

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**  
**FACULTAD DE AGRONOMIA**  
**Departamento de Protección Agrícola y Forestal**

**TRABAJO DE TESIS**

TEMA

Evaluación de la incidencia natural de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill sobre *Hypothenemus hampei* (Ferrari) y *Leucoptera coffeella* (Guerin-Meneville) en el cultivo de café en dos zonas cafetaleras de Nicaragua.

**AUTORES: Br. Lidia Marina Tórrez Avilez**

**Br. Johana María Castillo**

ASESOR: Ing. M. Sc. Arnulfo Monzón C.

Agosto, 2005

MANAGUA, NICARAGUA

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo final a Dios por ser mi guía espiritual y dador de vida.

A mis padres: E. Enrique Tórrrez M. y Comberción Avilez G, por realizar mis sueños.

A mis hermanos servidores de ejemplo; Zenayda, Miryam, Andrés y Cristóbal

Al seguidor de mis sueños y anhelo Esaú Y. Ortiz Dávila por su apoyo incondicional.

A mi pequeña Maykelly Dayana la alegría de nuestra familia y a mi cuñado José R. Ocón.

A todas las personas que me motivaron a continuar. Amigos, familiares y profesores.

Lidia M. Tórrrez A.

## DEDICATORIA

Dedico este gran esfuerzo a mi guiador Dios, por darme confianza, sabiduría y paciencia para poder culminar mi carrera.

A mis padres: Catalina Castillo, Emilio Monzón (Q.E.P.D.), Magdalena Lanuza y Próspero Castillo, por brindarme su apoyo, cariño, comprensión, dedicación y amor, que me enseñaron a ser mejor cada día.

A mis abuelitos: Próspero Castillo, Tomasa Centeno y Reyes Monzón a quienes admiro mucho.

A mis Hermanos (as) que son un gran motivo para seguir.

A una persona muy especial, por brindarme su apoyo y amor. Dimas Gutiérrez.

A mis sobrinos que son la luz de mi motivación.

A mis amigos y compañeros de la universidad, por su amistad, sinceridad y por todos esos buenos momentos que pasamos juntos.

Johana M. Castillo

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios nuestro padre, por habernos dado la oportunidad de triunfar y superar todas las dificultades que se presentaron durante el estudio.

Al Ing. M.Sc. Arnulfo J. Monzón C. Por el apoyo incondicional, empeño y dedicación que nos brindó en la realización de este trabajo.

A los agricultores dueños de las fincas; Por habernos permitido realizar nuestro trabajo en estas: Alberto Mercado Velásquez, Héctor Guerrero, Eduardo Campo, Victoriano Aráuz (Q.E.P.D.), Agustín Aráuz y Boanerge Herrera.

A todo el personal del DPAF, especialmente a la Ing. M.Sc. Isabel Herrera, Ing. M.Sc. Gregorio Varela, Lic. M.Sc. Alba De La Llana por su apoyo y la cuidadosa revisión de esta tesis.

Al personal del laboratorio de hongos entomopatógenos: Ing. Víctor Monzón, Dilcia Ponce, Enrique Jirón, por su apoyo y disponibilidad.

A todos nuestros compañeros, por su apoyo incondicional, amistad y cariño.

## INDICE GENERAL

|  |      |
|--|------|
| DEDICATORIA .....  | I    |
| AGRADECIMIENTO .....   | III  |
| INDICE DE FIGURAS .....  | VII  |
| INDICE DE ANEXOS .....   | VII  |
| RESUMEN.....   | VIII |
| I.- INTRODUCCIÓN .....   | 1    |
| II.- OBJETIVOS.....  | 4    |
| 2.1.- Objetivo general .....   | 4    |
| 2.2.- Objetivos específicos.....   | 4    |
| III.- REVISIÓN DE LITERATURA .....   | 5    |
| 3.1.- <i>Hypothenemus hampei</i> .....                                     | 5    |
| 3.1.1. Importancia.....  | 5    |
| 3.1.2. Ciclo de vida .....   | 5    |
| 3.1.3. Manejo de <i>H. hampei</i> .....                                    | 6    |
| 3.1.4. Control Biológico de <i>H. hampei</i> .....                         | 8    |
| 3.2.- <i>Leucoptera coffeella</i> .....                                    | 11   |
| 3.2.1. Importancia.....  | 11   |
| 3.2.2. Ciclo de vida .....   | 12   |
| 3.2.3. Manejo de <i>L. coffeella</i> .....                                 | 12   |
| 3.2.4. Control biológico de <i>L. coffeella</i> .....                      | 14   |
| IV.- METODOLOGÍA.....  | 16   |
| 4.1.- Localización del estudio .....                                       | 16   |
| 4.2.- Incidencia de <i>H. hampei</i> .....                                 | 16   |
| 4.3. Incidencia natural de <i>B. bassiana</i> sobre <i>H. hampei</i> ..... | 17   |
| 4.3.1. Método de cámara húmeda en vasos con agar-agua.....                 | 17   |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.3.2. Método de cámara húmeda en bolsas plásticas .....                       | 18        |
| 4.3.3. Método de cámara húmeda en vasos con papel filtro .....                 | 19        |
| 4.4.- Incidencia de <i>L. coffeella</i> .....                                  | 19        |
| 4.5.- Incidencia natural de <i>B. bassiana</i> sobre <i>L. coffeella</i> ..... | 20        |
| 4.5.1. Método de cámara húmeda en vasos con agar-agua.....                     | 20        |
| 4.5.2. Método de cámara húmeda en bolsas plásticas .....                       | 21        |
| 4.6.- Procesamiento de datos.....  | 21        |
| 4.6.1. Porcentaje de frutos brocados.....                                      | 22        |
| 4.6.2. Porcentaje de hojas minadas.....  | 22        |
| 4.6.3. Incidencia de <i>B. bassiana</i> .....                                  | 22        |
| 4.7. Análisis de datos.....  | 23        |
| <b>V.- RESULTADOS Y DISCUSION .....</b>  | <b>24</b> |
| 5.1.- Incidencia de <i>H. hampei</i> .....                                     | 24        |
| 5.2.- Incidencia natural de <i>B. bassiana</i> sobre <i>H. hampei</i> .....    | 26        |
| 5.2.1. Finca Verania.....  | 26        |
| 5.2.2. Finca La Flor.....  | 27        |
| 5.2.3. Finca Quitasueño.....   | 28        |
| 5.3. Incidencia de <i>L. coffeella</i> .....                                   | 29        |
| 5.4.- Incidencia natural de <i>B. bassiana</i> sobre <i>L. coffeella</i> ..... | 31        |
| 5.4.1. Finca San Luis.....   | 33        |
| 5.4.2. Finca Santa Mónica .....  | 35        |
| 5.4.3. Finca Héroes y Mártires.....  | 35        |
| 5.5.- Discusión general.....   | 36        |
| <b>VI.- CONCLUSIONES.....</b>  | <b>40</b> |
| <b>VII. RECOMENDACIONES .....</b>  | <b>41</b> |
| <b>VIII.- BIBLIOGRAFIA .....</b>   | <b>42</b> |
| <b>X.- ANEXOS .....</b>  | <b>48</b> |

## INDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Incidencia de <i>H. hampei</i> en tres fincas cafetaleras de la zona de El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio-<br>Noviembre 2004.....                                    | 25 |
| <b>Figura 2:</b> Incidencia de <i>H. hampei</i> y de <i>B. bassiana</i> sobre <i>H. hampei</i> en la<br>finca<br>Verania. El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período<br>Julio- Noviembre 2004.....   | 27 |
| <b>Figura 3.</b> Incidencia de <i>H. hampei</i> y de <i>B. bassiana</i> sobre <i>H. hampei</i> en la<br>finca<br>La Flor. El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período<br>Julio- Noviembre 2004. ....  | 28 |
| <b>Figura 4.</b> Incidencia de <i>H. hampei</i> y de <i>B. bassiana</i> sobre <i>H.hampei</i> en la<br>finca<br>Quitásueño. El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el<br>período Julio- Noviembre 2004..... | 29 |
| <b>Figura 5.</b> Incidencia de <i>L. coffeella</i> en tres fincas cafetaleras de la zona de<br>Niquinohomo y Masatepe, Masaya durante el período Marzo-Junio<br>2004.....   | 30 |
| <b>Figura 6.</b> Incidencia de <i>L. coffeella</i> y de <i>B. bassiana</i> sobre minador en la<br>finca<br>San Luis. Masatepe, Masaya, durante el período Marzo-Junio 2004....  | 33 |
| <b>Figura 7.</b> Incidencia de <i>L. coffeella</i> y de <i>B. bassiana</i> sobre minador en la<br>finca<br>Santa Mónica. Niquinohomo, Masaya, durante el período Marzo-<br>Junio 2004.....                            | 35 |
| <b>Figura 8.</b> Incidencia de <i>L. coffeella</i> y de <i>B. bassiana</i> sobre minador en la<br>finca Héroes y Mártires. Niquinohomo, Masaya, durante el período<br>Marzo-Junio 2004.....                           | 36 |

## INDICE DE ANEXOS

|   |    |
|---|----|
| Anexo 1. Análisis de Varianza de la incidencia de <i>H. hampei</i> en tres fincas cafetaleras de la zona de El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio- Noviembre 2004. ....       | 48 |
| Anexo 2. Análisis de varianza de la incidencia de <i>B. bassiana</i> sobre <i>H. hampei</i> en la finca Verania. El Coyolar, Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio - Noviembre 2004. ....    | 48 |
| Anexo 3. Análisis de varianza de la incidencia de <i>B. bassiana</i> sobre <i>H. hampei</i> en la finca La Flor. El Coyolar, Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio - Noviembre 2004. ....    | 48 |
| Anexo 4. Análisis de varianza de la incidencia de <i>B. bassiana</i> sobre <i>H. hampei</i> en la finca Quitasueño . El Coyolar, Tuma-La Dalia Matagalpa, durante el período Julio - Noviembre 2004. .... | 49 |
| Anexo 5. Análisis de varianza de la incidencia de <i>L. coffeella</i> en tres fincas cafetaleras de la zona de El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio- Noviembre 2004. ....    | 49 |
| Anexo 6. Datos climáticos de Humedad Relativa y Temperatura registrados en la zona de Masatepe, Masaya, durante el primer semestre 2004. (Fuente: INETER).....  | 50 |
| Anexo 7. Datos de precipitación registrados en la zona de Masatepe, Masaya, durante el primer semestre 2004. (Fuente: INETER). ....   | 51 |



## RESUMEN

El presente estudio se realizó en la zona cafetalera del Norte y Pacífico de Nicaragua, en el período comprendido de Marzo a Noviembre del 2004. La incidencia natural del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre *Hypothenemus hampei* fue evaluada en tres fincas localizadas en el Coyolar, El Tuma, Matagalpa y la incidencia natural sobre *Leucoptera coffeella* fue evaluada en tres fincas ubicadas en Masatepe y Niquinohomo, Masaya. Los objetivos del presente estudio fueron: a) Evaluar la incidencia natural del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* sobre *H. hampei* y sobre *L. coffeella* en las zonas cafetaleras de El Tuma, Matagalpa y Masatepe y Niquinohomo, Masaya; b) Evaluar diferentes métodos de cámara húmeda para el estudio de la incidencia natural de *B. bassiana* sobre *H. hampei* y *L. coffeella*; c) Evaluar la fluctuación poblacional de *H. hampei* y *L. coffeella* en plantaciones de café sin aplicaciones de productos químicos ni biológicos. Para evaluar la incidencia de *H. hampei* y *L. coffeella* se realizaron muestreos quincenales en las fincas en estudio. Para estudiar la incidencia natural de *B. bassiana* se obtuvieron muestras de frutos brocados y hojas minadas, las que fueron procesadas en el laboratorio de la UNA. Para las muestras de broca se usaron tres métodos: Cámara húmeda en vasos con agar-agua, cámara húmeda en vasos con papel filtro y cámara húmeda en bolsas plásticas, para minador se usaron dos métodos: Cámara húmeda en vasos con agar-agua y cámara húmeda en bolsas plásticas. Las muestras eran revisadas cada dos días para observar la incidencia del hongo entomopatógeno. Los resultados indican que La mayor incidencia de *B. bassiana* sobre *H. hampei* se presentó en las muestras obtenidas en la finca Quitasueño, con 60% de incidencia, mediante el método de cámara húmeda en bolsas plásticas y el mayor nivel de incidencia de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* se presentó en las muestras obtenidas en la finca Héroe y Mártires, con 25% de incidencia, mediante el método de cámara húmeda de vasos con agar-agua. Durante todo el estudio, *H. hampei* presentó niveles de incidencia que oscilaron entre 4 y 16%, en las fincas

muestreadas, niveles que son superiores al nivel crítico establecido de 2% para esta plaga. La incidencia de *L. coffeella* fue relativamente baja en dos de las fincas muestreadas, solamente la finca San Luis presentó un porcentaje alto alcanzando 26% en una de las fechas de muestreo.

## I.- INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica* L.) es originario de las tierras altas de más de 1000 m.s.n.m. de Etiopía y Sudán, África (UNICAFE 1996); es uno de los cultivos de exportación mas importante en muchos países de América (Bustillo *et al.* 1994).

