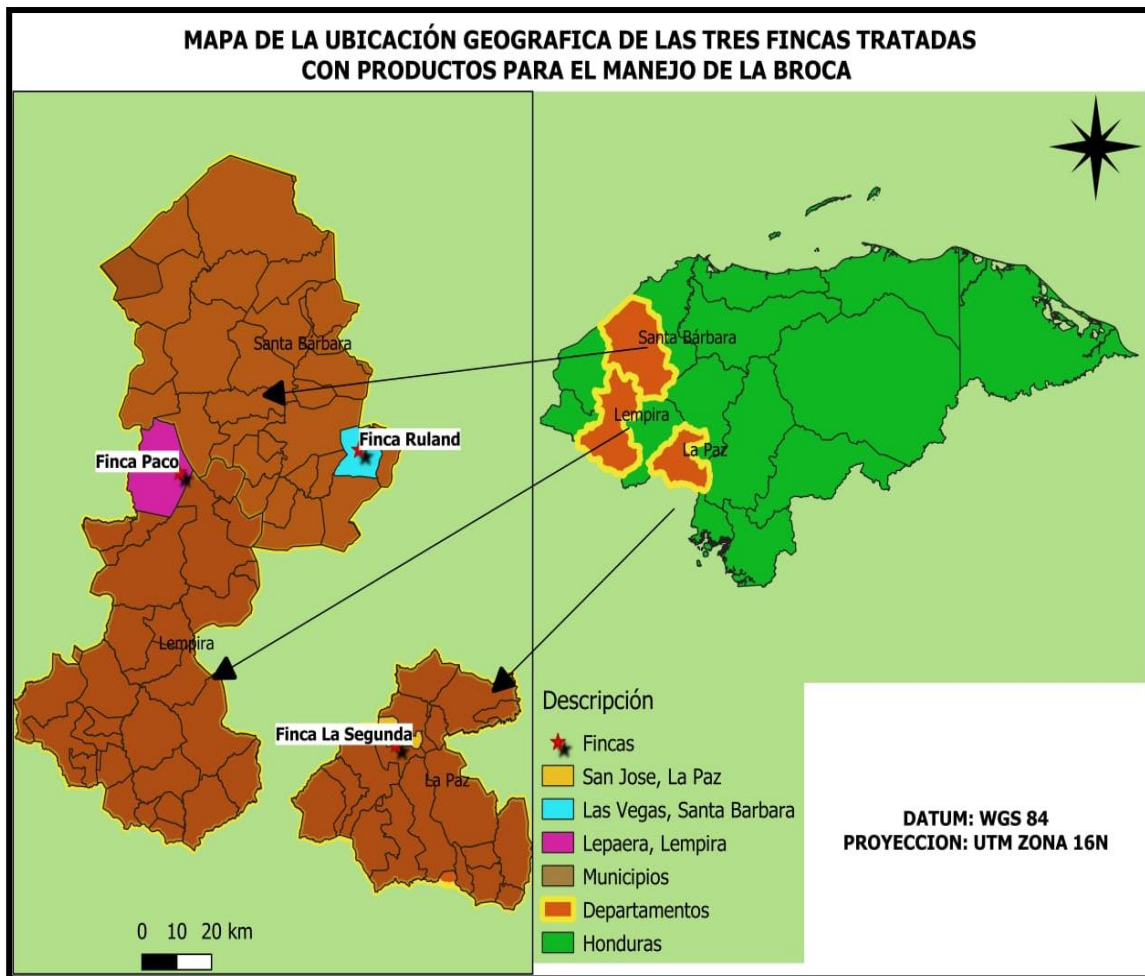
4. 6.1 Descripción de las áreas en estudio

El experimento se realizó entre agosto y octubre de 2021 en tres zonas del país, para la selección de las áreas se tuvo como premisa que los campos utilizados presentaran áreas similares en relación con la topografía y luminosidad entre otros parámetros. El primer ensayo se instaló en un cultivo de café variedad “Lempira” de 14 años, sembrada a un distanciamiento de 1,8m x 0.9m con pendiente menor al 10%, en la finca Ruland, ubicada en las Vegas, Santa Bárbara, Honduras a una altitud de 828 m.s.n.m. con coordenadas (N 145231° W 880340°).

El segundo ensayo se realizó en finca “Paco”, ubicada en el Belloto, Municipio de Lepaera, departamento de Lempira, a una altitud de 1300 m.s.n.m. con coordenadas (14.819703, - 88.541428). en una variedad de café “Parainema” de 11 años, sembrada a una distancia de 1,7m x 0,9m.

El tercer ensayo se instaló en un cultivo de producción de café de variedad “Catuai” de 12 años, sembrada a una distancia de 2m x 1m en la finca “La segunda”, ubicada en Florida, San José, departamento de la Paz, Honduras a una altitud de 1440 m.s.n.m. con coordenadas 14°12'39.5" N 87 °57'52.6" W.

Figura 9: Ubicación geográfica de las tres fincas donde se realizaron los ensayos



4.6.2 Aplicación de los tratamientos

El ensayo se instaló siguiendo un diseño de bloque completo al azar (DBCA) con 11 tratamientos y cuatro repeticiones para las tres zonas de los ensayos. Cada parcela o unidad experimental estuvo conformada por 30 plantas (6 surcos y 5 plantas). A todos los tratamientos, se les agrego adherente, pegante, dispersante 2 cc por litro de agua y se reguló el Ph a 7.0.

Figura 10. Procedimiento para la evaluación de tratamientos en condiciones de campo



4.6.3 Tratamientos y dosis de aplicación en campo

Ttos	Dosis	Ingrediente	Modo de acción
T1	750ml/200L	<i>B. Bassiana</i> y <i>M anisopliae</i>	UNF
T2	400cc/L	<i>Beauveria bassiana</i>	UNF
T3	400cc/L	<i>Beauveria bassiana</i>	UNF
T4		<i>Beauveria bassiana</i>	UNF
T5	750ml/200L	<i>Sophora flavescens</i>	SNC
T6	750ml/200L	Extractos cítricos	Neurotóxico
T7	750ml/200L	Extracto de naranja	Neurotóxico
T8	750ml/200L	Extracto de crisantemo	SNP
T9	750ml/200L	Azufre y cal	Osmótico
T10	750ml/200L	Clorpirifos	SNC
T11	N/A	N/A	N/A

4.6.4 Variables evaluadas

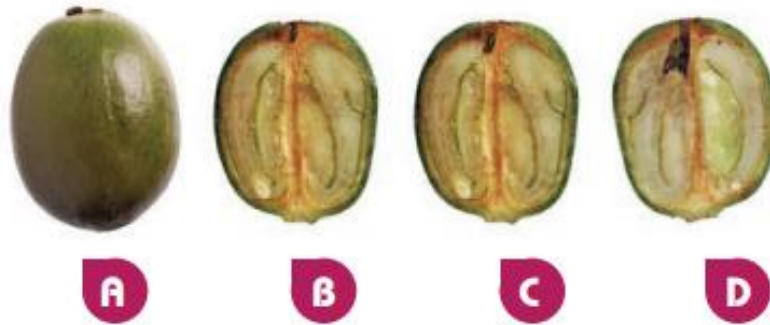
Mortalidad

Para calcular el porcentaje de mortalidad se extrajeron de cada parcela 30 frutos brocados, los cuales se llevaron al laboratorio, se disectaron y se registró el número de adultos vivos y muertos de *H. hampei*. Las evaluaciones se realizaron a los 7, 14, 21, 28 y 35 días después de la aplicación de los tratamientos. Con los datos obtenidos de cada tratamiento se calculó el promedio de brocas muertas expresado en porcentaje y su variabilidad a través del tiempo (Sosa *et al.*, 2017).

Posición de penetración

Bajo observación en un estereoscopio se disectaron los frutos y expresada en porcentaje se determinó la posición de penetración de la broca con respecto al fruto de café (posición A, B, C, y D) (Villalba, Alex, & Chavez, 1995); se diferenció el número de brocas vivas o muertas en cada posición de penetración en el fruto. Las evaluaciones se realizaron a los 7, 14, 21, 28 y 35 días después de la aplicación de los tratamientos en campo.

Figura 11. Niveles de posición de penetración de la broca en frutos de café.



Tomado de: Arcila, Benavides, & Mejia, 2015

.4.6.5 Aplicación de tratamientos con infestación artificial

El experimento se realizó entre septiembre y octubre de 2021 en un lote de café perteneciente al CIC-JAP, ubicado en la aldea de la Fe, municipio de Ilama, departamento de Santa Bárbara, donde se registra una temperatura promedio de 21.91°C, humedad relativa del 81%, en un lote de café de la variedad Lempira de tres años de resepa sembrada a un distanciamiento de 1,0 m x 2,0 m. Las parcelas experimentales estaban conformadas por 25 árboles (5 árboles x 5 surcos). La unidad experimental la constituyó un árbol del surco central. De cada árbol y de la parte media se seleccionó al azar una rama productiva, de la cual se dejaron 50 frutos de aproximadamente 100 a 120 días de desarrollo. A cada rama seleccionada se le colocó una manga entomológica, formada por una estructura cilíndrica de alambre de amarre, de 80 cm de largo y 20 cm de diámetro y se cubrió con una tela organza de color verde (Villalba, Bustillo, & Chaves, 1995).

Para realizar las infestaciones por rama, se usaron 100 brocas activas recién emergidas (24 horas), las cuales se colocaron en recipientes plásticos con papelillo (papel picado). Ya instaladas las mangas, se procedió realizar la infestación dentro de la manga, se separaron las brocas del papelillo, luego la manga se cerró y con una cuerda se sujetó a la rama superior con el propósito que se mantuviera de manera horizontal. Pasadas 24 horas se retiró la manga de la rama y se realizó la aplicación de tratamientos. Para determinar la mortalidad en la infestación artificial por cada lectura 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación se tomaron los frutos totales de una rama (50) por cada lectura. La disección se realizó en el laboratorio haciendo un corte con bisturí paralelo al ombligo del fruto con el cuidado de no mutilar la broca registrando el número de brocas vivas y muertas.

Figura 12. Procedimiento para la evaluación de tratamientos de manera artificial usando mangas entomológicas.



Análisis estadístico

Análisis de Varianza

Con los datos que se obtuvieron en cada fase de evaluación se realizaron los respectivos análisis de varianza con el objeto de encontrar diferencias estadísticas significativas entre las variables. Se realizó un análisis de estadística descriptiva donde se estimó la desviación estándar, la media y coeficiente de variación. Se efectuó el análisis de varianza combinado (ANAVA) únicamente para la variable mortalidad correspondiente para las tres regiones consideradas, como análisis de orden se establecieron pruebas de medias entre los tratamientos, mediante la prueba de Tukey al 5% bajo el supuesto de que los promedios de todos los tratamientos son iguales contra la hipótesis de que por lo menos el promedio de alguna de los tratamientos es diferente.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k = \mu$$

$$H_a: \mu_i \neq \mu_j \text{ para algún } i \neq j$$

En el análisis de varianza para las diferentes variables evaluadas, se usó el procedimiento GLM (Modelo Lineal Generalizado) del programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.4.

Análisis estadístico probit

Se realizó un análisis probit con datos de porcentaje de mortalidad en relación con los días de evaluación y el número de insectos utilizados en las diferentes condiciones (laboratorio, campo y magas), se realizó la prueba, donde, se calculó el tiempo requerido para causar la mortalidad de más del 50% de los insectos. Las diferencias estadísticas entre las pendientes de las regresiones se evaluaron mediante los límites de confianza.

Análisis de agrupamiento

Se realizó un análisis clúster de los tratamientos utilizados para la variable de respuesta posición de penetración, análisis que sirve para agrupar los tratamientos en aquellos que causan cierta similitud de efectos en la población de la broca del café y verificar dentro de

cada grupo la diferencia o similitud entre los tratamientos. Este análisis nos da una pauta de que insecticidas pueden estar o no dentro del manejo de esta plaga de acuerdo a los resultados obtenidos. Para este análisis se utilizó el paquete “clúster” de R studio utilizando el método K-Means. Para realizar dicho análisis se utilizaron las variables de posición (A, B, C y D) y únicamente se tomó en consideración los datos correspondientes a los 14 y 35 días después de la aplicación del producto. La técnica de clustering que se empleó fue del tipo jerárquico, la matriz de distancias fue generada con las distancias Euclidianas y la metodología de agrupamiento fue la de mínima varianza dentro de grupos y máxima varianza entre grupos de Ward.

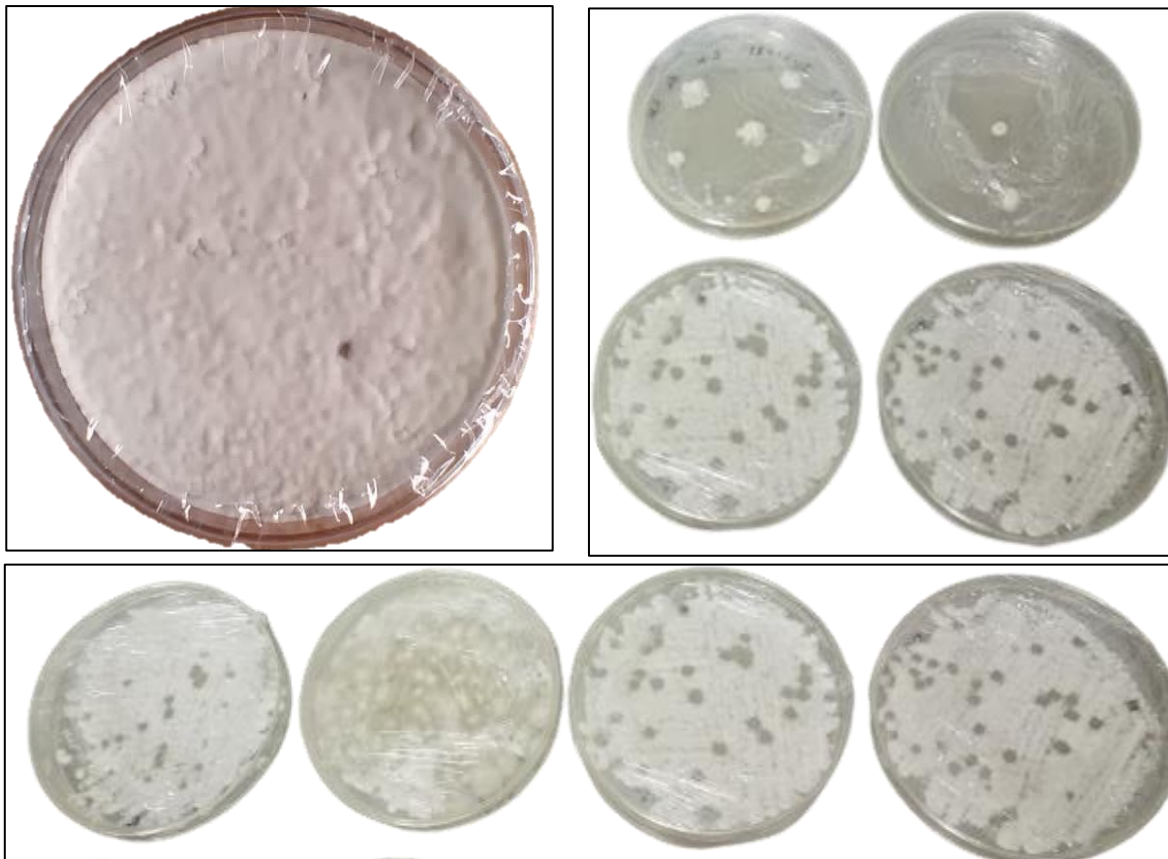
Un porcentaje de las brocas vivas, quedan en el canal de penetración esperando a que la almendra alcance la consistencia óptima para iniciar la puesta de huevos (Benavides *et al.*, 2013). Cuando los niveles de infestación lo ameriten y una proporción alta (>50%) de los frutos infestados se encuentren con la broca penetrando o en el canal de penetración (posiciones A y B), se justifica tomar medidas de control con insecticidas (Bustillo, 2008). El análisis cluster para la variable de respuesta posición de penetración sirve para agrupar los tratamientos en aquellos que causan cierta similitud de efectos en la población de la broca del café y verificar dentro de cada grupo la diferencia o similitud entre los tratamientos. Este análisis nos da una pauta de que insecticidas pueden estar o no dentro del manejo de esta plaga de acuerdo a los resultados obtenidos.

