



Úrsulo Galván, Ver. 27/Septiembre/2022  
OFICIO No. 376

**ASUNTO: Autorización de Digitalización**

C. DANIELA GONZALEZ OCHOA  
Nº CONTROL: 17883362  
EGRESADA DEL ITUG  
PRESENTE

Por este conducto me dirijo a usted para comunicarle que su trabajo titulado: "EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS CONTRA LA BROCA DEL CAFÉ". Como opción de Titulación integral mediante: TESIS PROFESIONAL después de haber sido revisado por su Asesor y los integrantes de la Comisión de Revisión y usted haber cumplido con todas las correcciones y los requisitos indispensables, ha sido autorizada su impresión; por lo que deberá entregar a este Departamento un "Producto Formal de Titulación" de color NEGRO, debiendo presentarse en formato digital atendiendo a las instrucciones para tal efecto.

**ATENTAMENTE**  
*Excelencia en Educación Tecnológica®*  
*Nuestro Esfuerzo es Progreso*



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLOGICO  
NACIONAL DE MEXICO

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ÚRSULO GALVÁN**

C. ABDUL DOMÍNGUEZ CAPISTRÁN  
JEFE DEL DEPTO. DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

C.c.p. Archivo  
ADC/mri



Úrsulo Galván, Ver, 27/Septiembre/2022

ASUNTO: Liberación de Proyecto para Titulación integral.

ABDUL DOMÍNGUEZ CAPISTRÁN  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
P R E S E N T E

Por este medio le informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la Titulación integral

Nombre del Egresado	DANIELA GONZALEZ OCHOA
Carrera:	LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
No. de Control	17883362
Nombre del proyecto	EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS CONTRA LA BROCA DEL CAFÉ.
Producto	TESIS PROFESIONAL

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.




ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®  
"Nuestro esfuerzo es progreso"

JORGE RAFAEL LEÓN CARMONA  
JEFE DEL DEPTO. DE INGENIERÍAS

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE URSULO GALVAN

DEPTO. DE INGENIERIAS

 JACEL ADAME GARCIA	 FELIX DAVID MURILLO CUEVAS	 JAZMIN VILLEGAS NARVAEZ
Nombre y Firma del Asesor	Nombre y Firma del Revisor	Nombre y Firma del Revisor

C.c.p. Expediente





**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO®

# INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ÚRSULO GALVÁN

## EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS CONTRA LA BROCA DEL CAFÉ

TESIS PROFESIONAL

Presenta:

**DANIELA GONZALEZ OCHOA**

Para obtener el título de:  
**LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

No. Control: 17883362

Úrsulo Galván, Ver., Septiembre de 2022

## Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a **Dios** por darme vida, salud y por haberme guiado en estos 5 años de mi carrera profesional, por brindarme una vida llena de aprendizajes y experiencias y también agradecerle por permitir que mis padres estuvieran conmigo a lo largo de mi carrera profesional.

Les agradezco a mis padres, por estar en todo momento para apoyarme en mis metas y sueños, gracias por confiar en mí día a día, gracias por ser esos motores que me alientan a salir adelante y nunca detenerme a pesar de las circunstancias. Gracias **Papá** por darme todo tu amor y esfuerzo durante todo este tiempo de mi carrera profesional, porque sin ti no lo hubiera logrado. Gracias **Mamá** por darme todo tu amor, dedicación y oraciones que nunca me dejaron sola a lo largo de todo este tiempo. Gracias a los dos por guiarme a cada momento y por darme esos consejos que nunca olvidare. ¡Por esto y más GRACIAS!

“Sé que soy una mujer muy afortunada, por tener unos padres como ustedes, los adoro tanto y son todo para mí. Este triunfo es de ustedes, porque sin ustedes yo no hubiera sido capaz de lograrlo”.

Muchas gracias a la **Doctora Jacel Adame García**, por permitirme pertenecer a su Laboratorio de Biología Molecular, gracias por brindarme todos sus conocimientos y buenas maneras de aprendizajes, y sobre todo gracias Doctora por brindarme de su amistad y confianza para trabajar con usted. Gracias porque nos enseñó a trabajar en equipo y por siempre tener un consejo para los momentos más difíciles, de igual forma para la formación integral durante el tiempo que forme parte como su alumna y durante la realización de la tesis.

Agradezco al **Doctor Félix Murillo Cuevas** por todo el aprendizaje, por el apoyo, orientación y por ser el revisor de mi tesis profesional, pero sobre todo por haber sido mi profesor en el transcurso de mi carrera. Así mismo también les agradezco a las Maestras **Jazmín Villegas Narváez** y **Adriana Elena Rivera Meza** por el apoyo, enseñanzas, orientación y por revisoras de mi tesis profesional.

También le quiero agradecer a **Aranza** por siempre apoyarme y brindarme de su amistad, cariño y confianza a lo largo de toda la carrera, gracias por esos momentos que vivimos juntas risas, enojos, regaños y sobre todo la complicidad que nos teníamos una a la otra. Gracias por haber sido compañera y amiga a lo largo de la vida universitaria, te convertiste en una familia más para mí y que siempre te llevare en mi corazón.

Le agradezco al **Tecnológico Nacional de México campus Úrsulo Galván** por permitirme pertenecer a su casa de estudios como alumna, por dejarme realizar mis prácticas profesionales y gracias por ser como una segunda casa para mí.

## Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis padres **Dimas González Rendón** y **María Lucía Ochoa** por siempre apoyarme incondicionalmente tanto en lo moral como en lo económico para poder llegar hacer una profesionista. Muchos de mis logros se los debo a ustedes y uno de esos logros principalmente es este.

Así mismo también se la dedico a mis hermanos **Ángel Ricardo González O.** y a **José Arturo González O.** que siempre han estado ahí apoyándome en las buenas y en las malas, gracias Dios por darme a ellos como hermanos y compañeros de vida.

También dedico esta tesis a mi cuñada que ha sido como una hermana para mi **Cristina** y a mi sobrinita **Paola** por siempre apoyarme y siempre alimentándome para seguir adelante a pesar de todo lo que pasa a mi alrededor. Y gracias por siempre festejar cada logro como si fuera el de ustedes.

## RESUMEN

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), es el insecto plaga más importante del cultivo del café (*Coffea* spp.) a nivel mundial. Los daños que causa se caracterizan por una destrucción parcial o total de la semilla o grano de esta planta, lo cual se traduce en una disminución del rendimiento y calidad. En el control biológico de la broca del café se usan hongos entomopatógenos como lo es *Beauveria bassiana* que es el hongo más efectivo y más usado (Pacheco et al., 2019). Los hongos entomopatógenos son un sistema viable para el control de plagas de insectos en la agricultura con un mercado en crecimiento y un modelo importante para los estudios de interacción huésped-patógeno (Schrank & Vainstein, 2010). El proceso de infección se puede dividir en tres etapas: 1. Adhesión de las esporas a la cutícula del insecto, y germinación; 2. Penetración de la cutícula del insecto; 3. Desarrollo del hongo en el interior del insecto, que generalmente termina en la muerte de éste (Góngora, Marín & Benavides, 2013). El objetivo evaluar la patogenicidad de los hongos entomopatógenos contra la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). En este trabajo se establecieron tres sitios en huertas de café ubicadas en la comunidad de Naranjos municipio de Totutla Ver., se recolectaron 100 cerezas de café brocadas, las cuales se disectaron para buscar adultos vivos y muertos. En el sitio 1 se aislaron 21 hongos entomopatógenos, en el sitio 2 se aislaron 31 hongos y por último en el sitio 3 se aislaron 22 hongos entomopatógenos limpios sin ninguna presencia de contaminación en el medio de cultivo. En los tres sitios establecidos se identificaron los siguientes hongos entomopatógenos, con sus distintas características morfológicas: siete hongos entomopatógenos de la especie *Beauveria bassiana*, 16 hongos entomopatógenos de *Metarhizium anisopliae*, nueve hongos entomopatógenos *Hirsutella* sp., nueve hongos entomopatógenos *Fusarium* spp., tres hongos entomopatógenos *Lecanicillium lecanii*, 11 hongos entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus* y por ultimo ocho hongos entomopatógenos *Paecilomyces farinosus*. Los hongos entomopatógenos aislados en el medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa adicionado con 0.1% de extracto de levadura (ADS+EL), tuvieron un mejor desarrollo y un rápido crecimiento de cepas. Los hongos

