

**EVALUACIÓN DE MEZCLAS DE ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL
DE POBLACIONES DE BROCA EN EL SUELO**

JAMES ALBERTO DEL CASTILLO RODRÍGUEZ

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
SAN JUAN DE PASTO
2004**

**EVALUACIÓN DE MEZCLAS DE ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL
DE POBLACIONES DE BROCA EN EL SUELO**

JAMES ALBERTO DEL CASTILLO RODRÍGUEZ

**Trabajo presentado como requisito para optar al título de Ingeniero
Agrónomo**

Presidente

JUAN CARLOS LÓPEZ NÚÑEZ, Microbiólogo

Copresidente

JAVIER GARCÍA ALZATE

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
SAN JUAN DE PASTO
2004**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son responsabilidad exclusiva del autor”.

Artículo 1 del acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1.966, emanada del honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Presidente de tesis

Jurado

Jurado

Jurado

San Juan de Pasto, septiembre 2004

Este trabajo lo dedico a Dios por darme la oportunidad de vivir, a mis padres Inés Rodríguez y Raimundo Del Castillo por regalarme el mejor camino, a mis hermanos Francisco, Johana y Daniela, por obsequiarme su amistad, a mi hija Nathalia por brindarme la felicidad a Mirta por enseñarme que es mejor fijarse una meta que planificar una vida y a todos mis amigos quienes fueron el velero que guió el rumbo de este triunfo.

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

A la Universidad de Nariño por la formación académica.

Al Centro Nacional de Investigaciones de café, Cenicafé, por ser un gran complemento.

A los profesores Carlos Betancourt, Javier García Álzate, Guillermo Castillo por su colaboración en la presentación final de esta tesis.

Al Dr. Alex E. Bustillo, Dra. Esther Cecilia Montoya, y Claudia Salazar por su colaboración en las actividades de investigación.

A todo el personal de la disciplina de Entomología

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	21
1. OBJETIVOS	22
1.1 OBJETIVO GENERAL	22
1.2 OBJETVO ESPECÍFICO	22
2. REVISION DE LITERATURA	23
2.1 LA BROCA DEL CAFÉ <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae)	23
2.1.1 Control químico.	23
2.1.2 Control cultural.	23
2.1.3 Control biológico.	24
2.1.4. Nematodos entomopatógenos.	25
3. MATERIALES Y METODOS	32
3.1. LOCALIZACIÓN	32
3.2. MATERIAL BIOLÓGICO	33
3.2.1. Larvas de <i>Galleria mellonella</i> .	33
3.2.2. Nematodos entomopatógenos.	33
3.2.3. Hongos entomopatógenos.	33
3.2.4. Brocas adultas.	34
3.2.5 Frutos de café brocados para infestación artificial.	34
3.3. METODOLOGÍA	34

3.3.1. Actividad 1. Evaluación de hongos y nematodos entomopatógenos y sus mezclas en el control de estados de broca que se encuentran en frutos de café colocados en suelo.	34
3.3.2. Actividad 2. Efecto de mezclas de entomopatógenos en el control de broca del café en frutos ubicados en el plato de los árboles.	38
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
4.1. ACTIVIDAD 1.	42
4.1.1. Porcentaje de mortalidad de estados de broca en fruto.	42
4.1.2. Número de nematodos por fruto.	46
4.1.3. Tasa diaria de emergencia de broca.	47
4.1.4. Tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas.	47
4.2. ACTIVIDAD 2.	48
4.2.1. Primera replica.	48
4.2.2. Segunda réplica de la aplicación de mezclas de entomopatógenos sobre frutos brocados ubicados en el plato de árboles de café.	54
5. CONCLUSIONES	61
6. RECOMENDACIONES	62
7. BIBLIOGRAFIA	63
ANEXOS	67

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Casa de malla, utilizada para el montaje de la primera actividad.	32
Figura 2. Unidades experimentales distribuidas en campo.	33
Figura 3. Unidad experimental, utilizada en la primera actividad.	35
Figura 4. Aplicación de los tratamientos, con bomba Calimax experimental y boquilla TX6.	36
Figura 5. Unidad experimental utilizada en el montaje de la segunda actividad	39
Figura 6. Posición de la broca dentro del fruto.	40
Figura 7. Porcentaje promedio de mortalidad de broca a los 15 y 30 días después de la aplicación de entomopatógenos individuales y en mezcla.	42
Figura 8. Porcentajes de mortalidad de broca corregidos (PMC) por la fórmula de Schneider – Orelly, a los 15 y 30 días después de la aplicación de mezclas de entomopatógenos y entomonematodos individuales.	43
Figura 9. Porcentajes promedio de mortalidad de broca al interior de los frutos, según el agente causal de la muerte a los 15 días.	44
Figura 10. Porcentajes promedio de mortalidad de broca al interior de los frutos, según el agente causal de la muerte a los 30 días.	44
Figura 11. Expresión del hongo <i>Beauveria bassiana</i> en estados de broca al interior de un fruto de café.	45
Figura 12. Expresión del hongo <i>Metarhizium anisopliae</i> en estados de broca al interior del fruto. A= fruto de café disecado con broca adulta presentando signos de infección de <i>M. anisopliae</i> . B= esporulación de <i>M. anisopliae</i> , al interior de un fruto de café.	46

Figura 13. Porcentaje promedio de mortalidad de broca en el interior de frutos de café ubicados en el plato de los árboles.	49
Figura 14. Porcentaje promedio de mortalidad de broca corregido por la fórmula de Schneider – Orelly, en el interior de frutos de café ubicados en el plato de los árboles.	49
Figura 15. Porcentajes promedio de infestación de broca en frutos del árbol.	51
Figura 16. Porcentaje promedio de mortalidad de broca en el interior de frutos de café ubicados en el plato de los árboles.	55
Figura 17. Porcentaje promedio de mortalidad de broca corregido por la fórmula de Schneider – Orelly, en el interior de frutos de café ubicados en el plato de los árboles.	55
Figura 18. Porcentajes promedio de infestación de broca en frutos del árbol.	57

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Relación de aislamientos de entomopatógenos evaluados.	34
Tabla 2. Descripción de los tratamientos evaluados en la primera actividad.	35
Tabla 3. Descripción de los tratamientos evaluados en la segunda actividad.	39
Tabla 4. Número promedio de nematodos por fruto a los 15 días.	46
Tabla 5. Número promedio de nematodos por fruto a los 30 días.	47
Tabla 6. Tasa diaria de emergencia de broca.	47
Tabla 7. Tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas.	48
Tabla 8. Número promedio de nematodos encontrados dentro de frutos de café brocados ubicados en el suelo.	50
Tabla 9. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 15 días.	52
Tabla 10. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 30 días.	52
Tabla 11. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 45 días.	52
Tabla 12. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 60 días.	53
Tabla 13. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 15 días.	53
Tabla 14. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 30 días.	53
Tabla 15. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 45 días.	54

Tabla 16. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 60 días.	54
Tabla 17. Número promedio de nematodos encontrados dentro de frutos de café brocados ubicados en el suelo.	56
Tabla 18. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 15 días.	58
Tabla 19. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 30 días.	58
Tabla 20. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 45 días.	58
Tabla 21. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 60 días.	58
Tabla 22. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 15 días.	59
Tabla 23. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 30 días.	59
Tabla 24. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 45 días.	59
Tabla 25. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 60 días.	60

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo 1. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca en la primera actividad (15, 30 días).	68
Anexo 2. Prueba de Dunnett al 95% para porcentaje de mortalidad de broca en la primera actividad (15, 30 días).	69
Anexo 3. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido en la primera actividad (15, 30 días).	70
Anexo 4. Prueba Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad de broca corregido en la primera actividad (30 días).	71
Anexo 5. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por hongo, nematodo y otra causa a los 15 días.	72
Anexo 6. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por hongo, nematodo y otra causa a los 30 días.	73
Anexo 7. Prueba Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad por hongo, nematodo y otra causa a los 15 días.	74
Anexo 8. Prueba Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad por hongo, nematodo y otra causa a los 30 días.	75
Anexo 9. Análisis de varianza para número de nematodos, por fruto en la primera actividad.	76
Anexo 10. Análisis de varianza para tasa diaria de emergencia de broca.	77
Anexo 11. Análisis de varianza para tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas.	78
Anexo 12. Prueba Duncan al 95% para tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas.	79
Anexo 13. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca en la segunda actividad (primera replica).	80

Anexo14. Prueba Dunnett al 95%, para porcentaje de mortalidad de broca en la segunda actividad (primera replica).	81
Anexo15. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido en la segunda actividad (primera replica).	82
Anexo 16. Análisis de varianza para número de nematodos por fruto en la segunda actividad (primera replica).	83
Anexo 17. Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).	84
Anexo18. Prueba Tukey al 95%, para porcentaje de infestación en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).	85
Anexo 19. Análisis de varianza para número de brocas vivas o muertas por hongo, nematodos y otra causa en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).	86
Anexo 20. Prueba Tukey al 95%, para número de brocas vivas o muertas por hongo, nematodos y otra causa en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).	87
Anexo 21. Análisis de varianza para número de brocas según su posición en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).	88
Anexo 22. Pruebas Tukey al 95%, para número de brocas según su posición en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).	89
Anexo 23. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca en la segunda actividad (segunda replica).	90
Anexo 24 Prueba Dunnett al 95%, para porcentaje de mortalidad de broca en la segunda actividad (segunda replica).	91
Anexo 22. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido en la segunda actividad (segunda replica).	92
Anexo 26. Análisis de varianza para número de nematodos por fruto en la segunda actividad (segunda replica).	93
Anexo 27. Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).	94

Anexo 28. Prueba Tukey al 95%, para porcentaje de infestación en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).	95
Anexo 29. Análisis de varianza para número de brocas vivas o muertas por hongo, nematodos y otra causa en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).	96
Anexo 30. Pruebas Tukey al 95%, para número de brocas vivas o muertas por hongo, nematodos y otra causa en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).	97
Anexo 31. Análisis de varianza para número de brocas según su posición en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).	98
Anexo 32. Pruebas Tukey al 95%, para número de brocas según su posición en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).	99

RESUMEN

la broca *hypothenemus hampei* (ferrari) (Coleoptera: curculionidae), se considera el principal problema en el cultivo del café en Colombia, desde su llegada al país la estrategia desarrollada para disminuir su ataque se conoce bajo el concepto de manejo integrado de la broca (mib), el cual cuenta con varios componentes, uno de ellos, el control biológico sobre los estados que se desarrollan en frutos que caen al suelo, convirtiéndose estos en el principal factor de reinfestación a nuevas cosechas. Estudios previos utilizando hongos entomopatógenos como *beauveria bassiana* y *metarhizium anisopliae* demuestran que pueden causar mortalidad a los adultos que emergen del suelo y van a colonizar frutos sanos del árbol. En los últimos años se ha explorado como alternativa el uso de nematodos entomopatógenos nativos que prosperan bajo condiciones del suelo de la zona cafetera. Trabajos previos realizados sobre mezclas de estas dos clases de entomopatógenos demuestran que pueden llegar a ser promisorios, demostrando que entomonematodos pueden transportar esporas de hongos entomopatógenos en su cuerpo a una distancia de 5 cm en condiciones de laboratorio. utilizar a estos nematodos no solo como agentes de control directo de estados de broca en el interior de frutos del suelo si no además como transportador de esporas de hongos entomopatógenos hacia el interior del fruto donde estos puedan expresar su patogenicidad, puede convertirse en una opción a implementar dentro de mib.

Este trabajo se llevo a cabo con el objetivo de determinar el efecto de mezclas de nematodos y hongos entomopatógenos en el control de estados de broca en frutos de café infestados en el suelo. El experimento se realizo en dos actividades, la primera en condiciones de casa de malla, con el fin de registrar y seleccionar los tratamientos que causaron mayor porcentaje de mortalidad de broca del café en frutos brocados ubicados en suelo y la segunda en condiciones de campo, con el fin de evaluar el efecto de la aplicación de mezclas de nematodo y hongo entomopatógenos sobre frutos brocados ubicados en el plato de los árboles, para esta actividad se realizaron dos replicas. para la primera parte se evaluaron cinco tratamientos que consistieron en la aplicación de mezclas de un nematodo (*steinernema* sp.), con dos hongos (*beauveria bassiana* y *metarhizium anisopliae*), la aplicación de cada entomopatógeno individualmente y un testigo absoluto que consistió en la aplicación de agua libre de entomopatógenos, los tratamientos se aplicaron sobre frutos infestados previamente con broca durante 30 días y depositados sobre suelo en bandejas de aluminio, el experimento se llevo bajo condiciones de casa de malla. Se evaluó la mortalidad estados de la broca para cada uno de los tratamientos, el número de nematodos encontrados por fruto, la emergencia de broca y la mortalidad de las brocas emergidas, a través de un diseño completamente aleatorio. El experimento se llevo a cabo durante un mes donde se encontró que las mezclas de hongo y nematodo fueron las que más alto

porcentaje de mortalidad de estados de broca registraron, por encima de la aplicación de los entomopatógenos individualmente.

En la segunda parte del experimento se realizó aplicaciones en condiciones de campo de dos tratamientos (*steinernema* sp. + *beauveria bassiana* y *steinernema* sp. + *metarhizium anisopliae*) y un testigo (agua libre de entomopatógenos), sobre frutos de café previamente brocados ubicados en el plato de los árboles, los cuales fueron cubiertos con jaulas entomológicas para evitar el escape y/o ingreso de brocas. Se evaluó la mortalidad de estados de broca, el número de nematodos por fruto, la ingestación en frutos del árbol y la mortalidad y posición de las brocas causantes de la infestación. Las evaluaciones se llevaron a cabo durante dos meses tiempo en el cual se volvieron a colocar nuevos frutos brocados y nuevamente se evaluaron las variables. Se encontró que las mezclas presentaron mayor mortalidad que el testigo, expresándose el mayor porcentaje de mortalidad real en la segunda replica a los 45 días con 49,49% y 51,02% para las mezclas de *metarhizium anisopliae* + *steinernema* sp. y *beauveria bassiana* + *steinernema* sp.

Se concluye que las mezclas, de *steinernema* sp. Con hongos entomopatógenos (*beauveria bassiana* y *metarhizium anisopliae*), juegan un papel importante en el manejo de poblaciones de broca en frutos infestados en el suelo, ya que los nematodos son capaces de penetrar los frutos brocados y transportar esporas de estos hongos hacia el interior de fruto donde se produce un efecto aditivo por parte de las dos especies de entomopatógenos.

Palabras claves: *steinernema* sp., *beauveria bassiana*, *metarhizium anisopliae*, *hypotheremus hampei*, mezclas, control biológico, café.

ABSTRACT

coffee berry borer (cbb), (*hypothenemus hampei* (ferrari) (Coleoptera: curculionidae)) is the main pest problem in coffee crops in Colombia, from its arrival to the country the strategy to reduce the damage is known under the concept of integrated pest management (IPM), which combine several components, one of them, the biological control on the stages that are developed in fruits that fallen bored berries under the tree, are known like the main factor of re-infests to later harvests. previous studies using entomopathogenic fungi as *beauveria bassiana* and *metarhizium anisopliae* demonstrate that they can cause mortality to the adults who emerge from the bored berries and are going to colonize healthy berries of the tree. the laboratory of entomology at CENICAFE in the last years, have explored as alternative the use of native entomopathogenic nematodes that prosper under coffee ground conditions. mixtures of both pathogens (fungi and nematodes) showed to be promissory in the control of pest, because the nematode can transport fungi spores on its body to a distance of 5 cm in conditions of laboratory, the use of pathogens in mixture, taking advantage of nematode like vector of fungi spores, allowing that both agents express their pathogenic capacity within the bored berry, it's an option to implement within IPM of cbb.

the objective of this work was to determine the effect of mixtures (nematodes and fungi) in the control of stages of cbb in bored berries under coffee trees. the experiment was made in two main activities, first in green-house conditions, in order to select the mixture that cause greater mortality of cbb in the ground, and the second activity under field conditions, for this activity were made two replicates through time. for the first activity, five treatments where used that consisted of the application of mixtures of nematode (*steinernema* sp.), with two fungi (*beauveria bassiana* and

metarhizium anisopliae), the application of each pathogen individually and control with water free of entomopathogenics, the treatments were applied on fruits infested previously with borer during 30 days and deposited on ground in aluminum trays, the experiment took under conditions of green house. one evaluated mortality states of the borer for each one of the treatments, the number of nematodes found by fruit, the emergency of borer and the mortality of the emerged borer, through a completely random design. the experiment was carried out during a month where it was that the mixtures of fungus and nematode were those that but high percentage of mortality of borer states registered, over the application of the entomopathogenics individually.

in the second part of the experiment was made applications in conditions of field of two treatments (*steinernema* sp. + *beauveria bassiana* and *steinernema* sp. + *metarhizium anisopliae*) and a witness (free water of entomopathogenics), on

located previously brocaded fruits of coffee in the plate of you hoist them, which were covered with box aluminum to avoid the escape and/or entrance of borer. one evaluated the mortality of borer states, the number of nematodes by fruit, the infests in fruits of the tree and mortality and position of the borer causes of the infests. the evaluations were carried out during two months time in which they became to place new brocaded fruits and again the variables were evaluated. one was that the mixtures presented/displayed greater mortality than the witness, expressing the greater percentage of real mortality in second talks back to the 45 days with 49.49% and 51.02% for the mixtures of *metarhizium anisopliae* + *steinernema* sp. and *beauveria bassiana* + *steinernema* sp.

one concludes that the mixtures, of *steinernema* sp. with entomopathogenics fungi (*beauveria bassiana* and *metarhizium anisopliae*), play an important role in the handling of populations of coffee berry borer in fruits infested in the ground, since the nematodes are able to penetrate the brocaded fruits and to transport spores of these fungi towards the interior of fruit where an effect takes place additive on the part of the two species of entomopathogenics.

key words: *steinernema* sp., *beauveria bassiana*, *metarhizium anisopliae*, *hypthenemus hampei*, mixtures, biological control, coffee.