V. Resultados

5.1 Caracterización morfológica

En los medios de cultivo en caja Petri, después de 7 días, a una temperatura de $(25\pm 2^\circ\text{C})$, se evidenció en el crecimiento del hongo una consistencia viscosa de color blanco con una ligera elevación en la parte central y un margen ligeramente abultado. Las colonias se tornaron polvorientas y de color amarillo pálido al reverso de placa. Estas características del aspecto de las colonias coinciden con las descritas por (García, García, Vejar, Meza, & Chávez, 2020) y (Alcocer, 1979), donde las colonias al iniciar su desarrollo fue algodonosa de color blanco a beige, tornando a amarillas durante el desarrollo del micelio.

Figura 13. Crecimiento de Colonias multiesporicas de *B. bassiana* en medio de cultivo PDA



Generalmente para la producción masiva de entomopatógenos se utiliza el grano de arroz como sustrato, este logra mantener las condiciones físicas para un adecuado crecimiento del hongo, un apropiado balance nutricional y condiciones específicas apropiadas a lo requerido del aislamiento en humedad y aireación (Sahayaraj & Namasivayam, 2008). Las pruebas de laboratorio indicaron que el aislamiento de *B. bassiana* se adapta muy bien a las condiciones ambientales y podría ser considerado para el control *H. hampei*. Los conteos en cultivos en bolsas de 50 g de arroz, y de edad en promedio de 15 días han alcanzado un rendimiento de 5.49×10^8 conidios/gramo de arroz a $(25 \pm 2^\circ\text{C})$.

Figura 14. A. Bolsas con arroz el día de la inoculación con *B. bassiana*. B. día 15 después de la inoculación en sustrato arroz.



5.2 Pruebas de calidad

En la tabla 1 se muestra la comparación de medias de las variables de calidad (Pureza, germinación y DCR), donde en la variable pureza, los únicos tratamientos que presentaron un rango aceptable fueron T3 y T2 con un 99% de pureza para ambos productos. Se observó la capacidad de germinación o viabilidad de los productos, el T4 y T3 fueron los de mayor porcentaje con valores de 61.5 y 59.5% respectivamente, seguido de T2 con un valor de 40.7% mientras que el tratamiento uno, con un porcentaje de 2.85 fue el de menor viabilidad entre los productos evaluados. Así mismo los resultados de la variable Diámetro de Crecimiento Radial (DCR), todos los productos en el crecimiento presentaron un rango entre 1.3 y 1.84mm.

Tabla 1. Comparación de medias de cuatro productos a base de *B. bassiana* para las variables pureza, viabilidad y diámetro de crecimiento radial.

Trts	Variables								
	Pureza			Germinación			DCR		
	Media	E.E.	T	Media	E.E.	T	Media	E.E.	T
T4				61.55	±2.2	a	1.84	±0.01	a
T3	99.7	±0.7	a	59.55	±2.2	a	1.3	±0.01	c
T2	99.5	±0.7	a	40.75	±2.3	b	1.3	±0.01	d
T1	58.55	±0.7	c	2.85	±2.3	c	1.46	±0.01	b
Media	85.91			41.17			1.2		
Max	99.7			66.4			0		
Min	57.7			2			3.94		
DMS	4.08			15.56			0.05		
CV%	0.81			7.83					

T = Separación de medias por Tukey con un nivel de significancia del 5%; **E.E** = Error estándar; **DMS** = Diferencia Mínima Significativa con un nivel de significancia del 5%; **CV**=coeficiente de variación.

Para la variable pureza (Gongora, Marin, & Beavides, 2009), establecen la norma que el contaminante no debe de ser mayor del 5%, en este caso el (T1) está por debajo del rango establecido con un 58.5% de pureza, los únicos tratamientos que presentaron un rango aceptable fueron (T2 y T3) con un 99% de pureza para ambos productos (Tabla:1), estos dos aislamientos presentaron contaminación de hongos saprofitos de los género *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Figura. 15). Mientras que el T1 presento contaminación de *Trichoderma*. Figura 16

Figura 15: Aislados de hongos contaminantes encontrados en el tratamiento 1 y T2 **A.** Vista de *Penicillium* en medio PDA y bajo microscopio **B.** Vista de *Aspergillus* en medio PDA y bajo microscopio **C.** Vista de *Fusarium* y bajo microscopio

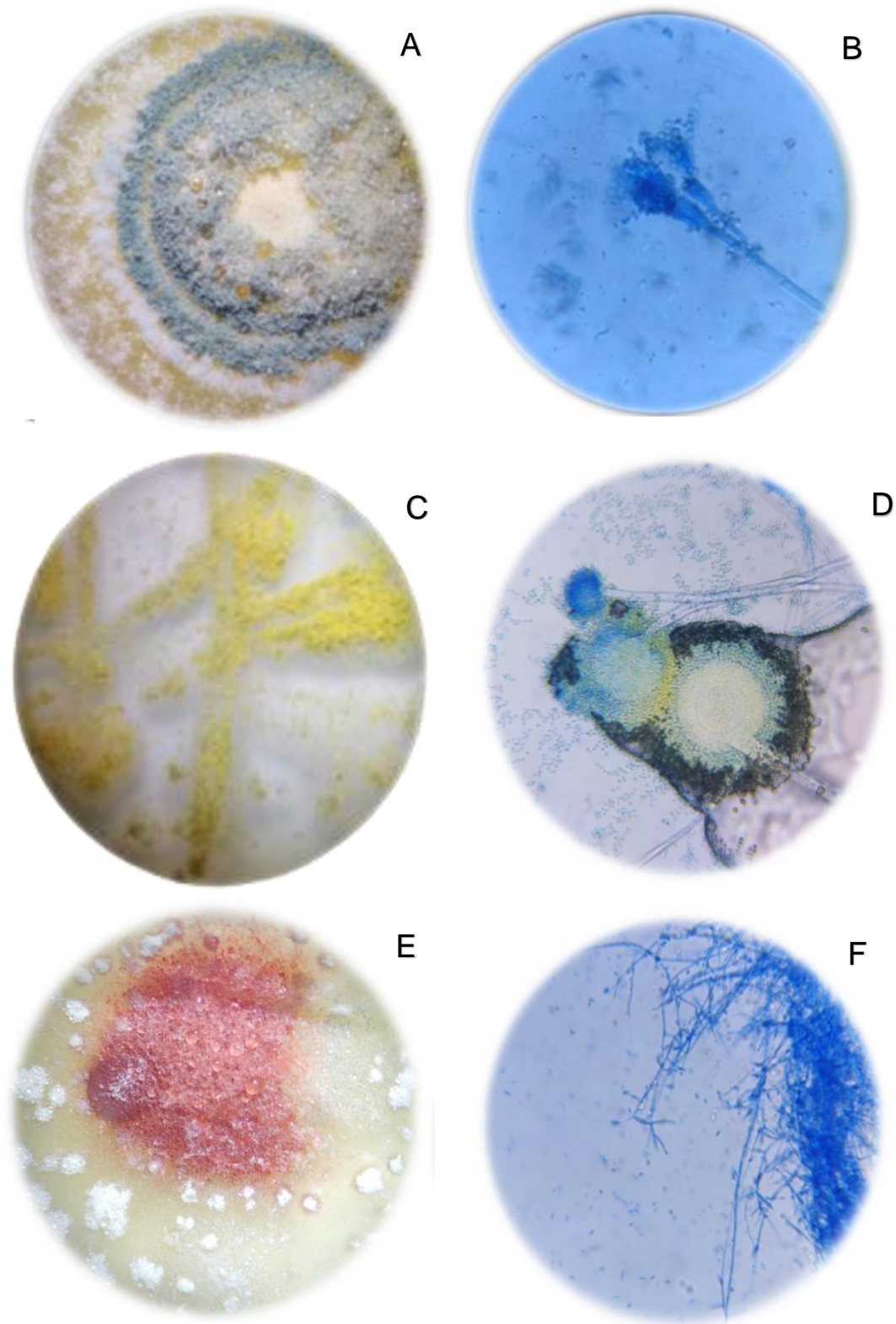


Figura 16: Aislamiento contaminante (*Trichoderma*) del (T1) en medio de cultivo PDA. **A.** Aislamiento de *Trichoderma* de 18 días. **B.** reverso de placa. **C.** medio conteniendo *Trichoderma* de 14 días de aislado

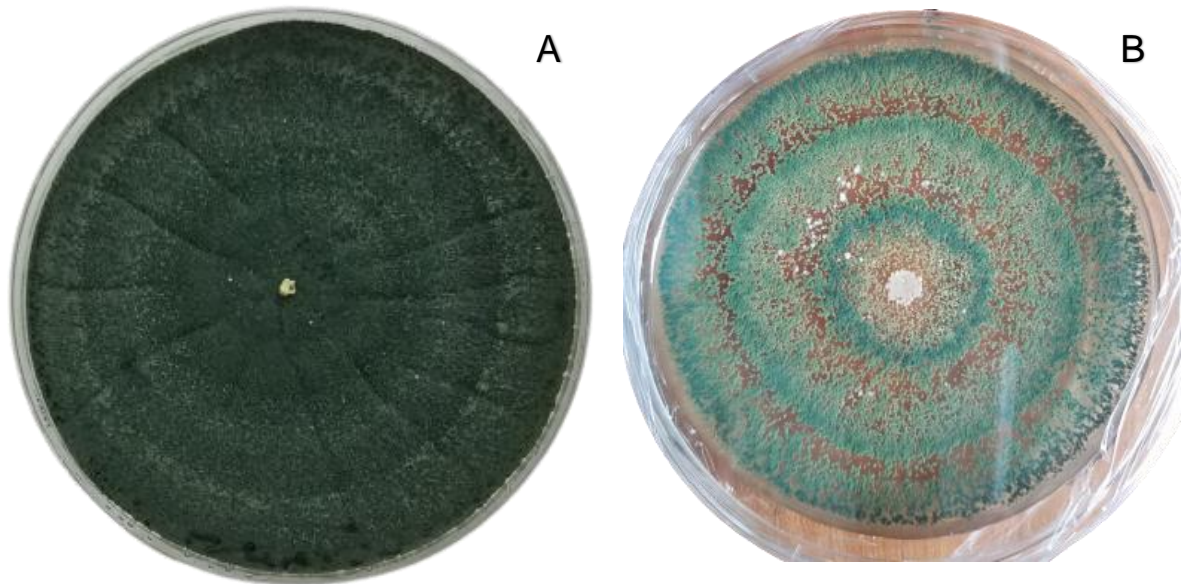
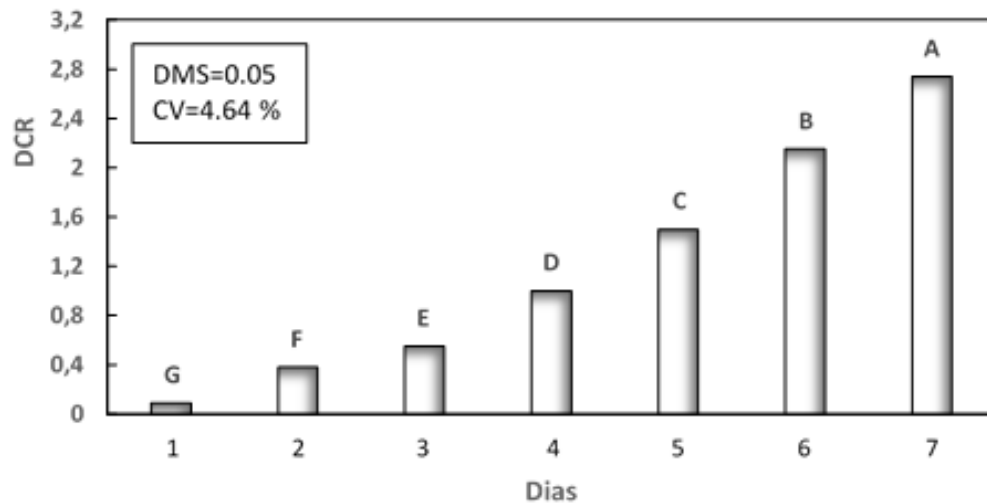


Figura 17. Comportamiento de la variable crecimiento radial en tratamientos a base de *Beauveria bassiana* según los días de evaluación. **(DCR)** Diámetro de Crecimiento Radial

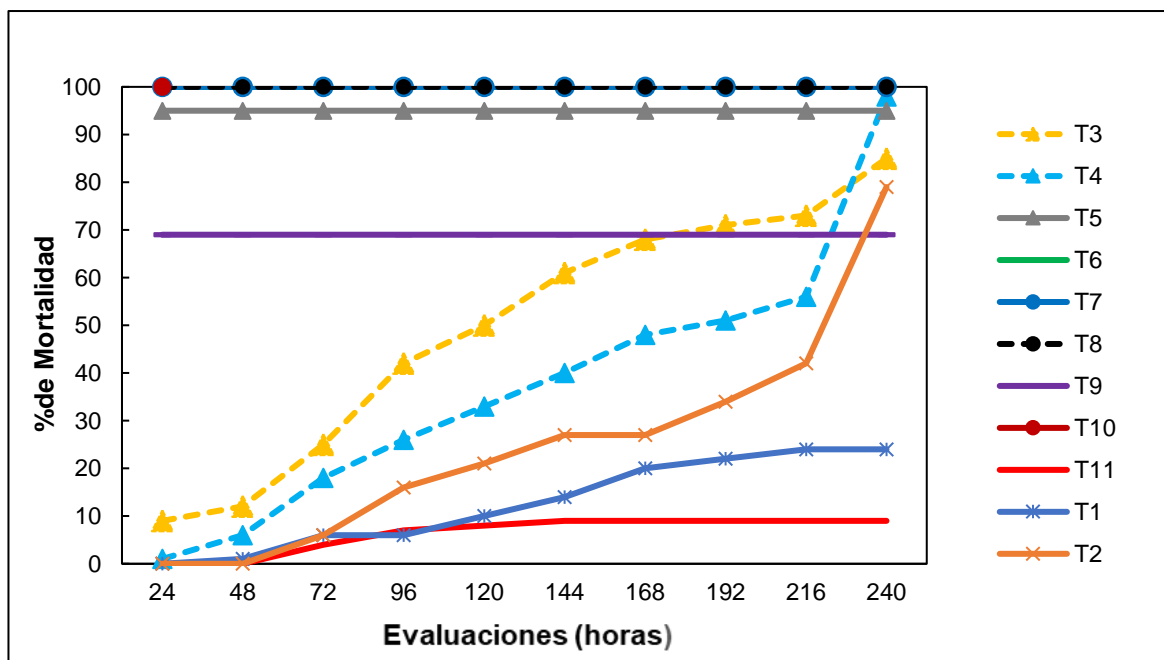


Nota. En la figura 17, se muestra los resultados del diámetro del crecimiento radial (DCR) según los resultados a medida que las esporas de *B. bassiana* son expuestas a varios días el crecimiento del diámetro aumenta a través del tiempo entre rangos de 0.09 y 2.7 mm.

5.3 Mortalidad de tratamientos en laboratorio

En la figura 18 se presenta la mortalidad en porcentaje en la fase de laboratorio para los diferentes tratamientos y el testigo. Se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos y las horas de evaluación. El (T6, T7, T8 y T10) registraron los mejores resultados matando el 100% de *H. hampei* en todas las evaluaciones que se realizaron, igualmente el tratamiento 5 causó una mortalidad elevada con porcentajes del 95% para todas las horas evaluadas y en tercer lugar fue para el tratamiento 9 que ocasionó una mortalidad de 69% en todas las evaluaciones. El resto de tratamientos presentaron baja mortalidad a través de las evaluaciones, para las primeras 24, 48 y 72 horas. El tratamiento 1, T2, T3 y T4 provocaron baja mortalidad, similar al testigo hasta las 72 horas después de la aplicación, sin embargo, a partir de las 96 horas después de la aplicación la mortalidad aumento en estos tratamientos. A las 120 horas el (T3) ya había alcanzado un 50% de mortalidad y al final de la evaluación un 85% de individuos muertos, mientras que el (T4) alcanzo el 50% de mortalidad a las 192 horas y un 100% a las 240 horas; por otra parte, el (T2) no alcanzó un alto porcentaje de mortalidad en las primeras horas y solo al final del ensayo registró una mortalidad del 79%. El tratamiento 1 resultó ser ineficiente con una mortalidad que a través de las evaluaciones fluctuó entre 0 y 24%. Estos resultados nos indican que, en el laboratorio, los tratamientos (T5, T6, T7, T8 y T10) fueron eficientes para el manejo de *H. hampei* por su efectividad inmediata después de la aplicación, además de su efecto constante a través del tiempo. Por su parte, los tratamientos (T2, T3, y T4) únicamente fueron eficientes en las últimas horas de evaluación y no fue constante.