entomopatógenos aislados en el medio de cultivo PDA no tuvieron un buen desarrollo de cepas, ni presentaron rápido crecimiento de cepas y además en el sitio 1 hubo 2 hongos que no tuvieron ningún desarrollo, no crecieron solo hubo presencia de contaminación. Los primeros hongos entomopatógenos que empezaron atacar al insecto fueron los siguientes S1H4, S1H14, S1H15, S1H16, S1H18 y S1H20. Y estos hongos a los tres días después de colocarlos en las cámaras húmedas ya tenían esporulación. Los siguientes hongos entomopatógenos que tardaron un poco más de tiempo en atacar a los insectos fueron los siguientes S1H3, S1H5, S1H7 y S1H19.



## ÍNDICE

Contenido

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	5
IV. OBJETIVOS .....	7
4.1. General .....	7
4.2. Particulares .....	7
V. HIPÓTESIS.....	8
VI. MARCO TEÓRICO.....	9
6.1. Generalidades de la Broca del café <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) .....	9
6.1.1. Clasificación Taxonómica .....	9
6.1.2. Distribución .....	10
6.1.3. Dispersión .....	10
6.1.4. Medios de diseminación y hospederos .....	11
6.2. Ciclo de vida.....	12
6.2.1. Huevo.....	12
6.2.2. Larva y Prepupa.....	12
6.2.3. Pupa.....	13
6.2.4. Adulto.....	13
6.3. Comportamiento de la Broca del Café .....	13
6.4. Daño e Importancia.....	14
6.5. Ecología de la broca .....	14
6.6 Hongos entomopatógenos .....	15
6.6.1 <i>Beauveria bassiana</i> .....	16
6.6.2 <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	16
6.6.3 <i>Fusarium</i> ssp.....	17
6.6.4 <i>Hirsutella</i> sp. ....	18
6.6.5 <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> .....	19
6.6.6 <i>Paecilomyces farinosus</i> .....	20

6.6.7 <i>Lecanicillium lecanii</i> .....	21
6.7 Mecanismo de infección del hongo entomopatógeno al insecto .....	21
VII. MATERIALES Y MÉTODOS .....	23
7.1 Establecimiento de sitios de muestreo .....	23
7.2 Preparación de medios para el aislamiento de los hongos .....	23
7.3 Identificación de hongos .....	24
7.4 Caracterización fisiológica .....	24
7.5 Caracterización patogénica .....	24
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	25
IX. CONCLUSIONES .....	47
X. RECOMENDACIONES .....	49
XI. FUENTES DE CONSULTA .....	50
XII. ANEXOS .....	55

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Descripción del proceso de infección del hongo entomopatógeno <i>Metarhizium anisopliae</i> al insecto.....	17
Figura 2. Proceso de colonización de <i>H. hampei</i> por el hongo entomopatógeno.....	22
Figura 3. Presencia de bacteria en los insectos del Sitio 1.....	26
Figura 4. Un poco de presencia de hongo en los insectos del Sitio 2.....	26
Figura 5. Poco de presencia de hongo en los insectos del sitio 3.....	27
Figura 6. Crecimiento de hongo del sitio 1.....	27
Figura 7. Crecimiento de hongo del sitio 2.....	28
Figura 8. Crecimiento de hongo del sitio 3.....	28
Figura 9. Hongos aislados del sitio 1.....	29
Figura 10. Hongos aislados del sitio 2.....	29
Figura 11. Hongos aislados del sitio 3.....	30
Figura 12. Hongo entomopatógenos <i>Beauveria bassiana</i> .....	31
Figura 13. Hongo entomopatógeno <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	32
Figura 14. Hongo entomopatógeno <i>Hirsutella</i> sp.....	32
Figura 15. Hongo entomopatógeno <i>Fusarium</i> ssp.....	33
Figura 16. Hongo entomopatógeno <i>Lecanicillium lecanii</i> .....	34
Figura 17. Hongo entomopatógeno <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> .....	34
Figura 18. hongo entomopatógeno <i>Paecilomyces farinosus</i> .....	35
Figura 19. Cepas de hongos entomopatógenos no identificados.....	36

Figura 20. Medidas de crecimientos de los hongos entomopatógenos a los 5 días de siembra, aislados en el medio de cultivo ADS+EL del sitio 1.....	37
Figura 21. Medidas de crecimientos de los hongos entomopatógenos a los 5 días de siembra, aislados en el medio de cultivo ADS+EL del sitio 2.....	38
Figura 22. Medidas de crecimientos de los hongos entomopatógenos a los 5 días de siembra, aislados en el medio de cultivo ADS+EL del sitio 2.....	39
Figura 23. Medidas de crecimientos de los hongos entomopatógenos a los 5 días de siembra, aislados en el medio de cultivo ADS+EL del sitio 3.....	40
Figura 24. Medidas de crecimiento de los hongos entomopatógenos a los 10 días de siembra, aislados en el medio de cultivo PDA del sitio 1.....	41
Figura 25. Medidas de crecimiento de los hongos entomopatógenos a los 10 días de siembra, aislados en el medio de cultivo PDA del sitio 2.....	42
Figuras 26. Medidas de crecimiento de los hongos entomopatógenos a los 10 días de siembra, aislados en el medio de cultivo PDA del sitio 2.....	43
Figura 27. Medidas de crecimiento de los hongos entomopatógenos a los 10 días de siembra, aislados en el medio de cultivo PDA del sitio 3.....	44
Figura 28. Primeros hongos entomopatógenos (S1H4, S1H14, S1H15), en atacar a la broca de café.....	45
Figura 29. Primeros hongos entomopatógenos (S1H6, S1H18, S1H20), en atacar a la broca de café.....	45
Figura 30. Hongos entomopatógenos (S1H3, S1H15), que tardaron en atacar a la broca del café.....	46
Figura 31. Hongos entomopatógenos (S1H7, S1H19), que tardaron en atacar a la broca del café.....	46

## I. INTRODUCCIÓN

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), es el insecto plaga más importante del cultivo del café (*Coffea spp.*) a nivel mundial. Los daños que causa se caracterizan por una destrucción parcial o total de la semilla o grano de esta planta, lo cual se traduce en una disminución del rendimiento y calidad. Con la finalidad de evitar o reducir estos daños, a lo ancho del mundo se han realizado diversas investigaciones básicas y aplicadas que permitan derivar métodos de control de bajo costo económico, pero también, con nulo o bajo impacto ambiental (Barrera et. al., 2004).

En el caso del cultivo del café en México, el uso de métodos de control ambientalmente seguros es muy importante porque los cafetales son refugio de una alta diversidad biológica y porque nuestro país ocupa el primer lugar como productor de café orgánico (Barrera et. al., 2004). Es de vital importancia para el productor cafetalero implementar estrategias para el control de la broca del café inmediatamente que se detecte su presencia, pues se extiende y multiplica a una velocidad impresionante causando enormes pérdidas en los cultivos y en el grano cosechado. Es por ello que se pretende demostrar que existe una mejor manera para controlar la broca del café como lo es el control biológico.

En el control biológico de la broca del café se usan hongos entomopatógenos como lo es *Beauveria bassiana* que es el hongo más efectivo y más usado (Pacheco et al., 2019). Sin embargo, resulta necesario aislar hongos entomopatógenos que estén adaptados a la zona productora de café, por lo que en este trabajo se aislaron, seleccionaron con base a su capacidad patógena e identificaron de manera morfológica y fisiológica hongos entomopatógenos con potencial para ser usados como control biológico contra la broca del café.

*Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* son los hongos entomopatógenos mejor caracterizados y los más utilizados en programas de control biológico entre varias otras especies descritas. Alrededor de 13 especies o subespecies de ambos hongos han sido formuladas y registradas como micoinsecticidas o micoacaricidas (Schrank & Vainstein, 2010).

El modo de infección de los hongos filamentosos es objeto de una intensa investigación dedicada a dos objetivos principales: la caracterización de los factores de virulencia que pueden mejorar el proceso de infección y los mecanismos de especificidad del huésped, una de las ventajas más importantes de la biología (Schrank & Vainstein, 2010).

Generalmente, las conidias (esporas asexuales) son la forma infecciosa y comparten el mismo entorno con los huéspedes potenciales. Si los conidios encuentran la cutícula de un huésped susceptible, el proceso de infección comienza con la unión y la formación de tubos germinativos. Tanto el entomopatógeno como el huésped desencadenan la expresión de genes relacionados con estructuras de infección y enzimas hidrolíticas por parte del hongo o con mecanismos de defensa por parte del huésped. Normalmente, la infección tendrá éxito por la ruptura de la cutícula y, a medida que las hifas en crecimiento alcanzan la hemolinfa, se produce la colonización del cuerpo huésped. Curiosamente, el sistema está bien conservado en la naturaleza y la invasión de los tejidos de los insectos se asemeja al proceso que ocurre con los hongos patógenos de las plantas, incluida la formación de tubos germinativos, apresorios y clavijas de penetración. (Schrank & Vainstein, 2010).

## II. ANTECEDENTES

La broca del café es el insecto plaga más importante de la caficultura debido a las pérdidas que ocasiona. En Colombia a través de una investigación se ha desarrollado un programa de manejo integrado con el fin de asegurar la biodiversidad y estabilidad ecológica de la zona cafetera, basado en procedimientos de control biológico de esta plaga (Pardey, 2005).

En esta investigación se dice que *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* son usados para controlar la broca del café. Estudios previos demostraron que una mezcla de cepas diferentes genéticamente de *B. bassiana* era más virulenta que las cepas individuales. Para validar el efecto de esta mezcla y su combinación con *M. anisopliae*, se evaluó primero la virulencia en laboratorio y el efecto sobre la oviposición del insecto; los tratamientos fueron: –mezcla Cenicafé (Bb9001, Bb9024, Bb9119), –*M. anisopliae* Ma9236, –mezcla Cenicafé más Ma9236 y –agua (testigo) (Jaramillo, Montoya & Benavides, 2015).

El control de la broca se debe enfocar a través de un programa de manejo integrado que comprende el conocimiento de los factores que componen el ecosistema cafetero y sus interacciones. Es necesario conocer la fenología del cultivo en las zonas donde se presente la broca, especialmente lo relacionado con las épocas de floración y la edad de los frutos a la cual son susceptibles de ser atacados. Además, conocer la biología, comportamiento, potencial de reproducción y dispersión de la broca, enemigos nativos, para poder detectar el momento de mayor vulnerabilidad. Los cultivos de café tecnificados, bien trazados, renovados por podas y zoqueos oportunos, facilitan las labores de control del insecto (Bustillo, Cárdenas, Villalba, Benavides, Orozco & Posada, 1998).

CENICAFE tiene un programa de investigación con los hongos entomopatógenos a la broca del café que comprende el aislamiento y colección en el cepario, la realización de pruebas de patogenicidad, selección y evaluación de métodos de producción, evaluación de los métodos de aplicación y eficiencia en campo, compatibilidad con plaguicidas y seguridad a la fauna benéfica con el objetivo final de producir un bioinsecticida. Los resultados indican que la cepa aislada de *S. cecropia* es poco patogénica sobre la broca del café en relación al tiempo de mortalidad a nivel del suelo (Posada, 1993).

En los últimos diez años el uso actual de hongos, principalmente *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*, está aumentando alcanzando escala comercial en países como Brasil, China y México entre otros. Al mismo tiempo, se han producido importantes avances en la comprensión de los aspectos moleculares de la patogenia y en el desarrollo de herramientas para validar factores de virulencia putativos mediante la construcción de cepas con sobreexpresión. Esta riqueza de conocimientos está ayudando a acceder a cepas más eficientes de la biodiversidad y a optimizar la formulación para el uso a gran escala de esta forma eficiente, económica y ambientalmente más segura de control de plagas de insectos (Schrank & Vainstein, 2010).



### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la mayoría de los países cafeteros el control de la broca del café ha estado fundamentado en el uso de insecticidas; sin embargo, la resistencia a algunos de los productos y los problemas de contaminación ambiental y las características de la biología de esta plaga limitan el uso de éstos productos. Por lo tanto, se ha diseñado una estrategia de manejo integrado con énfasis en el control biológico mediante el uso de parasitoides de origen africano y algunos hongos entomopatógenos como son *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Orozco & Aristizábal, 1996).

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), es el insecto plaga más importante del cultivo del café (*Coffea spp*) a nivel mundial. Los daños que causa se caracterizan por una destrucción parcial o total de la semilla o grano de esta planta, lo cual se traduce en una disminución del rendimiento y calidad. Con la finalidad de evitar o reducir estos daños, a lo ancho del mundo se han realizado diversas investigaciones básicas y aplicadas que permitan derivar métodos de control de bajo costo económico, pero también, con nulo o bajo impacto ambiental. En el caso del cultivo del café en México, el uso de métodos de control ambientalmente seguros es muy importante porque los cafetales son refugio de una alta diversidad biológica y porque nuestro país ocupa el primer lugar como productor de café orgánico (Barrera, Villacorta & Herrera, 2004).

La broca del café, es el principal problema entomológico que afecta la caficultura en muchos países del mundo, debido a que ataca los frutos directamente reduciendo su valor comercial y en muchos casos, ocasiona la caída prematura de los mismos. El control de la broca del café no ha sido una tarea fácil debido a que gran parte de su ciclo de vida transcurre en el interior de los granos, donde los productos químicos no pueden actuar; por esta razón, Cenicafé ha planteado diferentes estrategias de manejo integrado para

disminuir las poblaciones del insecto que emergen de los frutos infestados del suelo y mantener los niveles de plaga por debajo del umbral de daño económico. Dentro de estas estrategias, el control biológico con hongos entomopatógenos ha sido una herramienta apropiada, debido a que las conidias pueden permanecer viables sobre la superficie de los granos o del suelo e infectar a los insectos una vez emergen (Jaramillo, Montoya, & Benavides, 2015).

## **IV. OBJETIVOS**

### **4.1. General**

- Evaluar la patogenicidad de los hongos entomopatógenos contra la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae).

### **4.2. Particulares**

- Aislar en medios de cultivo hongos entomopatógenos nativos de la zona productora de café de la comunidad de Naranjos municipio de Totutla Ver.
- Identificar los hongos entomopatógenos a nivel género de acuerdo a sus características morfológicas y fisiológicas.

## V. HIPÓTESIS

Por medio de la evaluación de la patogenicidad de hongos entomopatógenos nativos de la zona productora de café, se obtendrán cepas potenciales para desarrollar un control biológico contra *H. hampei* plaga de importancia económica en la comunidad de Naranjos municipio de Totutla Veracruz.

## VI. MARCO TEÓRICO

### 6.1. Generalidades de la Broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae)

La broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae) es la plaga más importante que afecta los cultivos de café a nivel mundial. Los daños que causa se caracterizan por una destrucción parcial o total de la semilla o grano de esta planta, lo cual se traduce en una disminución del rendimiento y calidad del fruto (Botero, 2019).