En Nicaragua, el cultivo de café ha constituido por muchos años la actividad de mayor importancia económica para el país, principalmente por la generación de divisas a través de sus exportaciones, las que generan casi el 25% del valor total de las mismas y a la vez por la generación de empleos temporales y permanentes principalmente en el área rural. Estudios recientes indican que la actividad cafetalera en el país, genera más de 200,000 empleos temporales y 45,000 empleos permanentes, lo que representa el 31.5 por ciento de la fuerza laboral agrícola y el 11 por ciento de la nacional (IICA 2003).

Para el ciclo 2003, el área de producción en Nicaragua fue de 165,220 manzanas, las que generaron una producción total de 1,325,168 quintales-oro con un rendimiento promedio de 8.02 quintales-oro /mz. Del total de esta producción se exportaron 1, 060,134 quintales-oro lo que generó un total de USD \$ 69.9 millones de dólares (MAGFOR 2004). Según Mejía (1987) el café constituye el principal de los productos exportables y es el más alto generador de divisas y fuentes de trabajo en el campo.

En Nicaragua el café se cultiva en la zona Norte, Central y Pacífico, las zonas más importantes para la producción están localizadas en Matagalpa, Jinotega las cuales concentran el 57% del área y el 78% de la producción de café a nivel nacional (IICA 2001).

Las plagas, enfermedades y malezas constituyen factores de mucha importancia que limitan los rendimientos del cultivo (Soto-Pinto *et al.* 2001). El cafeto es atacado por varias plagas entre las que sobresalen por su importancia económica la broca *H. hampei* (Ferrari)

(Coleoptera:Scolytidae), el minador de la hoja *L. coffeella* (Guerin-Meneville) (Lepidoptera:Lyonetidae) y la cochinilla harinosa del café, *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae)(De La Llana 2000) y nemátodos *Meloidogyne sp* y *Pratylenchus*. La de mayor importancia es la broca que afecta directamente al fruto, con la consecuente reducción en la producción de granos maduros (Guharay et al. 2000). En Nicaragua, *H. hampei*, que afecta directamente los frutos es considerada la plaga más importante de la época lluviosa. Durante la época seca *L. coffeella* y *P. citri* son consideradas las plagas más importantes, principalmente en las zonas bajas del país.

Desde la aparición de estas plagas se han iniciado una serie de trabajos encaminados a generar estrategias que permitan su manejo, desde el uso de plaguicidas altamente tóxicos, hasta exitosos programas de manejo integrado de plagas (Carballo et al. 2004).

Las investigaciones y avances de la tecnología han venido buscando formas de controlar a las plagas con organismos vivos, como los agentes microbiales, dentro de estos se destacan los hongos entomopatógenos (Alves 1986).

Los hongos entomopatógenos son importantes factores de control natural de plagas sin embargo su potencial no ha sido estudiado en toda su magnitud (Hajek 1994). En el sistema café el manejo de sombra y las prácticas de control de plagas están relacionados directamente con la ocurrencia de artrópodos y microorganismos en general, debido a que tales prácticas alteran las condiciones ambientales en el sistema. Particularmente el nivel de plaguicidas y fertilizantes usados en el sistema pueden afectar la ocurrencia de enemigos naturales, incluyendo hongos entomopatógenos (Ling y Donaldson 1980; Chandler et al. 1998; Mietkiewski et al. 1997).

El hongo entomopatógeno *B. bassiana* tiene un amplio rango de hospederos, así como una amplia distribución geográfica; su

patogenicidad ha sido probada contra más insectos plagas que cualquier otra especie de hongo. Aunque su uso como bioplaguicida es bajo, comparado con el de *Bacillus thuringiensis*, ha sido considerado como un candidato muy importante para usarse en el control microbiano de plagas, su uso ha sido muy importante en China y Europa (Carballo *et al.* 2004). En varios países de Centroamérica es usado como agente de control de la broca del café *H. hampei* (Ferrari) (Guharay y Monterrey 1997). Este hongo también ha sido reportado infectando al minador de la hoja del cafeto *L. coffeella* (Guerrin-Meneville) (Cárdenas 1993; Simonsen 2000).

A pesar de la importancia de *B. bassiana*, pocos estudios se han enfocado sobre el nivel de infección natural de este hongo así como el efecto que tiene el manejo del cultivo y de plagas sobre la incidencia de *B. bassiana* (Bals) Vuill y otros hongos entomopatógenos sobre plagas claves del cultivo. Por tanto se hizo necesario este estudio para generar información sobre la incidencia natural de este hongo sobre broca y minador que sirva como base para fortalecer nuestros conocimientos y generar información que pueda ser considerada para el diseño de estrategias de manejo.

## **II.- OBJETIVOS**

### **2.1.- Objetivo general**

Generar información sobre la incidencia natural de *B. bassiana* y su impacto sobre plagas claves del cultivo del café en Nicaragua, que sirva como base para la definición de estrategias de manejo.

### **2.2.- Objetivos específicos**

Evaluar la incidencia natural de *B. bassiana* sobre *H. hampei* y *L. coffeella* en la zona cafetalera de El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa y en Masatepe y Niquinohomo, Masaya.

Evaluar diferentes métodos de cámara húmeda para el estudio de la incidencia natural de *B. bassiana* sobre *H. hampei* y *L. coffeella*.

Evaluar la fluctuación poblacional de *H. hampei* y *L. coffeella* en plantaciones de café sin aplicaciones de insecticidas químicos ni biológicos.

### III.- REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1.- *Hypothenemus hampei*

##### 3.1.1. Importancia.

*Hypothenemus hampei* es la plaga más importante para la producción de café en el mundo según los datos reportados sobre los niveles de infestación y pérdidas del rendimiento causado por este insecto (CIRAD, CCCR, IICA, PROMECAFE 1999). Esta plaga tiene su origen en África de donde fue introducida a América. *H. hampei* fue detectada primero en Brasil en 1913; luego fue descubierta en Guatemala en 1971, Honduras en 1997, El Salvador en 1981, Nicaragua y Colombia en 1988, República Dominicana en 1995 (Guharay y Monterrey 1997), y en Costa Rica en el 2000 (MAG, 2000). El único país en América donde la plaga no ha sido reportada todavía es en Panamá (Villacorta 2001).

En Nicaragua *H. hampei* fue detectada por primera vez en 1988 en el norte del país y en 1990 fue detectada en la zona del pacífico. Desde su aparición *H. hampei* se convirtió en una de las plagas más importantes del café principalmente en el norte del país (Barrios 1992).

##### 3.1.2. Ciclo de vida

*H. hampei* pertenece al Orden Coleoptera, Familia Scolytidae, las hembras miden 1.8 mm de largo y 0.8mm de ancho; los machos miden 1.2mm de largo y 0.6 mm de ancho. El desarrollo del ciclo desde la oviposición hasta la emergencia del adulto toma de 25 a 30 días. Después de la emergencia, los adultos son color café y luego se vuelven más oscuros, hasta volverse negros cuando están completamente desarrollados. El daño a los frutos es causado por los adultos y larvas, principalmente por las hembras, las que después de emerger, vuelan y caminan buscando los frutos adecuados para la oviposición (Guharay y Monterrey 1997). El mayor daño causado por *H. hampei* ocurre entre los 90 a 120 días después de la

floración (Guharay 2000), o cuando el fruto tiene más del 20% del peso seco, debido a que es un substrato adecuado para la oviposición y la alimentación de los adultos y el desarrollo de los estados inmaduros. La hembra perfora los frutos, haciendo galerías para depositar sus huevos dentro de los frutos. Luego las larvas se alimentan de los frutos, de 10 a 26 días (Wringly 1988), llegando a destruir completamente el fruto, causando pérdida total en el grano (Guharay y Monterrey 1997; Damon 2000), caída prematura de los frutos (Damon 2000) mayormente si el ataque ocurre tempranamente (Guharay y Monterrey 1997). Otro daño conocido por *H. Hampei* es la alteración en la calidad de la tasa (Damon 2000) reduciendo el valor comercial del producto (Guharay y Monterrey 1997).

La dispersión de *H. hampei* ocurre cuando las hembras adultas dejan los frutos donde han nacido. Estas hembras colonizadoras pueden volar y caminar hacia nuevos frutos donde hacen agujeros o galerías para ovipositar. La descendencia de una hembra colonizadora está conformada predominantemente por hembras, las que se desarrollan y aparean dentro del mismo fruto. Al ocurrir el apareamiento, algunas de las hembras fecundadas ovipositan en el fruto original mientras las otras se van a buscar nuevos frutos, volviéndose colonizadoras. Por lo tanto dentro de un mismo fruto se pueden encontrar huevos, larvas, pupas y adultos, tanto machos como hembras de diferentes estados fisiológicos (Mathieu *et al.* 2001).

Los frutos de café infestados que caen al suelo, son las primeras fuentes de reinfestación en las plantaciones de café, al final del período de la cosecha. Cuando el suelo esta seco *H. hampei* se mantiene en el suelo reproduciéndose en los frutos caídos; bajo condiciones lluviosas ocurre la emergencia masiva de los adultos (Bustillo *et al.* 1999).

### **3.1.3. Manejo de *H. hampei***

Cuando la broca del café apareció por primera vez en América Central, el primer enfoque de manejo fue la erradicación, pero este enfoque falló y



las medidas de protección usadas fueron principalmente los insecticidas químicos. Las principales medidas de manejo se han orientado principalmente a la búsqueda de buenos insecticidas, dosis adecuada y momentos adecuados para la aplicación. Este enfoque ha sido efectivo y fácil de emplear, pero afecta la salud y el ambiente de forma negativa (Decazy 1994). Cuando los productores aplican plaguicidas, las poblaciones de enemigos naturales son afectadas alterándose el balance natural en la plantación.

Tradicionalmente el control de la broca del cafeto se ha hecho mediante prácticas culturales e insecticidas químicos siendo el insecticida mundialmente recomendado el Thiodan (endosulfan). Sin embargo, *H. hampei* es difícil de controlar por aspersion debido a que la mayor parte de su ciclo de vida ocurre dentro del fruto; además el Thiodan es un insecticida persistente, que está incluido en la lista de la nueva docena sucia y se están haciendo acciones en Centro América para evitar su uso (CN-MIP *et al.* 2002); además su uso continuo ha ocasionado el desarrollo de resistencia de la plaga. Estudios en Nueva Caledonia sobre la resistencia de broca a este insecticida indican que el control fracasó debido a la mutación de plaga al insecticida. En cinco de quince regiones, se encontraron insectos resistentes en el campo (Brun 1998). En Nicaragua un estudio realizado en 1997, no se encontró resistencia al endosulfan en seis zonas cafetaleras (Pérez *et al.* 1999).

Para el manejo de la broca, también se han utilizado parasitoides pertenecientes a la familia Bethyridae, *Prorops nasuta* (Waterson) conocida como "avispa de Uganda" y *Cephalonomia stephanoderis* (Betrem). También existen hongos que atacan a *H. hampei* especialmente en épocas lluviosas, siendo el controlador biológico más importante *B. bassiana* (Bals) Vuill (Monzón *et al.* 2004). Otra forma de manejo comúnmente usada en la actualidad para el manejo de broca son prácticas culturales, las que consisten en colectar los frutos maduros de los árboles (graniteo), colecta de todos los frutos que quedan después del

corte (repela) y la colecta de frutos del suelo (pepena); sin embargo este tipo de control es laborioso y costoso (Kimani *et al.* 2002).

El uso de agroquímicos aunque reduce el ataque de los insectos y patógenos, representa un alto riesgo para los trabajadores de campo y los consumidores, además en ciertos casos su uso es inviable; es por eso que el control de las plagas y enfermedades por medio de procesos biológicos, por ejemplo el uso de microorganismos entomopatógenos o aquellos que inhiben o antagonizan a otros microorganismos patógenos a las plantas, es una alternativa que puede contribuir a reducir o eliminar el uso de productos químicos en la agricultura (Azevedo *et al.* 2000).

El control biológico de la broca se va volviendo más importante en el mundo (Brun *et al.* 1989) y constituye una alternativa viable o suplementaria al uso de insecticidas y al control cultural; sin embargo se conocen muy pocos enemigos naturales de esta plaga (Kimani *et al.* 2002).

#### **3.1.4. Control Biológico de *H. hampei***

Siendo una plaga exótica *H. hampei* no tiene muchos enemigos naturales en América, sin embargo en su lugar de origen y en otros países varios enemigos naturales han sido identificados. Algunos de ellos han sido introducidos en América, tales como los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis*, *Prorops nasuta* (Bethyridae) y *Phymasticus coffea* (Braconidae). Además hongos entomopatógenos tales como: *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) son encontrados comúnmente infectando a la broca (Guharay y Monterrey 1997). De acuerdo a Bustillo *et al.* (2002) cinco especies de hongos se reportaron en Colombia afectando adultos de broca y la especie más frecuentemente encontrada ha sido *B. bassiana*.

Existen mas de 700 especies de hongos entomopatógenos y aproximadamente 100 se conocen con cierta profundidad (Carballo *et al* 2004). Entre los Deuteromycetes, los géneros mas importantes que se

encuentran causando enfermedad en los insectos están, *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Alves 1986).