Figura 18. Mortalidad en laboratorio

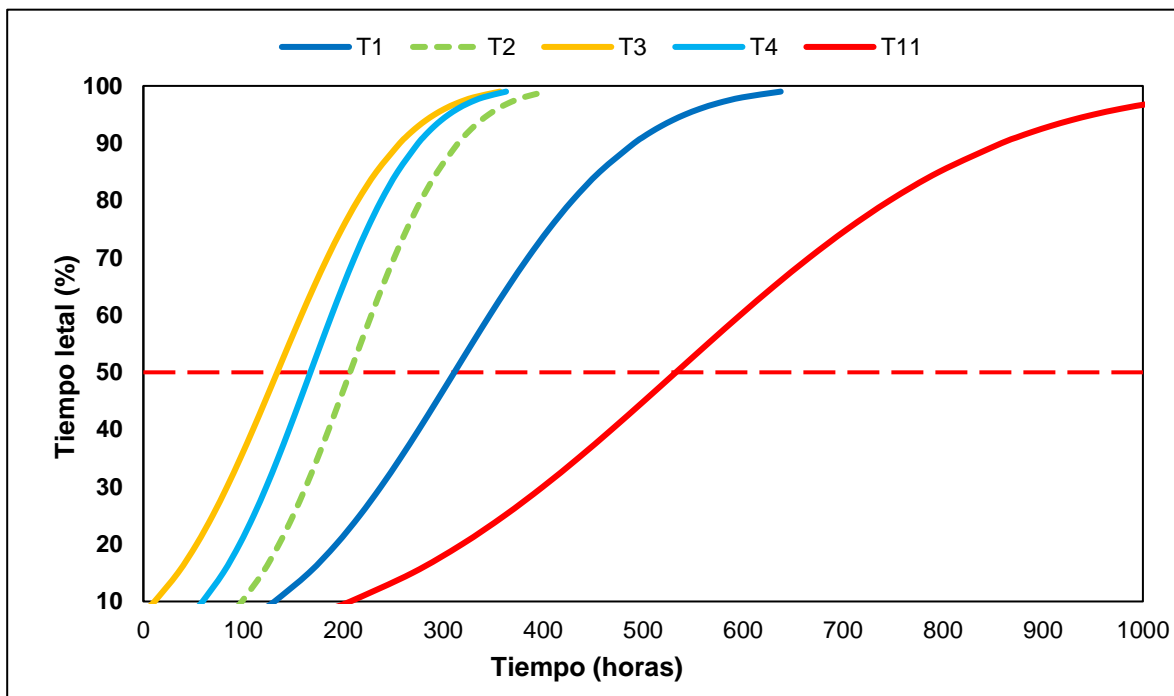


Nota. Porcentaje de mortalidad de *Hypothenemus hampei* ocasionada por el uso de 10 tratamientos en condiciones de laboratorio.

Tiempos letales medios en condiciones de laboratorio

En la figura 19 se observa la gráfica de regresión generada mediante el análisis probit. Para los tratamientos (T5, T6, T7, T8, T9 y T10), el análisis probit no logró determinar el modelo de regresión debido a que fueron tratamientos tóxicos a las primeras horas del experimento, por lo tanto, no fue posible generar los tiempos letales para estos tratamientos. El análisis generó resultados para el (T1, T2, T3, T4 y T11). Para los tiempos letales medios (TL₅₀) y para el tiempo letal efectivo (TL₁₀₀), el tratamiento que presentó mayor eficiencia en alcanzar en menos horas los tiempos letales 50 y 100 fue el T3 que necesitó 133 horas para causar el 50% de mortalidad y 356 horas para causar el 100% de mortalidad, seguido de del T4, T2 y T1

Figura 19. Tiempo letal de mortaidad



Nota. Tiempo letal de la Mortalidad acumulada (%) del adulto *H. hampei* en café tratados en condiciones de laboratorio.

5.4 Mortalidad en campo

Se presenta el análisis de varianza combinado que involucra la variable mortalidad (Tabla 2), para esta variable no se encontraron diferencias estadísticas para la fuente de variación región, estos resultados demuestran que independientemente de la región donde fueron evaluados los diferentes tratamientos, su porcentaje de mortalidad no difiere. Se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) para la fuente de tratamiento, lo cual indica que al menos entre dos tratamientos se presentaron diferencias en los valores de porcentaje de mortalidad. Únicamente se encontró diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) para la interacción Región*Tratamientos en la variable de mortalidad (%M5) a las cinco semanas.

Tabla 2. Análisis de varianza combinado con su significancia para la variable mortalidad de *H. hampei* ocasionada por el uso de tratamientos evaluados en tres zonas cafetaleras de Honduras.

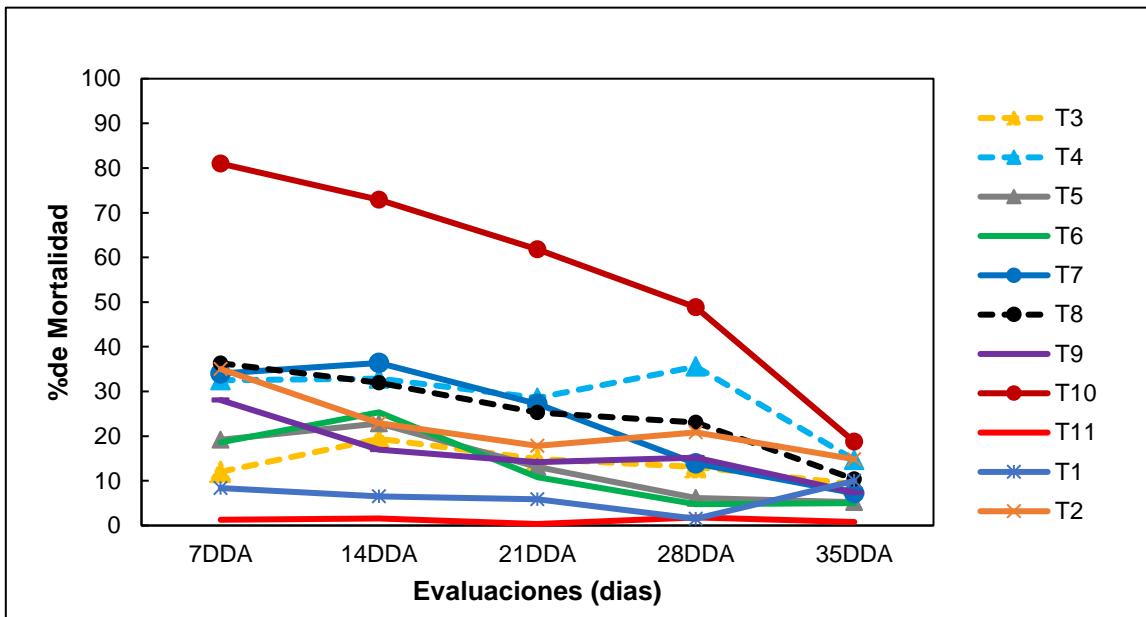
Fuente de variación	Mortalidad					
	gl	7DDA	14DDA	21DDA	28DDA	35DDA
Región	2	**	ns	ns	ns	ns
Rep(Región)	3	**	ns	ns	ns	ns
Tto	10	ns	**	ns	**	ns
Región*Tto	20	ns	ns	ns	ns	**
Error	96					

Nota. Gl: grados de libertad; *=significativo (5% de probabilidad), **= altamente significativo (1% de probabilidad), ns= sin significancia, mortalidad a los: 7DDA: siete días después de la aplicación; 14DDA: 14 días después de la aplicación; 21DDA: 21 días después de la aplicación; 28DDA: 28 días después de la aplicación; 35DDA: siete días después de la aplicación

En la figura 20 se presenta los resultados sobre la mortalidad de la broca evaluados en tres zonas cafetaleras de Honduras. De los tratamientos evaluados, el T10 fue el que registró la mayor mortalidad en el control de la broca, el cual, siete días después de la aplicación obtuvo un 80.9%. Los tratamientos T2, T4, T7 y T8 presentaron un rango de mortalidad entre 36.3 y 32.5%, el resto de tratamientos evaluados registraron mortalidad menor al 30%.

En la segunda evaluación (14DDA) nuevamente el T10 presentó mortalidad mayor al 70%, los tratamientos (T4, T7 y T8) mantuvieron un rango superior al 30%, excepto el tratamiento 2 que disminuyó sustancialmente su efecto a los 14 DDA con mortalidad inferior al 30% al igual que los tratamientos restantes. Para las evaluaciones siguientes se observó una disminución de la mortalidad en la mayoría de los tratamientos, sin embargo, el (T8, T2, T4 y T9) presentaron variaciones en la lectura a los 28DDA.

Figura 20. Mortalidad de *H. hampei* en tres Zonas cafetaleras de Honduras



Nota: Porcentaje de mortalidad de *Hypothenemus hampei* ocasionada por el uso de 10 tratamientos en tres zonas cafetaleras de Honduras.

Evaluación a los 7DDA.

Según el análisis de prueba de media (tabla 3) a los siete días después de la aplicación de los tratamientos se observó que el T10 presentó la mayor mortalidad alcanzando un 80.9%, no se observó en los diferentes tratamientos evaluados una mortalidad igual o superior a la del tratamiento 10, sin embargo, el T2, T4, T7 y T8 presentaron un rango de mortalidad entre 36.3 y 32.5%. Los demás tratamientos registraron una mortalidad por debajo del 30%.

Evaluación a los 14DDA.

Se observaron diferencias estadísticas en todos los tratamientos para la mortalidad después de los 14 días de aplicación del producto (tabla 3), donde, el T10 fue el que causó mayor daño con una mortalidad del 72.9%, seguido de un segundo grupo compuesto por los tratamientos; (T4, T7 y T8) que presentaron valores de mortalidad que oscilaron entre 36.3 y 31.9%. No se mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos; (T2, T3, T5, T6 y T9,) siendo el grupo que menor mortalidad causó a la población de la broca, de igual manera el T1 produjo la menor mortalidad a los 14 días después de la aplicación.

Evaluación a los 21DDA.

A los 21 días DDA se observó una disminución en todos los tratamientos en sus valores de mortalidad; sin embargo, el tratamiento 10 siguió con el mayor registro en mortalidad con un 61.8%. Los tratamientos T4, T7, T8 fueron el segundo grupo de tratamientos con mayor mortalidad con valores registrados entre 28.5 y 25.9%. La prueba de Tukey no detectó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (T3, T5, T6 y T9) los cuales registraron una mortalidad entre el 10.8 y 14.9 %. Ninguno de los tratamientos registró mortalidades superiores al 30%. El tratamiento con el menor porcentaje fue el T1 con 5.8%.

Evaluación a los 28 DDA

EL mayor porcentaje de mortalidad causado por los tratamientos a los 28 días DDA fue presentado nuevamente por el tratamiento 10, con un 48.8% de mortalidad, seguido por el T4 con un porcentaje de mortalidad del 35.5 %. Los tratamientos (T2, T3, T7, T8, y T9) no fueron diferentes estadísticamente con un registro de mortalidad entre 13.1 a 23.0%, el resto de los tratamientos mostraron una mortalidad menor del 10%, además, no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (T1, T5, T6 y T11).

Evaluación a los 35 DDA

Para la última evaluación, todos los tratamientos registraron una disminución en los valores de mortalidad con porcentajes inferiores al 18.7%. Los tratamientos con mayor porcentaje de mortalidad fueron (T1, T2, T3 y T4) con una mortalidad entre 10.3 y 18.7%. Los demás tratamientos presentaron un porcentaje de mortalidad inferior a 9.2 %.

Tabla 3. Análisis de media para la variable mortalidad en poblaciones de adulto *H. hampei* ocasionada por el uso de 10 tratamientos evaluados en tres zonas cafetaleras de Honduras.

Tratamientos	Mortalidad%									
	7DDA		14DDA		21DDA		28DDA		35DDA	
	Media	T	Media	T	Media	T	Media	T	Media	T
T10	80.99	a	72.89	a	61.84	a	48.85	a	5.04	b
T8	36.32	b	31.93	b	25.29	b	23.04	c	7.22	b
T2	35.01	b	22.94	c	17.81	b	20.84	c	14.83	a
T7	33.98	b	36.37	b	27.23	b	13.91	c	7.41	b
T4	32.52	b	32.89	b	28.57	b	35.56	b	10.36	a
T9	28.07	bc	16.99	cd	14.19	c	15.19	c	5.22	b
T5	19.18	c	22.84	c	13.08	c	6.14	d	9.99	b
T6	18.60	c	25.33	c	10.85	c	4.77	d	9.26	b
T3	12.02	d	19.40	c	14.92	c	13.10	c	14.71	a
T1	8.39	d	6.54	d	5.86	cd	1.51	d	18.75	a
T11	1.27	e	1.56	e	0.33	e	1.81	d	0.83	c
Media	27.85		26.33		19.99		16.79		9.41	
DMS	15.04		11.54		12.02		11.59		7.04	
CV%	40.12		32.55		44.64		51.27		55.53	

T = Separación de medias por Tukey con un nivel de significancia del 5%; **DMS** = Diferencia Mínima Significativa con un nivel de significancia del 5%, **mortalidad** DDA: días después de la aplicación

Tiempos letales medios en ensayos de campo

Se realizó el análisis Probit, para determinar el tiempo necesario para causar el 50% de mortalidad de la población de *H. hampei* en las diferentes regiones de evaluación (tabla 4). En las zonas de Lempira y Santa Bárbara se registró una media de TL_{50} de 22.7 días, en ambas regiones los tratamientos requirieron igual número de días para causar el 50% de mortalidad de la población, la cual, estuvo comprendida entre 11.1 a 56.9 días. En la zona de Márcala se registró una TL_{50} diferente a las demás zonas con un valor de 23.1 días, para esta zona los tratamientos registraron una TL_{50} entre 10.2 a 51.7 días. Los tratamientos, (T2, T4, y T8), en las tres zonas evaluadas, alcanzaron con mayor rapidez el tiempo requerido para eliminar el 50% de la población de broca del café, el cual fue menor a 14 días, mientras que, el tratamiento con la menor toxicidad fue el T1 que mostro una mayor lentitud para alcanzar el TL_{50} de la población con un lapso de 51 y 56.9 días. Para las zonas de Lempira y Santa Bárbara los tratamientos antes mencionados siempre obtuvieron el

mismo orden de méritos, mientras que en Márcala hubo un cambio en el orden, sin embargo, siempre estos tratamientos (T2, T4 T7 y T8) fueron los de mayor toxicidad.

Al analizar los valores de las pendientes (β) obtenidas del análisis probit de regresión inversa, no se evidenció diferencia significativa para los tratamientos que presentaron un menor tiempo de TL₅₀ fue el (T4, T7 y T8), para las zonas de Lempira y Santa Bárbara, debido a que, los valores de las pendientes de las líneas de regresión fueron iguales (0.11), además, no se encontraron diferencias para los tratamientos (T3, T5, T6 y T9), los cuales fueron uno de los tratamientos que requirieron mayor tiempo para alcanzar el 50% de mortalidad en la población con un tiempo comprendiendo entre 18,7 y 29.7 días.

Al comparar los valores del TL₅₀ y la pendiente con la zona de Márcala, los tratamientos (T2, T6 y T9) fueron los únicos tratamientos que presentaron un valor de TL₅₀ y de pendiente con diferencia notable, para el tratamiento 9 y T6, registraron un mayor tiempo para eliminar el 50% de la población con una diferencia de 3 y 18 días más respectivamente, estos resultados evidencian que al obtener un valor igual de pendiente a través de las zonas evaluadas la respuesta del TL₅₀ es igual independientemente donde la zona que se evaluó.