INTRODUCCION

Bustillo, manifiesta que:

La broca del fruto del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae) introducida a Colombia en 1988 es la plaga más importante que afecta el café en Colombia. Hace el daño al atacar la cereza y reproducirse internamente en el endospermo, causando la pérdida total del grano y en muchos casos, la caída prematura de los frutos, además reduce la calidad del producto final¹.

Trabajos realizados en Cenicafé, donde se ha explorado como una alternativa el uso de entomopatógenos nativos, como agentes de control de poblaciones de broca remanente en frutos brocados que han caído al suelo, causando patogenicidad y muerte a sus estados biológicos, han mostrado resultados que permiten considerarlos como herramientas promisorias de control sobre el efecto en la emergencia de la broca del café que se convierte en el principal factor de infestación para cosechas subsecuentes. Hasta el momento, no se contaba con información acerca de la aplicación de mezclas de estos entomopatógenos sobre la broca del café, por lo tanto la realización de este trabajo resultó ser prioritaria, para estudiar su potencial como una herramienta de control biológico dentro del Manejo Integrado de la Broca (MIB).

¹ BUSTILLO P, A. E. El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. En : Boletín Técnico no. 24. Chinchiná - Caldas (Colombia) : Cenicafé. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. 2002, p. 40

8. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento de manejo integrado de la broca del café, con el uso de nematodos y hongos entomopatógenos.

1.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar el efecto de mezclas de nematodos y hongos entomopatógenos para el control de la broca del café en frutos infestados en el suelo.

9. REVISION DE LITERATURA

2.1 LA BROCA DEL CAFÉ *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae)

Según Le Pelley², La plaga de mayor importancia económica en el cultivo del café es la broca *Hypothenemus hampei* (Ferrari).

Además, Bustillo afirma que:

En Colombia, la plaga afecta cerca de 800.000 hectáreas, causando la caída de los frutos, reducción en su peso, daño en los tejidos de la cereza y reduciendo la calidad del producto. En el país la estrategia empleada para reducir las poblaciones de broca, está enmarcada dentro del concepto de Manejo Integrado de Plagas (MIP), en la que se han implementando prácticas de manejo agronómico, control cultural, fomento de fauna benéfica, introducción desde su sitio de origen de enemigos naturales y el uso de entomopatógenos³.

2.1.1 Control químico. Al respecto Cardenas⁴, afirma que La aplicación de insecticidas es una herramienta utilizada dentro del manejo integrado de la broca, sin embargo, desde el punto de vista biológico el uso de químicos no se recomienda pues gran parte del ciclo de vida del insecto transcurre en el interior del fruto, lo que imposibilita el contacto directo del insecticida una vez la broca ha penetrado el grano. Así mismo, Lavabre⁵, complementa que resulta ser una práctica inconveniente desde el punto de vista económico y ecológico por su impacto negativo en el agroecosistema cafetero colombiano.

2.1.2 Control cultural. En este aspecto, Ingram, manifiesta que “Dentro del control cultural, prácticas de recolección de frutos verdes y maduros tanto del suelo como de la planta, han resultado ser estrategias eficientes en el control del

² LE PELLE, R. H. Las plagas del café. Labor, Calabria, Barcelona : En : Agricultura Tropical. 1973, p. 140 - 170.

³ BUSTILLO P, A. E. Op cit., p. 186

⁴ CÁRDENAS, M. R. ; POSADA, F. J. y BUSTILLO P., A, E. Daños causados por arañas en los cafetales. Avances técnicos. No. 242. Cenicafé- Federación Nacional de cafeteros de Colombia. Agosto de 1997. p. 41

⁵ LAVABRE, E. M. Control químico de la broca del fruto del café. En : SEMINARIO TALLER REGIONAL DE BROCA. (3º. 1989: Antigua Guatemala). Memorias de III Seminario Taller Regional de Broca. Antigua, Guatemala : IICA - PROMECAFE. 1989, p. 129 - 132.

insecto al disminuir las poblaciones de broca en el cultivo, reduciendo así el grado de infestación del siguiente ciclo de cosecha”⁶

Por otra parte, Bustillo afirma que “Bajo las condiciones de la caficultura colombiana, prácticas de cosecha oportunas y la recolección de los frutos maduros dejados por los cosecheros, han demostrado ser exitosas”⁷. Le Pelley dice que “El resultando indispensables, si la broca no cuenta con un eficaz control biológico”. Sin embargo, Bustillo et al afirma que “Un limitante de estas prácticas es su costo, ya que la recolección de frutos del suelo o prácticas como la recolección periódica y oportuna de los frutos de las ramas bajas del cafeto, es alto”⁸.

2.1.4 Control biológico. Cárdenas, afirma:

En cuanto al control biológico, se destaca el uso de parasitoides y de hongos entomopatógenos. Parasitoides registrados como controladores de broca en el árbol se destacan *Phymastichus coffea*, *Heterospilus coffeicola*, *Prorops nasuta* y *Cephalonomia stephanoderis*. Sin embargo, ninguno de estos se ha registrado controlando poblaciones de broca en el suelo⁹.

Por otra parte, Aristizábal manifiesta que:

En trabajos realizados en Cenicafé en 1995 informa sobre el desarrollo satisfactorio y emergencia de *Cephalonomia stephanoderis*, a partir de frutos parasitados en la planta y que han caído al suelo. Por tal motivo, se puede considerar a esta herramienta como factor indirecto de regulación de broca en suelo¹⁰.

Bustillo, afirma que: “Otros organismos como los hongos entomopatógenos, también han sido incorporados dentro del MIB. Más de 500 especies de hongos pertenecientes a unos 40 géneros son capaces de infectar insectos”¹¹.

⁶ INGRAM, W. R. Cherry fall in robusta coffee: Pest damage and frequency of picking. In : East African Agricultural and Forestry Journal. (Kenia) : 1969, Vol. 34, no. 4. (Apr. – May. 1969), p. 464 - 467.

⁷ BUSTILLO, P. A. E. Op cit., p. 35

⁸ LE PELLEY, Op cit., p. 145

⁹ CARDENAS et al Op cit., p. 36

¹⁰ ARISTIZABAL A., L. F. Efecto parasitoide de *Cephalonomia stephanoderis* (Betrem) (Hymenoptera: Bethyilidae), sobre una población de *hypotheremus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), en condiciones de campo. Manizales (Colombia), 1995. 129 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Caldas. Facultad de Agronomía.

En otros estudios realizados por Bustillo se dice que “La potencialidad del uso de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en la reducción de poblaciones de broca en suelo en Colombia, se ha contemplado casi desde el primer registro del ataque del entomopatógeno *B. bassiana*, sobre la broca del café”¹².

López *et al*¹³ afirma que “Debido a su viabilidad a través del tiempo”. por otro lado CENICAFÉ reporta que “la capacidad de control de la plaga en condiciones de campo”¹⁴. Así mismo, Bustillo afirma que “Para que el hongo ataque la broca, sus esporas deben entrar en contacto con el cuerpo del insecto, situación que es difícil lograr una vez el insecto haya penetrado al fruto”¹⁵.

2.1.5. Nematodos entomopatógenos.

Bustillo, afirma que “Dentro del grupo de enemigos naturales de broca con posibilidades para su control en el suelo, se encuentran los parásitos”¹⁶. Allard y Moore, reportan que ‘Su fundamento radica principalmente ante la evidencia de patogenicidad de *Heterorhabditis* sp., sobre diferentes estados de broca. Además, el hábitat de ésta última y las condiciones ambientales del suelo son garantía de supervivencia, desarrollo y permanencia por varios meses, antes de emerger e infestar nuevos granos”¹⁷. Begley manifiesta que “Estas condiciones de tipo críptico, que enmarcarían la acción del nematodo, favorecen de igual manera su sobrevivencia, aumentando la probabilidad de infección hacia el hospedante”¹⁸.

¹¹ BUSTILLO P. A.E. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. En : SEMINARIO SOBRE USO DE ENTOMOPATÓGENOS EN COLOMBIA. (1º : 2001: Bogotá). Memorias del I Seminario sobre uso de entomopatógenos en Colombia. Bogotá : 2001. Bogotá : SOCOLEN, 2001. p. 30-53.

¹² BUSTILLO P, A. E. Perspectivas de un manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. En : Agricultura Tropical. Colombia. Vol. 28, no. 1(ene - Feb. 1991). p. 83 - 93.

¹³ LÓPEZ N., J. C.; RIVERA M., A.; BUSTILLO P., A, E. y CHAVES C., B. Persistencia de *Beauveria bassiana*, (Bals.) Vuill., en suelo con el transcurso del tiempo. En : Revista Colombiana de Entomología (Colombia). Vol. 21 no 4. (Abril – Mayo. 1995). p. 173 -176.

¹⁴ CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ – CENICAFE. En : Revista ¿Qué hacer después de terminada la cosecha?. Chinchiná, Colombia : Brocarta (Colombia). No. 27. 1995, p. 1 - 2

¹⁵ BUSTILLO, P. A. E. Op cit., p. 23

¹⁶ BUSTILLO, P. A. E. Perspectivas de un manejo integrado de la broca del café. Op cit., p. 37

¹⁷ ALLARD, G. B. y MOORE, D. *Heterorhabditis* sp., nematodes as control agents for Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* (Scolytidae). In : Journal of Invertebrate Pathology. Estados Unidos : Vol. 54. no. 1(Jan – Feb). 1989). p. 45-48.

¹⁸ BEGLEY, J. W. Efficacy against insects in habitats other than soil. In: ENTOMOPATHOGENIC nematodes in biological control. Gaugler R.; Kaya, H. K. Boca Raton (Estados Unidos) : CRC Press, 1990. p. 215 - 231.

Tanada y Kaya¹⁹, Afirman que “Las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, pertenecen al Orden Rhabditida, Clase Secernentea”.

Hominick y Collins dicen que:

Por lo general, las especies de estas dos familias presentan un ciclo de vida simple, basados principalmente en tres estados de desarrollo: huevos, juveniles (dauer) y adultos. El tercer instar del estado juvenil infectivo (JI3), es el único que permanece vivo fuera del hospedante, no se alimenta y presenta la característica particular de buscar a su hospedante²⁰.

Tanada y Kaya, afirman que “Los nematodos entomopatógenos, se introducen en el insecto por sus aberturas naturales (boca, ano o espiráculos)”²¹; al respecto, Poinar reporta que “siendo común para las dos familias, una posibilidad adicional que presentan los pertenecientes a la familia Heterorhabditidae es acceder a su presa, atravesando la cutícula del insecto, gracias a una estructura queratinosa, que se asemeja a un pequeño diente”²².

Tanada y Kaya manifiestan que:

Una vez en el interior del insecto, el JI3 alcanza el hemocelo en un tiempo que puede ir desde los 30 segundos hasta los 60 minutos; libera su simbionte y continua su desarrollo causando la mortalidad del insecto durante las primeras 48 horas después de la penetración. La susceptibilidad de una especie de insecto a las diferentes especies de nematodos, puede incrementarse o decrecer, de acuerdo al instar del insecto²³.

¹⁹ TANADA, Y y KAYA, H. K. Nematodos, Nematomorfohs, and plathelminthes. Capítulo 13. In : Journal Insect Patology. San Diego (Estados Unidos). Academyc press, 1993. 666 p.

²⁰ HOMINICK., W. H.; COLLINS., S.A.. Application of ecological information for practical use of insect pathogenic nematodes. Capítulo 2. In : Microbial Insecticides: Novelty or Necesity?. Symposium proceedings No. 68. Farham (Inglaterra) : British Crop Protection Council 1997, 302 p.

²¹ TANADA y KAYA. Op cit., p. 542

²² POINAR JUNIOR, G. O. Biology and Taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Entomopathogenic nematodes in biological control. Gaugler R.; Kaya, H. K. Boca Raton (Estados Unidos) : CRC Press, 1990, p. 23-61.

²³ TANADA, Y y KAYA, H.K; Op cit., p. 546

Akhurst y Boemare, afirman que:

La característica común que hace particular a las especies de las dos familias, es su asociación simbiótica con una bacteria entomopatógena de los géneros *Xenorhabdus* spp., para los Steinernematidos y *Photorhabdus* spp., para los Heterorhabditidos.

Esta simbiosis que es de tipo mutualista, se caracteriza por la protección dada por el nematodo a la bacteria al ubicarse ésta dentro de su tracto digestivo, tanto de las condiciones ambientales externas, como de los mecanismos inmunológicos de defensa de la presa. Además, le sirve a la bacteria como medio de transporte desde cadáveres de insectos a insectos sanos y a nuevos hospedantes²⁴.

Akhurst y Dunphy, afirman que “La bacteria en contribución a esta asociación, provee de nutrientes esenciales al nematodo y evita invasiones secundarias de otros microorganismos, las cuales interfieren con su desarrollo y reproducción”²⁵.

Al respecto, Akhurst y Boemare, “Hasta el momento no existe evidencia para los dos géneros bacterianos, de capacidad de sobrevivencia fuera de su vector o de patogenicidad vía ingesta, por otros insectos”²⁶.

Patel, *et al.*, manifiestan que “Dentro de los factores propios del suelo y abióticos que afectan al nematodo ya sea favoreciendo o disminuyendo desde su sobrevivencia, capacidad de infección hasta su dispersión, se encuentran: tamaño de poro, agua, aireación, temperatura, composición química, pH, humedad y presencia de químicos”²⁷.

²⁴ AKHURST, R. J.; BOEMARE. Biology and Taxonomy of *Xenorhabdus*. In: ENTOMOPATHOGENIC nematodes in biological control. Gaugler R.; Kaya, H. K. Editores. Boca Raton (Estados Unidos), CRC Press, 1990. p. 75-90.

²⁵ AKHURST, R. J.; DUNPHY, G. B. Tripartite Interactions between Symbiotically Associated Entomopathogenic Bacteria, Nematodes, and Their Insect Hosts. In: Parasites and Pathogens of Insects. Volumen 2: Pathogens. Beckage, N.E.; Thompson, S.N.; Frederici, B.A. Academic Press. San Diego (Estados Unidos) : 1993. p. 1-23.

²⁶ AKHURST, R. J.; BOEMARE. Op cit., p. 78

²⁷ PATEL, M. N.; PERRY, R. N.; WRIGHT, D. J. Desiccation Survival and Water Contents of Entomopathogenic Nematodes, *Steinernema* spp. (Rhabditida: Steinernematidae). In: International Journal for Parasitology. Vol. 27, No. 1, 1997, p. 61-70

Epsky, *et al.*, mencionan que “Como factores bióticos, se consideran algunos antagonistas como hongos, bacterias, nematodos patógenos de plantas y algunos invertebrados”²⁸,

Kaya y Koppenhofer, reportan que:

Factores antagónicos, identificados ampliamente como antibiosis, competencia y enemigos naturales, impactan en los nematodos entomopatógenos. La antibiosis puede ocurrir a través del lanzamiento de los productos químicos de las raíces de la planta en el suelo, la presencia de estos productos químicos en el insecto anfitrión puede afectar negativamente la reproducción del nematodo. En estudios del laboratorio, la competencia intraespecífica e interespecífica reduce la aptitud del nematodo, y la competencia interespecífica puede causar la extinción local de una especie de nematodo. La competencia interespecífica entre dos especies de Steinernematidae demuestra que ambas pueden coexistir en un anfitrión, pero una especie prevalecerá eventualmente en el ambiente. Sin embargo, ambas especies de Steinernematidae pueden coexistir en el mismo hábitat.

El enemigo natural mejor estudiado es el hongo nematofago, *Hirsutella rhossiliensis*, que causa una mortalidad más alta en *Steinernema glaseri* comparado con *Heterorhabditis bacteriophora*. Otros enemigos naturales son los depredadores invertebrados como ácaros y collembolos que se alimentan de nematodos entomopatógenos²⁹.

²⁸ EPSKY, N. D.; WALTER, D. E.; CAPINERA, J. I. Potential role of nematophagous microarthropods as biotic mortality factors of entomogenous nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Journal of Economic Entomology* (Estados Unidos): 81. 821, 1998.

²⁹ KAYA, H. K. and A. M. KOPPENHOFER. Effect of microbial and other antagonistic organism and competition on entomopathogenic nematodes: *Biocontrol Science and Technology* 6: 1996, p. 357-371.

Martínez, *et al.*, argumentan que:

Los trabajos relacionados con el uso de nematodos entomopatógenos para el control de plagas en café en el mundo, son escasos. Se cuenta con los registros recientes de un trabajo realizado en Cuba, relacionados con el manejo integrado del chinche harinoso con *Heterorhabditis bacteriophora*, encontrando disminución de los niveles de infestación y por lo tanto recuperación en los niveles de producción³⁰.

? **Nematodos entomopatógenos y broca del café.** En relación con la broca del café, Castillo y Marbán manifiestan que “A nivel mundial existen informes que comprueban la patogenicidad de éstos entomopatógenos sobre la broca del café, infectando larvas, pupas y adultos”. Igualmente, Allard y Moore, afirman que “Se ha podido determinar especies promisorias como agentes de control de la broca del café por su diferencia en cuanto a virulencia”³¹.