#### 6.1.1. Clasificación Taxonómica

Según Briceño (2017) la clasificación taxonómica de la broca del café es la siguiente:

Clase: Insecta

Subclase: Pterygota

Orden: Coleóptera

Suborden: Poliphaga

Superfamilia: Rhynchophora

Familia: Scolitidae

Subfamilia: Ipinae

Género: *Hypothenemus*

Especie: *Hypothenemus hampei* (Ferrari)

Nombre científico: *H. hampei*

### **6.1.2. Distribución**

La distribución geográfica de la broca del café se dice que es originaria del este y centro de África. A partir de muestras de broca provenientes de 17 países en tres continentes (África, Asia y América), confirmaron el origen de esta plaga en Etiopía, y documentaron su dispersión mundial y la invasión de Asia y América a partir de insectos del Oeste Africano. Actualmente, la broca se encuentra en la mayoría de los países productores de café. Esta plaga ha pasado de un país a otro mediante semillas infectadas, en sacos y contenedores, su introducción al Continente Americano fue a través de Brasil, mediante semillas importadas de África o de Java en 1913, desde este país se expandido a todos los demás países productores (Perú 1962, Guatemala 1972, Honduras 1977, México y Jamaica 1978, El Salvador y Ecuador 1981, Nicaragua y Colombia 1988, R. Dominicana 1995 y Costa Rica 2000) causando reducciones significativas en la producción y calidad de los frutos (Briceño, 2017).

### **6.1.3. Dispersión**

La dispersión de la broca del café, la forma como se da la dispersión de la broca está estrechamente ligada al ciclo del café. Las hembras que provienen de los frutos residuales son las que originan principalmente la fase de dispersión, y esto por consiguiente les permite colonizar los frutos resultantes de las nuevas floraciones. Las hembras salen de los frutos, en respuesta al aumento de la humedad relativa del ambiente, las temperaturas elevadas favorecen la salida de las brocas de los frutos y es durante el periodo más caliente del día, cuando se da una mayor actividad de dispersión. La mayor distancia de vuelo alcanzada por este insecto es de aproximadamente 350 metros. De manera general, la broca del café no se disemina realizando vuelos largos, lo que hace a este insecto un mal volador; su dispersión se hace a distancias cortas, 200 a 300 metros como máximo, la broca del café tiene una dispersión agregada o de contagio

dentro del cafetal, o sea que no se encuentra infestando uniformemente todo el predio, sino que se encuentra en focos (Briceño, 2017).

#### **6.1.4. Medios de diseminación y hospederos**

Muchos investigadores afirman que se alimenta, desarrolla y reproduce en las cerezas de las especies del género *Coffea*; sin embargo, se ha señalado que la broca puede alimentarse y desarrollar su ciclo de vida en las cerezas de *Oxyanthus* spp. y los granos y vainas de *Dalium lacourtiana* y *Cajanus cajan*; este insecto también se refugia temporalmente en cápsulas, vainas, granos o frutos de varias especies de plantas (*Phaseolus lunatus*, *Rubus* sp., *Vitis lanceolaria*, *Crotalaria* sp., *Centrosema plumieri*, *Cesalpinia* sp., *Leucaena glauca*, *Acacia decurrens*, *Eriobothrya japonica*, *Pisum sativum*, *Zea mays*, *Arachis hypogaea*, *Ricinus* sp., *Hibiscus* sp., etc.); sin embargo, en estos no se alimenta ni desarrolla, su vuelo inicial es esencialmente ascendente para tomar ventaja de las corrientes de aire que las transportan en ocasiones a varios cientos de metros, se observó que la broca que queda en las cerezas en el suelo, sube caminado y al tener cierta altura emprenden el vuelo, siendo su caminata más larga observada sobre el suelo de 12 m (Dianderas, 2019).

La altura en que se mueve la broca cambia según la época del año, de acuerdo con la fenología del cultivo y disponibilidad de alimento, por lo que al colocar trampas en las ramas intermedias en el cafeto, a alturas de 0.5, 1.5 y 2.5 m del suelo la mayor captura se presentó a 1.5 m del suelo, lo que es atribuido a que en esta altura, correspondiente el tercio medio de la planta, se ubica la mayor proporción de brocas en el fruto, en 2.5 m se presentó menores capturas debido a que la intensa radiación solar no favorece la actividad del individuo a esa altura; en México durante la época de migración la broca vuela a mayor altura (60 % de capturas a alturas de 2.5 m). Durante el resto del año, el 70 % de las brocas fueron capturadas a 1 m de altura. Esto implica que posteriormente a

la cosecha, debido a la escasez de granos, la broca busca dispersarse a mayor distancia. Por el contrario, durante el periodo productivo del café el vuelo se da a corta distancia, lo que explica las mayores capturas a altura de 1.0 m (Dianderas, 2019).

## **6.2. Ciclo de vida**

El ciclo de vida de la broca del café tiene una duración entre 24 y 45 días, la hembra perfora el fruto por la corona y dos días después coloca entre 35 y 50 huevos, que al eclosionar lo hacen en una proporción de aproximadamente 13 hembras por cada macho, por lo que existe una alta endogamia, porque el macho no puede volar y por tanto no sale del fruto donde nació, así que generalmente las hembras copulan con sus hermanos antes de salir a ovopositor en otro fruto (Cabrera y Alejandro, 2019)

### **6.2.1. Huevo**

Son de color blanco, elípticos, brillosos y pequeños (0,5 a 0,8 mm de longitud), el periodo de incubación es aproximadamente entre 2 y 4 huevos/días, la hembra coloca hasta 75 huevos en su vida puede permanecer alrededor de 15 días ovipositando, con una incubación que dura en promedio 7,6 días. De esta manera una hembra produce varias descendencias consecutivas a lo largo de un cultivo de café (Cabrera y Alejandro, 2019).

### **6.2.2. Larva y Prepupa**

El estado de larva dura 15 días para los machos y 19 días para las hembras y la prepupa dos días, por consiguiente, después de cuatro a diez días de colocación, las larvas nacen y tienen una longitud entre 0,72 y 0,84 mm. Además, se definen claramente dos instares



larvales: en el primero se observan las larvas ápodas de color blanco cremoso con la cabeza más oscura, con tamaño promedio de 0,83 mm (esta es la fase fisiológica en la cual la broca causa mayor daño al fruto de café), y el segundo corresponde a la pre-pupa, fase en la cual la larva detiene su alimentación y madura fisiológicamente para convertirse en pupa con un tamaño promedio de 2 mm (Cabrera y Alejandro, 2019).

### **6.2.3. Pupa**

La larva se transforma en pupa en el interior de la semilla destruida y en este momento del ciclo no se alimenta esta fase tiene una duración promedio de 6,4 días, además son de color blanco y se tornan marrones a medida que se forman los apéndices externos (antena, patas y alas). El tamaño de las pupas varía de acuerdo al sexo, con un promedio de 1,89 mm las hembras y 1,22 mm los machos (Cabrera y Alejandro, 2019).

### **6.2.4. Adulto**

El tiempo que le toma a la broca llegar al periodo de adultez puede variar entre una semana y un mes, dependiendo de la temperatura y la consistencia del endospermo de la semilla, con un promedio de vida para las hembras entre 35- 45 días y los machos aproximadamente. Los adultos recién emergidos son de color marrón, pero a medida que maduran se tornan de color negro, con un tamaño promedio de 1,08 mm para las hembras y 1,64 mm para los machos. Cabe mencionar que el adulto macho de la broca solo tiene función reproductora, son de menor tamaño, y se encuentra siempre en el interior de los frutos, además es incapaz de perforar un fruto (Cabrera y Alejandro, 2019).