*B. bassiana* ocurre ampliamente a nivel mundial y tiene una de las listas más grandes de hospederos. También ocurre abundantemente en suelos como saprófito. Los principales hospederos son insectos de los órdenes Lepidoptera, Coleoptera e Hymenoptera (Tanada y Kaya 1993). Este hongo es el entomopatógeno más estudiado y el más promisorio, especialmente en Colombia, donde las condiciones húmedas hacen más posible su éxito, que en condiciones más secas, o en ambientes más estacionales (CABI 2003). *B. bassiana* es el más eficiente controlador de plagas (De La Rosa *et al.* 1997).

*B. bassiana* siempre está presente en forma natural, donde se presenta *H. hampei* y puede ser particularmente común en condiciones húmedas y donde las infestaciones de brocas son severas (Baker 1999). En Nicaragua, *B. bassiana* ha sido encontrado como agente de control natural de *H. hampei* en todas las zonas cafetaleras del país, causando epizootias ocasionales (Lacayo 1994). Aunque no existe un estudio sistemático de los niveles de infección (Lacayo 1994) Bustamante (1993) encontró niveles de infección natural de *B. bassiana* sobre *H. hampei*, que oscilaron entre 13 y 18%. En Colombia este hongo ha sido encontrado infectando a la broca en todo el país y después de varios años de su introducción a plantaciones infectadas de broca, *B. bassiana* se ha convertido en el principal factor de mortalidad de broca (Bustillo *et al.* 2002).

De acuerdo a (Guharay y Monterrey 1997) los hongos entomopatógenos como *B. bassiana* están presentes naturalmente en las plantaciones de café atacando insectos como *H. hampei* y ellos han sido aislados, producidos masivamente, formulados y aplicados.

La infección natural de *B. bassiana* sobre broca se reporta en todos los países donde la plaga esta presente, sin embargo el nivel de infección natural no ha sido evaluado (Bustillo *et al.* 1994). De acuerdo a Bustillo *et al.*

(2002), la incidencia de *B. bassiana* sobre *H. hampei* difiere de un país a otro. Estudios sobre la tabla de vida en el campo en Caldas Colombia, donde predomina un clima continuamente húmedo, indican que los niveles naturales de *B. bassiana* causan hasta 80 % de mortalidad de adultos cuando están atacando frutos jóvenes (>90 días de edad), lo que significa que este hongo es el factor de mortalidad biótico mas grande de esta plaga bajo estas condiciones (CABI 2003).

No se conoce mucho sobre el nivel de infección natural de *H. hampei*, aunque hay reportes de infección natural de todos los países donde la broca esta presente (Guharay y Monterrey 1997). Sin embargo la virulencia de varias cepas es investigada en varios países para ser incluido como un componente de programas MIP (De La Rosa *et al.* 1997).

De acuerdo a De La Rosa *et al.* (2000), *B. bassiana* puede ser incorporado como una estrategia integrada de manejo de plagas de manera que niveles moderados de mortalidad causados por el hongo, se complementen con medidas culturales y otros agentes de control biológico como los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*. Dada su ocurrencia natural, en el marco del control biológico *B. bassiana* puede ser utilizado tanto en una estrategia de inundación como en inoculación, donde aplicaciones del hongo aumenten los niveles presentes de forma natural en el campo. Bajo una estrategia de inundación, se sugiere que el mejor momento para la aplicación es entre los 90 y 120 días después de la floración del café, porque es el período donde ocurren los mayores daños por *H. hampei* y es en este período que las hembras están más activas buscando frutos para su oviposición (Guharay *et al* 2000).

## 3.2.- *Leucoptera coffeella*

### 3.2.1. Importancia

*Leucoptera coffeella* es una plaga importante que afecta las hojas del café causando defoliación de la planta. Es la plaga más importante en las zonas cafetaleras bajas, principalmente en la época seca. El daño por *L. coffeella* es ocasionado por las larvas, sobre las hojas en las cuales las hembras ovipositan, desarrollándose larvas que producen lesiones características del minador, por tal razón se considera que el daño reduce el área fotosintética, lo que se vuelve más importante cuando la tasa de crecimiento de los frutos llega a su valor máximo (Villacorta 1980). Densidades promedio de daño inferior a una lesión por hoja no causa daño económico, pero niveles iguales o superiores a dos lesiones por hoja causan un aumento en las pérdidas de hoja principalmente cuando estas están asociadas con épocas de sequía (Villacorta y Sánchez, 1984).

*L. coffeella* está distribuida en América Central, Sur América, Islas del Caribe (Le Pelley 1973) y en Africa (Kimani *et al* 2002); es una plaga prevaeciente en climas cálidos (Wrigley 1988). La población de esta plaga incrementa rápidamente a temperaturas mayores de 22 °C y cuando la humedad relativa está entre 80 y 90%; lugares con alta circulación de aire y mucho sol son favorables a la plaga (Cárdenas 1991). Es la plaga más importante en Brasil (Reis y Souza 1998). En Nicaragua el mayor daño se presenta en la variedad Catrenic (Guharay *et al.* 2000).

Cuando se presentan ataques severos *L. coffeella* causa la mayor pérdida de tejido foliar y drástica caída de hojas, lo que reduce el vigor de la planta y el rendimiento (Kimani *et al.* 2002). Las hojas que quedan en la bandola pueden ser insuficientes para el desarrollo de los frutos, particularmente si ocurre en el período de dos meses antes de la cosecha, cuando los frutos se están expandiendo rápidamente y requieren los máximos productos fotosintéticos (Wrigley 1988). El minador afecta a la planta y los rendimientos cuando se presenta entre 20 y 30% de hojas minadas (Guharay *et al.* 2000). De Abril a Mayo el daño del minador es

más importante por que causa la caída de hojas jóvenes, lo que afecta la producción de frutos por que estas hojas soportan dicha producción (Siman 1995). Debido a la fisiología de la planta el daño del minador es más importante en condiciones soleadas por que la defoliación es más severa. Bajo condiciones de sombra el daño es menor por que la defoliación es menos severa.

### **3.2.2. Ciclo de vida**

*L. coffeella* es un parásito obligado del café, es decir que se desarrolla y completa su ciclo en hojas de café. El adulto es una palomilla muy pequeña de color blanco, es más activa durante la noche y en días nublados; la palomilla es muy sensible a la luz y vuela solamente en áreas sombreadas o cuando está nublado (Wrigley 1988). El ciclo de vida de *L. coffeella* puede variar desde 25 a 77 días de huevo a adulto, dependiendo de la temperatura (Le Pelley 1968). Los huevos son puestos en el haz de las hojas (Hill 1975), se vuelven café y emergen aproximadamente 5 días después en condiciones de clima cálido o aproximadamente 21 días en clima frío. El estado larval se completa siempre en la misma hoja y varía de 10 a 42 días dependiendo de la época. Las larvas son blancas y achatadas y miden hasta 5 mm de largo (Kimani *et al.* 2002). La larva perfora la hoja directamente a través de la base del huevo donde mina el tejido de empalizada (parénquima) debajo de la epidermis superior (Wrigley 1988).

Las larvas atacan las plantas de café de la parte media a la parte alta de la canopia, donde minan las hojas y reduce el área fotosintética de las plantas, como resultado de tal daño las hojas minadas caen prematuramente especialmente en épocas secas, conduciendo a una reducción del rendimiento hasta una reducción de la longevidad de la planta (Reis y Souza 1986).

### **3.2.3. Manejo de *L. coffeella***

*L. coffeella* se volvió una plaga muy importante en la zona del pacífico de Nicaragua, cuando ocurrieron cambios agroecológicos en los 80's. *L. coffeella* es una de las plagas más importantes que ataca al café principalmente en zonas bajas (Guerin-Meneville 1842). Esta situación se presenta en Nicaragua donde el café se cultiva en zonas entre 800 y 1200 m.s.n.m. en la zona del pacífico de Nicaragua principalmente en Carazo (De La Llana 2000).

En Brasil, *L. coffeella* se volvió un problema solamente después de la expansión cafetalera y las modificaciones introducidas al sistema tradicional con el plan de renovación y fortalecimiento de las plantaciones cafetaleras impulsadas por el gobierno del 69-70 y del 79-80. Las nuevas plantaciones con prácticas de manejo modificadas tales como; alto uso de fungicidas para el control de roya parecen haber favorecido a *L. coffeella* (Reis y Souza 1998).

La alta incidencia del minador esta relacionada principalmente al uso de insecticidas químicos. En fincas donde hay un alto uso de insecticidas para el control de cochinilla y minador la incidencia de plaga es mayor. En África *L. coffeella* se volvió una plaga importante como resultado del alto uso de plaguicidas, los que han eliminado muchos de los enemigos naturales de la plaga (Kimani *et al.* 2002). La meseta cafetalera de Carazo, Nicaragua ha sido muy afectada desde la aparición de la roya en 1976. Los árboles más grandes fueron eliminados y se hicieron aplicaciones de todo tipo de venenos tratando de eliminar esta enfermedad del café, sin embargo año con año estos problemas con plagas se han ido haciendo mas serios y han surgido otros nuevos (Guharay *et al.* 2000).

Los agricultores usualmente utilizan insecticidas para el control del minador. En Nicaragua los insecticidas más utilizados son piretroides, como Deltametrina, fosforados como Clorpirifos principalmente, así como el insecticida microbial *Bacillus thuringiensis* (De La Llana 2000). El mejor momento para las aplicaciones es aproximadamente una semana después que se presenta la mayoría de adultos, para entonces la mayor

población consistirá de huevos y larvas jóvenes y hay más probabilidad de causar mayor mortalidad (Hill 1975). En Brasil 8 poblaciones de campo de la plaga resultaron resistentes a Disulfoton, 5 a Ethion, 4 a metil parathion y una presentó resistencia a Clorpirifos (Fragoso *et al.* 2002).

Guharay *et al.* (2000) recomienda, que cuando hay incidencia de minador de Marzo a Mayo se deben usar insecticidas botánicos como el nim para evitar daños a enemigos naturales de la plaga, sin embargo resultados del laboratorio también indican que el nim tiene buen efecto de control de la plaga, pero no se ha observado buen efecto en el campo (De La Llana 2000).

#### **3.2.4. Control biológico de *L. coffeella***

*L. coffeella* tiene varios enemigos naturales principalmente parasitoides y hongos entomopatógenos. En la zona pacífico de Nicaragua De La Llana (1994) encontró parasitoides tales como *Zagrammosoma* sp, *Crysonotomya* sp, *Closteroserus* sp (Hymenoptera: Eulophidae) y *Stiropius* sp (Hymenoptera: Braconidae). Parra (1981) y Cárdenas (1991), afirman que existen diversos parasitoides que ocurren en casi todas las regiones cafetaleras donde aparece el minador, entre estos están: *Horismenus aenicollis*, *Prigalio* sp, *Chrysocharis* sp, *Mirax* sp, entre otros.

Los parasitoides pueden llegar a causar de 10 a 60 % de mortalidad de la plaga. La actividad de los parasitoides es complementada por los depredadores los que causan de 50 a 80% de mortalidad de huevos, larvas y pupas (Guharay *et al.* 2000).

No existen muchos reportes de hongos entomopatógenos infectando a *L. coffeella*. El único reporte es de Cárdenas (1993), quien colectó larvas en el campo, las que estaban cubiertas por un hongo blanco, el cual algunos años más tarde fue identificado como *B. bassiana*. En la zona cafetalera del pacífico de Nicaragua, Simonsen (2001) encontró varios aislamientos



de *B. bassiana* sobre *L. coffeella*. El encontró el hongo en 8 localidades de 10 de las que obtuvo muestras de *L. coffeella*.

En algunas zonas cafetaleras, a pesar de la presencia de parasitoides no consiguen detener la población del minador, requiriéndose el uso del control químico, específicamente en países como Brasil. Los ataques del minador son críticos especialmente cuando se presentan en periodos de sequía, ya que se presenta una falta de compensación del daño por parte de la planta debido a la demanda de nutrientes por parte de los frutos, lo cual generalmente ocurren entre 90 y 120 días después de la floración principal (Bustillo y Villacorta 1994).

## **IV.- METODOLOGÍA**

### **4.1.- Localización del estudio**

Esta investigación se realizó de Marzo a Noviembre 2004 en plantaciones de café sin aplicación de plaguicidas, localizadas en la zona norte y pacífico de Nicaragua. La incidencia de *B. bassiana* sobre *H. hampei* fue evaluada en la zona de El Tuma-La Dalia, Matagalpa y la incidencia de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* fue evaluada en las zonas de Niquinohomo y Masatepe, Masaya.

### **4.2.- Incidencia de *H. hampei***

Se seleccionaron tres fincas de café en la localidad El Coyolar, perteneciente al municipio de El Tuma-La Dalia, Matagalpa, ubicado a 175 kilómetros al norte de Managua. El municipio de El Tuma - La Dalia, está ubicado entre las coordenadas 13° 08' Latitud Norte y 85° 44' Longitud Oeste. El clima reúne las características de la clase bioclimática bosque subtropical, semi-húmedo, corresponde al tropical semi-lluvioso, con precipitación entre los 2,000 y 2,500 mm. La temperatura oscila entre 22° y 24°C.

Las fincas seleccionadas fueron: Verania, La Flor y Quitasueño. Estas fincas están localizadas entre 700 y 800 m.s.n.m. y todas se caracterizan por realizar un manejo tradicional (no tecnificado) del cultivo de café. Además estas fincas fueron seleccionadas por que en ellas no se han realizado aplicaciones de plaguicidas ni de *B. bassiana* al menos en los últimos cinco años.