Molina, reporta que:

En Cenicafé, se vienen realizando estudios desde 1997 de nematodos entomopatógenos contra broca del café. Estudios realizados en condiciones de laboratorio demostraron que los nematodos entomopatógenos pertenecientes a las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae tienen la capacidad de desplazarse, penetrar y causar mortalidad a los estados de broca dentro del fruto de café³².

Por otro lado, Lara afirma que “En condiciones de campo en pequeña escala se encontró porcentajes de mortalidad en estados de broca del 88 y 91% para *Heterorhabditis* sp. Y *Steinernema* sp. Respectivamente”³³.

³⁰ MARTINEZ, M. A.; SURIS, M.; SÁNCHEZ, L.; RODRÍGUEZ, M. G.; GONZÁLEZ, E.; CASTELLANOS, L. Manejo integrado de chinches harinosos en el cultivo del cafeto. In : SEMINARIO TALLER INTERNACIONAL: APORTES DEL CONTROL BIOLÓGICO EN LA AGRICULTURA SOSTENIBLE Y I CONGRESO LATINOAMERICANO DE LA SECCIÓN REGIONAL NEOTROPICAL DE LA ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LUCHA BIOLÓGICA (2º. 1º. 1998.) Lima : Resúmenes del II seminario taller internacional: aportes del control biológico en la agricultura sostenible y I Congreso latinoamericano de la sección regional neotropical de la organización internacional de lucha biológica. Lima, (18 - 22 mayo. 1998). p. 91.

³¹ CASTILLO, A.; MARBÁN, M., N. Evaluación en laboratorio de nematodos Steinernematidos y Heterorhabditidos para el control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferr. Nematropica (Estados Unidos). Vol 26, No. 2, 1996, p. 35

³² MOLINA, J. P. Desplazamiento y parasitismo de entomonematodos hacia frutos infestados con la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Santa Fé de Bogotá. 2001, p. 58 Trabajo de grado. (Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional de Colombia.

? **Mezclas con hongos.** López , *et al.*, manifiestan que:

Trabajos realizados en Cenicafé demuestran que la mezcla de *Beauveria bassiana* y entomonematodos sobre frutos de café brocados son los únicos tratamientos que registraron la expresión del hongo en estados inmaduros de broca, Además la sobrevivencia después de 20 días de los JI en mezcla fue de 81,25 y 95,6 % para *Steinernema* sp. y *Heterorhabditis* sp. Respectivamente. Los resultados muestran indicios de la interacción tetrapartita: insecto – bacteria – nematodo – hongo, al interior del fruto³⁴.

López y Bacca, demostraron que:

Al aplicar simultáneamente *Beauveria bassiana* y *Steinernema riobrave* sobre *Galleria mellonella*; la mortalidad después de 48 horas era superior que la aplicación de cada entomopatógeno individualmente. Sin embargo, se presentó una disminución en la producción de JI e índice de penetración, en el caso del hongo su esporulación se redujo significativamente. Aunque se presenta una mayor eficacia en el control de la plaga cuando se utilizan los patógenos juntos, el desarrollo de cada uno de los organismos se ve afectado posiblemente por la competencia por el hospedero, en donde domina el agente que primero logre colonizar³⁵.

Barbercheck y Kaya, encontraron que:

Cuando se aplica simultáneamente *Beauveria bassiana* y *S. carpocapsae* o *H. bacteriophora* sobre *Galleria mellonella* se aumenta el periodo letal de infección con relación a los patógenos individuales, que el hongo simplemente compite con los nematodos por recursos disponibles, y que la exclusión del hongo es debida probablemente a la antibiosis producida por *Xenorhabdus nematophilus* o *Photorhabdus*

³³ LARA G. J.C. Efecto de entomonematodos sobre poblaciones de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en el suelo. 2002, 90 p. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

³⁴ LÓPEZ N., J. C.; VELÁSQUEZ S., E. T. Efecto de la aplicación del hongo *Beauveria bassiana* y entomonematodos en el desarrollo de la broca del café *Hypothenemus hampei*. En : CONGRESO de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN), Montería (Colombia) : (Julio 17-19, 2002.) Resúmenes 29º Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN .2002, p. 13.

³⁵ LÓPEZ N., J. C.; RIVERA M., A.; BUSTILLO P., A. E.; CHAVES C., B. Persistencia de *Beauveria bassiana*, (Bals.) Vuill., en suelo con el transcurso del tiempo. Revista Colombiana de Entomología (Colombia). Vol. 21. no. 4. 1995, p. 173 -176.

luminescens. Igualmente, “Los nematodos tienden a evitar infectar hospedantes con *Beauveria bassiana*”³⁶.

Del Castillo y López afirman que “Bajo condiciones de laboratorio demostraron que la adición de un aceite de uso agrícola no presentaba un efecto negativo sobre JI de *Steinernema* sp. en su sobrevivencia, patogenicidad, desplazamiento y búsqueda de hospedante”³⁷.

³⁶ BARBERCHECK, M. E, KAYA, H. K. Competitive interactions between entomopathogenic nematodes and *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in soilborne larvae of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), *Environ. Entomol.* Vol. 20. 1991, p. 707-712.

³⁷ DEL CASTILLO R., J. A.; LÓPEZ N., J. C. Efecto de un aceite agrícola en la sobrevivencia y patogenicidad de dos especies de entomonematodos. En : CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA (SOCOLEN), (30º. 2003 : Cali - Colombia). (Julio 17-19, 2003.) Resúmenes del 30º Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN). 2003, p. 77.

10. MATERIALES Y METODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

El experimento se llevó a cabo en condiciones de casa de malla (**Figura 1**), que en su interior se encuentra a una temperatura promedio de 23.5°C , humedad relativa del 80.3% y 1410 m.s.n.m., en las instalaciones del Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé y la estación Experimental Naranjal (**Figura 2**) que se encuentra a una temperatura promedio de 21.7°C , humedad relativa 76.9% y 1400 m.s.n.m.

Figura 19. Casa de malla, utilizada para el montaje de la primera actividad.



Figura 20. Unidades experimentales distribuidas en campo.



3.2. MATERIAL BIOLÓGICO

3.2.1. Larvas de *Galleria mellonella*. Para la producción masiva del nematodo *Steinernema* sp., mediante infección topical, se necesitaron larvas de *Galleria mellonella*, las cuales se obtuvieron de la cría del laboratorio de Entomología de Cenicafé.

3.2.2. Nematodos entomopatógenos. Se contó con una especie de entomonematodo perteneciente al género *Steinernema* sp. el cual se reprodujo *in vivo* mediante infección topical de larvas de último instar de *G. mellonella*, en el laboratorio de Entomología de Cenicafé. (**Tabla 1**)

3.2.3. Hongos entomopatógenos. Se utilizaron dos aislamientos de hongos entomopatógenos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, codificados como Bb9205 y Ma9236 con patogenicidad sobre broca, producidos en la Planta de Producción de hongos de Cenicafé (**Tabla 1**).

Tabla 26. Relación de aislamientos de entomopatógenos evaluados.

Identificación	Codificación	Insecto hospedante
<i>Beauveria bassiana</i>	Bb9205	<i>Diatraea saccharalis</i>
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Ma9236	Desconocido
<i>Steinernema sp.</i>	SN10198	Suelo

3.2.4. Brocas adultas. Se obtuvieron del laboratorio de producción de parasitoides de Cenicafé.

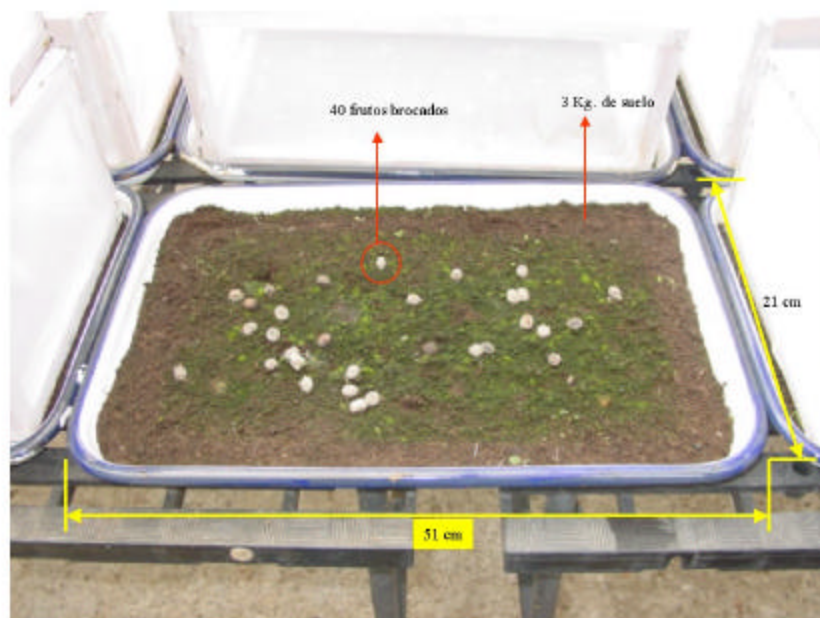
10.2.1 Frutos de café brocados para infestación artificial. Se utilizaron frutos de variedad Colombia de 190 días de desarrollo fisiológico, los cuales se infestaron en una proporción de 4 brocas por fruto durante 30 días. Al final, se obtuvieron frutos de 220 días, que corresponden a frutos maduros y se eliminaron los frutos que no fueron brocados.

3.3. METODOLOGÍA

El experimento se realizó en dos actividades, la primera en condiciones de casa de malla, con el fin de registrar y seleccionar los tratamientos que causaron mayor porcentaje de mortalidad de broca del café en frutos brocados ubicados en suelo y La segunda actividad se realizó en condiciones de campo, con el fin de evaluar el efecto de la aplicación de mezclas de nematodos y hongos entomopatógenos aplicadas sobre frutos brocados ubicados en el plato de los árboles.

3.3.1. Actividad 1. Evaluación de hongos y nematodos entomopatógenos y sus mezclas en el control de estados de broca que se encuentran en frutos de café colocados en suelo. La actividad se realizó en condiciones de casa de malla entre los meses de Noviembre y Diciembre de 2003. En bandejas de aluminio de 0,82 m² de área, a la que se le adicionaron 3 kg. de suelo, posteriormente se colocaron en la superficie 40 frutos con 30 días de brocado estimando previamente la población de broca sobre el 10% del total de los frutos. La bandeja se cubrió con una estructura de madera de 20 cm de alto, 50 cm de largo y 20 cm de ancho, cubierta con muselina a modo de jaula. Cada bandeja como se describe conformó la Unidad Experimental (U.E.) (**Figura 3**).

Figura 21. Unidad experimental, utilizada en la primera actividad.



Los tratamientos consistieron en la aplicación de mezclas de un nematodo (*Steinernema* sp. (S. sp.)) en dosis de 500.000 JI / U.E., con 2 hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* (Bb.) y *Metarhizium anisopliae* (Ma.)), en una sola dosis de esporas / U.E. (1×10^9) / 50 cc. y aplicaciones de cada entomopatógeno individualmente, para un total de seis tratamientos incluyendo un testigo absoluto, en el que se aplicó agua libre de entomopatógenos, todos los tratamientos se aplicaron con un aceite de uso agrícola al 0,1% ya que es un producto recomendado para mejorar la aplicación de hongos entomopatógenos y además, en un ensayo previo a este experimento se concluyó que no producía ningún efecto negativo sobre esta especie de entomonematodo. En la **Tabla 2**, se describen los tratamientos evaluados.

Tabla 27. Descripción de los tratamientos evaluados en la primera actividad.

Descripción de los tratamientos	Nomenclatura
Bb9205 + SNI0198	T1
Ma9236 + SNI0198	T2
Bb9205	T3
Ma9236	T4
SNI0198	T5
Testigo (agua)	T6

Hongo Dosis de esporas / U.E.: 1×10^9

Nematodo Dosis de JI / U.E.: 500.000

Carrier al 0,1%

✍ **Diseño experimental.** El experimento se llevó a cabo bajo un diseño completamente aleatorio con seis tratamientos (dos mezclas de biológicos, tres biológicos individuales y un testigo absoluto), cada tratamiento estuvo conformado por 10 U.E.

El volumen de aplicación por U.E., fue de 50 cc. con bomba Calimax experimental y boquilla TX6 (**Figura 4**).

Figura 22. Aplicación de los tratamientos, con bomba Calimax experimental y boquilla TX6.



✍ **Variables evaluadas.**

? **Porcentaje de mortalidad de estados de broca en fruto.** Se retiraron 10 frutos al azar por U.E., a los 15 y 30 días después de aplicados los tratamientos. Todos los frutos se disecaron y se contó el número de brocas vivas y muertas en el fruto. Todos las brocas encontradas se colocaron en cámaras húmedas y 10 días después se determinó la mortalidad registrada y la descripción de signos de infección definiendo el agente causal de la muerte (hongo, nematodo y otra causa), dentro de la mortalidad por otras causas, se presentó mortalidad natural, y mortalidad causada por hongos diferentes a los aplicados en los tratamientos.

Con la información obtenida se estimó el porcentaje de mortalidad total, como la relación entre el número de estados muertos y el total de estados por fruto, dado en porcentaje. El porcentaje de mortalidad corregido para cada tratamiento se estimó mediante la fórmula de Schneider – Orelly (CIBA – GEIGY, 1981).

$\% \text{ Mort.} = [\% \text{ Mort. (trat.)} - \% \text{ Mort. (test.)} / 100 - \% \text{ Mort. (test.)}] \times 100$

? **Número promedio de nematodos por fruto.** Se retiraron 10 frutos por U.E., se disecaron y se contó el número de nematodos que se encontraron en el interior del fruto después de la aplicación. Esta variable se evaluó a los 15 y 30 días después de la aplicación de los tratamientos.

? **Tasa diaria de emergencia de broca.** Se registró el número de brocas capturadas en la jaula por U.E., cada 2 días, durante 30 días. Con la información del número acumulado de brocas emergidas, se estimó por unidad experimental y tratamiento, la tasa diaria de emergencia a través del tiempo (días).

? **Tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas.** Todas las brocas capturadas en la jaula se colocaron en cámaras húmedas y al décimo día se evaluó la mortalidad. Esta variable se estimó con el fin de conocer la población de brocas capturadas por U.E., que presentaron infección por hongo o nematodo entomopatógenos.

? **Análisis estadístico.**

? **Porcentaje de mortalidad de estados de broca en frutos del suelo**

? Promedios y variación.

? Análisis de varianza.

? Se realizó una prueba de Dunnett al 5%, en donde se establecieron diferencias de los tratamientos con el testigo.

? Aquellos tratamientos que fueron diferentes al testigo, se les corrigió el porcentaje de mortalidad con la fórmula de Schneider – Orelly.

? Con el porcentaje de mortalidad corregido se realizó un análisis de varianza.

? Se realizó una prueba de Tukey al 5%.

? **Número de nematodos por fruto**

? Promedios y variación.

? Análisis de varianza para la variable número de nematodos por fruto.

? **Tasa diaria de emergencia de broca**

? Se estimó la tasa diaria de emergencia de broca.

? Con los promedios de las tasas diarias de los tratamientos se realizó un análisis de varianza.

? **Tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas**

? Se estimó la tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas.

? Con los promedios de las tasas diarias de mortalidad de brocas emergidas se realizó un análisis de varianza.

? Se realizó una prueba Duncan al 5%.

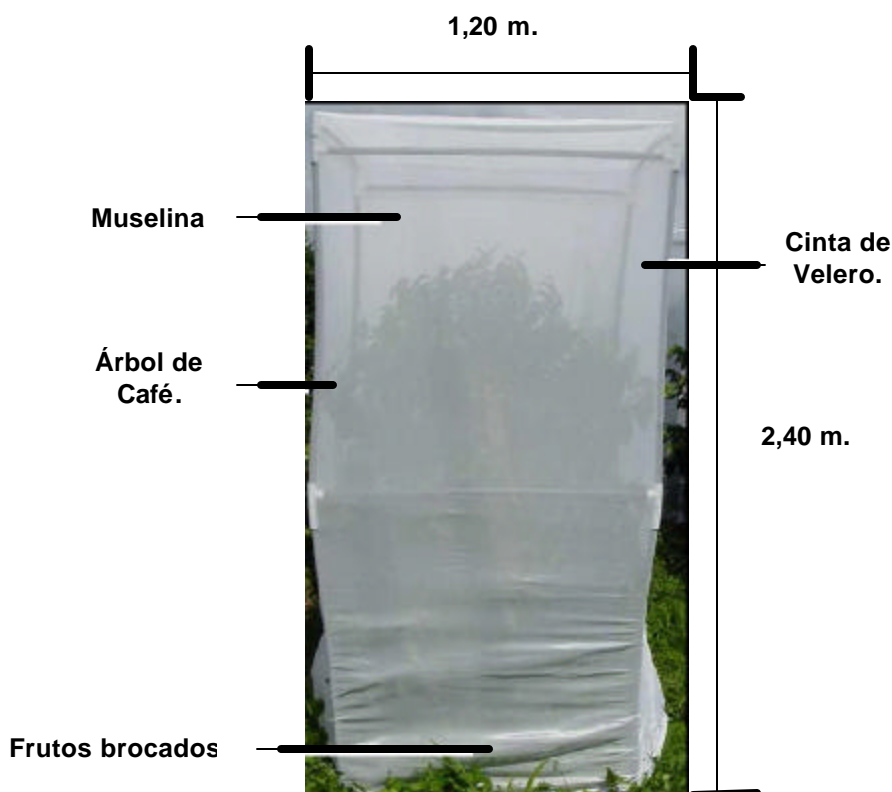
3.3.2. Actividad 2. Efecto de mezclas de entomopatógenos en el control de broca del café en frutos ubicados en el plato de los árboles. Esta actividad se llevó a cabo durante los meses de marzo a mayo de 2004 (primera replica y mayo a julio de 2004 (segunda replica). Se pretendió evaluar el efecto de dos mezclas de entomopatógenos (*Metarhizium anisopliae* más *Steinernema sp.* y *Beauveria bassiana* más *Steinernema sp.*), ya que se demostró en la primera actividad que causaban mayor mortalidad de broca que la aplicación de cada entomopatógeno individualmente, y un testigo (agua libre de entomopatógenos), sobre broca que se encuentran en frutos de café ubicados en el plato de los árboles, para todos los tratamientos se adicionó un aceite de uso agrícola al 0,1%. Al terminar las evaluaciones se procedió a realizar una replica de esta actividad con el fin de evaluar la aplicación de estas mezclas en condiciones de tiempo diferentes.