## **6.3. Comportamiento de la Broca del Café**

Todos los estadios de la broca del café se dice que se desarrollan en el interior de los granos, los adultos emergidos permanecen en el interior del fruto por unos 3 o 4 días a cabo de las cuales alcanzan su madurez sexual y empiezan a copular. Para reproducirse prefiere en primer lugar los frutos sobre maduros, en segundo los maduros y en tercer lugar los verdes. Las hembras perforan las cerezas por el “ombligo”, labor que dura de 5 a 7 horas, hasta llegar a la semilla donde se alimenta y empieza el proceso reproductivo, la ovoposición suele aumentar desde el noveno día de nacida (12.5 huevos/día) hasta el día 24 y después declina notablemente. Los machos no pueden volar por lo que nunca salen del interior del grano donde nacieron. Las hembras después de fecundadas abandonan los frutos dañados y van en busca de frutos sanos para ovipositar, al término de la ovoposición, la hembra permanece en el interior de la galería hasta el completo desarrollo de la nueva generación (Dianderas, 2019).

#### **6.4. Daño e Importancia**

En las zonas húmedas, donde hay lluvias bien distribuidas a lo largo de todo el año, la floración es casi continua, por tanto, hay frutos disponibles para ser atacados por la broca, favoreciendo el aumento de la población, la broca daña directamente el producto que se desea cosechar, estos daños son causados por la hembra adulta, la cual penetra por la corona del fruto hasta llegar al endospermo, lugar de alimento de las larvas y adultos, generalmente sólo un endospermo es dañado, los frutos brocados reducen su peso entre un 5 a 42 % dependiendo del tipo de daño que causó en el fruto, el daño económico de la broca es alto, una infestación del 27 % produce 8.4 % de pérdidas en el ingreso potencial de las familias cafetaleras (Arias, 2018).

#### **6.5. Ecología de la broca**

La broca del café es atraída al fruto por su olor, color y forma, también por los desechos de frutos brocados, como las heces de las mismas brocas, su mayor actividad de dispersión ocurre en la tarde, entre las 14 y 18 horas, algunas hembras pueden volar hasta 375 m, aunque la mayoría vuelan menos de 50 m. Las brocas son más activas en ambientes sombríos y alta humedad, pero en condiciones de baja humedad (menor a 50 % HR) la mortalidad aumenta. La broca afecta la plantación en forma localizada es decir en focos, pero dentro de la planta el tercio medio es más afectada, este insecto se desarrolla bien en altitudes de 400 a 1300 msnm logrando tener muchas generaciones al año, esta plaga es exclusiva del café por lo tanto no posee hospedantes alternantes; sin embargo, de una campaña a otra la broca permanece refugiada en el interior de los frutos caídos o los que no fueron cosechados, encontrándose una población considerable por grano (más de 50 por fruto en el suelo), que emergen con el inicio de las lluvias para afectar la nueva cosecha (Arias, 2018).

## **6.6 Hongos entomopatógenos**

Los primeros microorganismos que se identificaron como causantes de enfermedades en insectos fueron los hongos, debido a que era posible observar su crecimiento sobre el cuerpo de éstos. Los hongos patógenos de insectos, conocidos como hongos entomopatógenos, penetran, invaden y se multiplican dentro de los insectos. En el grupo de los patógenos de insectos, una característica particular de los hongos es que no requieren ser ingeridos por el insecto para causar la enfermedad, ya que pueden penetrar a través de su cutícula. Su crecimiento y desarrollo está limitado principalmente por condiciones medioambientales adversas, especialmente la radiación solar, la baja humedad y las altas temperaturas. Las unidades de reproducción de los hongos son llamadas esporas o conidias, que usualmente son las que infectan a los insectos (Góngora, Marín & Benavides, 2013).

Los hongos entomopatógenos son un sistema viable para el control de plagas de insectos en la agricultura con un mercado en crecimiento y un modelo importante para los estudios de interacción huésped-patógeno (Schrank & Vainstein, 2010).

### **6.6.1 *Beauveria bassiana***

*Beauveria bassiana* es un hongo imperfecto, capaz de infectar a más de 200 especies de insectos. El hongo invade el tracto digestivo del insecto y se alimenta de su interior y lo momifica (Moore y Prior, 2015).

*Beauveria bassiana* produce una invasión y una proliferación de las hifas en el tracto digestivo. Este paso ocurre luego de la muerte del insecto, ocasionado por daño mecánico, desnutrición y toxicidad, y es cuando las hifas secretan un antibiótico (oosporina), que ataca las bacterias del intestino. Este hongo tiene la apariencia de algodón blanco, cambiando a amarillo mientras se desarrolla y culminando con un color crema polvoriento, colonia blanca y polvoriento inicial (Moore y Prior, 2015).

### **6.6.2 *Metarhizium anisopliae***

*Metarhizium anisopliae* infecta a huéspedes susceptibles a través de la penetración directa a través de la cutícula. A los efectos de la descripción (Figura 1) el proceso de infección se puede dividir en: (1) adherencia de los conidios a la cutícula del huésped a través de interacciones hidrofóbicas y material mucilaginoso delgado; (2) germinación y desarrollo de conidios; (3) diferenciación del tubo germinativo en apresorios; (4) penetración de la cutícula; (5) diferenciación de hifas en blastosporas/cuerpos de hifas en la hemolinfa; (6) colonización del huésped; (7) extrusión a la superficie del cadáver

huésped y (8) formación de conidióforos y producción de conidios (Schrank & Vainstein, 2010).

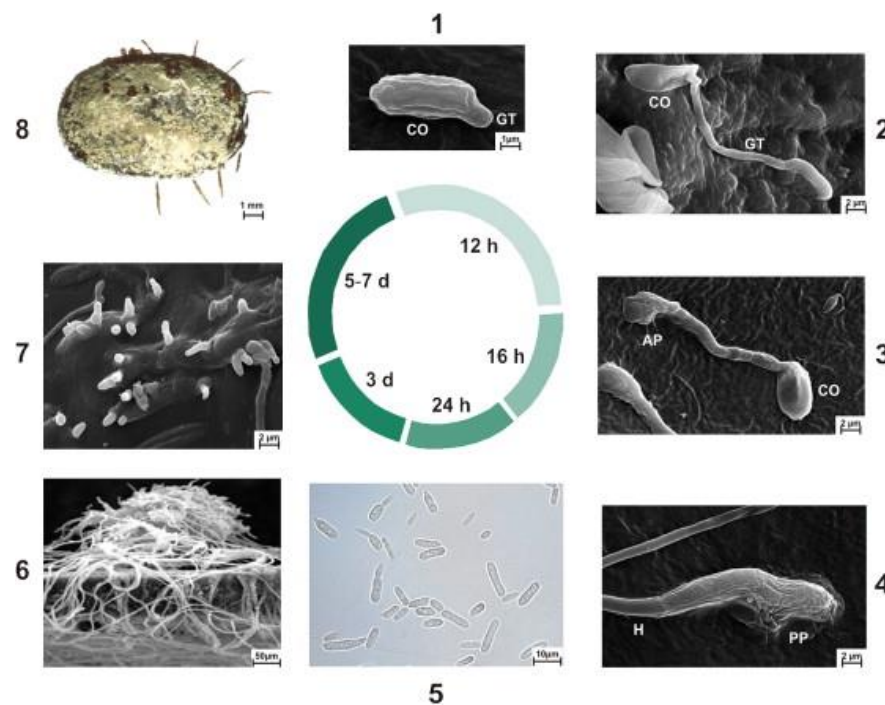


Figura 1. Descripción del proceso de infección del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* al insecto. Fuente (Schrank & Vainstein, 2010).

Las colonias de *Metarhizium anisopliae* en PDA presentan un crecimiento de micelio con borde blanco y con grupos de conidióforos que se tornan coloreados al multiplicarse las conidias, con diferentes variaciones de color: de olivo a amarillo verdoso, de olivo a verde, decolorada en el envés, de color miel o amarillo pálido y pigmento amarillo que se difunde en el medio (Schrank & Vainstein, 2010).

### 6.6.3 *Fusarium* spp.

*Fusarium* spp es un género cosmopolita altamente versátil que tiene la capacidad de desarrollar estructuras de resistencia para sobrevivir en ambientes adversos, así también

puede sintetizar una amplia variedad de enzimas y micotoxinas que le permiten infectar una gran cantidad de organismos, por lo que puede presentarse en el ambiente como entomopatógeno. Esto nos hace cuestionarnos sobre el papel biológico que desempeña esta especie en el ambiente, ya que varios autores han reportado que *Fusarium* puede controlar una amplia variedad de plagas de importancia económica (Castillo, Vega, Lezcano, Piepenbring & Cáceres, 2013).