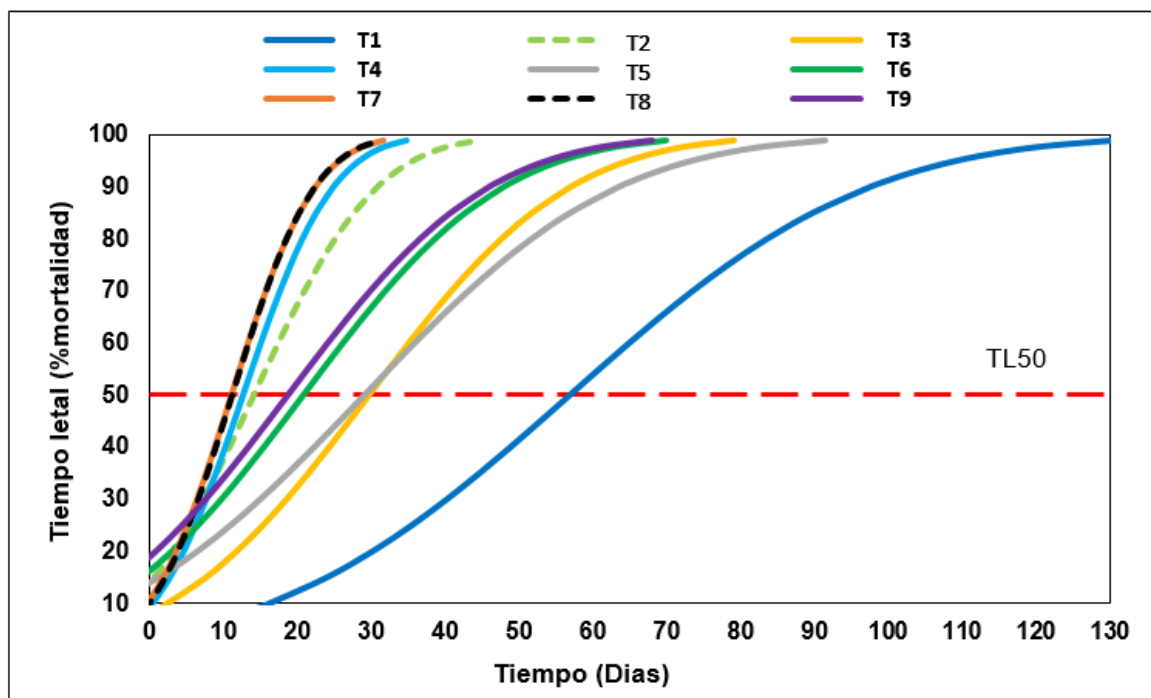
Tabla 4. Tiempo letal medio de poblaciones de adulto *Hypothenemus hampei* ocasionada por el uso de 10 tratamientos evaluados en tres regiones cafetaleras de Honduras.

Tratamientos	Regiones									Promedio
	Lempira			Márcala			Santa Bárbara			
	TL ₅₀	β	R	TL ₅₀	β	R	TL50	β	R	
T7	11.13	0.11	1	10.28	0.14	2	11.13	0.11	1	10.85
T8	11.22	0.11	2	9.00	0.15	1	11.22	0.11	2	10.48
T4	12.69	0.11	3	11.47	0.12	4	12.69	0.11	3	12.28
T2	14.09	0.08	4	10.96	0.06	3	14.09	0.08	4	13.05
T9	18.73	0.05	5	21.12	0.04	5	18.73	0.05	5	19.53
T6	20.8	0.04	6	38.44	0.03	8	20.8	0.04	6	26.68
T5	29.15	0.05	7	29.49	0.05	7	29.15	0.05	7	29.26
T3	29.75	0.05	8	26.58	0.05	6	29.75	0.05	8	28.7
T1	56.93	0.03	9	51.07	0.03	9	56.93	0.03	9	54.98
T11	197.23	0.01	10	74.04	0.03	10	197.23	0.01	10	156.17
Promedio	22.72			23.15			22.72			

TL₅₀ = tiempo letal medio; β = pendiente; R=Ranqueo descendente según la TL₅₀.

En la figura 21 se muestra el tiempo letal de la mortalidad acumulada de las zonas de Lempira y Santa Bárbara. Se evidencia que el tratamiento 1 fue el que presentó mayor cantidad de tiempo para TL₅₀ con un registro de 56.9 días, los demás tratamientos necesitaron un rango entre 11 a 29 días para alcanzar la TL₅₀. Para que se obtenga un 100% de mortalidad de la broca para ambas zonas según la gráfica generada del análisis Probit los tratamientos que alcanzaron la TL₁₀₀ con mayor rapidez fueron: T2, T4 y T8, los cuales necesitaron entre 30 y 45 días para matar el 100% de la población, seguido de un segundo grupo compuesto por los tratamientos; (T3, T5, T6, T7 y T9) que requirieron de 70 a 90 días. El tratamiento 1 fue el que necesitó un tiempo mayor a 100 días para obtener el 100 % de mortalidad.

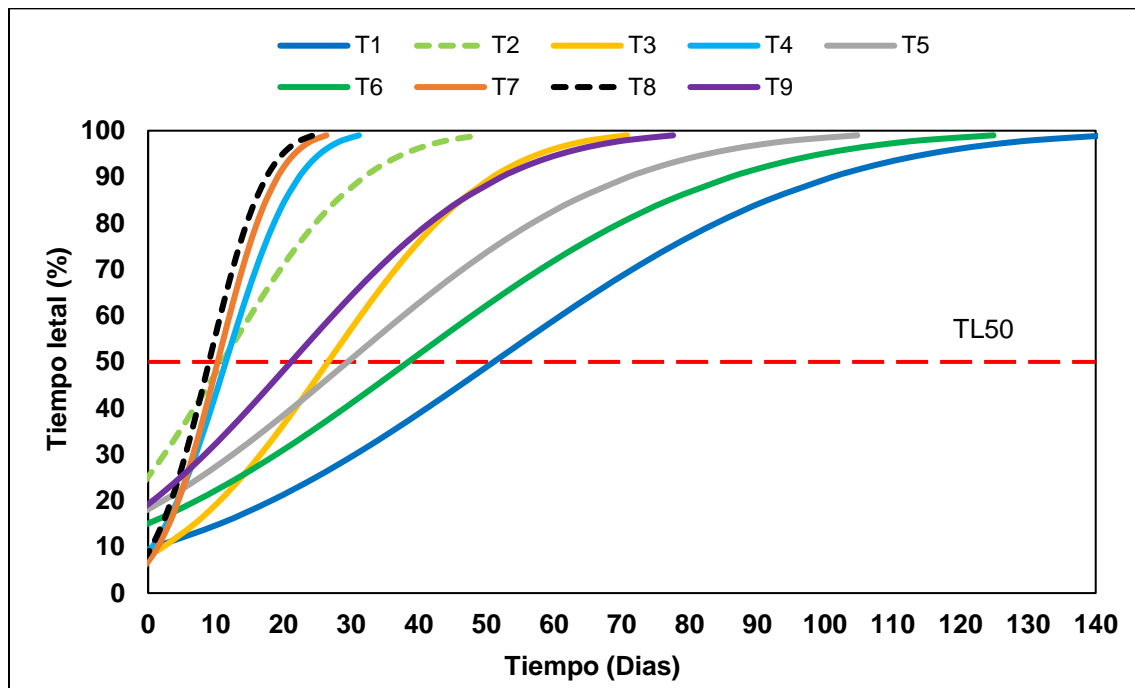
Figura 21. Tiempo letal de mortalidad en dos zonas cafetaleras



Nota: Tiempo letal de mortalidad del adulto *Hypothenemus hampei* en café tratados con 10 tratamientos para las zonas de Lempira y Santa Bárbara

Se presentan los datos del tiempo letal requerido obtenidos con los diferentes tratamientos sobre la población de *H. hampei* para la zona de Márcala (figura 22). Se estableció un grupo con la mayor toxicidad para la TL₅₀ que incluyó los tratamientos (T2, T4, T7 y T8), el cual necesitaron menos de 14 días. Más de 100 días se requieren para matar el 100% de la población para el tratamiento 1, T5 y T6, Se necesita un rango entre 70 a 75 días para eliminar el total de la población para T3 y T9. Por último, para los demás tratamientos únicamente se requiere menos de 50 días para alcanzar el 100% de mortalidad de la broca.

Figura 22. Tiempo letal de mortalidad en la zona de Márcala



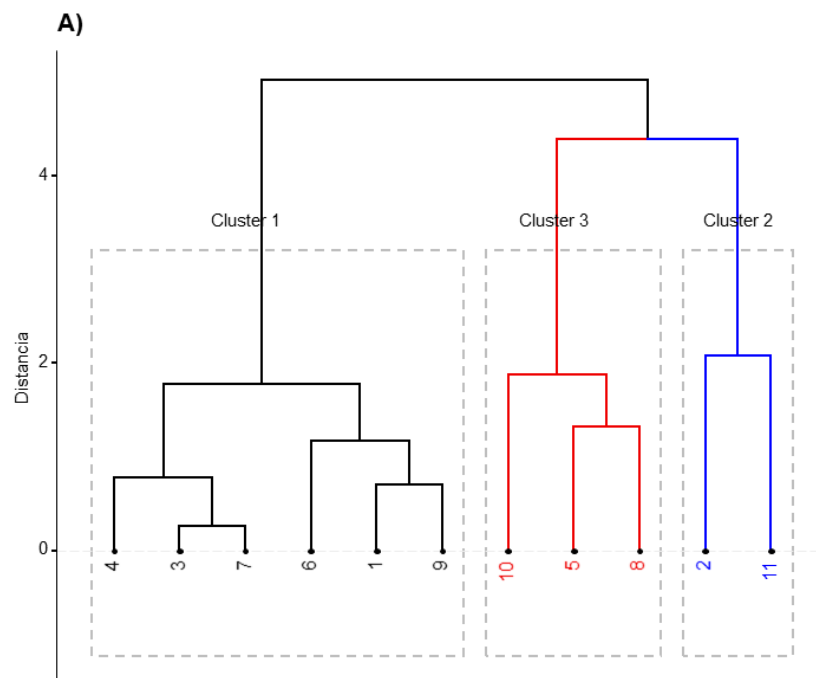
Nota. Tiempo letal de mortalidad del adulto *Hypothenemus hampei* en café tratados con 9 tratamientos para la zona de Márcala.

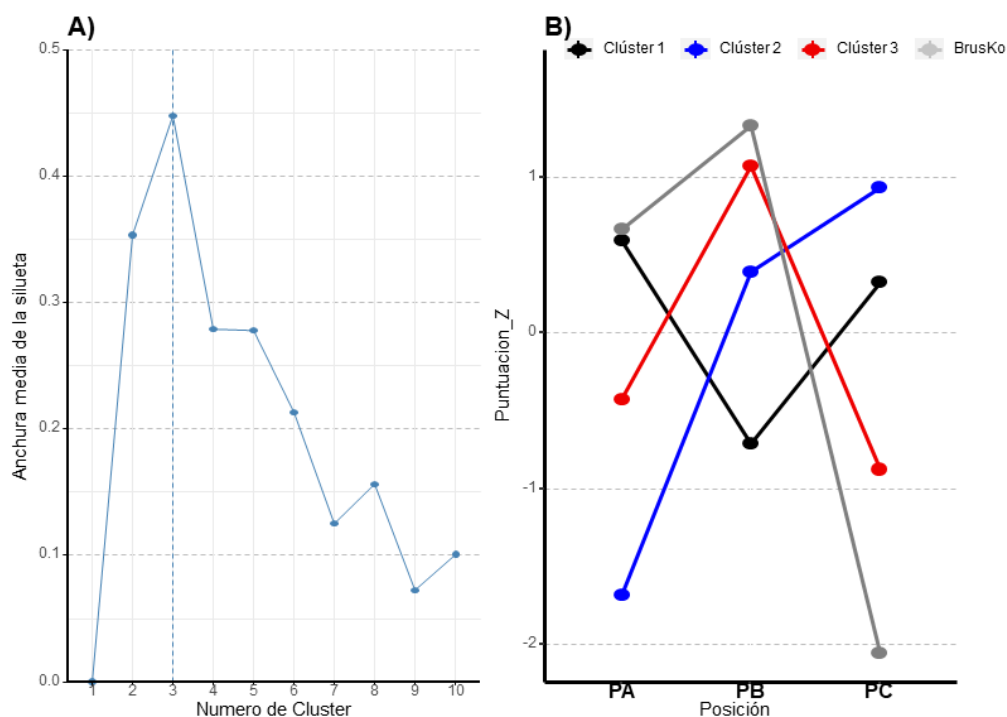
Análisis de agrupamiento (Clúster)

Agrupamiento de tratamientos para la variable posición a los 14 DDA

Según el criterio de la anchura media de la silueta (**Figura 23-B**) el número de clúster ideal para lograr explicar el 76.8% de la variación de las variables es tres, por lo tanto, los tratamientos se agruparon de acuerdo a este método (**Figura 23-A**). En el cluster 1 se agruparon los tratamientos (T1, T3, T4, T6, T7 y T9), en el clúster 2 (T2 y T11), por último, en el clúster 3 los tratamientos (T5, T8 y T10). Las diferencias entre clúster se observan en la figura **23-C**, para la posición de la broca a los 14 días después de aplicación, se encontró que el clúster 1 es similar al T10 (Clorpirifos) para la posición A y con un menor número de brocas en la posición B, para el clúster 2 se observó que presentó los menores valores de broca en la posición A y junto con el clúster 1 la mayor cantidad de broca en la posición C, el clúster 3 corresponde a tratamientos con un mayor valor de broca en la posición A y de menor cantidad de broca para la posición D. Para los 14 días después de la aplicación de los tratamientos no se observaron brocas en la posición D o frutos dañados. Por lo tanto, aquellos grupos que presentaron una mayor cantidad de broca en la posición C corresponden a tratamientos con poco control para broca, caso contrario sucede con aquellos que presentan una menor cantidad de broca en las últimas posiciones es así que, los tratamientos del clúster 3 (T5, T8 y T10) son ideales para el control de broca.

Figura 23. Agrupamiento de cluster 14 días después de la aplicación





Nota. Agrupamiento K-Means de los tratamientos con base a la distancia euclidiana para variable posición de la broca en el bruto a los 14 días después de la aplicación

Análisis de medias para los clústeres

Se registró únicamente tres rangos de posición de ataque A, B y C para los 14 días, donde, se encontró diferencias significativas entre los clústeres (Tabla.5) se observó que el clúster 1 y 3 presentan los mayores porcentajes de broca en la posición A entre 23 y 27.8%, para la posición B los clústeres 2 y 3 fueron similar, siendo, los de mayor porcentaje de broca encontrada en el canal de penetración, por último, no se observó diferencias para clústeres 1 y 2 respecto a la posición D con porcentajes entre 26.8 y 32.2%.

En general los tratamientos que pertenecen al clúster 3 fueron mejores al controlar broca con una cantidad de broca mayor en las primeras posiciones e inferior en la última posición, a pesar que los tratamientos (T1, T3, T4, T6, T7 y T9) pertenecientes al clúster 2 presentaron porcentajes altos de broca en las primeras posiciones (A y B), estos fueron menos eficientes para el control debido a la cantidad de broca encontrada en la posición C.