En la finca Verania, el cafetal está compuesto por una mezcla de variedades de café, incluyendo bourbón y caturra de 26 años de edad y catimor de 11 años de edad; con aproximadamente 70% de sombra, a una altura de 770 m.s.n.m.. La finca La Flor ubicada a 740 m.s.n.m., tiene

una mezcla de variedades de café, predominando las variedades catimor y caturra, de entre 6 y 9 años de edad y con 60 % de sombra aproximadamente. La finca Quitasueño, tiene café variedad catuaí de 15 años de edad, establecido con un nivel de sombra aproximadamente de 50% y una altura de 800 m.s.n.m.

En cada finca se seleccionaron al azar 4 sitios distribuidos en el plantío. Cada sitio consistía de 8 plantas de café (32 plantas por finca). La población de *H. hampei* fue estimada muestreando el número de frutos brocados y el total de frutos en 160 bandolas por finca (32 plantas, 5 bandolas por planta); las bandolas fueron seleccionadas al azar comenzando de arriba hacia abajo de la planta. La incidencia se calculó dividiendo el total de frutos brocados entre el total de frutos. El muestreo se realizó cada 15 días, de Julio a Noviembre del 2004.

#### **4.3. Incidencia natural de *B. bassiana* sobre *H. hampei***

Para estudiar la incidencia de *B. bassiana* sobre *H. hampei*, se colectaban 200 frutos brocados en plantas localizadas alrededor de los sitios de muestreo. La colecta de frutos se realizó quincenalmente de Julio a Noviembre del 2004. Los frutos brocados, fueron llevados al laboratorio donde eran desinfectados superficialmente con alcohol al 75%. Posteriormente los frutos fueron incubados en tres modalidades de cámara húmeda, siendo éstas: Cámara húmeda en vasos con agar-agua, cámara húmeda en bolsas plásticas y cámara húmeda en vasos con papel filtro.

##### **4.3.1. Método de cámara húmeda en vasos con agar-agua**

Se disectaron 100 frutos de los cuales se extrajeron las brocas que éstos tenían, las que eran colocadas individualmente en cámara húmeda de agar-agua para propiciar el crecimiento de hongos entomopatógenos presentes. La cámara húmeda en vasos con agar-agua al 2%, consistió en una copa plástica de 30 cc, en la cual se depositaban entre 5 y 10 ml de una solución estéril (5min, 121° C) de agar-agua al 2%.

Las muestras en el laboratorio se mantenían a temperatura de 24°C y 70-80% de humedad relativa y fueron revisadas cada dos días para observar el crecimiento de hongos entomopatógenos o presencia de contaminantes, registrando los datos correspondientes.

Las muestras se mantuvieron por tres semanas, después de este tiempo, las muestras fueron eliminadas. Los hongos entomopatógenos que se presentaron fueron aislados e identificados; el aislamiento se realizó transfiriendo esporas desde el cuerpo del insecto colonizado hacia un medio de cultivo PDA contenido en platos petri. Los hongos entomopatógenos fueron purificados e identificados de acuerdo a las características de las colonias y características morfológicas observadas al microscopio.

#### **4.3.2. Método de cámara húmeda en bolsas plásticas**

50 frutos, después de ser desinfectados, se colocaban individualmente en una bolsa plástica, dentro de la cual se colocaba un algodón humedecido con agua estéril, para mantener humedad dentro de la bolsa.

Las muestras eran revisadas cada dos días, para observar el crecimiento del hongo entomopatógeno o para desechar las muestras contaminadas. Durante las observaciones se anotaba el número de insectos colonizados, número de insectos no colonizados y el número de muestras contaminadas.

Las muestras depositadas en cámara húmeda en vasos con agar-agua y en papel filtro, se mantuvieron por tres semanas y luego fueron eliminadas. Los frutos mantenidos en bolsas plásticas fueron disectados a las dos semanas, para extraer los insectos presentes en las galerías y verificar si estaban infectados por el hongo.

Los insectos muertos que resultaban colonizados por hongos eran separados del resto de muestras. Los hongos que crecían sobre los insectos eran aislados e identificados.

La identificación se realizó con base en las características de las colonias, así como con base en las características morfológicas de los hongos observadas al microscopio. Luego de ser purificados los hongos entomopatógenos obtenidos fueron preservados.

#### **4.3.3. Método de cámara húmeda en vasos con papel filtro**

Otros 50 frutos fueron disectados y los insectos obtenidos eran colocados individualmente en una copa plástica de 30cc, conteniendo un papel filtro humedecido con agua estéril a la cual se le aplicaba sistemáticamente gotas de agua estéril en el papel, para mantener la humedad. Al igual que los métodos anteriores las muestras se revisaban cada dos días, y se anotaban los insectos colonizados, no colonizados y contaminados.

#### **4.4.- Incidencia de *L. coffeella*.**

El estudio sobre *L. coffeella* y la incidencia de *B. bassiana* sobre este insecto fue realizado en tres fincas ubicadas en la zona cafetalera del pacífico sur de Nicaragua. Las fincas seleccionadas fueron: Santa Mónica y Héroe y Mártires, ubicadas aproximadamente a 450 m.s.n.m., en la comunidad Las Crucitas, municipio de Niquinohomo, situado entre las coordenadas 11° 54' Latitud Norte y 86° 05' de Longitud Oeste; con predominancia de clima fresco (sabana tropical), su temperatura oscila entre 25°C y 27°C. La otra finca seleccionada fue San Luis, localizada en la comunidad Santo Domingo, Masatepe a 500 m.s.n.m., situado en las mesetas de los pueblos entre las coordenadas 11° 55' de Latitud norte y 86° 08' de Longitud Oeste, en el departamento de Masaya. Posee un clima semi húmedo (Sabana Tropical). La precipitación varía en los 1,200 y 1,400 mm. Caracterizada por una buena distribución de las lluvias durante el año. La temperatura oscila entre los 26° y 27° c.

La finca Santa Mónica tiene tres variedades de café establecidas (bourbón, caturra y catuai), con 10 a 20 años de edad y aproximadamente con 80% de sombra; la finca Héroes y Mártires con dos variedades de café (catimor y catuai), de 4 a 5 años de edad y 50% de sombra y la finca San Luis con dos variedades de café establecidas: catuai (rojo y amarillo) y bourbón; de 6 años de edad y 60% de sombra. Estas fincas fueron seleccionadas porque en ellas no se habían usado plaguicidas ni *B. bassiana* al menos en los últimos cinco años.

Para fines de muestreo, en cada finca se seleccionaron al azar 4 sitios de 8 plantas cada uno (2 surcos de 4 plantas). En cada planta se seleccionaron 25 bandolas, iniciando de arriba hacia abajo, para un total de 800 bandolas por finca. El muestreo se realizó cada 15 días, de Marzo a Junio del 2004, registrando el número de hojas totales y el número de hojas minadas por bandolas. Se consideró como hoja minada a toda aquella hoja que presentaba minas frescas, no incluyendo como tales a las que presentaban minas viejas.

#### **4.5.- Incidencia natural de *B. bassiana* sobre *L. coffeella***

En cada uno de los lotes de café seleccionados para el muestreo de minador, se recolectaron semanalmente 200 hojas con minas frescas, en cada una de las fincas. Estas hojas eran recolectadas de manera aleatoria, en plantas localizadas en los alrededores de los sitios de muestreo. Las hojas recolectadas en cada sitio y localidad eran colocadas en bolsas plásticas, marcadas y llevadas al laboratorio.

En el laboratorio las hojas fueron lavadas con hipoclorito de sodio 2% y agua estéril. De las 200 muestras recolectadas, 150 fueron procesadas mediante el método de cámara húmeda en vasos con agar-agua al 2% y las 50 restantes eran procesadas mediante el método de cámara húmeda en bolsas plásticas.

##### **4.5.1. Método de cámara húmeda en vasos con agar-agua**

Las minas frescas de 150 hojas fueron asépticamente abiertas y se extrajo la larva del minador, las larvas obtenidas de dichas minas eran colocadas individualmente en cámara húmeda en vasos con agar-agua al 2%. La cámara húmeda fue igual a la usada para las muestras de broca.

Las muestras se mantuvieron por 21 días y eran revisadas cada dos días anotándose las larvas colonizadas y las no colonizadas por el hongo.

#### **4.5.2. Método de cámara húmeda en bolsas plásticas**

De las muestras recolectadas, a 50 hojas se les colocaba en el pecíolo, un algodón humedecido con benziladenina y luego eran colocadas individualmente en bolsas plásticas. La benziladenina se utilizó para mantener la turgencia de las hojas y evitar la muerte de las larvas por desecación u otras causas. Esta es una modificación de un método utilizado en Brasil (Reis *et al.* 2000) para mantener hojas de café *in vitro* para la crianza masiva de *L. coffeella*.

Las muestras se mantuvieron por 15 días, revisándolas cada dos días, para registrar incidencia del hongo y cambios en las muestras. Después de este tiempo se procedió a abrir las minas de las hojas para registrar el número de insectos infestados y no infestados.

La benziladenina es un regulador de crecimiento, que pertenece a las citoquininas. Este regulador de crecimiento es usado en medios para cultivo de tejido vegetal, para la división celular, multiplicación de brotes y proliferación de yemas axilares. Ayuda a retardar la senescencia del tejido e influye en el transporte de auxinas.

#### **4.6.- Procesamiento de datos**

La incidencia de *H. hampei* y la de *L. coffeella* fue expresada como porcentaje de frutos brocados y como porcentaje de hojas minadas (minas frescas) respectivamente.

#### 4.6.1. Porcentaje de frutos brocados

Los datos obtenidos de muestreo de *H. hampei* en cada una de las bandolas fueron totalizados, obteniendo el total de frutos brocados y el total de frutos (brocados y no brocados) en las 160 bandolas por finca. La incidencia de broca se calculó dividiendo el número total de frutos brocados entre el total de frutos, multiplicado por 100, aplicando la fórmula siguiente:

$$\text{Frutos brocados (\%)} = \frac{\text{Número de frutos brocados}}{\text{Número total de frutos}} \times 100$$

#### 4.6.2. Porcentaje de hojas minadas

Los datos obtenidos de muestreo de minador en cada una de las bandolas fueron totalizados, obteniendo el total de hojas minadas y el total de hojas (minadas y sanas) en las 800 bandolas por finca. El porcentaje de hojas minadas en cada finca, se calculó dividiendo el número total de hojas minadas entre el total de hojas, multiplicado por 100.

$$\text{Hojas minadas (\%)} = \frac{\text{Número de hojas minadas}}{\text{Número de hojas totales}} \times 100$$

#### 4.6.3. Incidencia de *B. bassiana*

El nivel de infección de *B. bassiana* sobre broca se obtuvo dividiendo el número de adultos colonizados entre el total de adultos colocados en cámara húmeda. Para el caso del método de cámara húmeda en bolsas plásticas se dividió entre el total de adultos que resultaron al momento de la disección, multiplicado por 100, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia de } B. \text{ bassiana (\%)} = \frac{\text{Número de insectos colonizados}}{\text{Número de insectos totales}} \times 100$$



La incidencia natural de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* se estimó dividiendo el número de larvas que resultaron colonizados por el hongo, entre el número de larvas totales, colocadas en cámara húmeda multiplicado por 100, aplicando la misma fórmula utilizada en el caso de broca.

Para el caso del método de cámara húmeda en bolsas plásticas, se dividió el número de larvas infectadas entre el total de insectos (larvas, pupas y adultos) encontrados al momento de abrir las minas.

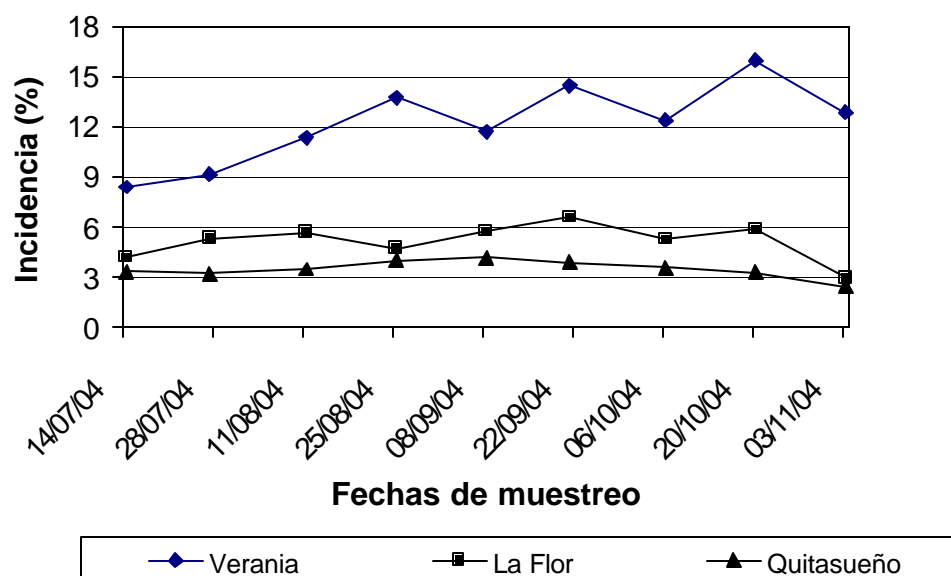
#### **4.7. Análisis de datos**

Los datos de porcentaje de frutos brocados, hojas minadas y de incidencia de *B. bassiana* sobre *H. hampei* y *L. coffeella*, fueron transformados mediante la transformación angular (Arcoseno (vy)). Los datos transformados fueron analizados mediante análisis de varianza entre fincas y entre fechas de muestreo para el porcentaje de frutos brocados y de hojas minadas; y entre fechas y entre métodos de cámara húmeda para la incidencia de *B. bassiana*. Posteriormente se hizo separación de medias mediante la prueba de Tukey. Los análisis fueron realizados utilizando el paquete estadístico SAS (versión 8.02).