En un lote de zoca de café Variedad Colombia de tercera cosecha, se seleccionaron árboles a los que se les removieron los frutos brocados del árbol, dejando únicamente los frutos verdes sin brocar. Adicionalmente, se retiraron todos los frutos del plato, distribuyendo posteriormente 40 frutos previamente brocados durante 30 días. Finalizada la primera parte, nuevamente, se retiraron los frutos brocados de cada árbol y se colocaron nuevamente 40 frutos brocados extraídos directamente de árboles de café, repitiendo el proceso anteriormente descrito. Cada árbol estaba cubierto por una jaula entomológica de 1.20 m x 1.20 m x 2.40 m, fabricada en PVC cubierta con muselina, la cual tenía en un extremo cinta velcro para facilitar el ingreso en la toma de datos (UE.). La jaula, permitió el paso de luz y aire, y evitó el escape y/o el ingreso de brocas. En la **Figura 5**, se presenta la estructura de la UE. En la **Tabla 3** se describen los tratamientos evaluados y las dosis.

Tabla 28. Descripción de los tratamientos evaluados en la segunda actividad.

Descripción de los tratamientos	Nomenclatura
Testigo	T1
Ma9236 + SNI0198	T2
Bb9205 + SNI0198	T3
Hongo Dosis de esporas / U.E.: 1×10^9	
Nematodo Dosis de JI / U.E.: 500.000	
Carrier 0,1%	

Figura 23. Unidad experimental utilizada en el montaje de la segunda actividad.



✍ **Diseño experimental.** Para esta parte del experimento se utilizó un diseño completamente aleatorio, con tres tratamientos (dos mezclas de entomopatógenos y un testigo) y 15 repeticiones por tratamiento, el volumen de aplicación por UE., fue de 50 cc. con bomba Calimax experimental y boquilla TX6.

✍ **VARIABLES evaluadas. Porcentaje de mortalidad de estados de broca en frutos del suelo.** Se tomaron cinco frutos del suelo por UE., en cada evaluación, se disecaron y se contó el número de brocas vivas y muertas por fruto, todos las

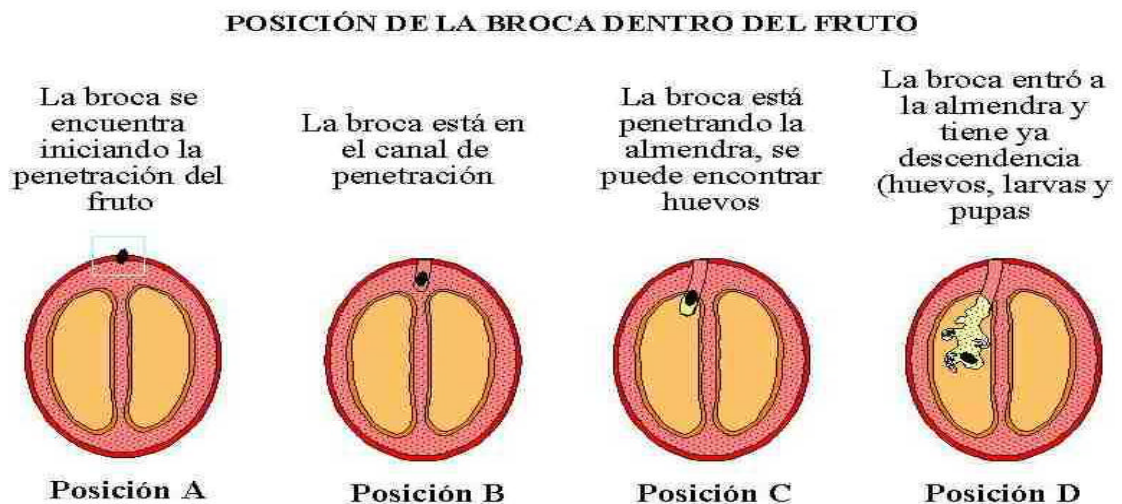
brocas encontradas dentro de los frutos se colocaron en cámaras húmedas, y 10 días después se determinó la mortalidad registrada. Se realizaron cuatro evaluaciones cada 15 días después del primer montaje (primera replica) y cuatro evaluaciones cada 15 días después del segundo montaje (segunda replica).

? **Número de nematodos por fruto.** Con los mismos frutos de la variable anterior se determinó el número de nematodos entomopatógenos encontrados por fruto después de su aplicación. Se realizó evaluaciones en los mismos tiempos descritos en la variable anterior.

? **Porcentaje de infestación en frutos del árbol.** Se registró a partir de los frutos del árbol. Se tomó una rama al azar del tercio productivo por UE. y se contó el número total de frutos brocados y el número total de frutos. Se realizó evaluaciones en los mismos tiempos descritos en la variable porcentaje de mortalidad. Esta variable se registró para determinar el efecto de la aplicación de los tratamientos sobre la broca que emerge y posteriormente va a brocar los frutos del árbol. Se estimó como la relación entre el número total de frutos brocados y el total de frutos dado en porcentaje.

? **Mortalidad y posición de la broca en frutos infestados del árbol.** A partir de frutos brocados del árbol de cada UE., disecándolos se contó el estado de la broca adulta (vivo o muerto) al igual que se registró la posición en el fruto, (**Figura 6**), Se realizó evaluaciones en los mismos tiempos descritos en la variable porcentaje de mortalidad.

Figura 24. Posición de la broca dentro del fruto.



✍ **Análisis estadístico**

? **Porcentaje de mortalidad de estados de broca en frutos del suelo.**

? Promedios y variación.

? Análisis de varianza.

? Prueba Dunnett al 5%.

? Los tratamientos que presentaron diferencias con el testigo se corrigieron con la fórmula de Schneider – Orelly.

? Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad corregida.

? **Número de nematodos por fruto.**

? Análisis de varianza.

? **Porcentaje de infestación en frutos del árbol.**

? Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol.

? Prueba Tukey al 5% para los tiempos en que se presentaron diferencias.

? **Mortalidad y posición de la broca en frutos infestados del árbol.**

? Análisis de varianza para mortalidad y posición de brocas en frutos infestados del árbol.

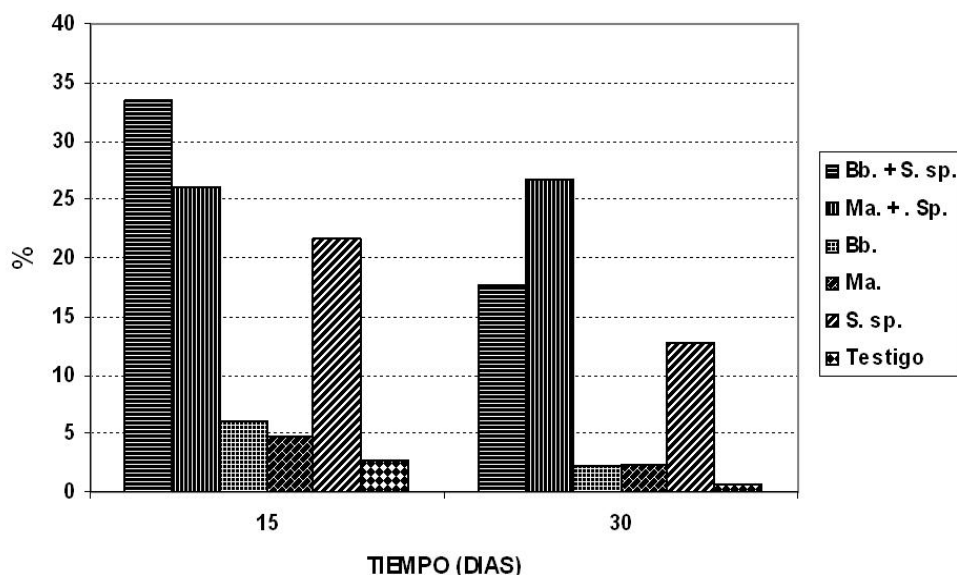
? Prueba Tukey al 5% para los tiempos en que se presentaron diferencias.

11. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ACTIVIDAD 1.

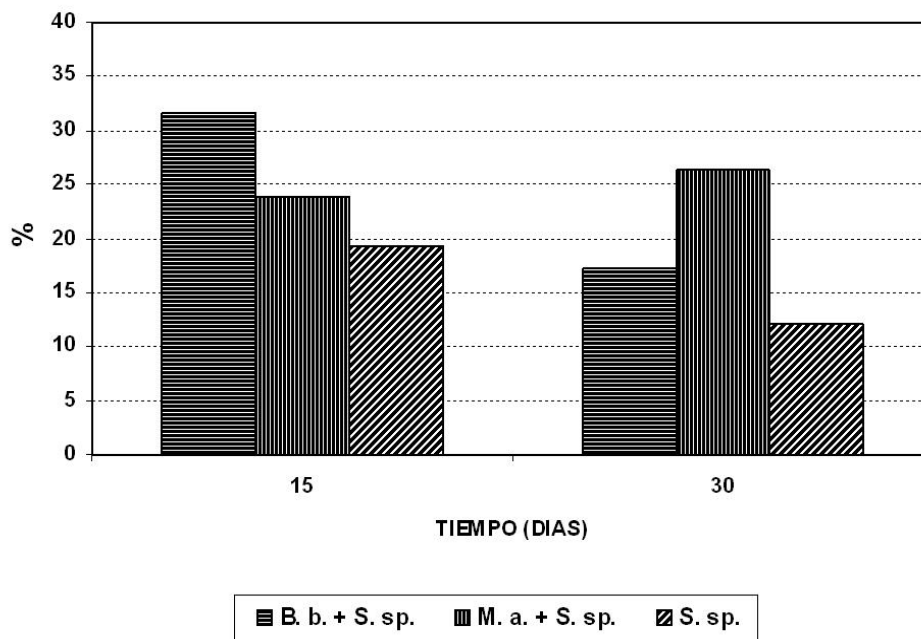
4.1.1. Porcentaje de mortalidad de estados de broca en fruto. Para esta variable se utilizó frutos de café brocados con un promedio inicial de 11 brocas por fruto. Los análisis de varianza a los 15 y 30 días ($P < 0,05$) (**Anexo 1**), mostraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, presentándose mortalidades entre 2,71% ? 54,70 (Prom ? CV), en el testigo y 33,50% ? 40,44 en la mezcla de *Bb.* + *S. sp.* y 0,68% ? 100,29 en el testigo y 26,79% ? 27,34 en la mezcla de *Ma.* + *S. sp.* respectivamente (**Figura 7**), al comparar los porcentajes promedios de mortalidad de los tratamientos con el testigo para cada tiempo (Dunnett 5%) (**Anexo 2**), las aplicaciones de las mezclas y de nematodos individualmente resultaron ser los tratamientos que causaron las mayores mortalidades, siendo diferentes a la mortalidad encontrada en el testigo en los dos tiempos de evaluación. Es de anotar que a los 15 días de aplicación, las mortalidades causadas por los hongos entomopatógenos aplicados individualmente son significativamente inferiores (mayor mortalidad 5,9% ? 36.2), donde solo el 2,3% del total de la mortalidad fue causada por hongo, comportamiento que se mantiene y es más marcado a los 30 días, en donde la mayor mortalidad fue de 2,4% ? 66,6, donde solo el 0,26%, del total de la mortalidad fue causada por el hongo.

Figura 25. Porcentaje promedio de mortalidad de broca a los 15 y 30 días después de la aplicación de entomopatógenos individuales y en mezcla.



El porcentaje de mortalidad corregida (PMC) de estos tres tratamientos (*Ma.* + *S.* sp., *Bb.* + *S.* sp. y *S.* sp.), se estimó mediante la fórmula de Schneider – Orelly y con estos porcentajes (**Figura 8**), se realizó los análisis de varianza ($P < 0,05$) (**Anexo 3**), que mostraron diferencias estadísticas solo a los 30 días. Para este tiempo la mezcla de *Ma.* + *S.* sp. (26,2% ? 28,0), fue estadísticamente diferente al tratamiento en que se aplicó solo nematodos (12% ? 41,8), e igual a la mezcla *Bb.* + *S.* sp. (17,1% ? 66,5) (Tukey 95%) (**Anexo 4**).

Figura 26. Porcentajes de mortalidad de broca corregidos (PMC) por la fórmula de Schneider – Orelly, a los 15 y 30 días después de la aplicación de mezclas de entomopatógenos y entomonematodos individuales.



En las **Figuras 9 y 10** se encuentran los promedios por tratamiento a los 15 y 30 días de evaluación de la mortalidad causada por cada agente (Hongo, nematodo y otra causa (*Paecilomyces*, *Fusarium* y mortalidad natural), los análisis de varianza ($P < 0,05$) (**Anexo 5 Y 6**), mostraron diferencias significativas entre los tratamientos en la mortalidad causada solo por hongo y por nematodo en los dos tiempos de evaluación, la mayor mortalidad causada por hongo la presentó la mezcla de *Ma.* + *S.* sp. (16,92% ? 95,96 y 10,80% ? 42,16 a los 15 y 30 días respectivamente), mostrando diferencias estadísticas con los demás tratamientos excepto, con la mezcla de *Bb.* + *S.* sp. a los 15 días (Tukey 95%) (**Anexo 7 Y 8**). La mayor mortalidad causada por nematodo la presentó la mezcla de *Bb.* + *S.* sp., a los 15 días (21,29% ? 53,14), mostrando diferencias con la mezcla de *Ma.* + *S.* sp. a los 30 días la mezcla de *Ma.* + *S.* sp. (18,54% ? 36,53), fue diferente al tratamiento en que se aplicó solo nematodos (Tukey 95%) (**Anexo 7 Y 8**).

Figura 27. Porcentajes promedio de mortalidad de broca al interior de los frutos, según el agente causal de la muerte a los 15 días.

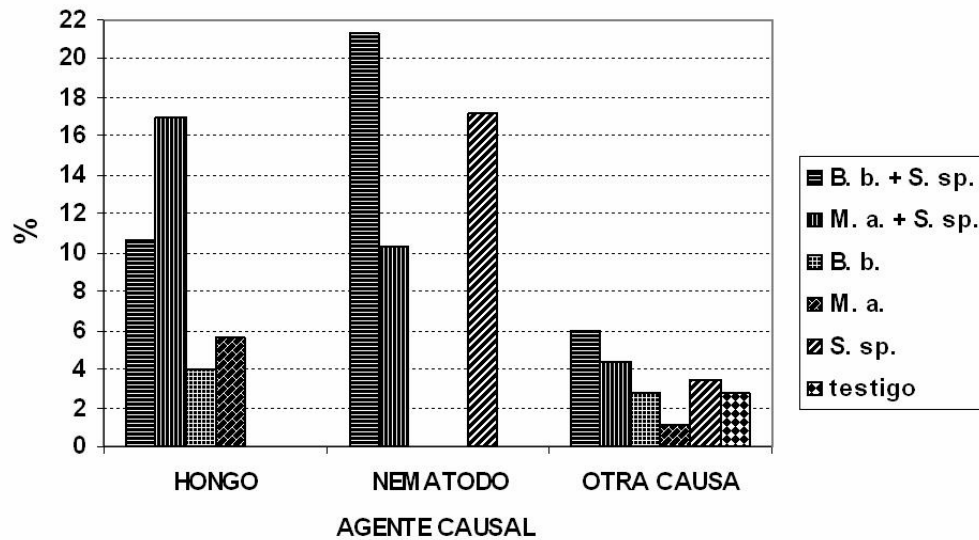
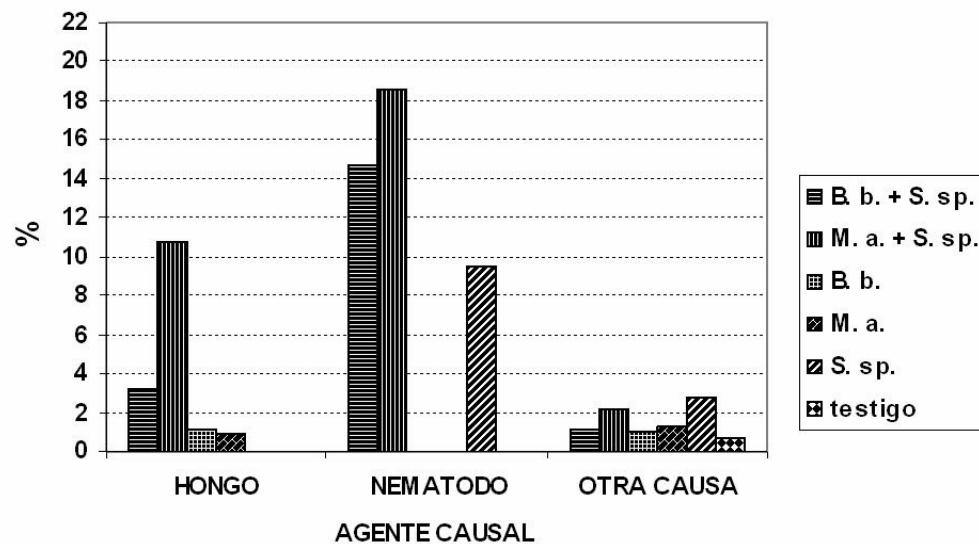


Figura 28. Porcentajes promedio de mortalidad de broca al interior de los frutos, según el agente causal de la muerte a los 30 días.