Tabla 5. Prueba de media para los Clúster según el porcentaje de broca de acuerdo a la posición en el fruto

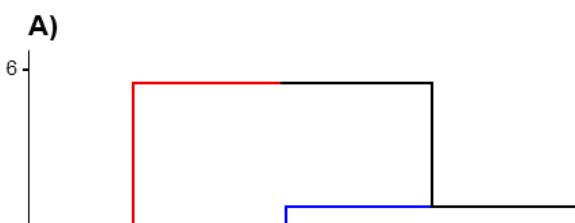
Clúster	N	Variables					
		PA	T	PB	T	PC	T
1	6	27.8	b	45.7	a	26.8	b
2	2	11.3	a	56.6	b	32.2	b
3	3	23	b	64.1	b	12.8	a
T11		28.33		65.83		5.83	

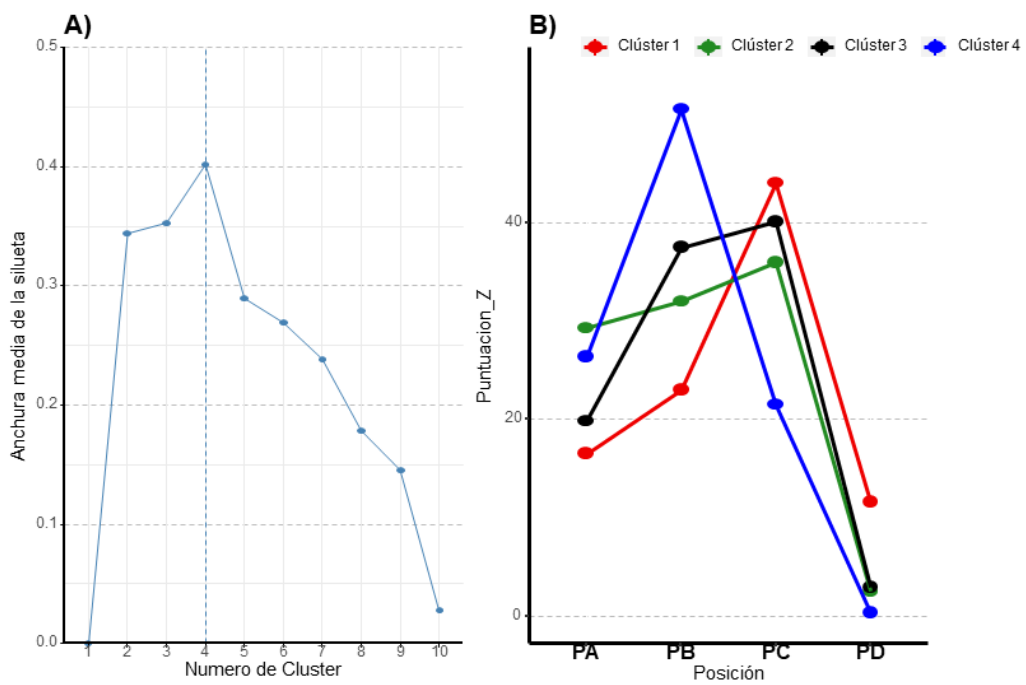
N*: Número de tratamientos, T = Separación de medias por Tukey con un nivel de significancia del 5%, PA: posición A, PB: posición B, PC: posición C

Agrupamiento de tratamientos para la variable posición a los 35 días después de la aplicación

Se evaluaron un total de 10 tratamientos más el testigo, la anchura media de la silueta sugirió que para lograr explicar un 83.1% de la variación total para la posición de la broca en el fruto a los 35 días después de la aplicación deben ser clasificados en cuatro grupos (**Figura 24-B**). Según el algoritmo de mínima distancia (K-means), el clúster 1 fue conformado por los tratamientos (T1 y T11), los tratamientos (T2, T3, T4 y T5) se agruparon en el clúster 2, los tratamientos (T6, T7 y T9) se agruparon en el clúster 3, por último, el clúster 4 únicamente fue conformado por el tratamiento 10 y T8. (Figura 24-A), las diferencias entre grupos se observa en la Figura 24-C en donde, aquellos grupos de tratamientos con mayores valores de broca en las primeras posiciones y menores valores de broca en la últimas posiciones son catalogados eficaces para el control de la broca en el fruto del café, es así que, para el clúster 1 se presentó valores bajos de broca para las primeras posiciones (A y B) y valores altos en las últimas posiciones (C y D). El clúster 2, agrupa tratamientos que presentan valores altos de broca en la posición A y valores menores en la última posición (D), en el clúster 3 se encuentran tratamientos con valores bajos de broca en la posición A y C, sin embargo, con valores altos en la posición C. Los tratamientos que se agrupan en el clúster 4 presentan valores altos en las primeras posiciones (A y B) y valores bajos de broca en las últimas posiciones (C y D).

Figura 24. Agrupamiento de cluster 35 días después de la aplicación





Nota. Agrupamiento K-Means de los tratamientos con base a la distancia euclidiana para variable posición de la broca en el bruto a los 35 días después de la aplicación.

Análisis de medias para los clústeres

En la Tabla 6, se presenta los resultados del análisis de medias para la variable posición de penetración utilizadas para la formación de los cuatro clústeres, la media general y la prueba estadística de rangos múltiples (Tukey) significativa al 5%. Al evaluar los clústeres a través de un análisis de varianza se observó que se presentaron diferencias estadísticas entre los clústeres para las variables de posición. Los clústeres 2 y 4 fueron similares y con mayor porcentaje de broca en la posición A con valores entre 29.3 y 26.3% respectivamente, para la posición B el clúster con menor porcentaje de broca fue el número 1 (23%), mientras que, el clúster 4 fue el de mayor porcentaje con un 51.5% los clústeres 2 y 3 no fueron diferentes estadísticamente.

Para la posición C los porcentajes más altos de broca fueron para los clústeres 1 y 3 con porcentajes de 44 y 40% respectivamente, el clúster 4 junto con el clúster 2 fueron los de menor porcentaje de broca con 22% y 36%. Únicamente el clúster 1 fue el de mayor porcentaje de broca encontrada en la posición C con un 12% comparado con los demás clústeres que presentan un menor porcentaje de broca con valores entre 0.4 y 3%. En general para la variable posición de la broca a los 35 días después de la aplicación de los tratamientos (T2, T3, T4 y T5) que se agruparon en el clúster 2 y los tratamientos (T10 y T8) ubicados en el clúster 4 fueron eficaces para el control de *H. hampei*, debido a que presentaron un bajo porcentaje de brocas en las últimas posiciones (C y D) a diferencia de los demás clústeres.

Tabla 6. Prueba de media para los clústeres según el porcentaje de broca *H. hampei* de acuerdo a la posición en el fruto a los 35 días después de la aplicación de tratamientos.

Clúster	N	Variables							
		PA (%)	T	PB (%)	T	PC (%)	T	PD (%)	T
1	2	16.5	b	23	c	44	a	12	a
2	4	29.3	a	32	b	36	b	2.5	b
3	3	19.8	b	37.4	b	40	a	3	b
4	2	26.3	a	51.5	a	22	b	0.4	b

Nota. N*: Número de tratamientos, T = Separación de medias por Tukey con un nivel de significancia del 5%, PA: posición A, PB: posición B, PC: posición C.

Tiempos letales medios en ensayos de mangas

Según el análisis probit (Tabla 7), el TL₅₀ varió entre 16.8 a 42.7 días entre los tratamientos. El tratamiento 4, T7 y T10 fueron los únicos tratamientos que lograron alcanzar en menos de 28 días el tiempo requerido para matar el 50% de la población de *Hypothenemus hampei*, por lo tanto, estos tratamientos fueron los más eficaces para el control de la broca.

Se observó que el tratamiento 10 fue el que llegó en menor tiempo al 50% de mortalidad con una TL₅₀ de 16 días, seguido del T7 con 24.2 días. Sin embargo, al observar los intervalos de confianza al 95% (LI 16.64- LS 41.09 días) y la pendiente (β) de igual magnitud (0.053) los valores no difieren estadísticamente con el tratamiento 10. Para los demás tratamientos no fue posible encontrar una TL₅₀ dentro de los 28 días de evaluación, sin embargo, mediante la ecuación de regresión generada por el análisis probit se determinó el TL₅₀; en ese sentido, los tratamientos que registraron los tiempos más altos o menos efectivos a excepción del testigo (128.17 días) para eliminar el 50 % de la población fueron: (T1, T2, T3 y T6) con un rango entre 35 a 42 días.

Tabla 7. Tiempo letal medio de adulto *H. hampei* en condiciones de mangas entomológicas.

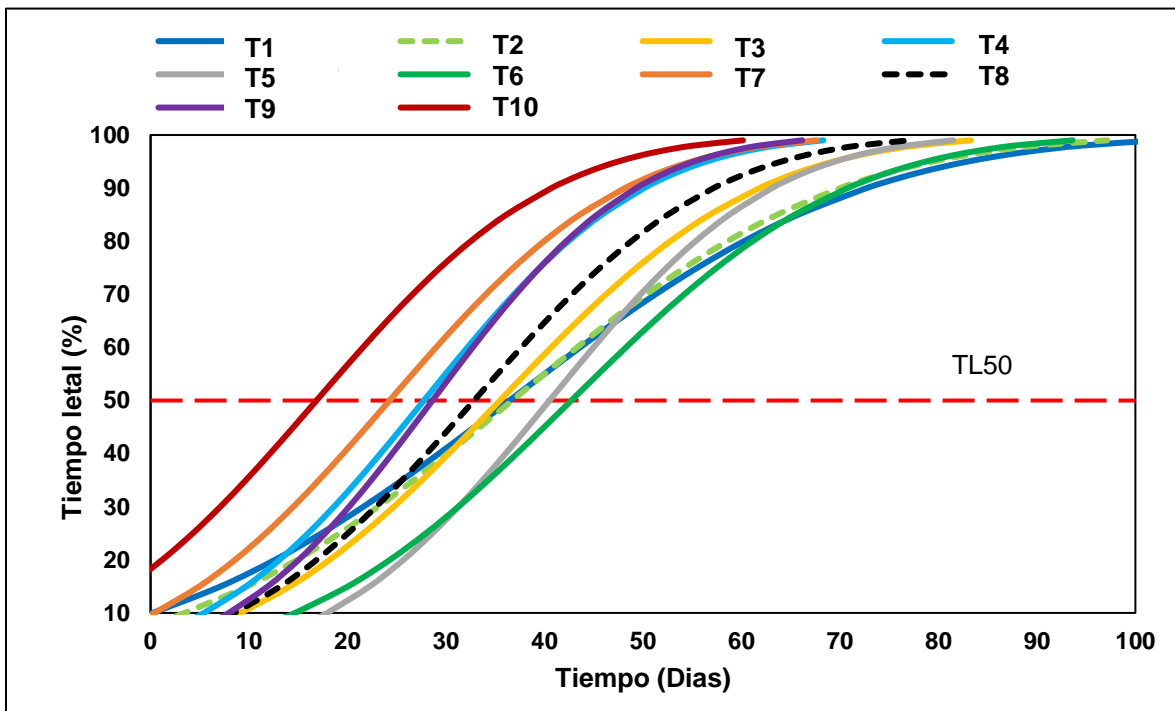
Tratamientos	TL ₅₀ (días)	LI-95 %	LS-95%	$\beta \pm E.E$	Rank
T10	16.84	15.24	18.38	0.053 \pm 0	1
T7	24.27	16.64	41.09	0.053 \pm 0.02	2
T4	27.76	18.61	83.84	0.057 \pm 0.01	3
T9	28.62	.	.	0.062 \pm 0.02	4
T8	32.84	30.58	35.75	0.052 \pm 0	5
T3	35.47	.	.	0.048 \pm 0.01	6
T1	36.44	.	.	0.035 \pm 0.01	7
T2	36.72	33.05	42.15	0.038 \pm 0	8
T5	40.51	.	.	0.056 \pm 0.01	9
T6	42.72	.	.	0.045 \pm 0.02	10
T11	128.17	81.34	475.77	0.013 \pm 0.01	11

TL₅₀ = tiempo letal medio; **LI**=límite inferior al 95%; **LS**=límite superior al 95%; β = pendiente; **E.E** = Error estándar; **Rank**=Ranqueo descendente según la TL₅₀.

Se presentan los datos del tiempo letal requerido para los diferentes tratamientos sobre la población de la broca en condiciones de mangas entomológicas (figura 25). Para la TL₅₀ se confirmó que el tratamiento 6 necesitó un mayor tiempo con 42.7 días, seguido del tratamiento 5 con 40 días. El tratamiento 10 presentó la mayor toxicidad, necesito 16 días para alcanzar el TL50. Más de 100 días se requieren para matar el 100 % de la población

para el T1, seguido por el T2 y T6. Estos resultados evidencian que estos tratamientos fueron menos eficientes. Se necesita un rango entre 76 a 83 días para eliminar el total de la población para el T3, T5 y T8, por último, para los demás tratamientos se requiere menos de 70 días para alcanzar el 100% de mortalidad de la broca del café que incluyó el T4, T7, T9 y T10

Figura 25. Tiempo letal de mortalidad usando infestación artificial



Nota. Tiempo letal de mortalidad del adulto *Hypothenemus hampei* en café tratados con 10 tratamientos en condiciones de manga con infestación artificial.

VI. Discusión

En la presente investigación se utilizó el aislamiento de *B. bassiana* cultivado en arroz en bolsas de polipropileno a una suspensión 1.83×10^8 conidios, presentando un desarrollo característico, propio de su organismo, obteniendo un rendimiento de 5.49×10^8 conidios/gramo de arroz. En trabajos realizados por (Rodríguez *et al.*, 2017), donde “evaluaron diferentes sustratos naturales para la producción de conidios de dos cepas nativas de *B. bassiana* (HIB-4 y HIB-7) y una de colección (GHA), en los resultados encontraron diferencias estadísticamente significativas, con arroz obtuvieron 3.15×10^8 conidios/g; siendo este resultado inferior a los encontrados en la presente investigación.

De acuerdo con (Vasquez, 2020), al evaluar diferentes sustratos entre ellos arroz, encuentro que la cantidad de conidios por gramo producido, muestra 4.55×10^9 conidios/mm², este presenta características aceptables de calidad y rendimiento. En condiciones controladas de temperatura y humedad se pueden obtener concentraciones adecuadas del hongo entomopatógeno para utilizarse como controlador biológico, Cenicafe, bajo condiciones de laboratorio al cultivar en arroz, la cepa Bb9205 obtienen 1×10^9 esporas /g de arroz (Gongora *et al.*, 2009). “La variación en la producción de conidios en diferentes sustratos evaluados en el presente y otras investigaciones puede atribuirse de alguna manera, a que el rendimiento de esporas por gramo de sustrato también se ve influenciado por la cepa utilizada y por las condiciones de la misma, pudiendo variar entre 5×10^3 y 2.5×10^{11} conidios/g de sustrato (Monzon, 2001)”

De acuerdo con Torres *et al.* (2016), en su investigación muestran que al aislar las cepas de *B. bassiana* a una suspensión de 1×10^6 durante 15 días a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ para la cepa BbTcf9, BbTcf3, BbTcf12 lograron $485,47 \times 10^7$, $479,25 \times 10^7$ y $449,55 \times 10^7$ esporas/g de arroz, respectivamente. De igual manera en Cuba, como en otros países vienen desarrollando la producción artesanal de *B. bassiana*, investigadores como (Villalba, Grillo, & Cupull, 2009) han determinado bajo estudios la esporulación de este hongo entomopatógeno en diferentes sustratos, a temperatura de 30°C , utilizando viruta y serrín como soporte. Los resultados muestran que los sustratos en polvos de arroz y maíz presentaron las mayores concentraciones, alcanzando rendimientos de $3,4 \times 10^{10}$ y 3×10^{10} .

Pruebas de calidad

Un producto entomopatógeno, de uso en la agricultura debe tener una pureza superior del 95% y no presentar organismos contaminantes o patógenos para humanos, plantas o animales (Gómez & Mendoza, 2004). Por tal razón, los resultados de la presente investigación para la variable pureza permitieron corroborar que el T1 a base de *B. bassiana* presentó un 58.5% de pureza, porcentaje muy bajo por lo establecido por la norma de pureza, debido a que el porcentaje fue tan bajo se realizaron observaciones visual y microscópicamente de los medios de cultivo, donde se pudo identificar la presencia de organismos no deseados en mayores cantidades, para corroborar lo observado en los medios se envió una muestra al departamento de protección vegetal de diagnóstico de plagas y enfermedades de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA), donde, los resultados revelaron que la presencia del 100% de los implantes rindieron crecimiento fungoso de intensa coloración verde azulado identificado microscópicamente en base a su morfología como *Trichoderma* sp. Este se encontró creciendo consistentemente como único microorganismo en medio de cultivo Agar Agua (Anexo 1: Análisis Fitopatológico de Medio de Cultivo). Al respecto (Monzón, 2001), menciona que además los hongos contaminantes pueden producir sustancias que inhiben el crecimiento y la formación de estructuras reproductivas del hongo de nuestro interés; razón por la que se puede atribuir la inhibición de *B. bassiana* en el medio de cultivo.

El T2 y T3 fueron los únicos tratamientos que presentaron una pureza aceptable con un 99% respectivamente. El T3 es un insecticida comercial que según su etiqueta de fabricación contiene los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, al momento de realizar pruebas de laboratorio se corroboró la nula presencia de *M. anisopliae*, por lo tanto, no se cumple lo descrito en la etiqueta de fabricación y el efecto causado por la aplicación de este tratamiento se atribuye únicamente al entomopatógeno *B. bassiana*. A pesar de encontrar un excelente porcentaje de pureza en el T2 y T3 siempre se detectaron microorganismos indeseados en mínimas cantidades (1%), donde se pudo identificar a los géneros: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Datos similares fueron reportados por (Arrubla, Cárdenas, & Posada, 2010), “donde al evaluar el efecto de la humedad sobre las esporas de *B. bassiana* expuestas a diferentes niveles de humedad, la pureza de las esporas fue superior al 98% en todos los niveles de humedad y en todas las evaluaciones tuvieron presencia de hongos contaminantes de los géneros: *Penicillium*,

Aspergillus, *Fusarium* y Levaduras, con porcentajes de unidades formadoras de colonias, menores del 1.0%". (Londoño *et al.*, 1992), cita que la contaminación puede deberse a errores cometidos en la siembra del entomopatógeno, o por la presencia en el cultivo puro de contaminantes, en ocasiones se presenta la contaminación por ácaros, que se presenta cuando en los estantes donde está madurando el hongo se deposita mucho polvo, o que este no se remueve periódicamente.