## V.- RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1.- Incidencia de *H. hampei*

La incidencia de broca fue alta en las tres fincas en estudio, sobrepasando el nivel crítico establecido para implementar medidas de manejo. El análisis de varianza (anexo 1) indica que no hay diferencias significativas entre las fechas de muestreo ( $p=0.104$ ), pero si hay diferencias significativas entre fincas ( $p=0.0001$ ). La finca Verania fue la que presentó la mayor incidencia, registrando un comportamiento ascendente que osciló entre 8 y 16% durante todo el período en estudio y con un promedio general de 12.2%, seguida por la finca La Flor con 5.2 %, siendo la finca Quitasueño la que presentó la menor incidencia con un promedio de 3.5% de incidencia. La incidencia mas alta de la broca en las fincas La Flor y Quitasueño alcanzaron niveles de 6.6 y 4.2% respectivamente. Aunque no hubieron diferencias significativas entre fechas, la mayor incidencia de la plaga se presentó en el mes de Octubre en la finca Verania, y en el mes de



Septiembre en las fincas La Flor y Quitasueño; en estas dos fincas, no se observó mucha fluctuación de la población durante las fechas de muestreo (figura 1).

**Figura 1.** Incidencia de *H. hampei* en tres fincas cafetaleras de la zona de El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio- Noviembre 2004.

Las diferencias de los niveles de incidencia de la plaga entre las tres fincas, pueden explicarse principalmente por razones de manejo agronómico. La menor incidencia observada en Quitasueño obedece a que en esta finca solamente se tiene establecido la variedad catuaí, es decir no hay mezcla de variedades, lo que no genera disponibilidad de alimento a la plaga en diversos momentos, debido a una floración más uniforme. Además esta finca tiene una sombra más regulada y las condiciones de la plantación permite realizar un mejor corte, así como otras actividades culturales.

La mayor incidencia de la plaga observada en Verania, obedece principalmente a que en esta finca está establecida una mezcla de variedades, tales como caturra, bourbón y catimor lo que favorece las poblaciones sobrevivientes de la broca porque cuando existe mezcla de variedades en la misma plantación, la broca aprovecha la disponibilidad de frutos provenientes de las floraciones sucesivas para sobrevivir y desarrollarse con mas facilidad (Guharay *et al.* 2000), ocasionando mayor daño en la cosecha. En general es una plantación que recibe poco manejo, tal como regulación de sombra, graniteo y repela. Por otro lado esta finca presenta condiciones topográficas muy accidentadas, lo que dificulta el corte y las prácticas culturales como la pepena, por lo que queda mayor cantidad de frutos caídos en el suelo. En la finca La Flor se presentó una incidencia de broca ligeramente mayor que en Quitasueño, pero menor que en Verania. Probablemente la menor incidencia observada en La Flor obedece a que en esta finca se realiza un mejor manejo de la plantación, tiene una mejor distribución de sombra y las condiciones topográficas de la plantación facilitan la realización de prácticas culturales como la pepena.

## 5.2.- Incidencia natural de *B. bassiana* sobre *H. hampei*

La incidencia de *B. bassiana* sobre broca fue relativamente alta, alcanzando valores hasta de 60% en la finca Quitasueño, durante el mes de Noviembre. En la finca Verania el nivel de incidencia mas alto fue de 25% (figura 2), *B. bassiana* fue encontrada en las muestras de broca durante casi todo el período de muestreo, sin embargo hubieron fechas de colecta en que no todos los métodos registraron la incidencia del hongo entomopatógeno en las muestras de *H. hampei* procedentes de todas las fincas.

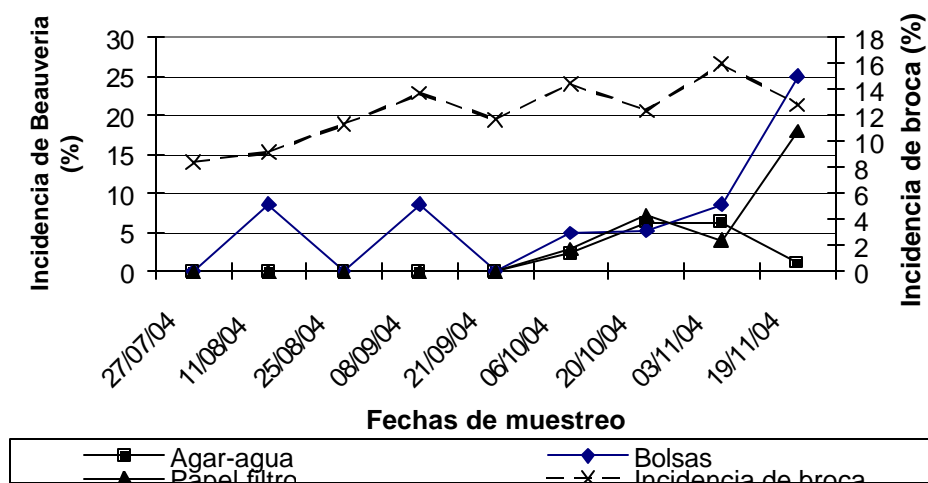
En general con los tres métodos de cámara húmeda utilizados para estudiar la incidencia de *B. bassiana* se encontraron insectos infectados por el hongo; sin embargo, el resultado encontrado fue variable para cada método. La mayor incidencia de *B. bassiana* se encontró con el método de cámara húmeda en bolsas plásticas.

### 5.2.1. Finca Verania

El análisis de varianza realizado indica que hay diferencias entre fechas de muestreo ( $p=0.002$ ) así como entre métodos de cámara húmeda ( $p=0.04$ ) (anexo 2). La mayor incidencia de el hongo se encontró en las muestras colectadas en la última fecha de muestreo realizada en Noviembre. En los muestreos realizados a finales Julio, Agosto y Septiembre no se encontraron insectos infectados con el hongo, con ninguno de los métodos de cámara húmeda. En los muestreos realizados en Octubre y Noviembre, se encontraron insectos infectados con *B. bassiana* en los tres métodos de cámara húmeda; además fue en estas fechas donde se encontró la mayor incidencia del hongo sobre *H. hampei*, a pesar que el número de insectos obtenidos de las muestras colectadas fue menor que en los muestreos anteriores (figura 2).

La comparación de medias por Tukey (0.05) indica que la incidencia de *Beauveria* sobre broca, encontrada mediante el método de cámara húmeda en bolsas plásticas, difiere significativamente de la incidencia

encontrada con los métodos de agar-agua y papel filtro, los cuales fueron estadísticamente similares entre si. El promedio de incidencia registrada con el método de bolsas plásticas fue de 6.8% y en general la incidencia del hongo fluctuó entre 5 y 25% durante todo el período de muestreo. En cambio el promedio de incidencia registrado con los métodos de agar-agua y papel filtro fue de 1.8 y 3.6% respectivamente. La máxima incidencia registrada con el método de agar-agua fue de 6.3% y con el método de papel filtro fue de 18%.



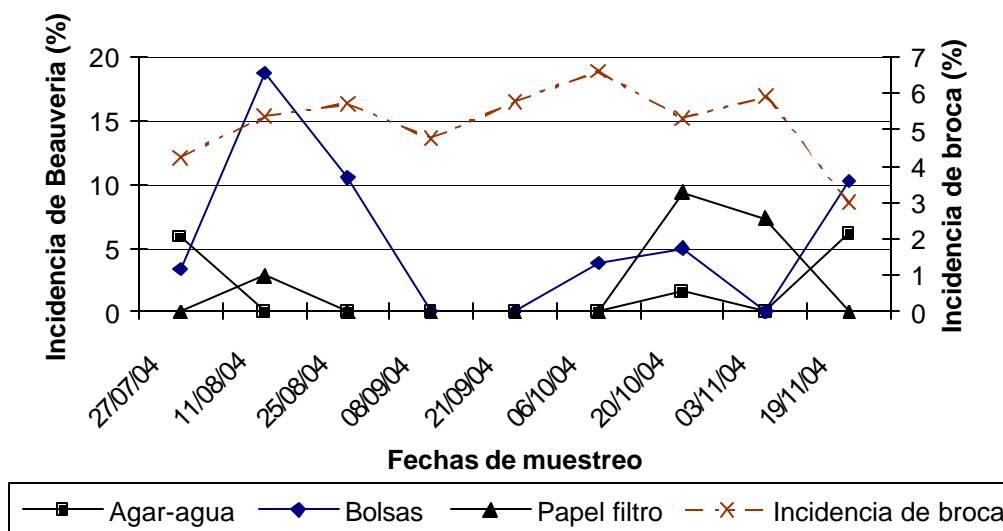
**Figura 2.** Incidencia de *H. hampei* y de *B. bassiana* sobre *H. hampei* en la finca Verania. El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio-Noviembre 2004.

### 5.2.2. Finca La Flor

El comportamiento de la incidencia de *B. bassiana* sobre broca en la finca La Flor fue muy irregular con todos los métodos. El ANDEVA realizado indica que no hay diferencias significativas ni entre fechas ni entre métodos (anexo 3), a pesar que la incidencia de *B. bassiana* con el método de bolsas plásticas fue superior a los demás métodos, durante la segunda y última fecha de muestreo (figura 3). Este resultado se debe a que debido a la alta variación de los datos, el coeficiente de variación fue muy alto (115.8%), además que el  $R^2$  fue muy bajo (0.47) indicando un ajuste no muy adecuado del modelo utilizado. A pesar de no encontrar diferencias significativas se observa que con el método de bolsas plásticas se registró la mayor incidencia del hongo, seguido por el método de papel filtro y

finalmente el método de agar-agua (figura 3). Al igual que en la finca Verania, con el método de bolsas plásticas se encontraron con más frecuencia insectos infectados.

En las muestras colectadas en Septiembre no se encontraron insectos infectados en ninguno de los métodos de cámara húmeda.



**Figura 3.** Incidencia de *H. hampei* y de *B. bassiana* sobre *H. hampei* en la finca

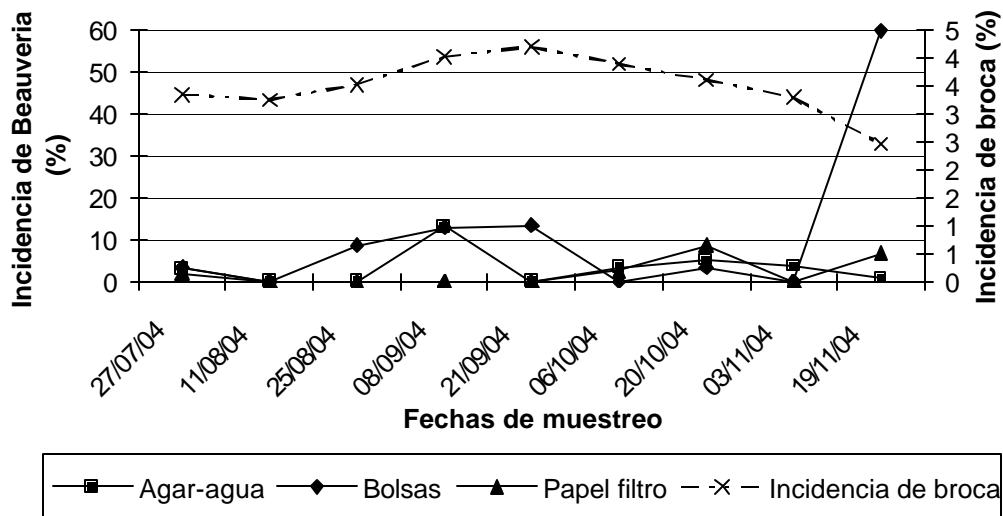
La Flor. El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio-Noviembre 2004.

### 5.2.3. Finca Quitasueño

En la finca Quitasueño fue donde se encontraron con mayor frecuencia insectos infectados por el hongo. Solamente en la colecta de muestras realizada en una de las fechas no se encontraron insectos infectados (figura 4).

El ANDEVA realizado indica que no hay diferencias significativas ni entre fechas de muestreo ni entre métodos (anexo 4), a pesar que fue en esta finca donde se encontró la mayor incidencia del hongo correspondiente a 60%, mediante el método de bolsas plásticas en las muestras colectadas en el último muestreo realizado en Noviembre.

En los muestras colectadas en Agosto y Septiembre no se encontraron insectos infectados, con el método de papel filtro (figura 4).