Los resultados demostraron que los entomonematodos tienen la facultad de ingresar a frutos de café brocados y causar mortalidad a las brocas que se encuentran en su interior, tal como lo demuestran trabajos realizados con esta especie (*Steinernema* sp.) (Molina, 2001 y Lara, 2002). Se observó que la mortalidad causada por hongos entomopatógenos es mayor cuando se lo aplica con entomonematodos que cuando se lo aplica solo, lo cual nos muestra al

entomonematodo no solo como un agente de control directo si no también como transportador de esporas del hongo entomopatógeno, dando a este último la posibilidad de expresarse dentro del fruto, esto se evidencia al encontrar manifestación del hongo en estados de broca encontrados al interior de los frutos de café (**Figuras 11 Y 12**), solo en los tratamientos en que se aplicaron las mezclas, este fenómeno no se observó en los tratamientos en que se aplicó hongos individualmente. Se presenta entonces un efecto aditivo de los dos entomopatógenos (hongo y nematodo), al interior del fruto sobre los estados de broca, reflejándose en el aumento de la mortalidad de los mismos. En estudios de mezclas aplicadas sobre insectos blancos se ha podido evidenciar que el TL50 disminuye y que el porcentaje de mortalidad aumenta cuando se aplican hongos y nematodos entomopatógenos en mezcla que cuando se aplican solos (Barbercheck y Kaya en 1990).

Cabe anotar que no se observó durante las evaluaciones parasitismo de los dos entomopatógenos al mismo tiempo en un solo hospedante y que la adición de hongo a los nematodos no afectó la mortalidad causada por el nematodo.

Figura 29. Expresión del hongo *Beauveria bassiana* en estados de broca al interior de un fruto de café.

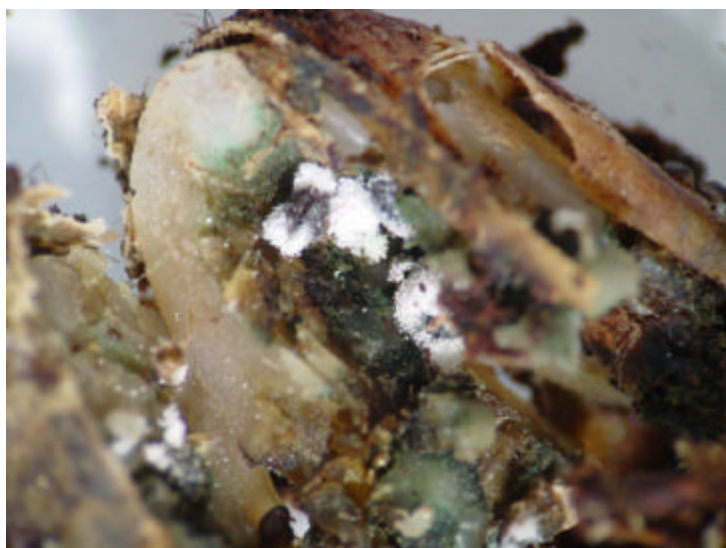
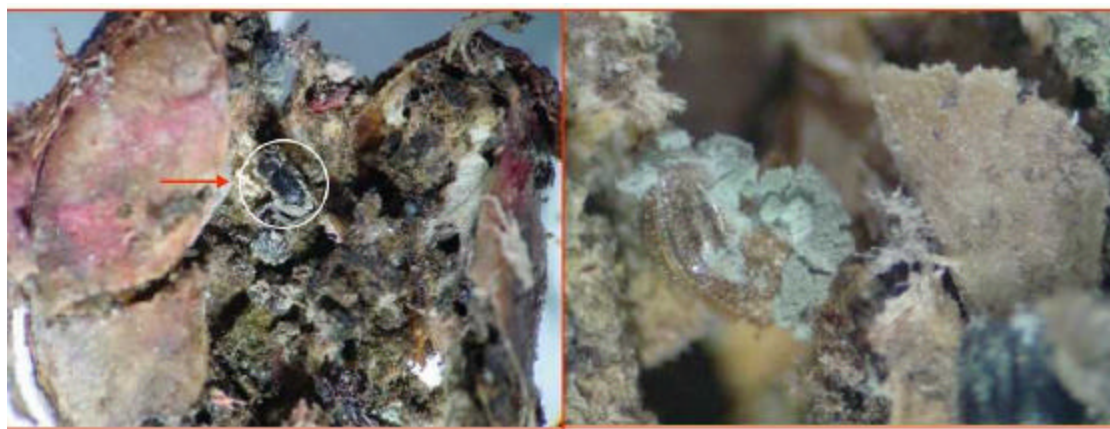


Figura 30. Expresión del hongo *Metarhizium anisopliae* en estados de broca al interior del fruto. A= fruto de café disecado con broca adulta presentando signos de infección de *M. anisopliae*. B = esporulación de *M. anisopliae*, al interior de un fruto de café.



A **B**
4.1.2. Número de nematodos por fruto. En las **Tablas 4 Y 5**, se presentan los promedios de los tratamientos en que se encontró nematodos dentro del fruto (*Bb.* + *S. sp.*, *Ma.* + *S. sp.* y *S. sp.*), donde se encontraron nematodos en el 82,5%, 75% y 80,5% de los frutos respectivamente. Se presentaron promedios de número de nematodos por fruto entre 66 ? 39,2 (prom ? CV) (*Bb.* + *S. sp.*) y 80 ? 38,6 (*S. sp.*) a los 15 días y 89 ? 66,1 (*Bb.* + *S. sp.*) y 104 ? 55,9 (*S. sp.*) a los 30 días. Los análisis de varianza (**Anexo 9**), no mostraron diferencias estadísticas para esta variable en los tratamientos en que se aplicó nematodos.

En esta variable se logra observar que los nematodos se ven atraídos hacia todos los estados de broca, especialmente hacia las larvas que se encuentran en el interior de los frutos de café como lo demuestran trabajos previos (Molina, 2001; Lara, 2002), además, se observa que la adición de esporas de hongos entomopatógenos no afecta ni el desplazamiento ni la atracción del nematodo hacia su hospedante. A los 30 días después de aplicados los tratamientos se observa un incremento en el número de nematodos encontrados al interior del fruto, lo que demuestra que se pueden multiplicar en los estados de broca (Lara, 2002).

Tabla 29. Número promedio de nematodos por fruto a los 15 días.

TRATAMIENTO	PROMEDIO	CV
<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	66	39,17
<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	68	46,99
<i>S. sp.</i>	80	38,62

Tabla 30. Número promedio de nematodos por fruto a los 30 días.

TRATAMIENTO	PROMEDIO	CV
<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	89	66,09
<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	96	87,27
<i>S. sp.</i>	104	55,94

4.1.3. Tasa diaria de emergencia de broca. Con el número acumulado de brocas emergidas y mediante regresión lineal, se estimó la tasa diaria de emergencia de broca por tratamiento (**Tabla 6**). Encontrando promedios entre 0,33 ? 56,27 (*Ma.* + *S. sp.*) y 0,61 ? 53,10 (testigo), el análisis de varianza (**Anexo 10**), no mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos.

En esta variable se observa que el testigo fue donde se encontró la mayor tasa diaria de emergencia doblando en número la emergencia más baja (*Ma.* + *S. sp.*) lo cual muestra la influencia que la mortalidad de estados de broca dentro del fruto ejerce sobre el número de adultos que salen a brocar frutos nuevos.

Tabla 31. Tasa diaria de emergencia de broca.

TRATAMIENTO	PROMEDIO	CV
<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	0,41	51,80
<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	0,33	56,27
<i>Bb.</i>	0,36	39,68
<i>Ma.</i>	0,35	44,90
<i>S. sp.</i>	0,42	49,01
Agua	0,61	53,10

4.1.4. Tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas. Mediante una regresión lineal, se estimó la tasa diaria de mortalidad de brocas que emergían de los frutos por tratamiento (**Tabla 7**), encontrando promedios entre 0,05 ? 103,89 (testigo) y 0,22 ? 79,90 (*Bb.* + *S. sp.*), se realizó un análisis de varianza (**Anexo 11**), encontrándose diferencias estadísticas entre los tratamientos. Al realizar la prueba de Duncan al 5% (**Anexo 12**), se observó que el tratamiento que mayor tasa diaria de mortalidad presentó (*Bb.* + *S. sp.*), mostró diferencias estadísticas frente al testigo y al tratamiento en que se aplicó solo *Bb.*, pero fue estadísticamente igual a los otros tratamientos. La mezcla de *Ma.* + *S. sp.* segunda en el promedio, fue diferente solo al testigo y los tratamientos en que se aplicó entomopatógenos en forma individual no presentaron diferencias con el testigo.

De acuerdo con lo anterior, se presenta un efecto de las aplicaciones de los entomopatógenos sobre los adultos de broca que una vez que han emergido salen infectados desde el interior del fruto, lo que permite pensar que se vea afectado su comportamiento y acción posterior, además, vale la pena anotar que la mortalidad

que se encuentra cuando se aplicó mezclas es casi dos veces superior a la mortalidad registrada por la aplicación de los hongos solos y es superior a la mortalidad que causó la aplicación de nematodos individualmente, lo que muestra que las brocas que emergen pueden infectarse con esporas de hongo o salir infectadas con entomonematodos y causar un efecto en la infestación de frutos sanos del árbol, además pueden ser un medio de dispersión de los entomopatógenos.

Tabla 32. Tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas.

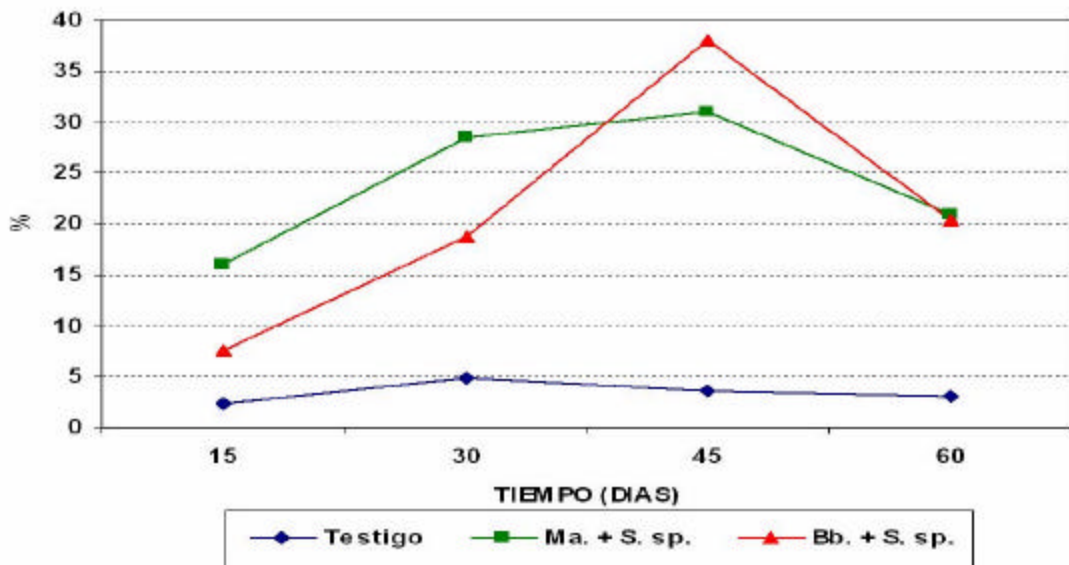
TRATAMIENTO	PROMEDIO	CV
<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	0,22	79,90
<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	0,18	100,13
<i>Bb.</i>	0,10	75,04
<i>Ma.</i>	0,11	62,31
<i>S. sp.</i>	0,14	52,21
Agua	0,05	103,89

4.2. ACTIVIDAD 2.

4.2.1. Primera replica.

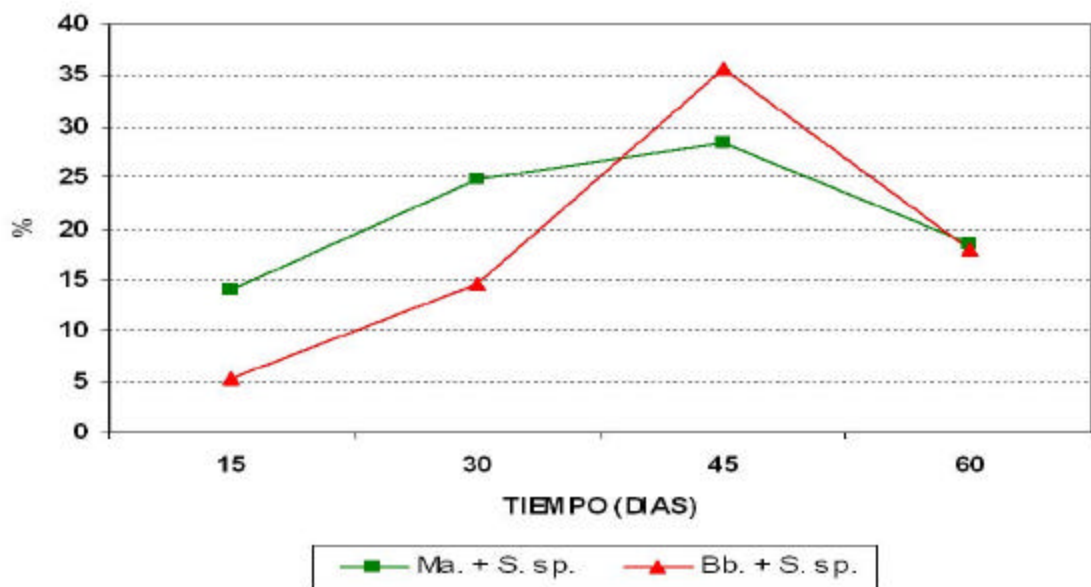
☞ **Porcentaje de mortalidad de estados de broca en frutos del suelo.** Para esta variable se utilizó frutos de café brocados con un promedio inicial de 10 estados de broca por fruto. En la **Figura 13**, se presenta el comportamiento de la mortalidad de estados de broca en frutos del suelo 15, 30, 45 y 60 dda (días después de aplicación), las mortalidades y diferencias del testigo con las mezclas se presentaron a partir de los 15 dda, presentando mortalidades de 16,09% ? 95,12 para la mezcla *Ma.* + *S. sp.* y de 7,61% ? 87,56 para la mezcla de *Bb.* + *S. sp.* A medida que transcurren las evaluaciones, la mortalidad de broca al interior del fruto se incrementa para las dos mezclas de entomopatógenos, hasta un valor máximo de 38,08% ? 93,58 para el tratamiento *Bb.* + *S. sp.* y de 30,95% ? 94,35 para el tratamiento *Ma.* + *S. sp.* a los 45 días de evaluación. El análisis de varianza ($P < 0,05$) (**Anexo 13**), mostró diferencias significativas para los 15, 30 y 45 dda. Solo la mezcla de *Ma.* + *S. sp.* presentó diferencias con el testigo a los 15 dda, a los 30 y 45 dda las dos mezclas fueron diferentes al testigo (Dunnnett 5%) (**Anexo 14**).

Figura 31. Porcentaje promedio de mortalidad de broca en el interior de frutos de café ubicados en el plato de los árboles.



El porcentaje de mortalidad corregido de las mezclas, se estimó mediante la fórmula de Schneider – Orelly (Figura 14), los análisis de varianza para cada tiempo (Anexo 15), mostraron que no hay diferencias entre las dos mezclas.

Figura 32. Porcentaje promedio de mortalidad de broca corregido por la fórmula de Schneider – Orelly, en el interior de frutos de café ubicados en el plato de los árboles.



Se observa que las mezclas de hongo y nematodo entomopatógenos causan mortalidad en condiciones de campo a los estados de broca que se encuentran en el interior de frutos de café ubicados en el suelo, las condiciones que se presentan en el campo y específicamente en el suelo favorecen para que tanto hongo como nematodo expresen su patogenicidad, además, se observa un comportamiento similar al presentado en la primera actividad en el cual el nematodo además de buscar a su hospedante y causarle una mortalidad, es capaz de transportar esporas de hongos entomopatógenos al interior del fruto donde estos pueden expresar su patogenicidad y aumentar esa mortalidad de los estados de broca que allí se encuentran.

☞ **Número de nematodos por fruto.** En la **Tabla 8**, se presentan los promedios de los tratamientos en que se encontró nematodos dentro del fruto (*Ma. + S. sp.* y *Bb. + S. sp.*), donde se encontraron nematodos en el 66,66% y 69,33% de los frutos respectivamente. Se presentaron promedios de número de nematodos por fruto entre 15 ? 57,6 (prom ? CV) (*Ma. + S. sp.*) a los 60 días y 49 ? 88,7 (*Ma. + S. sp.*) a los 30 días. Los análisis de varianza para cada tiempo (**Anexo 16**), no mostraron diferencias estadísticas para esta variable en los tratamientos en que se aplicó nematodos.