Los contaminantes están presentes en el ambiente y en materiales que se utilizan en el laboratorio cuando no se cumplen las normas de bioseguridad establecida, son considerados contaminantes por que compiten con los nutrientes del medio de cultivo, de igual manera los contaminantes llegan a comportarse como hiperparásitos, es decir que se alimentan del hongo (Monzón, 2001). Este mismo autor señala a los generos: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, dentro de los géneros de hongos contaminantes más comunes. (Vélez *et al.*, 1997), al evaluar el porcentaje de pureza de la cepa Bb9205, observaron la presencia de *Penicillium* sp. en un mínimo porcentaje (0.17%). (Díaz, Contreras, & Gomez, 2019), en su investigación corroboraron la pureza de *B. bassiana* que corresponde al 100% en el producto líquido y al 99.5% en el sólido; estos autores indican que ambas formulaciones presentan condiciones adecuadas para su aplicación a nivel de laboratorio y campo (Tipás, 2020).

Al evaluar los parámetros de calidad del aislamiento nativo y de las tres cepas de productos biológicos evaluados, la variable germinación de los cuatros aislamientos de *B. bassiana* mostraron valores porcentuales inferiores al 70% de germinación. El T4 y T3 fueron los de mayor porcentaje con valores de 61.5 y 59.5%, T2 con un valor de 40.7% mientras que el T1 con un porcentaje de 2.8%, siendo este el valor más bajo en los productos evaluados. (Cárdenas *et al.*, 2007), en su investigación evaluaron la germinación de tres formulaciones comerciales con un tiempo de evaluación de 24 horas, donde obtuvieron resultados de 79.5, 58.3 y 12.8% respectivamente, valores de igual manera bajos y variables como a los encontrados en la presente investigación. (Sahayaraj & Namasivayam, 2008) cita que un producto comercial debe presentar un porcentaje mayor del 85% de germinación en un periodo de 24 horas de incubación, debido que al ser asperjado en campo el entomopatógeno debe presentar un efecto inmediato en la población que se desea controlar y en un periodo corto de exposición en el ambiente.

Al respecto (Lopez, 2017), “en su trabajo encontró promedios de 91.30%, 91.69% y 91.20% de germinación, superando el valor del 85% establecido como norma”. (Godoy, Valera, Guédez, Cañizalez, & Castillo, 2007), en su investigación al evaluar la germinación de cepas de *B. bassiana* a 25° y 30°C en medio PDA, obtuvieron un porcentaje de germinación superior al 60% a 25°C, mientras que, a 30°C el porcentaje de germinación osciló entre el 28% y 37%, concluyendo que la temperatura influye en gran manera y es optima a 25°C. Por otra parte, (Arrubla *et al.*, 2010) en su estudio al determinar la germinación de las esporas de *B. bassiana* para 1, 10 y 20 días de evaluación a diferentes niveles de humedad: después de 24 horas presento porcentajes entre 88.9 a 82.1%, después de diez días entre 79 y 68%, y entre 62.2 a 56.2%, después de los 20 días.

El Diámetro de Crecimiento Radial (DCR) de las 4 cepas de *B. bassiana* se encontro como promedio mínimo de crecimiento de 1.4 mm/día. T2 y T3 fueron los productos que presentaron el crecimiento más bajo (1.3mm) mientras que el T4 y T1 presentaron promedios de 1.84 mm, 1.46 mm respectivamente. En el T1 a pesar que se corrobora la presencia de *Trichoderma* en su presentacion,al extraer únicamente esporas de *B. bassiana* dos dias despues de la inoculación del producto en medio PDA se observo un buen crecimiento diario en comparacion del resto de los tratamientos, por lo que se cumple lo descrito por (Monzón, 2001), donde menciona que además los hongos contaminantes pueden producir sustancias que inhiben el crecimiento y la formación de estructuras reproductivas del hongo de nuestro interés, en este caso la presencia de *Trichoderma* esta inhibiendo a *B. bassiana*. Las diferencias evidenciadas entre los diferentes tratamientos probablemente se dieron por que la temperatura a la cual fueron evaluadas (25°C), probablemente no fue la más favorable para el crecimiento de todos los aislamientos.

Otros autores como, (Vilchez, 2019) en su investigación reporto como promedio mínimo de crecimiento 1.7 mm/día en la cepa ABsp.P20. A su vez los resultados obtenidos por (Velez, Estrada, Gonzalez, Valderrama, & Bustillo, 2001), indican niveles entre 2.1mm/día y 3.7 mm/día de crecimiento radial entre los aislados estudiados, siendo estos valores mayores a los encontrados en la presente investigación. Según (Espinoza & Vallejos, 2016), la tasa de crecimiento radial de un hongo depende de factores como el tipo de cepa a utilizar, las condiciones del sustrato donde se desarrolla, además de su habilidad para subsistir a diferentes temperaturas, entre otros.

Mortalidad de las formulaciones comerciales de *B. bassiana*

Durante el periodo experimental de este trabajo, independientemente de la región donde fueron aplicados los diferentes tratamientos, el porcentaje de mortalidad no difirió entre las tres regiones evaluadas. Para el caso de las Bio formulaciones comerciales del T1, T2 y T3, bajo condiciones de laboratorio, campo abierto y en mangas entomológicas la mortalidad fue relativamente baja durante todas las evaluaciones. Diversos estudios han demostrado que al utilizar formulaciones biológicas a base de *B. bassiana* incrementan los porcentajes de mortalidad de la broca. Bastidas *et al.*, (2009), cita porcentajes de mortalidad de un 62,1% a favor de un producto comercial de origen biológico, estos resultados no son consistentes con los del presente experimento ya que la mortalidad evidenciada en la presente investigación son valores inferiores al 40% en todas las condiciones de evaluación. De la misma manera Benavides & Arevalo (2002), al realizar aplicaciones de *B. bassiana* por aspersión en campo abierto encontraron que, el porcentaje de mortalidad ocasionado en promedio fue de un 51.7% en las áreas donde el hongo fue aplicado. Esta diferencia porcentual de mortalidad encontrada en los resultados puede atribuirse a las diferentes muestras procedentes de distintos lugares de fabricación, los estados fisiológicos, condiciones asépticas donde se realiza el proceso y medio ambiente.

Según el análisis probit en laboratorio, de las tres formulaciones comerciales, el tratamiento 1 fue el que necesitó de un mayor tiempo de exposición para matar el 50% de la población, Así mismo en campo el T1 presenta igual comportamiento, siendo el tratamiento que más ineficiente y el que requiere más días para alcanzar el 50% de mortalidad (54.9% en promedio) esto puede atribuirse a que no está presente el 100% de *B. bassiana* como lo indica la etiqueta de fabricación para lograr ejercer un mayor efecto. El T3 registró 28.7 días para alcanzar el (TL50), mientras que el T2 fue el mejor necesitando de un tiempo menor de 14 días para lograr el 50% de mortalidad en las tres regiones de evaluación en campo abierto, estos resultados presentan una relación directa a los encontrados en la prueba de pureza donde se corroboró el 99% de presencia de *B. bassiana* y se atribuye su efectividad causada mortalidad en la población de *H. hampei*. *B. bassiana* es un entomopatógeno que actúa desde el inicio de la aplicación, su efectividad se observa a partir del cuarto día actuando por contacto en los diferentes estadios de los insectos plaga (Alves, 1998). En un trabajo reportado por Cárdenas *et al.*, (2007) al aplicar una formulación comercial a base de *B. bassiana*, la mortalidad en laboratorio fue de un 83.3% a los 7 días después de la

aplicación y en campo de un 56.6%. Usando infestación artificial el (T1) requiere de 36.4 días para lograr el TL50, en este sentido el Tratamiento 1 presentó los tiempos más altos a excepción del testigo en todas las condiciones y momentos de evaluación, presentando menor control sobre *H. hampei*, seguido del T2, que presentó resultados inferiores en comparación a los obtenidos en laboratorio y campo abierto, siendo uno de los tratamientos que mayor tiempo requirió para alcanzar el TL50 (36.7 días), similar a los días requeridos para M.A (35.47 días). Morales, Gálvez, Ruiz, Gómez, & Sánchez (2014), realizaron ensayos utilizando *B. bassiana* a una concentración comercial de $3,5 \times 10^9$ conidios/g, obteniendo resultados de un 100% de mortalidad del total de los adultos de *H. hampei* a los cinco días (120 horas) después de haberse aplicado la solución fúngica, demostrado la virulencia de la cepa de *B. bassiana* del producto comercial.

Mortalidad en el Aislamiento nativo

En esta investigación al asperjar el entomopatógeno producido en sustrato arroz, en las tres regiones a campo abierto durante los 35 días de evaluación se obtuvo una mortalidad inferior al 40%. *B. bassiana* es utilizado en un amplio rango de insectos plaga, así lo indican reportes registrados por (Bustillo, Bernal, Benavides, & Chaves, 1999), al evaluar el efecto de este reportaron un control del 30% sobre *H. hampei*, valores inferiores a los de la presente investigación. Se han probado diferentes cepas a base de *B. bassiana* contra *H. hampei* en condiciones de laboratorio y campo. (Cárdenas *et al.* 2007) en su investigación al evaluar la mortalidad de *H. hampei*, causada por siete cepas del hongo *B. bassiana*, a una suspensión del hongo de 1×10^6 esporas/ml, mostraron valores promedio altos de mortalidad sobre la broca del café, tanto en el laboratorio (100%) como en el campo (67%). Aunque el porcentaje de mortalidad difirió minimamente de algunos porcentajes registrados por otros autores, se destaca que este tratamiento presentó mejores resultados en comparación al resto de tratamientos biológicos. Estos resultados muestran que los caficultores pueden cultivar de manera tradicional y aplicar en su finca el hongo entomopatogeno, mediante una tecnología sencilla económica y fácil ejecución usando como sustrato el arroz, para ello y obtener eficacia en las aplicaciones, se debe tener conocimiento sobre los factores que influyen en el proceso y los requerimientos óptimos para el desarrollo del hongo (Marin, Posada, Gonzales, & Bustillo, 2000).

Geronimo *et al.*, (2016), caracterizaron 12 aislamientos nativos de *B. bassiana*, donde encontraron que con una solución de 1×10^7 conidios bajo condiciones de laboratorio, el tiempo para causar el 50% de mortalidad de la población varió de 71,8 a 104 h. Estos resultados muestran que el porcentaje de mortalidad lo obtuvieron en menor tiempo de exposición. En la presente investigación en condiciones de laboratorio con el aislamiento nativo, bajo un análisis probit se necesitan 167 horas para causar el 50% de mortalidad de la población y 362 horas para causar el 100% de mortalidad. Así mismo en campo, en las zonas de Lempira y Santa Barbara se necesitan entre 30 y 45 días para matar el 100%, mientras que en Márcala se necesitaron menos de 14 días para el tiempo letal medio (TL50). En mangas entomológicas el tiempo letal medio (TL50) con el aislamiento nativo fue de 27.7 días. Al respecto (Monzon, 2004) señala que dependiendo del estadio del insecto y de la virulencia del hongo, la muerte puede ocurrir entre los tres a cinco días. Distintos autores señalan que la variabilidad de virulencia entre diferentes cepas de *B. bassiana* con relación al tiempo, es debido a distintas particularidades tales como la calidad, hábitat de donde proviene, las condiciones de crecimiento, adaptabilidad al medio, concentración de conidios, entre otros aspectos (Fernández, 2020). Según estudios de (Bustillo, 2006), demuestra que no todos los aislamientos de *B. bassiana* producen la toxina Beauvericin. (Jiménez, 1992), menciona que existen diferencias entre razas de *B. bassiana* hacia la broca del café, por lo tanto no siempre se va encontrar un alto porcentaje de mortalidad contra este insecto.

Mortalidad usando tratamientos botánicos

Los tratamientos botánicos utilizados en laboratorio, (T6, T7 y T8) mostraron resultados de un 100% de mortalidad en las primeras 24 horas de evaluación y el T9 con un 95% de mortalidad, estos tratamientos superaron significativamente al testigo sin aplicación, por lo que se comprueba que los componentes de estos tratamientos pueden ser considerados para el manejo de *H. hampei*. Las plantas que presentan actividad insecticida establecen un valioso componente del plan de manejo integrado de plagas (Perez & Iannacone, 2008). Estas sintetizan numerosas sustancias, en las que se mencionan los metabolitos secundarios (MS) de gran diversidad química y fisiológica agrupados principalmente en: alcaloides, flavonoides, terpenoides, entre otros, destacando por su importancia en la interacción con otros organismos (García, Pérez, Rodríguez, & Soto, 2004).

Son muchos los estudios realizados en este tema. (Lagos 2009), “evaluó la actividad insecticida de extractos vegetales obtenidos de plantas de la Ecorregión cafetera (EC). Los resultados obtenidos muestran que la mezcla del extracto metanólico de la especie *Critoniella acuminata* (Asteraceae) y del extracto de diclorometano de *Tetrorchidium andinum* (Euphorbiaceae); así como la mezcla de los extractos metanólicos de *C. acuminata* (Asteraceae) y de *Dunalia solanácea* (Solanaceae) presentaron actividad insecticida de mortalidad del 58 y 65% respectivamente”. De la misma manera, estudios realizados por (Pinargote, Lino, & Palma, 2019), indican que el efecto al utilizar extractos de *Petiveria alliacia* (zorrilla) y *Azadirachta indica* (Neem), en el manejo de este insecto en el cultivo del café demostraron mortalidades del 80%.

El análisis probit para el ensayo en laboratorio permitió identificar que el tratamiento 7 fue uno de los más eficaces, el cual requirió menos de 14 días para matar el 50% de la población, de igual manera en mangas entomológicas se obtuvieron resultados similares con un tiempo letal medio de 24.3 días. Así mismo, el T8 se ubicó en el segundo lugar, que bajo condiciones de mortalidad inducida en campo demostró que obtiene el TL50 en menos de 14 días y en mangas necesita de 32.8 días. El T8 es un insecticida a base de *Chrysanthemum*, el cual es conocido por su actividad insecticida. En el Centro de Investigación IHCAFE, Trejo *et al.*, (2019), realizaron una investigación en condiciones de campo y mangas entomológicas donde probaron la eficacia del insecticida Pírex, según los resultados presentó efectividad de 78%; por lo que recomiendan el uso del producto en el manejo de la broca (*H. hampei*).

El T5 es un insecticida a base *Sophora flavescens*, con una mortalidad en laboratorio del 95%, en condiciones de campo este requirió en promedio de 29 días y en mangas necesito de 40.5 días para matar el 50% de la población, posicionándose en el tercer insecticida en obtener el (TL50) en menor tiempo en comparación de los demás insecticidas botánicos. Diferentes investigaciones se han realizado sobre la oximatrina, metabolito secundario muy significativo de la especie vegetal *Sophora flavescens* (Fabaceae), la raíz seca es utilizada en la medicina tradicional china, además de poseer un efecto insecticida y acaricida. (Marcic *et al.*, 2012), este producto afecta el sistema nervioso esencialmente en la enzima acetilcolinesterasa (Gadallah *et al.*, 2014).

Según el análisis probit, el T6 en laboratorio logra el 50% de mortalidad en menos de 14 días, mientras que en campo y mangas fue el producto que registró un mayor tiempo (29.2 y 42,7 días respectivamente) para eliminar el 50% de la población. Los resultados pueden variar mucho a los obtenidos en campo abierto y mangas entomológicas, esto puede estar relacionado por que en laboratorio las condiciones son controladas y el insecticida está en contacto más directo con el insecto (Bello & Velasco, 2019).