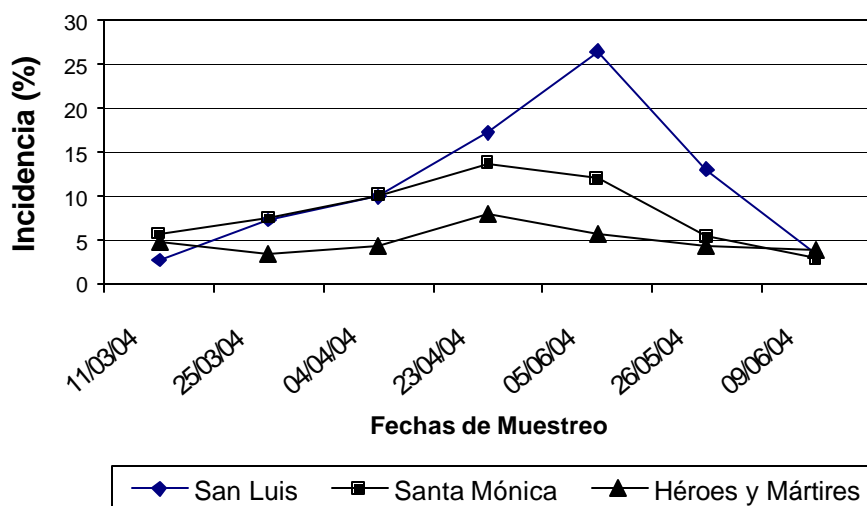
**Figura 4.** Incidencia de *H. hampei* y de *B. bassiana* sobre *H. hampei* en la finca Quitasueño. El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, , durante el periodo Julio- Noviembre 2004.

### 5.3. Incidencia de *L. coffeella*

El porcentaje de hojas minadas osciló entre 2.7 y 26.4% alcanzando el nivel mas alto en el mes de Mayo. El análisis de varianza realizado (anexo 5), indica que no hay diferencia significativa entre fechas ( $P= 0.78$ ), pero si entre fincas ( $P= 0.003$ ). La finca San Luis, presentó los mayores niveles de incidencia. En las fincas Héroes y Mártires y Santa Mónica, el nivel de incidencia observado fue inferior al nivel crítico establecido, el cual establece que el minador afecta a la planta y los rendimientos cuando se presenta entre 20 y 30% de hojas minadas (Guharay *et al.* 2000). A pesar de no alcanzar el nivel crítico, en dos de las fincas muestreadas, el minador estuvo presente durante todas las fechas de muestreo. Aunque no hubo diferencias significativas entre fechas se observó que la mayor incidencia se presentó en el período comprendido entre Abril y Mayo. En cambio la menor incidencia se presentó al inicio del ciclo del cultivo, en el mes de Marzo y a inicio de la época lluviosa, en el mes de Junio (figura 5).

Es importante mencionar que aunque los niveles de incidencia no fueron muy altos, ésta se presentó principalmente en los meses de Abril y Mayo, afectando las hojas nuevas y en consecuencia incidiendo en la cosecha futura. En este sentido, Simán (1995) afirma que el daño de minador que ocurre de Abril a Mayo, es más importante por que causa la caída de hojas jóvenes, las que soportan la producción de frutos del ciclo que se está desarrollando.

Debido al comportamiento cíclico bianual del café y a factores de manejo durante el ciclo anterior, el ciclo 2004-2005 correspondió a un ciclo de baja producción, por lo que los daños causados por plagas se vuelven muy importantes aun por debajo de los niveles críticos.



**Figura 5.** Incidencia de *L. coffeella* en tres fincas cafetaleras de la zona de Niquinohomo y Masatepe, Masaya durante el periodo Marzo-Junio 2004.

Los datos indican que en los meses de Abril y Mayo, cuando se presentaron las temperaturas más altas (26°C) (anexo 6), fue donde el minador presentó mayor incidencia (26%) en comparación con el mes de Marzo y Junio donde se observó menor población de la plaga y donde se registró menor temperatura. Hay que considerar que el minador es una plaga de verano y normalmente para esta época las poblaciones tienden a bajar, a pesar que en este estudio, durante el mes de Junio, las precipitaciones fueron menores que en Abril y Mayo (anexo 7), lo que indica que el factor



más importante para favorecer a la plaga es la temperatura, ya que en nuestro estudio la precipitación no fue un factor tan incidente para la plaga, porque en los meses que se presentó mayor precipitación fue cuando la plaga alcanzó los niveles mas altos. Estos resultados coinciden con resultados de otros investigadores que afirman que la temperatura alta es un factor favorable para la plaga. Wrigley (1988) afirma, que *L. coffeella* es una plaga prevaleciente en climas cálidos; así mismo Cárdenas (1991), expresa que la población de esta plaga incrementa rápidamente a temperaturas mayores de 22 °C y cuando la humedad relativa está entre 80% y 90%.

En la Finca San Luis, fue donde se registró la mayor incidencia de *L. coffeella*, seguida por la finca Santa Mónica y finalmente la finca Héroes y Mártires. En la finca Santa Mónica, la mayor incidencia de minador fue de 13.7% y se presentó a finales del mes Abril, la menor incidencia de la plaga se presentó a finales del mes de Mayo e inicios de Junio, meses en que las temperaturas disminuyen, condiciones que son desfavorables para la plaga. En la finca Héroes y Mártires la incidencia más alta alcanzó 8% de hojas minadas, se presentó en el segundo muestreo de Abril, seguido de la primera semana de Mayo donde la incidencia de *L. coffeella* fue de 6%. La incidencia más baja de la plaga en esta finca fue de 3.4%, y se presentó en el último muestreo realizado (figura 5).

#### **5.4.- Incidencia natural de *B. bassiana* sobre *L. coffeella***

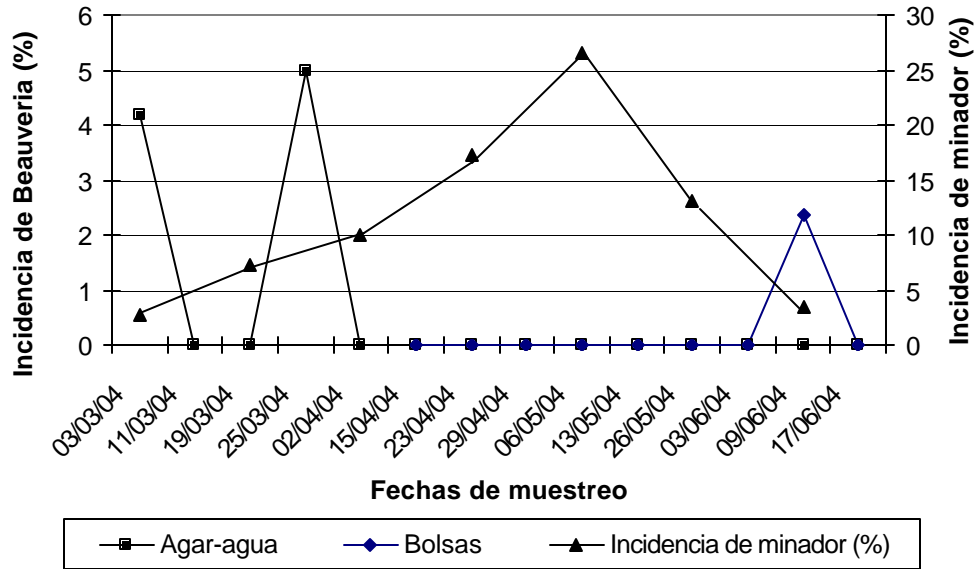
En general *B. bassiana* fue encontrada infestando a *L. coffeella* en las tres fincas en estudio. Sin embargo, la incidencia del hongo fue muy variable presentando rangos que oscilaron entre 1 y 26%. De acuerdo al análisis de varianza en ninguna de las fincas se encontraron diferencias significativas para la incidencia de *B. bassiana*, ni entre métodos de cámara húmeda, ni entre fechas de muestreo (figura 8).

En el análisis realizado para evaluar la incidencia de *Beauveria* sobre minador no se incluyó el mes de Marzo, ya que en este mes solo se estaba

procesando un método el de agar-agua y para comparar estadísticamente los métodos se tomaron los datos obtenidos a partir del mes de Abril, mes donde se empezaron a procesar los dos métodos, aunque hay que considerar que en el mes de Marzo en el método de agar-agua fue donde se encontró la mayor incidencia del hongo alcanzando 26%.

### 5.4.1. Finca San Luis

La incidencia de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* se presentó en los dos métodos utilizados en el laboratorio, sin embargo la mayor incidencia se observó en el método de cámara húmeda en vasos con agar-agua (figura 6).



**Figura 6.** Incidencia de *L. coffeella* y de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* en la finca San Luis, Masatepe, Masaya, durante el período Marzo-Junio 2004.

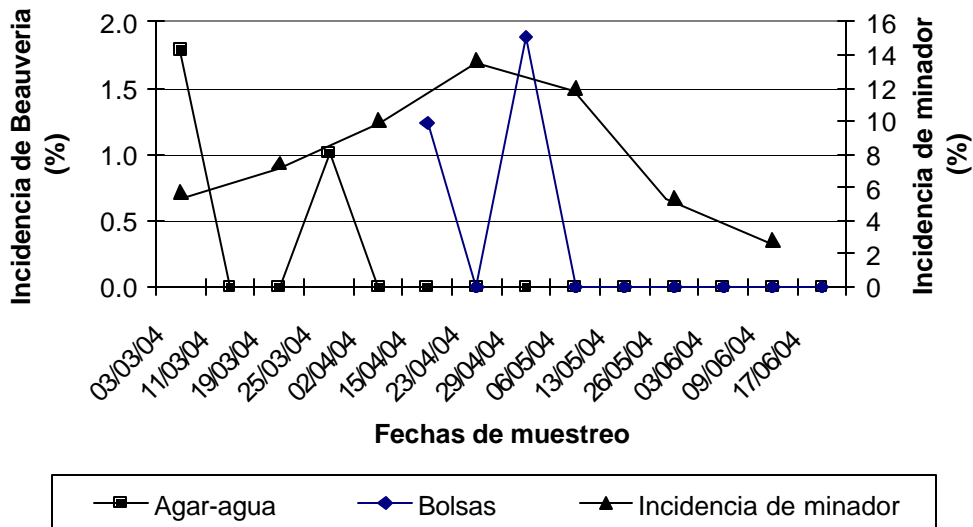
En la finca San Luis el nivel mas alto de incidencia de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* fue de 5% en comparación con la finca Santa Mónica, observándose a finales del mes de Marzo. Con este método *B. bassiana* únicamente presentó incidencia en el mes de Marzo. Probablemente este comportamiento se debe en alguna medida a la metodología, ya que se presentó alto nivel de contaminación de las muestras, lo que pudo haber reducido la posibilidad del crecimiento del hongo sobre *L. coffeella*. Este método tiene el inconveniente de la disección de la hoja para obtener las larvas de *L. coffeella* y una vez extraída la larva ésta es muy susceptible y muere en poco tiempo o se contamina con facilidad.

Con el método de bolsas plásticas únicamente se observó crecimiento de *B. bassiana* sobre larvas de *L. coffeella* en el muestreo realizado el 9 de Junio, donde alcanzó aproximadamente 2.4% de incidencia (figura 6).

### 5.4.2. Finca Santa Mónica

En esta finca el método de cámara húmeda de vasos con agar-agua únicamente presentó incidencia la primer y tercer semana del mes de Marzo con un porcentaje de 1.8% y 1% respectivamente, en las otras fechas de muestreo esta finca no presentó incidencia del hongo en este método (figura 7).

En el el método de cámara húmeda en bolsas plásticas únicamente se observó crecimiento del hongo *B. bassiana*, en las muestras de *L. coffeella*, a mediados y a finales del mes de Abril, siendo aproximadamente 2% la mayor incidencia observada (figura 7).

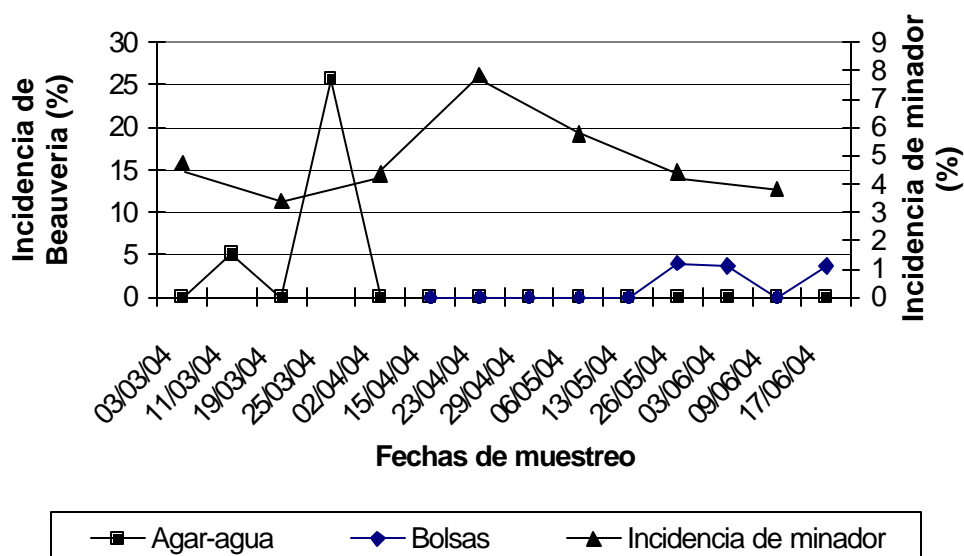


**Figura 7.** Incidencia de *L. coffeella* y de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* en la finca Santa Mónica, Niquinohomo, Masaya, durante el período Marzo-Junio 2004.