Como se puede apreciar, a medida que transcurre el tiempo el número de nematodos por fruto aumenta; esto está de acuerdo con los resultados de Lara, 2002, quien registra la capacidad de multiplicación de los nematodos después de una aplicación dentro de los frutos bajo condiciones de campo. En este trabajo esta multiplicación se evidencia, tanto con aplicaciones individuales como en mezcla con hongos entomopatógenos, lo que indica que la presencia de estos patógenos no interfiere con el desarrollo del nematodo dentro del fruto.

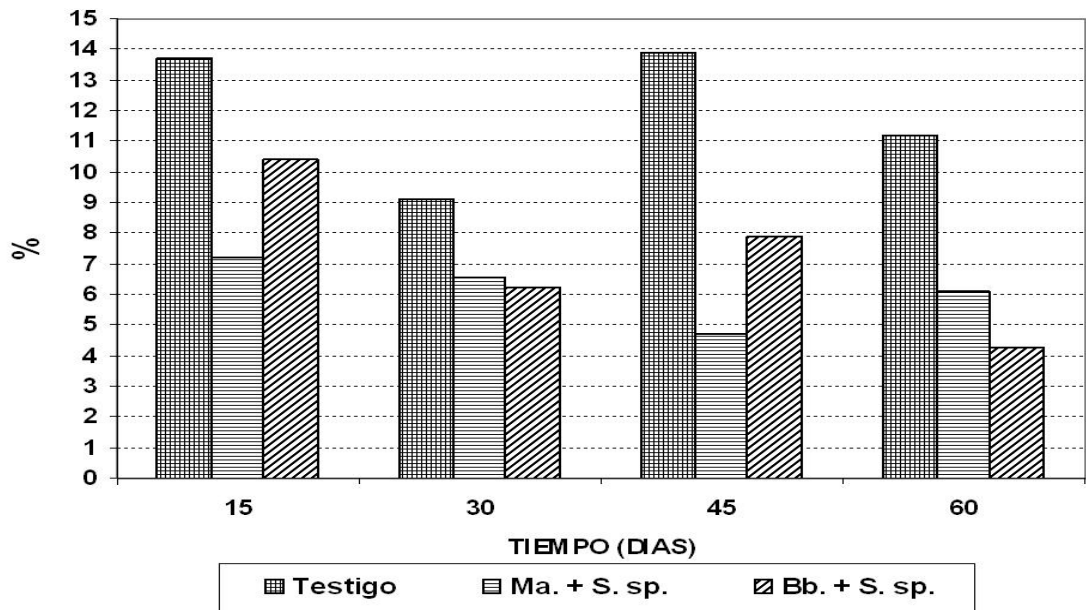
Tabla 33. Número promedio de nematodos encontrados dentro de frutos de café brocados ubicados en el suelo.

DÍA	TRATAMIENTO	PROMEDIO	CV
15	<i>Ma. + S. sp.</i>	19	74,63
15	<i>Bb. + S. sp.</i>	17	59,57
30	<i>Ma. + S. sp.</i>	49	88,79
30	<i>Bb. + S. sp.</i>	44	55,15
45	<i>Ma. + S. sp.</i>	31	45,44
45	<i>Bb. + S. sp.</i>	38	40,99
60	<i>Ma. + S. sp.</i>	15	57,66
60	<i>Bb. + S. sp.</i>	20	49,41

☞ **Porcentaje de infestación en frutos del árbol.** En la **Figura 15**, se presentan los porcentajes de infestación para cada uno de los tratamientos en los cuatro tiempos de evaluación, encontrando promedios entre 4,3 % ? 84,3 (*Bb. + S. sp.*) a

los 60 días y 13,9 ? 92,8 (testigo) a los 45 días, los análisis de varianza (**Anexo 17**), mostraron diferencias estadísticas solo a los 45 y 60 días, las pruebas de Tukey al 5% (**Anexo 18**), mostraron que a los 45 días la mezcla *Ma. + S. sp.* fue superior y estadísticamente diferente al testigo y a los 60 días la mezcla *Bb. + S. sp.* fue superior y estadísticamente diferente al testigo.

Figura 33. Porcentajes promedio de infestación de broca en frutos del árbol.



Con esta variable se logró observar una disminución en la infestación de frutos del árbol cuando se aplicó las mezclas en relación con el testigo. Este efecto se presentó debido a la disminución de estados de broca en frutos del suelo, causada por la mortalidad de los mismos, los cuales son el principal factor de infestación en frutos del árbol, el efecto es más evidente a los 45 y 60 días donde se presentaron diferencias estadísticas frente al testigo, ya que en estos dos tiempos ha disminuido notablemente la cantidad de estados adultos de broca debido a la mortalidad de sus estados inmaduros durante el tiempo después de la aplicación de los tratamientos.

✍ **Mortalidad y posición de brocas en frutos del árbol**

? **Mortalidad de brocas en frutos del árbol.** En las **Tablas 9, 10, 11 Y 12**, se presentan los promedios de número de brocas vivas y muertas por hongo, nematodo u otra causa en frutos del árbol para cada uno de los tratamientos, al realizar los análisis de varianza (**Anexo 19**), solo se encontró diferencias significativas a los 15 días para número de brocas vivas y número de brocas muertas por hongo y a los 60 días para número de brocas vivas, las pruebas de Tukey al 5% (**Anexo 20**), mostraron que a los 15 días el testigo y la mezcla de *Ma.*

+ *S. sp.* fueron estadísticamente diferentes para la variable número de brocas vivas, mientras que para número de brocas muertas por hongo se presentaron diferencias entre el testigo y la mezcla de *Bb.* + *S. sp.* A los 60 días las diferencias estadísticas se presentaron entre la mezcla de *Ma.* + *S. sp.* y el testigo para la variable número de brocas vivas.

Con estos resultados se observa que hay un efecto de las mezclas sobre las brocas que logran salir de los frutos del suelo y llegan a colonizar frutos sanos del árbol, ya que se encuentran en menor número que en el testigo y además, algunas de estas se encuentran parasitadas por hongo o por nematodos.

Tabla 34. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 15 días.

TRATAMIENTOS	VIVAS	MUERTAS		
		HONGO	NEMATODO	OTRA CAUSA
Testigo	3.13	0	0	0.06
<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	1.20	0.26	0	0
<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	2.00	0.53	0.06	0

Tabla 35. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 30 días.

TRATAMIENTOS	VIVAS	MUERTAS		
		HONGO	NEMATODO	OTRA CAUSA
Testigo	1.53	0	0	0
<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	1.13	0.13	0	0
<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	1.33	0.33	0	0

Tabla 36. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 45 días.

TRATAMIENTOS	VIVAS	MUERTAS		
		HONGO	NEMATODO	OTRA CAUSA
Testigo	1.66	0	0	0
<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	0.73	0.06	0.06	0.06
<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	1.13	0.13	0	0

Tabla 37. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 60 días.

TRATAMIENTOS	VIVAS	MUERTAS		
		HONGO	NEMATODO	OTRA CAUSA
Testigo	2.26	0	0	0
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.86	0.33	0	0
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.93	0.26	0	0

? Posición de brocas en frutos del árbol

En las **Tablas 13, 14, 15 Y 16**, se presentan los promedios de brocas en las cuatro posiciones (A, B, C y D), en frutos del árbol para cada uno de los tratamientos. Al realizar los análisis de varianza (**Anexo 21**), solo se encontró diferencias significativas a los 45 y 60 días para la posición D, las pruebas de Tukey al 5% (**Anexo 22**), mostraron que para los dos tiempos las dos mezclas fueron estadísticamente diferentes al testigo donde se encuentran mayor número de brocas en esta posición.

Con estos resultados se observa que hay un mayor número de brocas en posición D en el testigo que en los tratamientos, esto es debido a que los insectos cuando se aplican las mezclas, pueden salir infectados de los frutos del suelo, logran llegar a frutos sanos del árbol, pero en el transcurso de la infestación puede haber una alteración en su comportamiento, metabolismo, posible capacidad de reproducción u oviposición o morir a causa de la infección, causando finalmente como consecuencia una disminución de la dinámica del insecto en el campo.

Tabla 38. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 15 días.

TRATAMIENTOS	POSICIÓN			
	A	B	C	D
Testigo	0.33	0.46	2.00	0.33
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.40	0.26	0.73	0.06
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.66	0.26	1.06	0.60

Tabla 39. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 30 días.

TRATAMIENTOS	POSICIÓN			
	A	B	C	D
Testigo	0	0.26	0.20	0.86
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.13	0.20	0.53	0.40
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.26	0.20	0.73	0.46

Tabla 40. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 45 días.

TRATAMIENTOS	POSICIÓN			
	A	B	C	D
Testigo	0.13	0.20	0.53	0.80
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.13	0.06	0.60	0
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.06	0.26	0.80	0.13

Tabla 41. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 60 días.

TRATAMIENTOS	POSICIÓN			
	A	B	C	D
Testigo	0.26	0.26	0.46	1.26
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.33	0.06	0.46	0.33
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.26	0.46	0.40	0.06

4.2.2. Segunda réplica de la aplicación de mezclas de entomopatógenos sobre frutos brocados ubicados en el plato de árboles de café.

☞ **Porcentaje de mortalidad de estados de broca en frutos del suelo.** En la segunda réplica de este experimento en campo, se utilizó frutos brocados directamente de árboles de café con un promedio de 5 estados de broca por fruto con el fin de asemejar más las condiciones que se encuentran en campo, a diferencia de la primera réplica en la que realizó un brocado previo durante 30 días. En la **Figura 16**, se observa que para los 15 dda, se presentaron porcentajes de mortalidad entre 5,3 ? 162,1 (Prom ? CV), en el testigo y 40,1 ? 46,6 en la mezcla de *Ma. + S. sp.*, para los 30 dda se presentaron mortalidades entre 1,8 ? 248,6 en el testigo y 51,9 ? 89,60 en la mezcla de *Bb. + S. sp.*, para los 45 y 60 días no se encontraron estados de broca dentro de los frutos, por lo cual no se pudo determinar el porcentaje de mortalidad en estos tiempos. El análisis de varianza ($P < 0,05$) (**Anexo 23**), presentó diferencias significativas entre los tratamientos tanto para los 15 como 30 dda, siendo esta variable superior y estadísticamente diferente para las mezclas, al compararla con el testigo (Dunnett 0,5%) (**Anexo 24**). Se estimó el porcentaje de mortalidad corregida de los tratamientos, mediante la fórmula de Schneider – Orelly (**Figura 17**), el análisis de varianza (**Anexo 25**), no presentó diferencias significativas entre mezclas para ninguno de los tiempos evaluados.

Figura 34. Porcentaje promedio de mortalidad de broca en el interior de frutos de café ubicados en el plato de los árboles.

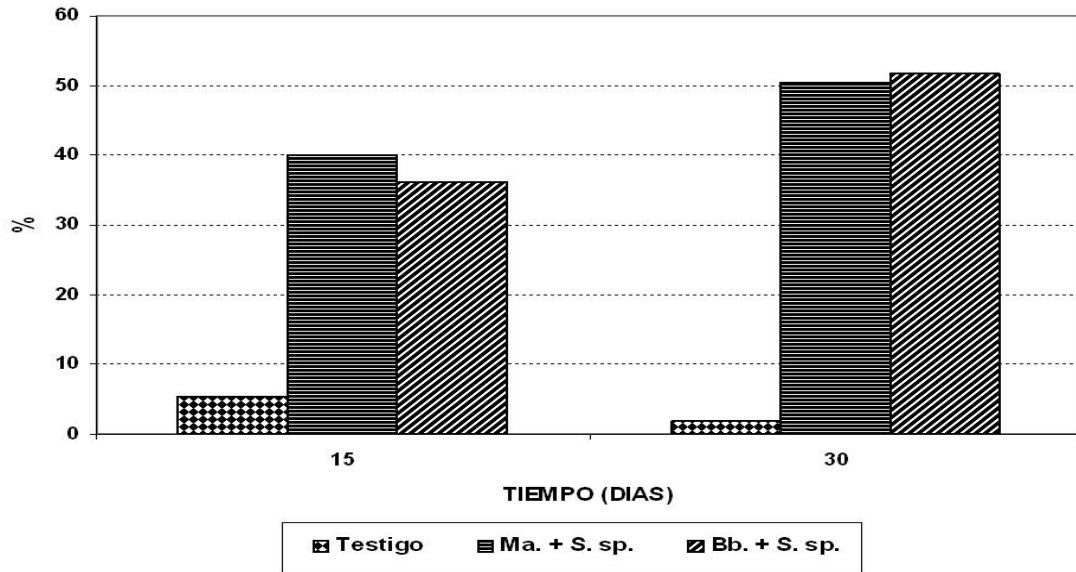
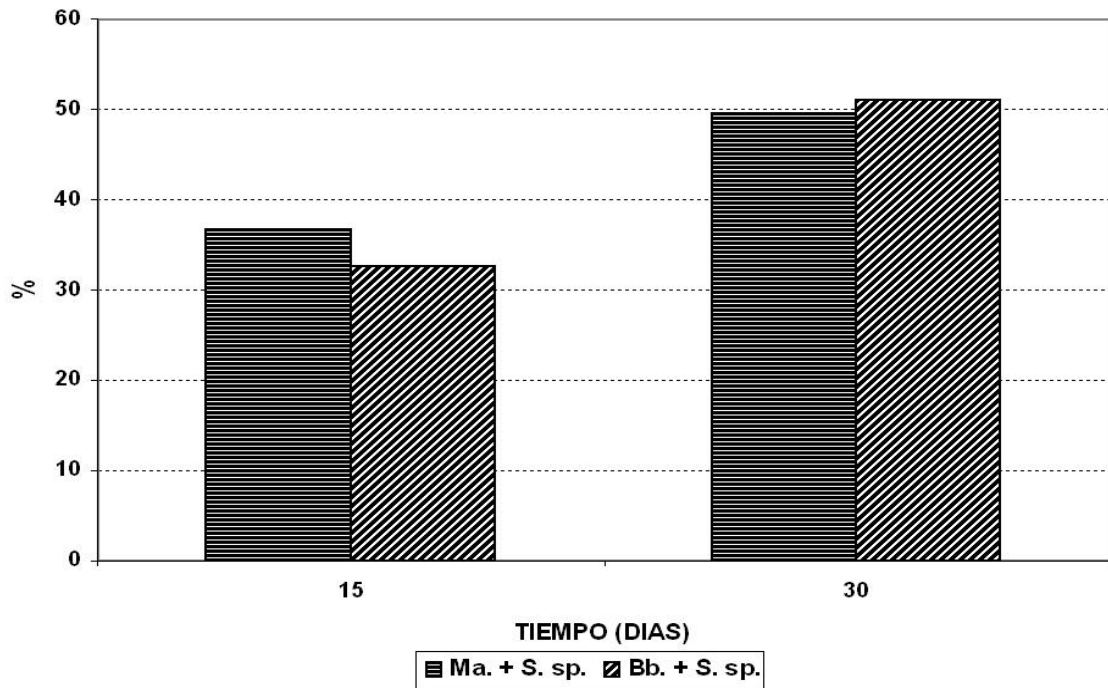


Figura 35. Porcentaje promedio de mortalidad de broca corregido por la fórmula de Schneider – Orelly, en el interior de frutos de café ubicados en el plato de los árboles.



Al igual que en la primera réplica, el incremento en la mortalidad de broca al interior del fruto después de la aplicación de los tratamientos, se mantiene para los 15 y 30 dda. En términos generales, una explicación para los aumentos de las mortalidades para la segunda réplica en comparación con la primera, pueden atribuirse en parte a que los frutos colocados en esta parte del experimento, tenían en promedio menor número de estados de broca por fruto (5), que la primera réplica (10), además las condiciones climáticas que se presentaron en esta replica coincidieron con épocas de alta precipitación (9 mm/día), donde el 42% de toda la precipitación registrada durante los 60 días ocurrió en los primeros 15 días, a diferencia de las condiciones climáticas que predominaron para la primer réplica (8 mm/día), donde en los primeros 15 días no se registró precipitación y las mas altas precipitaciones se presentaron entre los 45 y 60 días, donde se registro el 41% del total de la precipitación presentada en esta actividad. Lo anterior está de acuerdo con el comportamiento registrado por Bustillo, 2002, quien coincide con que la broca en época de sequía se resguarda en los frutos y su emergencia se induce con la aparición de lluvias, disminuyendo por ende la población del insecto dentro del fruto.

☞ **Número de nematodos por fruto.** En la **Tabla 17**, se presentan los promedios de los tratamientos en que se encontró nematodos dentro del fruto (*Ma.* + *S. sp.* y *Bb.* + *S. sp.*), donde se presentaron promedios de número de nematodos por fruto entre 3 ? 222,6 (prom ? CV) (*Ma.* + *S. sp.*) a los 60 días y 23 ? 65,5 (*Bb.* + *S. sp.*) a los 30 días, se realizó los análisis de varianza para cada tiempo (**Anexo 26**), y no se encontró diferencias estadísticas entre los dos tratamientos.

Los nematodos entraron en los frutos de café brocados y parasitaron estados de broca, no hay indicios de multiplicación debido a que se encontraban poca cantidad de estados de broca dentro de los frutos.

Tabla 42. Número promedio de nematodos encontrados dentro de frutos de café brocados ubicados en el suelo.