*Fusarium* spp. presenta características microscópicas propias de la especie. Las características microscópicas de *Fusarium* spp. varían dependiendo del medio de cultivo en el que se desarrolle. El medio PDA permiten observar la morfología de colonia y pigmento (café, rojo, violeta, naranja, gris, blanco) difusible al medio (Castillo, Vega, Lezcano, Piepenbring & Cáceres, 2013).

*Fusarium* ssp. en cultivo presenta un micelio de color blanco algodonoso con pigmentación rojo naranja en el medio de cultivo, conidióforos simples, cilíndricos, laterales, con clamidósporas laterales e intercalares, microconidios cilíndricas ovoides (Castillo, Vega, Lezcano, Piepenbring & Cáceres, 2013).

*Fusarium*, las colonias de este hongo pueden tener diferentes coloraciones o presentar pigmentaciones en el medio en que se encuentran estas pueden ser: naranjas, rosadas, amarillas, crema, violáceas y producen dos tipos de conidias, macro y micro conidias (Castillo, Vega, Lezcano, Piepenbring & Cáceres, 2013).

#### **6.6.4 *Hirsutella* sp.**

El hongo entomopatógeno *Hirsutella* ha sido considerado como un agente potencial de biocontrol. Sin embargo, este hongo cuenta con características como crecimiento micelial

lento, producción reducida de conidios con germinación lenta (Raymundo, García, López, Ramírez & Rodríguez, 2019).

*Hirsutella* sp. es uno de los hongos entomopatógenos más abundantes e importantes y podría desempeñar un papel importante en el control de plagas de insectos en la naturaleza. El género *Hirsutella* fue erigido por Patouillard (1892), basado en la especie tipo *H. entomophila* Pat., que describió a partir de un espécimen recolectado sobre un escarabajo en Ecuador. Minter y Brady (1980) dividieron este género entomopatógeno en dos secciones (*Synnematous* y *Mononematous*) con base en la presencia o ausencia de sinnemas. La mayoría de las especies de *Hirsutella* son sinnematosos, algunos son mononematosos y algunos otros ocasionalmente producen sinnemas. Se cree que muchos miembros son anamorfos de teleomorfos dentro de los géneros *Cordyceps* y *Torrubiella*. Incluyen más de 90 especies que infectan y parasitan una variedad de especies de invertebrados, como ácaros, nematodos e insectos, muchos de los cuales son plagas económicamente importantes (Toledo, Simurro & Balatti, 2013).

*Hirsutella* sp. forma colonias de forma afelpada, color gris o gris oliváceo y en ocasiones blanco, los conidios se producen de manera solitaria o en agrupaciones de dos o tres y presentan una morfología ovoide y verrugosa (Toledo, Simurro & Balatti, 2013).

#### **6.6.5 *Paecilomyces fumosoroseus***

*Paecilomyces fumosoroseus* es un hongo entomopatógeno utilizado para el control de plagas que afectan a cultivos de gran importancia económica. Debido a que *Paecilomyces fumosoroseus* tiene grandes perspectivas en el control biológico (Pérez, Elósegui & Padrón, 2003).

El hongo *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: *Hyphomycetes*) es un patógeno de amplio intervalo de hospederos y gran distribución geográfica, que ha sido aislado del suelo y de insectos de diversos órdenes como homópteros, coleópteros y colémbolos. La patogenicidad de este hongo y su uso potencial como biocontrolador está documentado y se ha desarrollado con éxito en algunos productos comerciales derivados del mismo (Chan, Ruiz, Cristóbal, Pérez, Munguía & Lara, 2010).

El género *Paecilomyces fumosoroseus* presenta hifas hialinas a amarillosas, septadas, de paredes delgadas. La mayoría presenta ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de fiálides, las cuales pueden ser solitarias. Las fiálides constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio. Los conidióforos llevan cadenas de conidias; éstas son hialinas, unicelulares y de forma ovoide (CUPUL, 2009).

*Paecilomyces fumosoroseus* tiene una consistencia algodonosa color café cremoso, crece con micelio blanco, crecimiento expandido las conidias son menores a 3.5 µm, el color de la colonia puede ser rosado-gris, rosado-oscuro, gris y el reverso de la colonia cultivada es amarilla (CUPUL, 2009).

#### **6.6.6 *Paecilomyces farinosus***

*Paecilomyces farinosus* es un hongo entomopatógeno utilizado para el control de plagas que afectan a cultivos de gran importancia económica. La patogenicidad de este hongo y su uso potencial como biocontrolador está documentado y se ha desarrollado con éxito en algunos productos comerciales derivados del mismo (Gómez, 1999).



*Paecilomyces farinosus* presenta micelio tabicado, conidióforos verticilados, células conidiógenas o fiálides alargadas con cuello estrecho, donde nacen los conidios que son ovoides, desarrollándose en sucesión basipétala. En medio de cultivo presenta micelio blanco algodonoso, observándose coloración amarilla a amarillo-naranja en el envés de la placa (Gómez, 1999).

#### **6.6.7 *Lecanicillium lecanii***

El hongo *Verticillium lecanii*, es reportado principalmente como un hongo entomopatógeno, muy importante para el control de organismos nocivos. *Verticillium lecaniise* le conoce como ***Lecanicillium lecanii***, el cual es utilizado como control biológico de plagas insectiles que afectan a diferentes cultivos y el mismo fue reportado para Panamá incidiendo parasíticamente sobre varias especies de insectos (González, Santamaría, Castrejón, Sanjur, Herrera & Monzón, 2020).

*Lecanicillium lecanii*, forma colonias en PDA con coloración blanca y crema en su reverso, además de poseer textura algodonosa. Las conidias presentaron formas elípticas-cilíndricas. Presentó hifas hialinas, con fiálides en grupos de tres. Las conidias son elipsoidales a cilíndricas, emergiendo en el extremo superior de la fiálide (González, Santamaría, Castrejón, Sanjur, Herrera & Monzón, 2020).

### **6.7 Mecanismo de infección del hongo entomopatógeno al insecto**

El proceso de infección se puede dividir en tres etapas: 1. Adhesión de las esporas a la cutícula del insecto, y germinación; 2. Penetración de la cutícula del insecto; 3. Desarrollo del hongo en el interior del insecto, que generalmente termina en la muerte de éste (Figura 2) (Góngora, Marín & Benavides, 2013).