### 5.4.3. Finca Héroes y Mártires

Esta finca fue la que presentó la mayor incidencia natural de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* en comparación con las otras fincas, observado en el método de cámara húmeda en vasos con agar-agua, en el mes de Marzo con 26% (figura 8).

Los resultados obtenidos mediante el método de bolsas plásticas, indican que la incidencia natural de *B. bassiana* en esta finca fue baja en comparación con el método de cámara húmeda en vasos con agar-agua, presentándose a finales del mes de Mayo y a mediados del mes de Junio con un rango de 3.7 a 4%. Durante las otras fechas no se observó crecimiento de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* en esa finca (Figura 8).



**Figura 8.** Incidencia de *L. coffeella* y de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* en la finca Héroes y Mártires. Niquinohomo, Masaya, durante el período Marzo-Junio 2004.

### 5.5.- Discusión general

Un aspecto importante a considerar para el estudio de la incidencia natural de hongos entomopatógenos y en particular de *B. bassiana*, es la contaminación de las muestras. Los métodos a utilizar deben ser efectivos para la obtención del hongo, de manera que la obtención del insecto y la manipulación de la muestra no causen problemas de contaminación que puedan tener alguna incidencia sobre el hongo entomopatógeno.

En general, los tres métodos utilizados en este estudio para evaluar la incidencia de *B. bassiana* sobre *H. hampei*, presentaron problemas de contaminación, ya que las muestras provenían del campo y una vez establecidas en el laboratorio estaban bastantes expuestas al ambiente, y se requería de cierto grado de manipulación tanto al momento de disección como durante las observaciones periódicas que se realizaban. Debido al menor grado de manipulación de las muestras, el método de cámara húmeda en bolsas plásticas fue el que presentó el menor grado de contaminación en este estudio. En cambio con los métodos de cámara húmeda agar-agua y cámara húmeda con papel filtro las muestras están más expuestas a la contaminación, ya que se tiene que hacer la disección de los frutos para la obtención del insecto, lo que implica mayor manipulación de la muestra y por lo tanto mayor riesgo de contaminación, tanto al momento de la disección como al momento de la observación periódica de las muestra. Por otro lado el agar es un substrato sobre el cual se desarrollan con facilidad los contaminantes.

En el presente estudio se presentó mucha contaminación, lo que pudo haber incidido en el nivel de incidencia de *B. bassiana*, ya que cuando la contaminación ocurre a los pocos días de establecida la muestra, se reduce la posibilidad que aparezca *B. bassiana*; sin embargo algunos autores afirman que cuando *B. bassiana* coloniza el insecto, produce antibióticos que no permiten el crecimiento de los contaminantes (Leucona 1995). Tomando en cuenta esto, se puede concluir que las muestras que resultaron contaminadas estaban libres de *B. bassiana*.

Los resultados del presente estudio indican que *B. bassiana* ocurre de forma natural sobre *L. coffeella* y *H. hampei*; sin embargo los niveles de incidencia natural son variables y pueden estar influenciados por varios factores, entre los que podemos mencionar el tipo de insecto (hospedante), las condiciones ambientales como temperatura y humedad, así como factores asociados al manejo del cultivo. Insectos hospedantes que están más expuestos tiene más probabilidad de ser infestados por el hongo; en este sentido los menores niveles de incidencia

de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* pueden deberse a que este insecto está más protegido dentro de la hoja del café; a menos que el hongo se presente de forma endofítica.

A como ha sido encontrado por otros autores (Lacayo *et al.* 1994; Bustamante 1992; Cárdenas 1991; Simonsen 2000), en el presente estudio el hongo entomopatógeno *B. bassiana* fue encontrado infectando de forma natural a *H. hampei*, así como a *L. coffeella*. Los niveles de infección de este hongo fueron variables en las fincas estudiadas, indicando que existen condiciones tanto naturales como clima, así como condiciones ligadas al manejo del cultivo, que tienen influencia sobre el hongo.

*B. bassiana* se encontró infectando con mas frecuencia a *H. hampei* que a *L. coffeella* debido a la especificidad del hongo sobre esta plaga, además debido a que *B. bassiana* puede afectar diferentes estados de desarrollo de insectos del orden Coleoptera (Ferrón 1978) a diferencia de *L. coffeella* que solamente es afectada en estado larval, y como las larvas viven protegidas alimentándose dentro de las minas esto hace mas difícil el contacto entre el hongo y el insecto, a menos que el hongo se encuentre de forma endofítica en las hojas, lo cual no ha sido plenamente demostrado (Simonsen 2000).

Por otro lado, debido al hábito de *H. hampei*, éste tiene más posibilidades de contacto con el hongo, ya que las hembras caminan sobre superficies de la planta donde pueden adquirir el hongo que puede estar presente en éstas. Además es probable que exista mayor transmisión horizontal de *B. bassiana* en *H. hampei*, ya que cuando las hembras visitan frutos infestados, los insectos que están dentro de las galerías pueden ser infectados. Otro aspecto que puede favorecer la infección de *H. hampei* por *B. bassiana*, es la alta humedad relativa presente en las galerías dentro del fruto.

Otro aspecto importante es que los conidios del hongo necesitan condiciones de humedad relativa alta (Walstad *et al.* 1970, Gullan y



Cranston 1988) y los adultos de *L. coffeella* depositan sus huevos en áreas de baja humedad relativa (Wrigley 1988), condiciones que no son favorables para el crecimiento del hongo. Además, la mayor actividad de *L. coffeella* se presenta en los meses de mayor temperatura, condición que puede resultar desfavorable para *B. bassiana*.

## VI.- CONCLUSIONES

- Los niveles de incidencia natural del hongo entomopatógeno *B. bassiana* fueron mayores en *H. hampei* que sobre *L. coffeella*; además *B. bassiana* fue encontrada con mayor frecuencia infestando a *H. hampei* que a *L. coffeella*.
- La mayor incidencia natural del hongo entomopatógeno *B. bassiana* sobre *H. hampei* ocurrió en la finca Quitasueño con 60%, en el mes de Noviembre y la mayor incidencia natural de *B. bassiana* sobre *L. coffeella* ocurrió en la finca Héroes y Mártires con 26% en el mes de Marzo.
- Con los tres métodos de cámara húmeda utilizados, se registró la incidencia de *B. bassiana*; sin embargo fue el método de frutos en cámara húmeda en bolsas plásticas el que registró la mayor incidencia del hongo sobre *H. hampei* y el método de cámara húmeda en vasos con agar-agua fue el que se observó mayor incidencia del hongo sobre *L. coffeella*.
- La incidencia de *H. hampei* fue alta en las tres fincas en estudio, la mayor incidencia alcanzó un promedio máximo de 16% en la finca Verania y la menor incidencia con un promedio mínimo de 2%, registrado en la finca Quitasueño.
- La mayor incidencia de *L. coffeella* alcanzada fue de 26% y se presentó en la finca San Luis y la menor incidencia fue de 3% y se presentó en la finca Héroes y Mártires.

## VII. RECOMENDACIONES

- De acuerdo al comportamiento observado de *B. bassiana* sobre *H. hampei* y *L. coffeella*, la incidencia natural puede ser combinada con aplicaciones inundativas, de manera que la cantidad de inóculo presente de forma natural sea aumentada con dichas aplicaciones.
- Para estudiar la incidencia natural de *B. bassiana* sobre determinados insectos plagas es conveniente utilizar más de un método, ya que bajo ciertas circunstancias alguno de los métodos puede resultar más efectivo.
- En el laboratorio es necesario evitar excesiva manipulación de la muestra lo que permitirá menor riesgo de contaminación y mayor seguridad para el crecimiento del hongo entomopatógeno.
- Realizar muestreos periódicos para determinar en que momento se presenta *B. bassiana* de forma natural y cuando hay mayor incidencia en el campo, para evitar que se realicen aplicaciones de productos químicos que interfieran en el crecimiento natural de este hongo.
- Debido a que las condiciones en el campo pueden tener influencia sobre la incidencia natural de *B. bassiana*, para tener información más representativa, es recomendable realizar este tipo de estudios al menos durante dos años consecutivos.

## VIII.- BIBLIOGRAFIA

- AZEVEDO, J.L., W. Maccheroni, Jr., J.O. Pereira & L. de A. Wellington. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. EJB electronic Journal of Biotechnology. ISSN: 0717-3458 Vol 3No. 1, 2000.
- ALVES, S.B. 1986. Controle microbiano de insectos. Editora Manole LTDA. Brasil. p73-124.
- BAKER, P. 1999. The Coffee Berry Borer in Colombia. Final Report of the DFID-Cenicafé-CABI Bioscience IPM for coffee project (CNTR 93/1536A). CABI Bioscience. 154 p.
- BARRIOS, M. 1992. Producción y Virulencia de algunos aislamientos del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill contra la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Tesis M.Sc., CATIE, Turrialba, C R. 52 p.
- BUSTILLO , A. E., VILLACORTA, A. 1994 Manejo de las principales plagas del café en plantaciones de altas densidades. In Simposio Internacional sobre café adensado Anais. Londrina, Brazil. p.185-194.
- BUSTILLO, A.E., M.G. BERNAL, P. BENAVIDES & B. CHAVES. 1999. Dynamics of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* infecting *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) populations emerging from fallen coffee berries. Florida Entomologist 82 (4) December 1999.
- BUSTILLO, A.E., R. CÁRDENAS & F. POSADA 2002. Natural Enemies and Competitors of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleóptera: Scolytidae) in Colombia. *Neotrop. Entomol.*, Oct./Dec. 2002, vol.31, no.4, p.635-639. ISSN 1519-566X.
- BRUN, L.; C. MARCILLAND, V. GAUDICHON & D. SUCKING. 1989 Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera:Scolytidae) in New Caledonia. J. Econ. Entomol (USA) 82 (5): 1311-1316.
- BRUN, L. O. 1998. CBB resistance to endosulfan: implications for insecticide management. In Abstracts 2<sup>nd</sup> intercontinental conference on Coffee berry borer. Tapachula, Chiapas, México. March 29 – abril 2. pag 25. Agricultural Research Service (ARS), CABI, ECOSUR.

- CABI Biocontrol News and Information 2003. Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*) (<http://pest.cabweb.org/Archive/Pestofmonth/Cbb.htm>)
- CANO, A. 1997. Análisis Comparativo de las tecnologías de producción de café en Nicaragua: Café tecnificado vs café de bajo insumo (orgánico). Tesis M.Sc.; Universidad de Barcelona. 73 p.
- CARBALLO, M., Guaharay, F.- Control biológico de plagas agrícolas. 1ª. Ed. – Managua: CATIE, 2004. 232p. serie técnica- manual técnico/CATIE; N° 53.
- CÁRDENAS, R. 1991. El minador de la hoja del café *Leucoptera coffeella* (GM) (Lepidoptera: Lyonetidae). Federación Nacional de cafetaleros de Colombia. Centro Nacional de investigaciones del café. Chinchina-Candas. Colombia. P. 5-23.
- CÁRDENAS, R. 1993. Control Biológico de Plagas. Avances Técnicos CENICAFE (Colombia) 187:1-4.
- CATIE – INTA/MIP (NOIRAD ASDI) 1994. Uso de hongos entomopatógenos para el manejo de plagas en Nicaragua. Managua, Nicaragua.
- CIRAD, IRD, CCCR, IICA & PROMECAFE. 1999. Desafíos de la Producción de Café en América Central. Eds. Benoit Bertrand y Bruno Rapidel. San José C. R. 496 p.
- COMITÉ NACIONAL DE MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS (CN-MIP), Programa CATIE/MIP-AF & Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas en América Central (RAPAC). 2002. Taller: Alternativas comprobadas para sustituir plaguicidas de la nueva Docena Sucia. CNIA / INTA, 28 de Agosto 2002, Managua, Nicaragua.
- COVA, R.S. 1988. Hongos fitopatógenos. Universidad de Chapingo. México. 244 P.
- DAMON, A. 2000. A review of the biology and control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae) Bulletin of Entomological Research 90: 453-465.
- DECAZY, B. 1994. Recomendaciones generales para una posible estrategia de manejo integrado de plagas. *In* Taller Regional de Control Biológico de la broca del café (Memoria) 25-29 abril 1994. San Pedro, Sula Honduras. IHCAFE, IICA, PROMECAFE.