Mortalidad en caldo sulfocálcico

La necesidad de contar con nuevos productos alternativos a los insecticidas de síntesis química contra las plagas y que no causen efectos dañinos al medio que los rodea viene creciendo en el mundo, (Peña, Castro, & Soto, 2013). En esta investigación al comparar los valores del (TL50) en las 3 zonas, T9 ocupó el quinto lugar en comparación al resto de los de 10 tratamientos en alcanzar en menor tiempo la TL50 (19.5 días en promedio), mientras que en mangas requirió de 28.6 días (cuarto lugar) para alcanzar el 50% de la mortalidad. (Cabrera, Robledo, & Soto, 2018), realizaron una investigación bajo condiciones de laboratorio, donde usaron caldo sulfocálcico como alternativa ecológica en el plan de manejo de *H. hampei*, los resultados obtenidos permitieron determinar que el tiempo indicado para la evaluación de la mortalidad en el bioensayo final es cuatro días (90-96 h), menor tiempo en comparación con los resultados registrados en el presente estudio. Así mismo, la mortalidad reflejada de cadexsa en laboratorio condujo a un 69% ocupando el tercer lugar en mortalidad, mientras que en campo no superó el 30% de mortalidad en todas las evaluaciones realizadas, la variabilidad de los resultados podría estar influenciados por las condiciones ambientales especialmente humedad relativa y temperatura, el grado de incidencia de broca en las áreas vecinas al ensayo, el momento y la posición en que se encuentra la broca al momento de realizar aplicación, por ello, (Bustillo, 2007) señala que los niveles de control pueden fluctuar entre valores muy bajos, 20% hasta niveles del 75%.

Clorpirifos

De las moléculas evaluadas, el (T10) fue el ingrediente activo que en las diferentes condiciones de evaluación presentó las mayores eficacias de control sobre *H. hampei*. En laboratorio bajo condiciones controladas registró un 100% de mortalidad y en campo mortalidades hasta del 80.98%. Los resultados de mortalidad en esta investigación

concuerdan con los de Tabares *et al.* (2008), quienes encontraron que al aplicar Clorpirifos con una bomba manual obtuvieron resultados de 87% de mortalidad. Así mismo en el IHCAFE, (Trejo *et al.*, 2019), en su investigación en campo y en mangas entomológicas, evaluaron los tratamientos con clothianidin, clorantraniliprole-tiametoxan, clorpirifos y fenitrothion, todos presentaron efectividad entre 89 y 99% sin mostrar diferencias estadísticas entre ellos.

El éxito o fracaso de las aspersiones de insecticidas no solo depende de la eficacia de los productos, sino de una serie factores que intervienen en la eficacia del mismo, al realizar aplicaciones en mangas entomológicas el tratamiento 10 demostró que necesita de 16.8 días para alcanzar el TL50. Cenicafé en Colombia, ha evaluado la eficacia de varios ingredientes activos en el manejo de *H. hampei*, para el 2014 sólo recomendaba el uso de tres organofosforados, entre ellos clorpirifos, fenitrothion y fentoato (FAO, 2014). (Choque, 2021), encontró que en la aplicación del insecticida clorpirifos presentó una mayor eficacia con 71.1%. De acuerdo con (Bustillo, 2007), la eficacia de la aplicación de insecticidas de síntesis química y la disminución de las dosis para el manejo de *H. hampei* puede mejorarse usando mezcla con coadyuvantes.

Posición de daño en el futo

Los resultados del presente estudio indican que a los 7, 21 y 28 días los cluster no discriminaron significativamente en la posición de la broca en el fruto de café, ya que su efecto fue similar, se tomó de referencia a los 14 y 35 días para el análisis de cluster debido a que se buscó la mayor discriminación para la formación de grupos, esto supone un análisis con dos evaluaciones en el tiempo. Para el análisis a los 14 días después de la aplicación, los tratamientos (T5, T8 y T10) agrupados en el cluster 3 fueron el grupo más eficaz al controlar la broca con un porcentaje únicamente del 12% en la posición C, esto indica que al realizar la aplicación de estos insecticidas la broca tardo un mayor tiempo después la aplicación en presentar perforaciones en las últimas posiciones de evaluación, estos resultados están relacionados con los porcentajes de mortalidad obtenidos en las diferente evaluaciones, lo que indica que a mayor mortalidad, la perforación al fruto de café es menor.

Así mismo para los 35 días de evaluación los tratamientos (T2, T3 T4 y T5,) agrupados en el clúster 2 y los tratamientos (T9 y T10) ubicados en el clúster 4 presentaron un 2.5 y 0.4% respectivamente en la posición D, siendo estos los resultados de menor porcentaje registrados, caso contrario pasa en la posición A y B, donde se registraron los porcentajes más altos. Estos resultados demuestran que fueron los grupos más eficaces al controlar la broca con un bajo porcentaje en la última posición (D), siendo esta la posición que se caracteriza por que el insecto y su descendencia se encuentran alimentándose de la almendra del fruto. El T11 a los 14 días junto al tratamiento 2, agrupados en el cluster 2 y a los 35 días junto al T1, agrupados en el cluster 1 fueron los menos eficaces presentando un mayor porcentaje de broca en la posición C (32.2 y 12%) respectivamente, para estos cluster se mostró altos valores en todas las posiciones de penetración en las diferentes evaluaciones. El porcentaje de mortalidad nuevamente demuestra que esta relacionado con la posición de penetración en el fruto, donde en el T1 y T2 presentaron porcentajes bajos de mortalidad en las diferentes evaluaciones. Según (Posada *et al.*, 2004), esto puede relacionarse que una vez la broca esta dentro del canal de penetración del fruto no es efectivamente controlada por las aplicaciones de los tratamientos y logra perforar en mayor porcentaje la almendra.

“La Federación Nacional de Cafeteros propone la aplicación de insecticidas cuando en el cafetal se alcanzan niveles de infestación de *H. hampei* mayores al 2% y cuando más del 50% de la población está en posiciones de penetración A y B, ya que en esta etapa aún es posible su manejo por que no se ha dañado la almendra del grano; cuando los porcentajes de broca en posiciones C y D son superiores al 50%, se menciona que ya no se puede controlar y que el daño en frutos es muy avanzado (FAO, 2014)”. (Villalba, Bustillo, *et al.*, 1995), indica que, a medida que transcurre el tiempo después de la infestación es mayor la proporción de adultos de la broca que se introducen en la almendra, en su investigación las brocas en la posición C, se incrementaron desde 0.13% a los 3 días hasta 21.5% a los 18 días. lo que explica la reducción en la eficacia de los insecticidas al colocarse la broca lejos de su acción.

VII. Conclusiones

Fase de laboratorio:

- ✓ Bajo condiciones de laboratorio la producción masiva de *B. bassiana* es factible, utilizando la metodología de propagación teniendo arroz como sustrato. El T4, proveniente de campo demostró excelente adaptabilidad y rendimientos bajo condiciones de laboratorio.
- ✓ Los tratamientos (T10, T7, T6 y T8) registraron los mejores resultados matando el 100% de la broca del café en todas las evaluaciones que se realizaron, seguido del (T9) con porcentajes del 95% en todas las evaluaciones.

Fase de Campo

- ✓ No se presentó interacción entre los tratamientos y regiones para la variable mortalidad en campo, lo cual, indica que, para esta variable los tratamientos expresan un comportamiento similar para el control de la broca en las diferentes regiones donde fueron evaluados.
- ✓ Para las estrategias biológicas y botánicas los tratamientos (T2, T4, T7 y T9) presentaron los mejores registros en mortalidad para el control de la broca, a través de las evaluaciones.

El análisis probit logro identificar:

- ✓ En la fase de laboratorio los tratamientos (T5, T6, T7, T8, T9 y T10 y) son eficaces en alcanzar en menos horas (24) los tiempos letales para controlar el 50% de la población de la broca.

- ✓ TRtamientos que requirieron igual número de días para causar el 50% de mortalidad de la población para las regiones de Lempira y Santa Bárbara, esto sugiere que los tratamientos fueron estables o la población de broca fue homogénea ante la respuesta del insecticida.
- ✓ Para las estrategias biológicas y botánicas los tratamientos (T2 T4 y T9), en las tres zonas evaluadas, fueron eficaces en alcanzar con mayor rapidez el tiempo requerido para eliminar el 50% de la población de broca del café.
- ✓ En ensayos de mangas entomológicas se identificó a los tratamientos (T4, T7 y T10) como eficaces para el control de la broca, los cuales, necesitaron menos de 28 días para matar el 50% de la población.

El análisis Clúster logro identificar:

- ✓ Tres clústeres con los 11 tratamientos que recogió un 73% de la variabilidad total, para la variable posición de la broca a los 14 días después de la aplicación y para los 35 días después de la aplicación, se necesitó un total de cuatro clústeres para lograr explicar un 80.3% de la variabilidad observada, entre los cuales se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas.
- ✓ A los 14 días de evaluación los tratamientos (T5, T8 y T10) agrupados en el cluster 3 fueron el grupo más eficaz al controlar la broca con un porcentaje únicamente del 12% en la posición C.
- ✓ Para los 35 días de evaluación, los tratamientos (T2, T3, T4 y T5,) agrupados en el clúster 2 y los tratamientos (T8 y T10) ubicados en el clúster 4 fueron los grupos más eficaz al controlar la broca con un bajo porcentaje en las últimas posiciones (C y D).

VIII. Anexos

Anexo 1. Analisis Fitopatológico de Medio de Cultivo



FUNDACIÓN HONDUREÑA DE INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA

DEPARTAMENTO DE PROTECCION VEGETAL
DIAGNOSTICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES

PV 183/21

25 de octubre del 2021

Señores
IHCAFE
Ilima, Santa Bárbara

Re: Análisis Fitopatológico de Medio de Cultivo (21-161)

Observaciones generales: Se recibió una muestra consistente en dos (2) platos Petri conteniendo medio de cultivo artificial en el cual ocurría crecimiento de hongos. Se analizaron para determinar si los crecimientos correspondían a los hongos *Metarhizium sp.*, *Beauveria sp.* y *Trichoderma sp.*, controladores biológicos de insectos plaga en el cultivo de café. Se procedió inicialmente a observación microscópica directa y seguidamente al subcultivo de colonias individuales en medios de cultivo artificial, los cuales se sometieron a observación microscópica tras incubación apropiada.

Resultados: En las muestras se observaron colonias discretas y espaciadas, de coloración verde oscuro, cuya observación microscópica directa reveló presencia masiva de conidias redondeadas pero no de estructura particular reconocible de la cual se generaban. La observación de los subcultivos en PDA mostró que el 100 % de los implantes rindieron crecimiento fungoso de intensa coloración verde-azulado identificado microscópicamente, en base a su morfología, como *Trichoderma sp.* Muy ocasionalmente se observaron estructuras similares a las del hongo *Aspergillus sp.* en la Muestra del 25-09-21. El hongo *Trichoderma sp.* también se identificó creciendo consistentemente y como único microorganismo en medio de cultivo Agar agua.

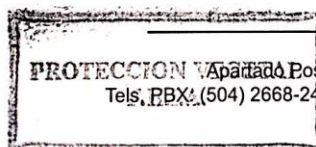
Comentarios: En base a identificación morfológica, el único agente fungoso creciendo en las muestras era el hongo cuya morfología lo ubica como un Hipomiceto del género *Trichoderma sp.*

En caso de comentarios o consultas adicionales, no duden en comunicarse con nosotros.

Atentamente,

Dr. Mauricio Rivera
Sección de Fitopatología

c21-161/m.egencia



Apartado Postal 2067, San Pedro Sula, Cortés, Honduras, C.A
Tels. PBX: (504) 2668-2470, 2668-2827, 2668-2864, Fax: (504) 2668-2313
Correo electrónico: fhia@fhia-hn.org
La Lima, Cortés, Honduras, C.A.
www.fhia.org.hn

IX. Bibliografía

- (IHCAFE), I. H. del C. (2017). Memoria Cosecha 2016 2017, 52. Recuperado de https://www.google.com/search?q=memoria+cosecha+2016%2F2017&rlz=1C1CHBD_esHN782HN782&oq=memoria+cosecha+2016%2F2017&aqs=chrome..69i57j33i160.14589j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8
- Acacio, G., & Gil, J. (2013). Efecto del color de trampa en la captura de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferr.) En tres localidades de Tingo Maria. *Investigación y Amazonía*, 2(1–2), 27–34.
- Alcocer, G. (1979). Incidencia del hongo *Beauveria bassiana* en México y su producción en laboratorio para el control microbiano inducido, 107–110.
- Álvarez, M. (2018a). Analisis de la cadena de valor de café en Honduras. IHCAFE (Instituto Hondureño del Café). HEIFER INTERNATIONAL. (PNUD) Al servicio de las personas y las naciones, 40.
- Álvarez, M. (2018b). Analisis de la Cadena de Valor del Café en Honduras. *Tegucigalpa, Honduras: Heifer International*.
- Alves, S. (1998). Controle microbiano de insetos. 2ª. Piracicaba: FEALQ, 1163p.
- Arcila, A., Benavides, P., & Mejía, J. (2015). *Nueva alternativa de control químico para el manejo integrado de la broca del café*. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).
- Arrubla, P., Cárdenas, M., & Posada, F. (2010). Effect of environmental moisture on the germination of *Beauveria bassiana* spores and their pathogenicity against the coffee berry borer. *Rev. U..D.C.A Actual. & Div. Cient.*, 13(1), 67–76.
- Barrantes, M. (2007). Acciones y estrategias ante la broca del Café en Costa Rica. Programa de Entomología, Centro de Investigaciones en Café (CICAFE), Instituto del Café de Costa Rica (Icafe).
- Barrera, J., Herrera, J., Villacorta, A., Garcia, H., & Cruz, L. (2006). Trampas de metanol-Etanol para detección, monitoreo y control de la broca del café *Hypothenemus hampei*.
- Bastidas, A., Velásquez, E., Marín, P., Benavides, P., Bustillo, A. E., & Orozco, F. J. (2009).

- Evaluacion de preformulados de *Beauveria bassiana* (BÁLSAMO) VUILLEMIN, para el control de la broca del café. *Agronomía*, 17(1), 44–61.
- Bello, J., & Velasco, A. (2019). Evaluacion del efecto insecticida del extracto de *Citrus Sinensis* (Naranja dulce) sobre adultos de *Mussa domestica* en condiciones de laboratorio y prueba de aplicacion al exterior. *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53).
- Benavides, P., & Arevalo, H. (2002). Manejo integrado: Una estrategia para el control de la boca del café en Colombia. *Manejo Integrado de Plagas Costa Rica*, 42(1), 1–13. Recuperado de <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IscScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=013520>
- Benavides, P., Gil, Z., Constantino, L., Chuaire, C., Villegas, C., & Giraldo, M. (2013). Plagas del café Broca, minador, cochinillas harinosas, arañita roja y monalonia. En Federacion Nacional de Cafeteros de Colombia. *Manual de cafetero colombiano: Investigacion y tecnologia para la sostenibilidad de la caficultura*, 2, 215–260.
- Bonilla, Y. (1997). La broca del fruto del café (*Hypothenemus hampei*) Entomologia, Direccion de investigaciones Agropecuarias, Ministerio de Agricultura y Ganaderia.
- Borbón, M., Mora, A., Oehlschlager, A., & González, L. (2002). Proyecto de trampas, atrayentes y repelentes para el control de la broca del fruto de café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari)(Coleoptera: Scolytidae). Informe ICAFE, San José, Costa Rica.
- Bustamente, A. (2007). Evaluacion de extractos vegetales para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*, FERRARI), (July), 1–23.
- Bustillo, A. (2002). El manejo de cafetales y su relacion con el control de la broca del café en Colombia. CENICAFE (Centro Nacional de Investigacion de Café).Boletin tecnico numero4.
- Bustillo, A. (2005). El papel del control biológico en el manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Revista de la academia colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales*, 29(110), 55–68.
- Bustillo, A. (2006). Una revisión sobre la broca del café, *hypothenemus hampei* (coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), en Colombia. *Revista Colombiana de Entomologia*, 32(2),

101–116.