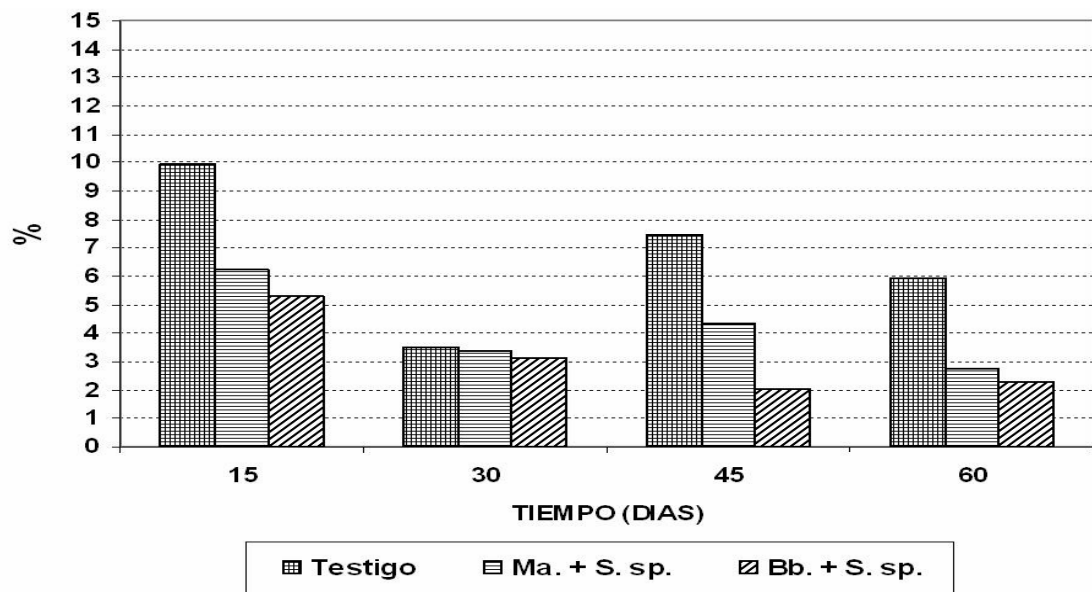
DÍA	TRATAMIENTO	PROMEDIO	CV
15	<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	13	36,04
15	<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	16	43,58
30	<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	19	59,52
30	<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	23	65,51
45	<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	18	145,16
45	<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	18	99,29
60	<i>Ma.</i> + <i>S. sp.</i>	3	222,62
60	<i>Bb.</i> + <i>S. sp.</i>	7	245,55

☞ Porcentaje de infestación en frutos del árbol. En la **Figura 18**, se presentan los porcentajes de infestación para cada uno de los tratamientos, encontrando

promedios entre 2,0 % ? 117,7 (*Bb.* + *S. sp.*) a los 45 días y 9,9% ? 116,4 (testigo) a los 15 días, los análisis de varianza (**Anexo 27**), mostraron diferencias estadísticas solo a los 45 y 60 días, donde las dos mezclas fueron inferiores y estadísticamente diferentes al testigo (Tukey al 95%) (**Anexo 28**).

Con esta variable se logró observar una disminución en la infestación de frutos del árbol cuando se aplicaron las mezclas en relación con el testigo, resultados similares a los encontrados en la primera réplica. A los 45 y 60 días se encuentra una reducción en la infestación tanto en el testigo como en los tratamientos, debido a que en los frutos del suelo casi no se encontraban estados de broca, sin embargo las mezclas siguieron presentando menor porcentaje de infestación debido al control que ejercen sobre estos.

Figura 36. Porcentajes promedio de infestación de broca en frutos del árbol.



☞ Mortalidad y posición de la broca en frutos del árbol

? **Mortalidad de brocas en frutos del árbol.** En las **Tablas 18, 19, 20 Y 21** se presentan los promedios de número de brocas vivas y muertas por hongo, nematodo y otra causa en frutos del árbol para cada uno de los tratamientos, el análisis de varianza, mostró diferencias significativas solo a los 30, 45 y 60 días para número de brocas vivas (**Anexo 29**), siendo las mezclas inferiores y estadísticamente diferentes al testigo (Tukey al 95%) (**Anexo 30**).

Las brocas que salen de los frutos de café ubicados en el plato de los árboles pueden contaminarse con esporas de hongos entomopatógenos presentes o salir contaminadas con entomonematodos, siendo un agente de diseminación de estos

entomopatógenos, además, de que estos pueden causarle la muerte o afectar su comportamiento una vez han alcanzado frutos sanos de los árboles.

Tabla 43. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 15 días.

TRATAMIENTOS	VIVAS	MUERTAS		
		HONGO	NEMATODO	OTRA CAUSA
Testigo	1.50	0	0	0
<i>Ma. + S. sp.</i>	1.66	0.26	0	0
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.86	0.26	0.06	0

Tabla 44. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 30 días.

TRATAMIENTOS	VIVAS	MUERTAS		
		HONGO	NEMATODO	OTRA CAUSA
Testigo	1.13	0	0	0
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.40	0.13	0.06	0
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.26	0.33	0	0

Tabla 45. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 45 días.

TRATAMIENTOS	VIVAS	MUERTAS		
		HONGO	NEMATODO	OTRA CAUSA
Testigo	2.06	0	0	0
<i>Ma. + S. sp.</i>	1.00	0.26	0	0
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.40	0.20	0	0

Tabla 46. Número promedio de brocas vivas y muertas en frutos del árbol a los 60 días.

TRATAMIENTOS	VIVAS	MUERTAS		
		HONGO	NEMATODO	OTRA CAUSA
Testigo	1.73	0	0	0
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.60	0.20	0	0
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.40	0.33	0	0

? **Posición de brocas en frutos del árbol.** En las (Tablas 22, 23, 24 Y 25) se presentan los promedios de brocas en las cuatro posiciones (A, B, C y D) en frutos del árbol para cada uno de los tratamientos. Al realizar los análisis de varianza (Anexo 31), solo se encontró diferencias significativas a los 30 días para

la posición A, a los 30 y 45 días para la posición D y a los 60 días para la posición C, las pruebas de Tukey al 95% (**Anexo 32**), mostraron que en todos los casos el testigo era diferente estadísticamente de las dos mezclas.

En esta variable se encuentran resultados similares a los de la primera réplica, mostrando que la aplicación de mezclas de entomopatógenos sobre frutos brocados del suelo afectan los estados adultos que salen a infestar frutos sanos del árbol, ya que estos pueden salir infectados por los entomopatógenos, y en el transcurso de su penetración en la cereza, pueden morir o enfermarse y no alcanzar su objetivo que es el de llegar al endospermo para darle paso a su progenie y causar daño, lo cual se observa al encontrar menor número de brocas en posición D cuando se aplicaron las mezclas, en relación con el testigo. Además, cabe anotar que este efecto es muy beneficioso para los caficultores si se tiene en cuenta que el daño en el endospermo se reduce contribuyendo a una mejor calidad del producto final.

Tabla 47. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 15 días.

TRATAMIENTOS	POSICIÓN			
	A	B	C	D
Testigo	0.25	0.25	0.75	0.25
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.46	0.40	0.66	0.40
<i>Bb. + S. sp.</i>	0	0.80	0.40	0

Tabla 48. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 30 días.

TRATAMIENTOS	POSICIÓN			
	A	B	C	D
Testigo	0	0.06	0.26	0.80
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.06	0.13	0.06	0.33
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.20	0.26	0.13	0

Tabla 49. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 45 días.

TRATAMIENTOS	POSICIÓN			
	A	B	C	D
Testigo	0.20	0.40	0.86	0.60
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.33	0.06	0.53	0.33
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.133	0.066	0.266	0.133

Tabla 50. Número promedio de brocas según su posición en frutos infestados del árbol a los 60 días.

TRATAMIENTOS	POSICIÓN			
	A	B	C	D
Testigo	0.20	0.20	0.53	0.80
<i>Ma. + S. sp.</i>	0.13	0.06	0.13	0.46
<i>Bb. + S. sp.</i>	0.06	0.26	0.06	0.33

12. CONCLUSIONES

La aplicación de mezclas de nematodos y hongos entomopatógenos causa mayor mortalidad de estados de broca al interior de frutos de café ubicados en el plato de los árboles que la aplicación de cada entomopatógeno por separado.

El número de nematodos encontrados al interior de los frutos de café no se ve afectado por la adición del hongo y tanto los nematodos como los hongos tienen la capacidad de infectar y multiplicarse en brocas encontradas al interior de los frutos del suelo.

La infestación de broca sobre frutos del árbol disminuye cuando se aplican mezclas de entomopatógenos que ejercen control sobre brocas encontradas en el interior de frutos de café que han caído al suelo.

Las brocas adultas que emergen de los frutos del suelo pueden salir infectados por cualquiera de los entomopatógenos y morir, o ver afectado su comportamiento, metabolismo, posible capacidad de reproducción u oviposición y disminuir el daño en los frutos del árbol.

La mezcla de cualquiera de las dos clases de hongos entomopatógenos puede ser viable para ser aplicada con entomonematodos, y además las dos mezclas evaluadas se muestran promisorias para ejercer un control de estados de broca al interior de frutos de café que han caído al suelo.

Las aplicaciones de estos entomopatógenos en mezcla pueden llegar a ser una herramienta a utilizar dentro del Manejo Integrado de la Broca.

13.RECOMENDACIONES

Es importante realizar trabajos donde se investigue dosis y frecuencias de aplicación de las mezclas en el agroecosistema de la zona cafetera, además, de evaluar el efecto de estas mezclas en el control de broca de los frutos de los árboles de café, ya que se ha comprobado que las dos clases de entomopatógenos pueden causarles mortalidad a estos.

Realizar investigaciones enfocadas a buscar coadyuvantes que ayuden a una mejor acción en la aplicación de estas mezclas en campo.

Para trabajos siguientes se recomienda aumentar el número de repeticiones con el fin de disminuir la variabilidad de los datos, además, de reducir los tiempos entre las evaluaciones, para realizar un mejor registro de la mortalidad de brocas al interior de los frutos de café.

Se debe utilizar esta investigación para realizar pruebas con caficultores con el fin de observar los resultados que se pueden obtener en cultivos a una mayor escala.

14. BIBLIOGRAFIA

AKHURST, R. J.; BOEMARE. Biology and Taxonomy of *Xenorhabdus*. In: ENTOMOPATHOGENIC nematodes in biological control. Gaugler R.; Kaya, H. K. Editores. Boca Raton (Estados Unidos), CRC Press : 1990, p. 75-90.

AKHURST, R J.; DUNPHY, G. B.. Tripartite Interactions between Symbiotically Associated Entomopathogenic Bacteria, Nematodes, and Their Insect Hosts. In : Parasites and Pathogens of Insects. Volumen 2: Pathogens. Beckage, N.E.; Thompson, S.N.; Frederici, B.A. Editores. Academic Press. San Diego (Estados Unidos) : 1993, p. 1-23.

ALLARD, G. B.; MOORE, D.. *Heterorhabditis* sp., nematodes as control agents for Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei* (Scolytidae). Journal of Invertebrate Pathology (Estados Unidos) : 54 (1): 45-48. 1989,

ARISTIZABAL A., L. F. Efecto parasitoide de *Cephalonomia stephanoderis* (Betrem) (Hymenoptera: Bethyridae), sobre una población de *hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), en condiciones de campo. Manizales (Colombia). Universidad de Caldas. Facultad de Agronomía, 1995. 129 p. (Tesis: Ingeniero Agrónomo).

BARBERCHECK, M.E.; KAYA, H.K. 1990. Interactions between *Beauveria bassiana* and the entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis heliothidis*. *Journal of Invertebrate Pathology* (Estados Unidos), 55: 225-234.

BARBERCHECK M. E, y KAYA H. K. En : Journal Competitive interactions between entomopathogenic nematodes and *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in soilborne larvae of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), *Environ. Entomol.* Vol. 20. 1991, p. 707-712

BEGLEY, J. W.. Efficacy against insects in habitats other than soil. In: ENTOMOPATHOGENIC nematodes in biological control. Gaugler R.; Kaya, H. K. Editores. Boca Raton (Estados Unidos), CRC Press, 1990. p. 215-231.

BOEMARE, N.; LAUMOND, C.; MAULEON, H..The entomopathogenic nematode bacterium complex; biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Science and Technology* (Inglaterra). Vol 6. no. 3. 1996, p. 333 – 345.

BUSTILLO P, A. E.. Perspectivas de un manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. *Agricultura Tropical* (Colombia) Vol. 28. no. 1. 1991, p. 83-93.

BUSTILLO P, A. E.; CARDENAS, M. R.; VILLALBA, G. D.; BENAVIDES, M. P.; OROZCO, H. J.; POSADA, F. J. Manejo Integrado de la Broca del Café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) en Colombia. Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía" Cenicafé. (Colombia) : 1998 127 p.

BUSTILLO P. A.E. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. *In*: seminario sobre Uso de Entomopatógenos en Colombia. Bogotá, Octubre 12, 2001. Bogotá, SOCOLEN, p. 30 - 53. 2001.

BUSTILLO P, A. E. El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. Chinchiná, Cenicafé, 2002. 40 p. (Boletín Técnico N°. 24).

CÁRDENAS, R.; POSADA, F. J.; BUSTILLO P., A, E. Daños causados por arañas en los cafetales. Cenicafé. Avances técnicos. No. 242. Agosto de 1997. 68 p.

CASTILLO. A.; MARBÁN, M., N.. Evaluación en laboratorio de nematodos Steinernematidos y Heterorhabditidos para el control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferr. Nematropica (Estados Unidos). Vol 26, no. 2, 1996.

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFE. Resumen del informe anual de actividades 1996 - 1997. Cenicafé. Chinchiná (Colombia). 1997. p.47.

CIBA – GEIGY. Manual para ensayos de campo en protección vegetal. 2ª. ed. Suiza, Ciba – Geigy. 1981, 205 p.

DECAZY, B. Descripción, biología y control de la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei* (Ferr.). *In* : CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. CENICAFE. 50 años de Cenicafé 1938-1988. Conferencias Conmemorativas. Chinchiná, CENICAFE. 1990, p. 133-139.

DEL CASTILLO R., J. A.; LÓPEZ N., J. C. Efecto de un aceite agrícola en la sobrevivencia y patogenicidad de dos especies de entomonematodos. *In*: CONGRESO de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN), 30. Cali (Colombia), Julio 17-19, 2003. Resúmenes. p. 77.

EPSKY, N. D.; WALTER, D. E.; CAPINERA, J. I..Potential role of nematophagous microarthropods as biotic mortality factors of entomogenous nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). Journal of Economic Entomology (Estados Unidos). Vol. 81. no. 821, 1998, p.

HOMINICK., W. H.; COLLINS., S.A.. Application of ecological information for practical use of insect pathogenic nematodes. Capitulo 2. *In* : Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?. Symposium proceedings No. 68. Farham (Inglaterra) British Crop Protection Council 1997, 302 p.

INGRAM, W.R. Cherry fall in robusta coffee: Pest damage and frequency of picking. East African Agricultural and Forestry Journal (Kenia). 1969. Vol. 34. no 4. p. 464 - 467.

KAYA, H. K. and A. M. KOPPENHOFER. 1996. Effect of microbial and other antagonistic organism and competition on entomopathogenic nematodes. Biocontrol Science and Technology. Vol. 6. p. 357-371.

LARA G. J.C. Efecto de entomonematodos sobre poblaciones de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en el suelo. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, (Tesis: Ingeniero Agrónomo). 90 p. 2002.

LAVABRE, E. M. Control químico de la broca del fruto del café. *In*: Taller Regional de Broca (3, 1989, Antigua Guatemala). Memorias. Antigua, Guatemala: IICA-PROMECAFE. 1989. p. 129-132.

LE PELLE, R. H. Las plagas del café. Agricultura Tropical. Editorial Labor, S.A. Calabria, Barcelona, España : 1973. p 140 - 170.

LÓPEZ N., J. C.; RIVERA M., A.; BUSTILLO P., A, E.; CHAVES C., B. Persistencia de *Beauveria bassiana*, (Bals.) Vuill., en suelo con el transcurso del tiempo. Revista Colombiana de Entomología (Colombia). 21(4):173-176.1995 .

LÓPEZ N., J. C.; BACCA I., R.T. Efecto de *Beauveria bassiana* y del entomonematodo *Steinernema riobrave* sobre larvas de *Galleria mellonella*. *In*: CONGRESO de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN), 27. Medellín (Colombia) : Julio 26-28, 2000. Resúmenes. p. 106.

LÓPEZ N., J. C.; VELÁSQUEZ S., E.T. Efecto de la aplicación del hongo *Beauveria bassiana* y entomonematodos en el desarrollo de la broca del café *Hypothenemus hampei*. *In*: CONGRESO de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN), 29. Montería (Colombia) : Julio 17-19, 2002. Resúmenes. p. 13.

MARTINEZ, M. A.; SURIS, M.; SÁNCHEZ, L.; RODRÍGUEZ. M. G.; GONZÁLEZ, E.; CASTELLANOS, L. Manejo integrado de chinches harinosos en el cultivo del cafeto. *In*: II Seminario taller internacional: Aportes del control biológico en la agricultura sostenible y I Congreso Latinoamericano de la sección Regional Neotropical de la Organización Internacional de Lucha Biológica. RESUMENES Lima – Perú : 18 - 22 mayo. 1998. p.91.

MOLINA, J. P. Desplazamiento y parasitismo de entomonematodos hacia frutos infestados con la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Santa Fé de Bogotá. 2001. 215 p.