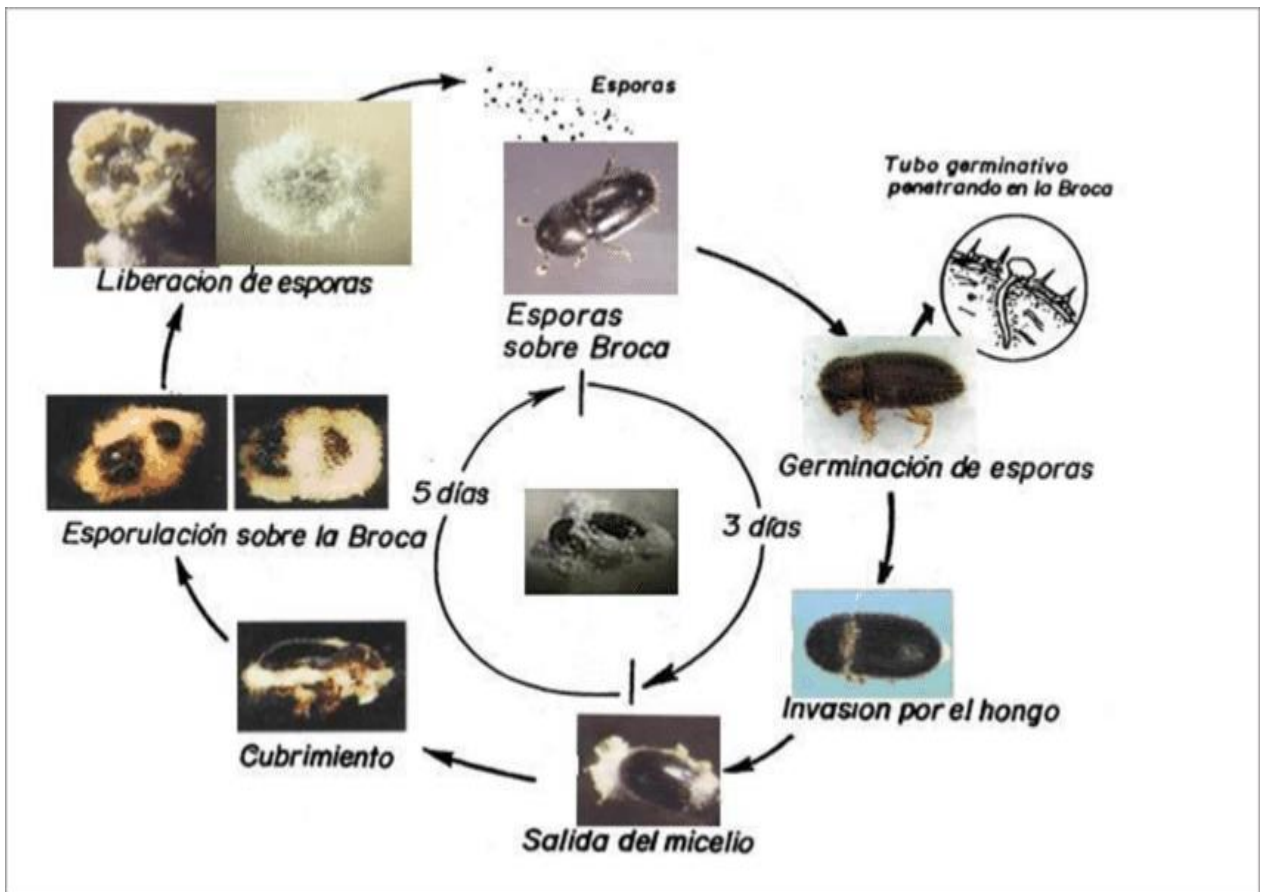


Figura 2. Proceso de colonización de *H. hampei* por el hongo entomopatógeno. Fuente (Castellanos, 2011).

## **VII. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **7.1 Establecimiento de sitios de muestreo**

Los sitios de muestreo se establecieron en huertas de café ubicadas en la comunidad de Naranjos municipio de Totutla, Veracruz.

En cada sitio se recolectaron 100 cerezas de café brocadas, las cuales se disectaron para buscar adultos vivos y muertos (Vélez et. al., 2001).

### **7.2 Preparación de medios para el aislamiento de los hongos**

Para el aislamiento de los hongos, los insectos se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 0.5% durante 5 min y se enjuagaron con agua estéril. Se colocaron cinco insectos por cada cámara húmeda a (25°C y 90% HR) durante 8 h para permitir el desarrollo de los hongos.

Adicionalmente se sembraron los insectos directamente en medio Agar Sabouraud Dextrosa adicionado con 0.1% de extracto de levadura (ADS+EL) por 8 días, para permitir el desarrollo de los hongos. Se preparó este medio de cultivo, pesando los siguientes reactivos, 10 g de digerido enzimático de caseína, 40 g de dextrosa, 15 g de agar y 1000 ml de agua destilada (Feng et al. 1990).

Una vez que hubo crecimiento fúngico se multiplicaron en medio Agar Sabouraud Dextrosa adicionado con 0.1% de extracto de levadura (ADS+EL). (Feng et al. 1990).

### **7.3 Identificación de hongos**

Los hongos se identificaron a nivel género de acuerdo a sus características morfológicas. Para lo cual se necesitó una cinta transparente, se procedió a tomar la muestra de hongos crecidos en las cajas petri. La cinta con la muestra fue pegada en la porta objetos que tenía una gota del reactivo azul de metileno y se observó al microscopio a 100X para observar la estructura del hongo y lograr su identificación (Vélez et. al., 2001).

### **7.4 Caracterización fisiológica**

Se realizó una caracterización fisiológica que incluyó crecimiento micelial (cm), y velocidad de germinación. Con la ayuda de un vernier se midió el crecimiento de los hongos crecidos en las cajas petri, con los medios de cultivo ADS+EL y PDA (Vélez et. al., 2001).

### **7.5 Caracterización patogénica**

Para la caracterización patogénica, se esterilizó agua destilada, tween 80, tubos y puntillas. Una vez que estuvo listo todo lo antes mencionado se pusieron 30 ml de agua estéril en un tubo y se le agregaron 7 ml de tween 80 se agitó durante 12 min, de ahí se tomó de esta solución un 1  $\mu$ L con una micropipeta y se le agregó a los hongos que estaban en las cajas petri, se raspó todo el micelio y una vez que se raspó todo el micelio se volvió a regresar a los tubos con una micropipeta y los adultos de *H. hampei* se sumergieron en esta solución durante un minuto. Se registró la mortalidad y los insectos muertos se colocaron en una cámara húmeda con la finalidad de obtener esporulación (Vélez et. al., 2001).

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cada sitio establecido se recolectaron 100 cerezas de café brocadas (Cuadro 1).

Cuadro. Recolección de cerezas de café brocadas y disección de brocas de café muertas y vivas.

Sitio	Cerezas de café brocadas	Brocas de café encontradas	Muertas	Vivas
Sitio 1	100	80	49	31
Sitio 2	100	92	63	29
Sitio 3	100	72	55	17

Los insectos que se colocaron en cada cámara húmeda de cada sitio establecido no presentaron ningún crecimiento de hongo. En el sitio 1 las brocas de café que fueron colocadas en la cámara húmeda a las 8 h no presentaron ningún crecimiento de hongo, lo mismo para los sitios 2 y 3. Se mantuvieron en la cámara durante 6 días sin presentar crecimiento fúngico.

Después de seis días de observación, se presentó crecimiento de bacteria en los insectos colocados en la cámara húmeda en el sitio uno (Figura 3). En el sitio dos se presentó crecimiento de hongo (Figura 4) y en el sitio tres no hubo presencia de crecimiento de hongo. Pero al séptimo día se observó de nuevo el sitio tres y ya había una presencia de crecimiento de hongo (Figura 5).



Figura 3. Presencia de bacteria en los insectos del sitio uno



Figura 4. Presencia de hongo en los insectos del sitio dos.



Figura 5. Presencia de hongo en los insectos del sitio tres.

Las brocas de café que fueron colocados directamente al medio de cultivo de los tres sitios si presentaron crecimiento de hongo. Los insectos del sitio uno a los cuatro días de siembra presentaban crecimiento de hongo (Figura 6). Los insectos del sitio dos a los cinco días de siembra presentaron crecimiento fúngico (Figura 7). En lo que respecta a los insectos del sitio tres a los siete días ya presentaban micelio fúngico (Figura 8).