- Bustillo, A. (2007). El Control De La Broca Del Café En Colombia. Control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Memorias XX Congreso Venezolano de Entomología. San Cristóbal, Venezuela, 22 – 26 de julio 2007, Universidad Nacional Experimental del Táchira, p. 11 – 17., (May), 11–17.
- Bustillo, A. (2008). La broca del café. Plagas cuarentenarias. Perspectivas. Glosario., (June).
- Bustillo, A. E., Bernal, M. G., Benavides, P., & Chaves, B. (1999). Dynamics of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* Infecting *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) Populations Emerging from Fallen Coffee Berries. *The Florida Entomologist*, 82(4), 491–498. <https://doi.org/10.2307/3496468>
- Bustillo, A., Villalba, D., & Chavez, B. (1993). Consideraciones sobre el uso de insecticidas químicos en la zona cafetera en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. Memorias sociedad colombiana de entomología, 20(July 1993), 152–158.
- Cabrera, M., Robledo, J., & Soto, A. (2018). Actividad insecticida del caldo sulfocalcico sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). Boletín Científico del Centro de Museos, 22(2), 33–41. <https://doi.org/10.17151/bccm.2018.22.2.3>
- Camilo, J., Olivares, F., & Jimenez, H. (2003). Fenología y reproducción de la broca del café (*Hypothenemus hampei*, Ferr.) durante el desarrollo del fruto. Nota técnica. Revista Agronomía Mesoamericana No. 14. República Dominicana. p. 59 – 63., 14(1), 59–63.
- Cárdenas, A., Villalba, D., Bustillo, Á., Montoya, E., & Gongora, C. (2007). Eficacia de mezclas de cepas del hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología*, 45(4), 95–104.
- Choque, C. (2021). Control de broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari) con aceite de neem y *Beauveria bassiana* en el distrito de Pichanaqui Chanchamayo.
- Constantino, L. (2010). La broca del café. un insecto que se desarrolla de acuerdo con la temperatura y la altitud. *Brocarta*, 39, 1–2.
- Cruz, L., Gaitan, A., & Gongora, C. (2006). Exploiting the genetic diversity of *Beauveria bassiana* for improving the biological control of the coffee berry borer through the use of strain mixtures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(6), 918–926.

<https://doi.org/10.1007/s00253-005-0218-0>

Decazy, B. (1981). Descripción biológica, ecológica y control de la broca del fruto del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.). *Cenicafe*. Recuperado de <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/713/20/20> Descripción biología ecología control broca.pdf

DEMETER. (s/f). Ficha técnica nano-mix 10 gw ®.

Díaz, C., Contreras, C., & Gomez, D. (2019). Comparación in vitro de la capacidad invasiva de dos formulaciones a base de *beauveria bassiana* como control biológico de opsihanes cassina. *Aibi revista de investigación, administración e ingeniería*, 7(2), 3–7. <https://doi.org/10.15649/2346030x.565>

Díaz, P., Gomez, Y., Polania, I., & Vargas, A. (2003). Evaluación de una cepa nativa de *fusarium* sp. para el manejo de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae).

Enríquez, J., Retes, R., & Vásquez, E. (2020). Importancia, genética y evolución del café en Honduras y el mundo. *Innovare: Revista de ciencia y tecnología*, 9(3), 149–155. <https://doi.org/10.5377/innovare.v9i3.10649>

Espinoza, C., & Vallejos, L. (2016). Desarrollo de formulaciones bioplaguicidas a base de *Beauveria bassiana* (Bals & Vuils) con materiales sólidos y líquidos, 1–46. Recuperado de <http://repositorio.una.edu.ni/3387/1/tnh10e77.pdf>

Fernández, J. (2020). Evaluación de la actividad biopesticida del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre la broca del café (*Hypothenemus hampei*).

Figueroa, E., Pérez, F., & Godínez, L. (2012). La producción y el consumo del café. Ecorfan. Recuperado de www.ecorfan.org/spain

García, C., García, M., Cota, G., Meza, L., & Jesús, C. (2020). Macromorphology and radial growth of entomopathogenic fungi strains supplemented with lepidopteran powder. *Revista Colombiana de Entomología*, 46(1), e10164. <https://doi.org/10.25100/socolen.v46i1.10164>

García, R., Pérez, R., Rodríguez, C., & Soto, M. (2004). Toxicidad de alcaloides de *Erythrina americana* en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Revista fitotecnica mexicana*, 27(4), 297–303.

- Geronimo, J., Torres, M., Pérez, M., Pérez, A., Ortiz, C., & Cappello, S. (2016). Characterization of native isolates of *Beauveria bassiana* and its pathogenicity to *Hypothenemus hampei*, en Tabasco, Mexico. *Revista Colombiana de Entomología*, 42(1), 28–35. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882016000100006&lang=pt
- Gil, Z. (2010). Otras plagas del café: Importancia económica y prácticas para su manejo, 1–15.
- Giordanengo, P., Brun, L., & Frerot, B. (1993). Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. *Journal of Chemical Ecology*, 19(4), 763–769.
- GLagos, A. (2009). Normalización de la dieta artificial y evaluación de actividad insecticida contra la broca del café (*H. hampei*, Ferrari) de extractos vegetales de plantas recolectadas en la ecorregión cafetera., 57.
- Godoy, J., Valera, R., Guédez, C., Cañizalez, L., & Castillo, C. (2007). Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. *Revista de la Facultad de Agronomía*. scielon.
- Gómez, H., Zapata, A., Torres del Aguila, E., & Tenorio, M. (2014). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. *Servicio Nacional de Sanidad Agrícola (SENASA)*, 37. Recuperado de <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2017/09/Manual-de-Producción-y-Uso-de-Hongos-Entomopatógenos.pdf>
- Gómez, O., Ramos, C., Alegría, B., Rodríguez, R., & Martínez, M. (2010). Guía para la innovación de la caficultura: de lo convencional a lo orgánico. *Publ. Fundación para el Desarrollo Socio Económico Y Restauración Ambiental*. San Salvador, El Salvador.
- Gómez, P., & Mendoza, J. (2004). Guía para la producción de *Metarhizium anisopliae*. *Centro de investigación de la caña de azúcar del Ecuador, Quito*.
- Gongora, C., Marin, P., & Beavides, P. (2009). Claves para el éxito del hongo *Beauveria bassiana* como controlador biológico de la broca del café. *Cenicafe*, (Federación Nacional De Cafeteros De Colombia). *Avances tencicos Cenifacfe*, (16), 3–8. Recuperado de <http://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/346>

- Henao, L. (2008). Control de la broca del café *hypothenemus hampei* (ferrari) con extractos vegetales de plantas de la flora regional, 19.
- Hernandez, F. (2015). Evaluación de la efectividad de tres diferentes dosis de insecticida químico y tres dosis de insecticida biológico para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) diagnóstico y servicios, en aldea el Jocotillo, villa canales, Guatemala, C.A., 2015. Recuperado de <http://weekly.cnbnews.com/news/article.html?no=124000>
- IHCAFE, (Instituto Hondureño del Café). (2017). SAT (Sistema de alerta temprana para el cultivo del café). Boletín número 4. Conformado por IHCAFE, FAO, OIRSA, SAG y SMNH, i(December), 1996.
- IRAC. (2019). Clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas, 1–28. Recuperado de <file:///C:/Users/Eduardo/Downloads/Folleto-Clasificación-del-Modo-de-Acción-de-insecticidas-y-acaricidas-v.5-ene19.pdf>
- Jiménez, J. (1992). Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. *Cenicafé (Colombia) v. 43 (3) p. 73-83*.
- Leiva, S., Oliva, M., Rubio, K., Maicelo, J., & Milla, M. (2019). Uso de trampas de colores y atrayentes alcohólicos para la captura de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en plantaciones de café altamente infestadas. *Revista Colombiana de Entomología*, 45(2), 2–7. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v45n2/2665-4385-rcen-45-02-e8537.pdf>
- Londoño, O., Posada, F., Bustillo, A., & González, M. T. (1992). Producción en finca del hongo *Beauveria Bassiana* para el control de la broca del café. Centro Nacional de Investigación del Café. CENICAFE. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).
- López-Guillén, Carrasco, J., Cruz, L., Barrera, J., Malo, E., & Rojas, J. (2011). Morphology and structural changes in flight muscles of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) females. *Environmental Entomology*, 40(2), 441–448. <https://doi.org/10.1603/EN10181>
- Lopez, C. (2017). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* about *Hypothenemus hampei* in reproductive generation. *Apthapi*, 3(3), 639–á.

- Malpartida, J., Narrea, M., & Larraburre, W. (2013). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuya, *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. *Ecología Aplicada*, 12(1–2), 75. <https://doi.org/10.21704/rea.v12i1-2.440>
- Marcic, D., Prijovic, M., Drobnjakovic, T., Medjo, I., Peric, P., & Milenkovic, S. (2012). Greenhouse and field evaluation of two biopesticides against *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). *Pesticidi i fitomedicina*, 27(4), 313–320. <https://doi.org/10.2298/pif1204313m>
- Marin, P., Posada, F., Gonzales, M., & Bustillo, A. (2000). Calidad biológica de formulaciones de *Beauveria bassiana* usadas en el control de la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología*, 26(1), 17–23. <https://doi.org/10.25100/socolen.v26i1.9704>
- Monzon, A. (2004). Guía para el Control Biológico de Plagas. Control biológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en el cultivo de café.
- Monzón, A. (2001). Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, (63), 95–103.
- Morales, A., Gálvez, R., Ruiz, J., Gómez, O., & Sánchez, J. (2014). Evaluación de un formulado de aceite vegetal de *Beauveria bassiana* en condiciones de laboratorio para el control de la broca del café. *Fitosanidad*, 18(1), 5–14. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209131412001>
- Moreno, D., Bustillo, A., Benavides, P., & Montoya, E. (2001). Escape y mortalidad de *Hypothenemus hampei* en los procesos de recolección y beneficio del café en Colombia.
- Muñoz, R. (1989). Ciclo Biológico y Reproducción Partenogénica de la broca del Fruto del Caféto *Hypothenemus hampei*.
- Muñoz, R. (2010). Plagas insectiles del cultivo. Capítulo 10 Coordinador Proyecto MIB. IICA-PROMECAFE-IHCAFE. *Inta*, 95–104.
- Peña, M., Castro, J., & Soto, A. (2013). Evaluación de insecticidas no convencionales para el control de *aphis gossypii glover* (hemiptera: aphididae) en frijol.
- Perez, D., & Iannaccone, J. (2008). Mortality and repellence of *Eupalamides cyparissias*

(Lepidoptera: Castniidae), pest of oil palm *Elaeis guineensis*, by effect of ten botanical extracts. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 21(1), 49–53. Recuperado de https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105256%0Ahttp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882012000100028&lng=en&nrm=iso&tlng=en

Pinargote, J. D. L. S., Lino, M., & Palma, R. (2019). Efecto de tres dosis de extractos de *Petiveria alliacea* L. y *Azadirachta indica* A. Juss con tres frecuencias de aplicación para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari). *Dominio de las Ciencias*, 5(3), 549. <https://doi.org/10.23857/dc.v5i3.952>

Posada, F., Villalba, D., & Bustillo, A. (2004). Los insecticidas y el hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café.

Prakash, B., Padmaja, V., & Kiran, R. (2017). Optimización estadística de variables de proceso para la producción a gran escala de conidiosporas de *Metarhizium anisopliae* en fermentación en estado sólido. *Tecnología de biorecursos*, 99 (6), 1530-1537. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 42(11), 739–743.

Pucheta, M., Flores, A., Rodríguez, S., & De La Torre, M. (2006). Mecanismo de acción de los Hongos Entomopatógenos. *Interciencia*, 31(12), 856–860. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/339/33901204.pdf>

Pulgarin, L. (2016). Evaluación de la eficacia de los insecticidas acetamiprid, clorfenapyr y metaflumizone para el manejo de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolitinae).

Ramírez, H., Granja, A., Aguila, E., & Cantoral, M. (2014). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. Laboratorio de entomopatógenos SCB-SENASA.

Romero, F. (2004). Manejo integrado de plagas: las bases, los conceptos, su mercantilización. Universidad Autónoma de Chapingo, Instituto de fitosanidad. México. Universidad Autónoma de Chapingo, 109.

Romero, J. (2019). Relevo generacional en la industria del café . Caso : Finca San Isidro , Honduras.

Romero, J., & Sibrian, F. (2016). Estudio de la estructura de mercado de la comercialización del café en Honduras, 31. Recuperado de <http://hdl.handle.net/11036/5874>

- Romero, O., & Rojas, J. (2004). Estudio de la factibilidad para el establecimiento de un taller de multiplicación artesanal del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* Bals. (Ferrari) en la comunidad de San Buenaventura, municipio de Boaco.
- Rosales, D. (2020). Análisis económico de la cadena de valor del café Caso Beneficio Cerrato El Paraíso, Honduras. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras.
- Ruerd, R., Paul, S., Ponsioen, T., & Meneses, N. (2018). Análisis integral de la cadena de valor de café en Honduras.
- Sahayaraj, K., & Namasivayam, S. (2008). Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products. *African Journal of Biotechnology*, 7(12).
- Sosa, Á., López, J., Morales, R., Maldonado, B., Moncada, E., Ordóñez, R., Canacas, E. (2017). Control botánico vs Control químico de la broca del café ("Hypothenemus hampei Ferrari") en condiciones de campo y con mangas entomológicas, Lago de Yojoa, Honduras. *Boletín Promecafé*, (152), 3–10.
- Stillman, B. (2016). Control de la broca del café *Hypothenemus hampei* utilizando dos nematodos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y el insecticida Clorpirifos durante la maduración del fruto.
- Tabares, J., Villalba, D., Bustillo, A., & Vallejo, L. (2008). Eficacia de insecticidas para el control de la broca del café usando diferentes equipos de aspersión., *59*(3), 227–237.
- Tapias, L., Martínez, C., Benavides, P., & Gongora, E. (2017). Método de laboratorio para evaluar el efecto de insecticidas sobre la broca del café, *68*(2), 76–89.
- Tipás, J. (2020). Evaluación del efecto acaricida de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en el control de la garrapata *Rhipicephalus microplus*. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Trejo, A., & Funez, R. (2004). Manejo integrado de la broca del café. Basado en criterios bioecológicos de la broca del café y el cultivo de café.
- Trejo, A., López, J., Herrera, D., Ebis, M., Ordóñez, R., Morales, R., ... Chirinos, E. (2019). Memoria Técnica Mesa de Frutales y Café. En *64 Reunión Anual PCCMCA: "Biofortificación de cultivos y adaptación climática para la Seguridad Alimentaria y Nutricional"*.

- Vasquez, W. (2020). Optimización de la producción de esporas de *Beauveria bassiana* AgR F504 para el control de *Plutella xylostella*. *International Journal of Hypertension*, 1(1), 12–47.
- Velez, P., Estrada, M., Gonzalez, M., Valderrama, A., & Bustillo, A. (2001). Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 63(Hoja Técnica N 40), 1–4.
- Vélez, P., Posada, F., Marín, P., Gonzáles, M. T., Osorio, E., & Bustillo, A. (1997). Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. *Cenicafé*.
- Venzon, M., Pallini, A., Tuelher, E., Giraldo, A., Oliveira, H., & Alvarenga, A. (2008). Controle alternativo de pragas do cafeeiro. Em presa de pesquisa agropecuaria de minas gerais.
- Vilchez, G. (2019). Evaluacion y caracterizacion de cepas nativas de *Beauveria bassiana* con potencial para el control de *Hypothenemus hampei*, colectadas de plantaciones comerciales de cafe. *Tesis de pregrado*.
- Villalba, D. A., Bustillo, A. E., & Cháves, B. (2006). Eficacia de insecticidas para el control de la broca en relación con el desarrollo de los frutos de café. *Revista Cenicafé*.
- Villalba, D., Alex, B., & Chavez, B. (1995). Evaluacion de Insecticidas para el control de la broca del cafe en Colombia. *Cenicafe*, (October 1995). Recuperado de https://www.cenicafe.org/es/publications/Brocarta49_baja.pdf
- Villalba, D., Bustillo, A., & Chaves, B. (1995). Evaluacion de insecticidas para el control de la broca del cafe en Colombia, 46(3), 152–163.
- Villalba, P., Grillo, H., & Cupull, R. (2009). Producción de esporas de *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin sobre polvos de arroz, sorgo y maíz *Beauveria bassiana* (Bálsamo) Vuillemin espores production on powders of rice, sorghum and corn. *Centro Agrícola*, 36(4), 25–32. Recuperado de http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V36-Numero_4/4.pdf
- Villalta, J., & Gatica, A. (2019). A look back in time: Genetic improvement of coffee through the application of biotechnology. *Agronomy Mesoamerican*, 30(2), 577–599. <https://doi.org/10.15517/am.v30i2.34173>
- Yanez, L. (2014). Aislamiento de dos cepas nativas del hongo (*Beauveria bassiana*) para el control de la Broca del cafe (*Hypothenemus hampei*) con tres tipos de concentraciones

de unidades formadoras de colonias en el laboratorio de microbiología de la Universidad Estatal Bo, 131. Recuperado de <http://www.dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/1143/1/125.pdf>