PATEL, M. N.; PERRY, R. N.; WRIGHT, D. J.. Desiccation Survival and Water Contents of Entomopathogenic Nematodes, *Steinernema* spp. (Rhabditida: Steinernematidae). International Journal for Parasitology. Vol. 27, No. 1, 1997, p. 61-70.

POINAR JUNIOR, G. O. Description and biology of a new insect parasitic Rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* N.gen., N. Sp. (Rhabditida; Heterorhabditidae N. Fam.). Nematologica. 1976. Vol. Vol. 21. p. 463-470.

POINAR JUNIOR, G. O. Biology and Taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Entomopathogenic nematodes in biological control. Gaugler R.; Kaya, H. K. Editores. Boca Raton (Estados Unidos), CRC Press, 1990. p. 23-61.

TANADA, Y; KAYA, H. K. Nematodes, nematomorphs, and plathelminthes. Capítulo 13. In : Insect pathology. San Diego (Estados Unidos), Academic Press, 1993. 666 p.

VERGARA O., J. D.; LÓPEZ N., J. C.; CHAVES C., B.. Evaluación de la patogenicidad del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Rhabditida: Heterorhabditidae), sobre la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), en condiciones de laboratorio. In: CONGRESO de la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN), 24. Pereira (Colombia), julio 16-18, 1997. Resúmenes. Pereira (Colombia) : SOCOLEN, 1997. p. 1.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca en la primera actividad .

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	5	8403.10485	1680.62097	17.20	0.0001
Error	54	5277.43470	97.73027		
Total corregido	59	13680.53954			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	5	5548.148132	1109.629626	31.02	0.0001
Error	54	1931.928605	35.776456		
Total corregido	59	7480.076737			

Anexo 2. Prueba de Dunnett al 95% para porcentaje de mortalidad de broca en la primera actividad.

- Prueba de Dunnett al 95% para porcentaje de mortalidad de broca a los 15 días.

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***.

TTO Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits		
1 - 6	30.789	19.336	42.243	***
2 - 6	23.283	11.829	34.736	***
5 - 6	18.889	7.436	30.342	***
3 - 6	3.272	0	14.725	
4 - 6	2.054	0	13.507	

- Prueba de Dunnett al 95% para porcentaje de mortalidad de broca a los 30 días.

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***.

TTO Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits		
2 - 6	26.115	19.185	33.045	***
1 - 6	17.040	10.110	23.969	***
5 - 6	12.014	5.084	18.943	***
4 - 6	1.722	0	8.652	
3 - 6	1.429	0	8.359	

Anexo 3. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido en la primera actividad.

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	765.250808	382.625404	1.89	0.1707
Error	27	5469.743372	202.583088		
Total corregido	29	6234.994180			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	1035.627062	517.813531	7.38	0.0028
Error	27	1893.260846	70.120772		
Total corregido	29	2928.887908			

Anexo 4. Prueba Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad de broca corregido en la primera actividad.

- Prueba Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad de broca corregido a los 30 días.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	26.294	10	2
B A	17.157	10	1
B	12.096	10	5

Anexo 5. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por hongo, nematodo y otra causa a los 15 días.

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por hongo a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	4	1708.573679	427.143420	5.82	0.0007
Error	45	3302.296286	73.384362		
Total corregido	49	5010.869965			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por nematodo a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	619.657194	309.828597	4.46	0.0212
Error	27	1875.697625	69.470282		
Total corregido	29	2495.354818			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por otra causa a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	4	131.854146	32.963536	0.97	0.4320
Error	45	1525.450345	33.898897		
Total corregido	49	1657.304491			

Anexo 6. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por hongo, nematodo y otra causa a los 30 días.

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por hongo a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	4	710.7136124	177.6784031	29.56	0.0001
Error	45	270.5002088	6.0111158		
Total corregido	49	981.2138212			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por nematodo a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	4	2804.880082	701.220020	16.42	0.0001
Error	45	1921.596541	42.702145		
Total corregido	49	4726.476623			

Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad por otra causa a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	4	21.4289773	5.3572443	1.37	0.2586
Error	45	175.6848260	3.9041072		
Total corregido	49	197.1138032			

Anexo 7. Prueba Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad por hongo, nematodo y otra causa a los 15 días.

- Prueba de Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad por hongo a los 15 días.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	16.925	10	2
B A	10.646	10	1
B	5.614	10	4
B	3.986	10	3

- Prueba de Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad por nematodo a los 15 días.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	21.298	10	1
B A	17.235	10	5
B	10.290	10	2

Anexo 8. Prueba Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad por hongo, nematodo y otra causa a los 30 días.

- Prueba de Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad por hongo a los 30 días.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	10.802	10	2
B	3.167	10	1
B	1.190	10	3
B	1.074	10	5
B	0.962	10	4

- Prueba de Tukey al 95% para porcentaje de mortalidad por nematodo a los 30 días.

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	18.548	10	2
B A	14.622	10	1
B	9.479	10	5
C	0.202	10	4

Anexo 9. Análisis de varianza para número de nematodos, por fruto en la primera actividad.

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	1212.44534	606.22267	0.69	0.5122
Error	27	23867.17878	883.96958		
Total corregido	29	25079.62412			

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	1039.6987	519.8493	0.11	0.8943
Error	27	125123.6000	4634.2074		
Total corregido	29	126163.2987			

Anexo 10. Análisis de varianza para tasa diaria de emergencia de broca.

Fuente	F	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	5	0.51273198	0.10254640	2.22	0.0651
Error	54	2.49013680	0.04611364		
Total corregido	59	3.00286878			

Anexo 11. Análisis de varianza para tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	5	0.17999644	0.03599929	2.57	0.0373
Error	54	0.75772098	0.01403187		
Total corregido	59	0.93771742			

Anexo12. Prueba Duncan al 95% para tasa diaria de mortalidad de brocas emergidas.

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	TTO
A	0.22143	10	1
B A	0.18107	10	2
B A C	0.14893	10	5
B A C	0.11518	10	4
B C	0.10107	10	3
C	0.05321	10	6

Anexo13. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca en la segunda actividad (primera replica).

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	1431.152115	715.576058	7.24	0.0020
Error	42	4152.800736	98.876208		
Total corregido	44	5583.952852			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	4242.24843	2121.12422	11.15	0.0001
Error	42	7990.10367	190.24056		
Total corregido	44	12232.35210			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca a los 45 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	9921.94595	4960.97297	6.87	0.0026
Error	42	30328.63973	722.11047		
Total corregido	44	40250.58568			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca a los 60 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	2827.19887	1413.59944	2.53	0.0922
Total corregido	40	22331.09688	558.27742		
Error	42	25158.29576			

Anexo 14. Prueba Dunnett al 95%, para porcentaje de mortalidad de broca en la segunda actividad (primera replica).

- Prueba de Dunnett al 95% para porcentaje de mortalidad de broca a los 15 días

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***.

TTO Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits	
2 - 1	13.684	5.374	21.995 ***
3 - 1	5.208	0	13.519

- Prueba de Dunnett al 95% para porcentaje de mortalidad de broca a los 30 días

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***.

TTO Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits	
2 - 1	23.662	12.134	35.189 ***
3 - 1	13.910	2.382	25.437 ***

- Prueba de Dunnett al 95% para porcentaje de mortalidad de broca a los 45 días

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***.

TTO Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits	
3 - 1	34.452	11.994	56.911 ***
2 - 1	27.324	4.866	49.782 ***

Anexo15. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido en la segunda actividad (primera replica).

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	565.767098	565.767098	3.86	0.0593
Error	28	4099.675940	146.416998		
Total corregido	29	4665.443038			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	787.466439	787.466439	2.75	0.1084
Error	28	8017.750707	286.348240		
Total corregido	29	8805.217146			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido a los 45 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	410.36478	410.36478	0.36	0.5539
Error	28	32014.52745	1143.37598		
Total corregido	29	32424.89222			

Anexo 16. Análisis de varianza para número de nematodos por fruto en la segunda actividad (primera replica).

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 15 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	32.033333	32.033333	0.22	0.6460
Error	28	4159.925333	148.568762		
Total corregido	29	4191.958667			

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 30 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	218.70000	218.70000	0.18	0.6772
Error	28	34598.88000	1235.67429		
Total corregido	29	34817.58000			

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 45 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	350.892000	350.892000	1.59	0.2171
Error	28	6162.160000	220.077143		
Total corregido	29	6513.052000			

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 60 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	205.932000	205.932000	2.40	0.1330
Error	28	2407.546667	85.983810		
Total corregido	29	2613.478667			

Anexo17. Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).

- Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 15 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	317.033448	158.516724	2.60	0.0864
Error	42	2563.547801	61.036852		
Total corregido	44	2880.581249			

- Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 30 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	75.346101	37.673051	1.00	0.3751
Error	42	1576.113152	37.526504		
Total corregido	44	1651.459253			

- Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 45 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	646.584839	323.292420	4.02	0.0253
Error	42	3379.507385	80.464462		
Total corregido	44	4026.092225			

- Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 60 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	384.417529	192.208765	3.73	0.0324
Error	42	2166.077249	51.573268		
Total corregido	44	2550.494778			

Anexo 18. Prueba Tukey al 95%, para porcentaje de infestación en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).

- Prueba Tukey para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 45 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	13.875	15	1
B A	7.884	15	3
B	4.737	15	2

- Prueba Tukey para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 60 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	11.203	15	1
B A	6.113	15	2
B	4.298	15	3

Anexo 19. Análisis de varianza para número de brocas vivas o muertas por hongo, nematodos y otra causa en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).

- Análisis de varianza para número de brocas vivas en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	28.31111111	14.15555556	4,49	0.0134
Error	42	124.1333333	0.38412698		
Total corregido	44	152.4444444			

Anexo 20. Prueba Tukey al 95%, para número de brocas vivas o muertas por hongo, nematodos y otra causa en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).

- Prueba Tukey al 5% para número de brocas vivas en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 15 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	3.1333	15	1
B A	2.0000	15	3
B	1.2000	15	2

- Prueba Tukey al 5% para número de brocas muertas por hongo en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 15 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	0.5333	15	3
B A	0.2667	15	2
B	0.0000	15	1

- Prueba Tukey al 5% para número de brocas vivas en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 60 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	2.2667	15	1
B	0.9333	15	3
B	0.8667	15	2

Anexo 21. Análisis de varianza para número de brocas según su posición en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).

- Análisis de varianza para número de brocas en posición D en la variable posición en frutos del árbol a los 45 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	5.511111111	2.75555556	7.17	0.0021
Error	42	16.13333333	0.38412698		
Total corregido	44	21.64444444			

- Análisis de varianza para número de brocas en posición D en la variable posición en frutos del árbol a los 60 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	11.91111111	5.95555556	8.57	0.0008
Error	42	29.20000000	0.69523810		
Total corregido	44	41.11111111			

Anexo 22. Pruebas Tukey al 95%, para número de brocas según su posición en frutos del árbol en la segunda actividad (primera replica).

- Prueba Tukey al 5% para número de brocas en posición D en la variable posición en frutos del árbol a los 45 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	0.8000	15	1
B	0.1333	15	3
B	0.0000	15	2

- Prueba Tukey al 5% para número de brocas en posición D en la variable posición en frutos del árbol a los 60 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	1.2667	15	1
B	0.3333	15	2
B	0.0667	15	3

Anexo 23. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca en la segunda actividad (segunda replica).

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	10925.94140	5462.97070	19.49	0.0001
Error	42	11770.85709	280.25850		
Total corregido	44	22696.79849			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	19842.91249	9921.45624	6.52	0.0040
Error	34	51741.68408	1521.81424		
Total corregido	36	71584.59657			

Anexo 24. Prueba Dunnett al 95%, para porcentaje de mortalidad de broca en la segunda actividad (segunda replica).

- Prueba de Dunnett al 95% para porcentaje de mortalidad de broca a los 15 días

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***.

TTO Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits
2 - 1	34.864	20.873 48.856 ***
3 - 1	30.884	16.893 44.875 ***

- Prueba de Dunnett al 95% para porcentaje de mortalidad de broca a los 30 días

Comparisons significant at the 0.05 level are indicated by ***.

TTO Comparison	Difference Between Means	Simultaneous 95% Confidence Limits
3 - 1	50.11	14.72 85.51 ***
2 - 1	48.61	11.05 86.17 ***

Anexo 25. Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad de broca corregido en la segunda actividad (segunda replica).

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad corregido a los 15 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	132.46454	132.46454	0.31	0.5823
Error	28	11975.47824	427.69565		
Total corregido	29	12107.94278			

- Análisis de varianza para porcentaje de mortalidad corregido a los 30 días.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	14.44364	14.44364	0.01	0.9378
Error	23	53415.51117	2322.41353		
Total corregido	24	53429.95481			

Anexo 26. Análisis de varianza para número de nematodos por fruto en la segunda actividad (segunda replica).

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 15 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	41.772000	41.772000	1.18	0.2861
Error	28	988.906667	35.318095		
Total corregido	29	1030.678667			

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 30 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	109.061333	109.061333	0.60	0.4458
Error	28	5104.997333	182.321333		
Total corregido	29	5214.058667			

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 45 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	5.46133	5.46133	0.01	0.9168
Error	28	13776.69333	492.02476		
Total corregido	29	13782.15467			

- Análisis de varianza para número de nematodos por fruto a los 60 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	1	129.792000	129.792000	0.74	0.3979
Error	28	4930.474667	176.088381		
Total corregido	29	5060.266667			

Anexo 27. Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).

- Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 15 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	183.583270	91.791635	1.20	0.3121
Error	42	3220.036007	76.667524		
Total corregido	44	3403.619276			

- Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 30 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	1.1256577	0.5628288	0.03	0.9693
Error	42	758.7294607	18.0649872		
Total corregido	44	759.8551184			

- Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 45 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	225.2923043	112.6461522	9.89	0.0003
Error	42	478.5842428	11.3948629		
Total corregido	44	703.8765471			

- Análisis de varianza para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 60 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	115.8964563	57.9482282	8.02	0.0011
Error	42	303.4990860	7.2261687		
Total corregido	44	419.3955423			

Anexo 28. Prueba Tukey al 95%, para porcentaje de infestación en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).

- Prueba Tukey para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 45 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	7.496	15	1
B	4.364	15	2
B	2.035	15	3

- Prueba Tukey para porcentaje de infestación en frutos del árbol a los 60 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	5.9158	15	1
B	2.7795	15	2
B	2.2953	15	3

Anexo 29. Análisis de varianza para número de brocas vivas o muertas por hongo, nematodos y otra causa en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).

- Análisis de varianza para número de brocas vivas en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 30 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	6.53333333	3.26666667	3.78	0.0309
Error	42	36.26666667	0.86349206		
Total corregido	44	42.80000000			

- Análisis de varianza para número de brocas vivas en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 45 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	21.37777778	10.68888889	13.80	0.0001
Error	42	32.53333333	0.77460317		
Total corregido	44	53.91111111			

- Análisis de varianza para número de brocas vivas en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 60 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	15.51111111	7.75555556	13.50	0.0001
Error	42	24.13333333	0.57460317		
Total corregido	44	39.64444444			

Anexo 30. Pruebas Tukey al 95%, para número de brocas vivas o muertas por hongo, nematodos y otra causa en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).

- Prueba Tukey al 95% para número de brocas vivas en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 30 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	1.1333	15	1
B A	0.4000	15	2
B	0.2667	15	3

- Prueba Tukey al 95% para número de brocas vivas en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 45 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	2.0667	15	1
B	1.0000	15	2
B	0.4000	15	3

- Prueba Tukey al 95% para número de brocas vivas en la variable mortalidad de brocas en frutos del árbol a los 60 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	1.7333	15	1
B	0.6000	15	2
B	0.4000	15	3

Anexo 31. Análisis de varianza para número de brocas según su posición en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).

- Análisis de varianza para número de brocas en posición A en la variable posición en frutos del árbol a los 15 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	1.63431373	0.81715686	3.91	0.0307
Error	31	6.48333333	0.20913978		
Total corregido	33	8.11764706			

- Análisis de varianza para número de brocas en posición D en la variable posición en frutos del árbol a los 30 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	4.84444444	2.42222222	3.95	0.0267
Error	42	25.73333333	0.61269841		
Total corregido	44	30.57777778			

- Análisis de varianza para número de brocas en posición D en la variable posición en frutos del árbol a los 45 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	1.64444444	0.82222222	3.24	0.0492
Error	42	10.66666667	0.25396825		
Total corregido	44	12.31111111			

- Análisis de varianza para número de brocas en posición C, en la variable posición en frutos del árbol a los 60 días

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Pr > F
Model	2	1.91111111	0.95555556	3.86	0.0289
Error	42	10.40000000	0.24761905		
Total corregido	44	12.31111111			

Anexo 32. Pruebas Tukey al 95%, para número de brocas según su posición en frutos del árbol en la segunda actividad (segunda replica).

- Prueba Tukey al 5% para número de brocas en posición A en la variable posición en frutos del árbol a los 15 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	0.4666	15	2
B A	0.2500	15	1
B	0.0000	15	3

- Prueba Tukey al 5% para número de brocas en posición D en la variable posición en frutos del árbol a los 30 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	0.8000	15	1
B A	0.3333	15	2
B	0.0000	15	3

- Prueba Tukey al 5% para número de brocas en posición D en la variable posición en frutos del árbol a los 40 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	0.6000	15	1
B A	0.3333	15	2
B	0.1333	15	3

- Prueba Tukey al 5% para número de brocas en posición C en la variable posición en frutos del árbol a los 60 días

Means with the same letter are not significantly different.

Tukey Grouping	Mean	N	TTO
A	0.5333	15	1
B A	0.1333	15	2
B	0.0667	15	3