- LLANA, A. DE. LA. 2000. Comportamiento de las plagas de café y la fauna benéfica en dos sistemas de manejo, durante la época seca de 1998. Tesis M.Sc. UNAN – León. 69 p.
- DE LA ROSA, W., R. ALATORRE, J.F. BARRERA & C. TORIELLO. 2000. Effect of *Beuveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) upon the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Scolytidae) Under Field conditions. J. Econ. Entomol. 93 (5): 1408-1414 (2000).
- DE LA ROSA, W., R. ALATORRE, J. TRUJILLO & J. F. BARRERA. 1997. Virulence of *Beuveria bassiana* Deuteromycetes strains against the Coffee Berry Borer (Coleóptera: Scolytidae) J. Econ. Entomol. 90 (6): 1531-1538 (1997).
- FERRON, P. 1978. Biological control insects pest by entomopathogenic fungi. *In*: Ann. Rev. Entomol. 23: 409-442.
- FRAGOSO, D. B., R. N. C. GUEDES, M. C. PICANCO & L. ZAMBOLIM 2002. Insecticide use and organophosphate resistance in the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae).
- GUHARAY, F., J. MONTERREY, D. MONTERROSO & CH. STAVER. 2000. Manejo integrado de plagas en el cultivo del café. 1ª. ed. Managua: CATIE. 272 p.
- GUHARAY, F. & J. MONTERREY. 1997. Manejo Ecológico del la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en América Central. CATIE, Hoja Técnica MIP No. 22, Septiembre 1997.
- GUHARAY, F., J. MONTERREY, D. MONTERROSO & CH. STAVER. 2000. Manejo Integrado de Plagas de Café. Primera Edición. Managua. CATIE. 272 p.
- HILL, D.N. 1975. Agricultural Insect Pests of the Tropics and their Control. Cambridge University Press. Cambridge 516 p.
- IICA. 2003 estudio de la cadena de comercialización del café. Managua, Nicaragua. 169 p.
- KIMANI, M; T LITTLE & J. G.M. VOS 2002. Introduction to Coffee Management through Discovery Learning. Farmer Participatory Training and Research Program. CABI Bioscience Kenya.
- LE PELLEY, R.H. 1968. Pests of Coffee. Longmans, London Great Britain.

- LE PELLEY, R.H. 1973. Coffee pests. Instituto Cubano del Libro. La Habana Cuba. P 142, 270, 379, 397-405.
- LEUCONA, R.E. 1995. Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Ed. Leucona, R.E. Argentina p. 17-60.
- MAGFOR, 2004. informe preliminar de la producción cafetalera en el ciclo 2003 – 2004. Managua, Nicaragua, 180 p.
- MATHIEU, F., V. GAUDICHON, L.O. BRUN & B. FRÉROT. 2001. Effect of physiological status on olfactory and visual responses of female *Hypothenemus hampei* during host plant colonization. *Physiological Entomology* (2001) 26, 189-193.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA. ICAFE 2000 Una plaga de insectos amenaza las cosechas de café. Costa Rica. Ed. Asesores de publicaciones S.L.
- MONZON, C. A. 2004. Guía para el control biológico de la broca del café (*Hypotenemus hampei*). Guía técnica No. 6. Ed. Alemán, F. Universidad Nacional Agraria 14p.
- PARRA, J.R.P. 1981. Biología comparada de *Perileucoptera coffeella* (Guerin Meneville 1842), (Lepidoptera : Lyonetiidae) visando o seuzoneamento ecológico no Estado de Sao Paulo. Piracicaba ESALQ-USP. 93P.(Tese).
- PÉREZ C. J., P. ALVARADO, C. NARVÁEZ, F. MIRANDA, L. HERNÁNDEZ, H. VANEGAS, A. HRUSKA & A.M. SHELTON. 1999. Assessment of Insecticide Resistance in Five Insect Pests Attacking Field and Vegetable Crops in Nicaragua *Journal of Economic Entomology*: Vol. 93, No. 6, pp. 1779–1787.
- REIS, P. R. & SOUZA J. C. 1986. Influencia das condicoes do tempo sobre a populacao de insectos e ácaros. Informe agropecuário 12, 25-30
- REIS, P. R. & J. C. DE SOUZA. 1998. Manejo Integrado das pragas do cafeeiro em Minas Gerais. Informe Agropecuario, Belo Horizonte, v.19, n.193, p.17-25 1998.
- REIS, R. JR., E. R. LIMA, E. F. VILELA & R. S. BARROS. 2000. Method for Maintenance of Coffee Leaves *In Vitro* for Mass Rearing of *Leucoptera*

- coffeella* (Guérin-Ménéville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). Ann. Soc. Entomol. Brasil 29 (4): 849-854 (2000).
- SIMÁN, J. 1995. Manejo Integrado de Plagas para café de bajo insumo. Generación y Validación de Tecnologías en Nicaragua. In: Avances Técnicos en manejo de plagas del café (1991-1994). Project CATIE/INTA/MIP. Managua, Nicaragua. P. 33-36
- SIMONSEN, O. 2001. Natural Occurrence of Insect Pathogenic Hyphomycetes in the Coffee Leaf Miner *Leucoptera coffeella* (Guérin-Ménéville, 1842) (Lepidoptera:Lyonetiidae) in Nicaragua. The Norwegian Crop Research Institute, The Agricultural University of Norway, Ås 2001.
- SOUZA, J.C., RÉIS P. R. & RIGITANO R.L.O. 1998. Bicho-mineiro do cafeiro: biologia, danos e manejo integrado. 48 pp. Belo Horizonte, Brasil, EPAMIG.
- SOTO-PINTO, L. PERFECTO, I & CABALLERO-NIETO, J. 2002. Shade over coffee: its effects on berry borer, leaf rust and spontaneous herbs in Chiapas, México. Agroforestry Systems 55: 37-45.
- TANADA, Y. & H. K. KAYA 1993. Insect Pathology. Academic Press, INC. San Diego USA.
- UNICAFE, 1996. Manual de caficultura de Nicaragua. Managua, Nicaragua. 242p.
- VILLACORTA, A. 2001. Armadilha com semioquímicos para manejo da broca Instituto Agrônômico do Paraná). In II Simposio de Pesquisa dos Cafés do Brasil - Setembro de 2001.
- VILLACORTA, A. 1980. Algunos factores que afectan a la población estacional de *Perileucoptera coffeella* no Norte do Paraná. Anais Soc. Bras. Entomol. 9(1): 23-32.
- VILLACORTA, A. & Sánchez-Rodríguez, P. L. 1984. Limiar de acción na utilização de inseticidas no manejo de bicho mineiro *Perileucoptera coffeella* Guérin -Ménéville, 1842. (Lepidoptera: Lyonetiidae) no Paraná. Anais Soc. Bras. Entomol., 13(1): 157-165.
- WALSTAD ET, J.D., ANDERSON, R.F. AND STAMBAUGH, W.J. 1970. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi ( *Beauveria bassiana* and *Matarrhizium anisopliae*). Journal of Invertebrate Pathology. 16: 221-226.



WRIGLEY, G. 1988. Coffee. Tropical Agriculture Series. Longman Scientific & Technical 639 p.

## X.- ANEXOS

**Anexo 1.** Análisis de Varianza de la incidencia de *H. hampei* en tres fincas cafetaleras de la zona de El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio- Noviembre 2004.

| Fuente de Variación | Grados de Libertad | Suma de Cuadros | Cuadrado Medio | F calculado | Valor P | Comparación de medias Tukey (0.05) |         |
|---------------------|--------------------|-----------------|----------------|-------------|---------|------------------------------------|---------|
| Fecha               | 8                  | 30.12907        | 3.766134       | 2.05        | 0.1049  | Verania                            | 12.23 A |
| Finca               | 2                  | 452.4767        | 226.2383       | 123.42      | <0.0001 | La Flor                            | 5.18 B  |
| Error               | 16                 | 29.33003        | 1.833127       |             |         | Quitassueño                        | 3.51 C  |
| Total               | 26                 | 511.9358        |                |             |         |                                    |         |

R<sup>2</sup>: 0.94 CV: 9.17

**Anexo 2.** Análisis de varianza para la incidencia de *B. bassiana* sobre *H. hampei* en la finca Verania. El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio - Noviembre 2004.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F calculado | Pr>F  |
|---------------------|--------------------|-------------------|----------------|-------------|-------|
| Fecha               | 8                  | 1336.847630       | 167.105954     | 5.38        | 0.002 |
| Método              | 2                  | 239.108674        | 119.554337     | 3.85        | 0.043 |
| Error               | 16                 | 497.278859        | 31.079929      |             |       |
| Total               | 26                 | 2073.235163       |                |             |       |

R<sup>2</sup>: 0.76 CV: 70.45

**Anexo 3.** Análisis de varianza para la incidencia de *Beauveria bassiana* sobre *H. hampei* en la finca La Flor. El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio - Noviembre 2004.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | f. calculado | Pr>F |
|---------------------|--------------------|-------------------|----------------|--------------|------|
| Fecha               | 8                  | 548.3648519       | 68.5456065     | 1.19         | 0.36 |
| Método              | 2                  | 257.4884519       | 128.7442259    | 2.24         | 0.13 |

|       |    |             |           |  |  |
|-------|----|-------------|-----------|--|--|
| Error | 16 | 920.940015  | 57.558751 |  |  |
| Total | 26 | 1726.793319 |           |  |  |

R<sup>2</sup>: 0.46

CV: 115.78

**Anexo 4.** Análisis de varianza para la incidencia de *B. bassiana* sobre *H. hampei* en la finca Quitasueño . El Coyolar, El Tuma-La Dalia Matagalpa, durante el período Julio - Noviembre 2004.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | f. calculado | Pr>F |
|---------------------|--------------------|-------------------|----------------|--------------|------|
| Fecha               | 8                  | 1177.235000       | 147.154375     | 1.37         | 0.28 |
| Método              | 2                  | 398.037756        | 199.018878     | 1.85         | 0.18 |
| Error               | 16                 | 1719.871511       | 107.491969     |              |      |
| Total               | 26                 | 3295.144267       |                |              |      |

R<sup>2</sup>: 0.47

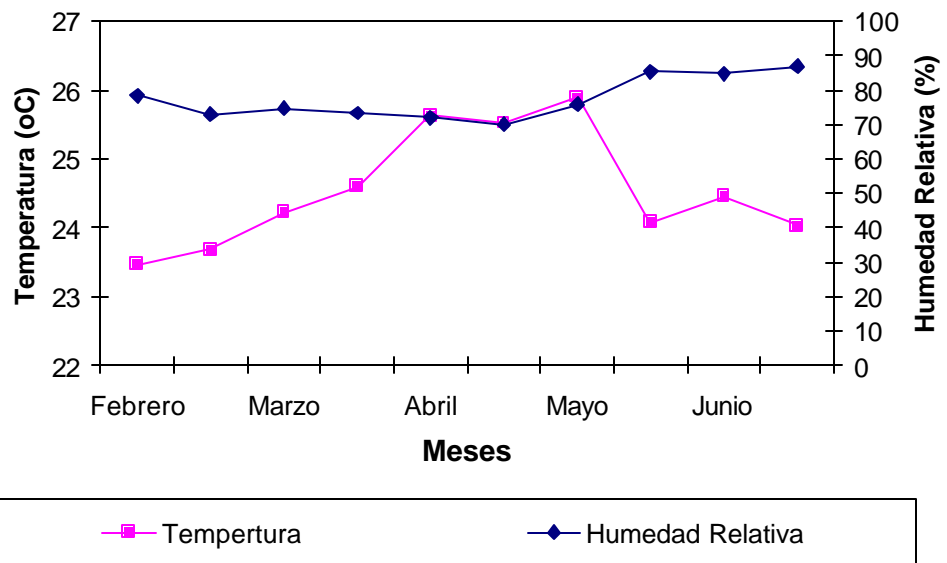
CV: 110.63

**Anexo 5.** Análisis de varianza de la incidencia de *L. coffeella* en tres fincas cafetaleras de la zona de El Coyolar, El Tuma-La Dalia, Matagalpa, durante el período Julio- Noviembre 2004.

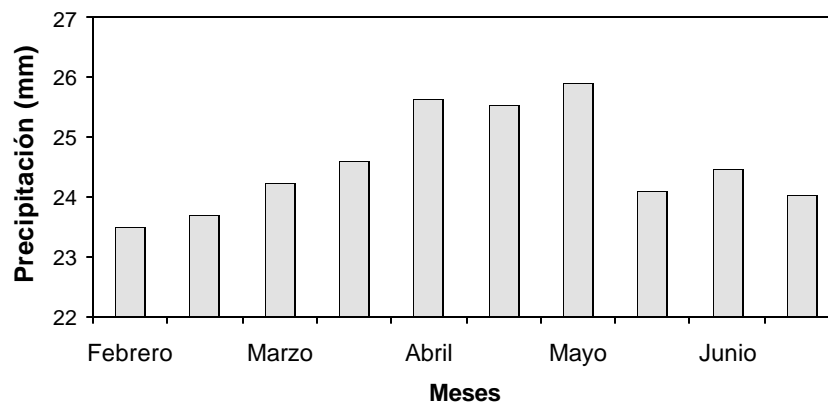
| Fuente de Variación | Grados de Libertad | Suma de Cuadrados | Cuadrado Medio | F calculado | Pr>F   |
|---------------------|--------------------|-------------------|----------------|-------------|--------|
| Fecha               | 6                  | 36.318181         | 6.0530302      | 0.52        | 0.7808 |
| Finca               | 2                  | 215.1387714       | 107.5693857    | 9.29        | 0.0037 |
| Error               | 12                 | 138.9439619       | 11.5786635     |             |        |
| Total               | 20                 | 390.4009143       |                |             |        |

R<sup>2</sup>: 0.64

CV: 21.44



**Anexo 6.** Datos climáticos de Humedad Relativa y Temperatura registrados en la zona de Masatepe, Masaya, durante el primer semestre 2004 (Fuente: INETER).



**Anexo 7.** Datos de precipitación registrados en la zona de Masatepe, Masaya, durante el primer semestre 2004 (Fuente: INETER).