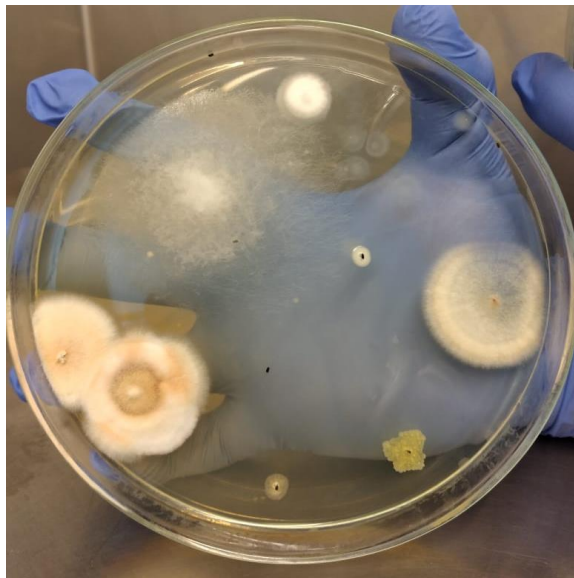


Figura 6. Crecimiento de hongo del sitio uno



Figura 7. Crecimiento de hongo del sitio dos

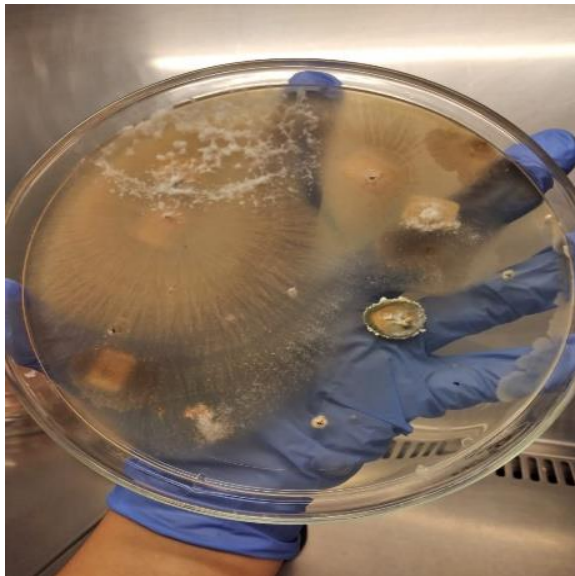


Figura 8. Crecimiento de hongo del sitio tres

Una vez que hubo crecimiento fúngico se multiplicaron los hongos obtenidos a partir de los tres sitios. En el sitio uno se aislaron 21 hongos entomopatógenos (Figura 9). En el



sitio dos se obtuvieron 31 hongos entomopatógenos (Figura 10) y por último en el sitio tres se aislaron 22 hongos (Figura 11).

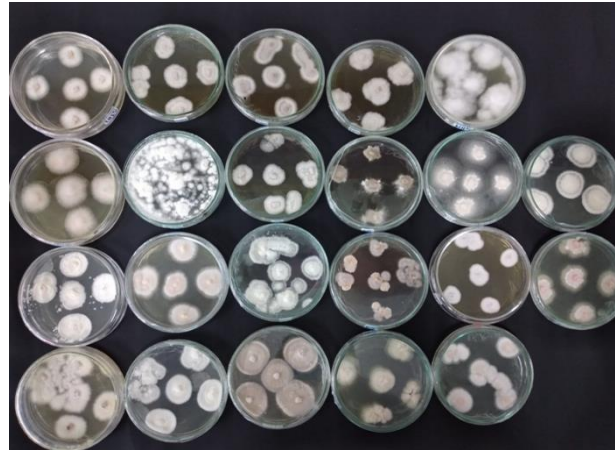


Figura 9. Hongos aislados del sitio uno



Figura 10. Hongos aislados del sitio dos

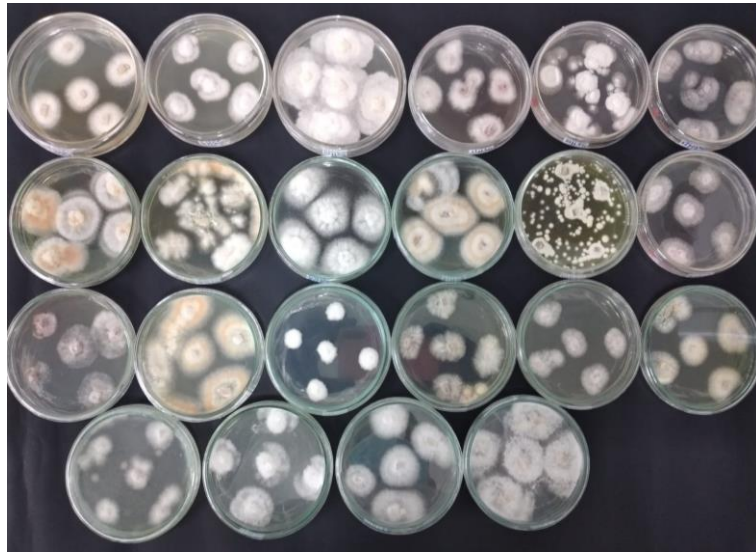


Figura 11. Hongos aislados del sitio tres

Para la identificación de los hongos entomopatógenos de los tres sitios, se identificaron a través de un microscopio, se procedió a tomar la muestra de hongos crecidos en las cajas petri y se colocó en la porta objetos que tenía una gota del reactivo azul de metileno y se llevó al microscopio a 100X para observar la estructura del hongo, pero los hongos aislados en el medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa adicionado con 0.1% de extracto de levadura (ADS+EL), no se pudieron identificar, porque los hongos crecidos no presentaron las características que se necesitan para lograr su identificación, las únicas características que presentaron fueron hifas en los hongos de los tres sitios por lo que no se pudo llegar a la identificación de los hongos.

Al no poder identificar los hongos aislados en el medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa adicionado con 0.1% de extracto de levadura (ADS+EL). Se decidió desarrollar nuevamente los hongos aislados, pero ahora en el medio de cultivo PDA. A los 10 días de siembra ya había crecimiento de hongos en el medio de cultivo PDA, presentando las características requeridas para su identificación como hifas, esporas y clamidósporas.

En los tres sitios establecidos se identificaron los siguientes hongos entomopatógenos, con sus distintas características morfológicas: siete hongos entomopatógenos que correspondieron a la especie ***Beauveria bassiana***, este hongo tiene la apariencia de algodón blanco, cambiando a amarillo mientras se desarrolla y culminando con un color crema polvoriento, colonia blanca y polvoriento inicial (Figura 12) (Moore y Prior, 2015).

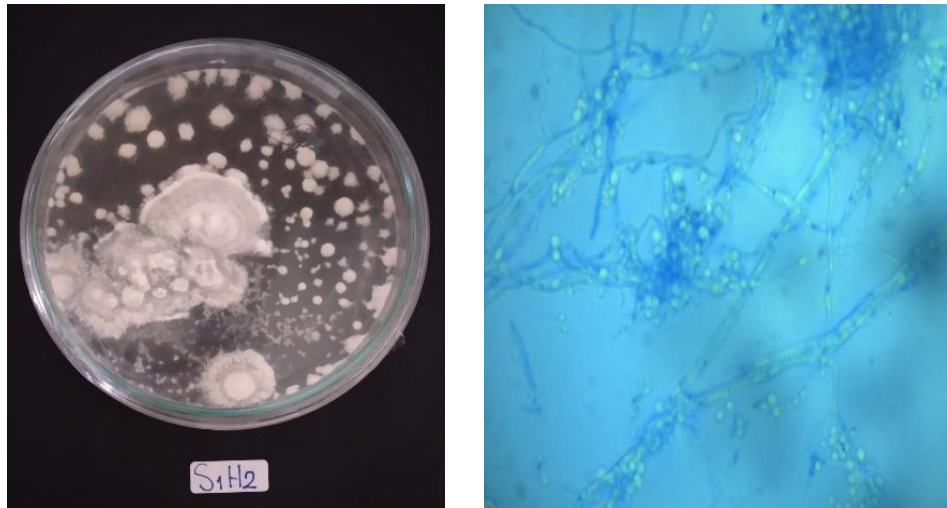


Figura 12. Hongo entomopatógenos *Beauveria bassiana*

**16 hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae*** este hongo en medio PDA presentan un crecimiento de micelio con borde blanco y con grupos de conidióforos que se tornan coloreados al multiplicarse las conidias, con diferentes variaciones de color: de olivo a amarillo verdoso, de olivo a verde, decolorada en el envés, de color miel o amarillo pálido y pigmento amarillo que se difunde en el medio (Figura 13) (Schrank & Vainstein, 2010).

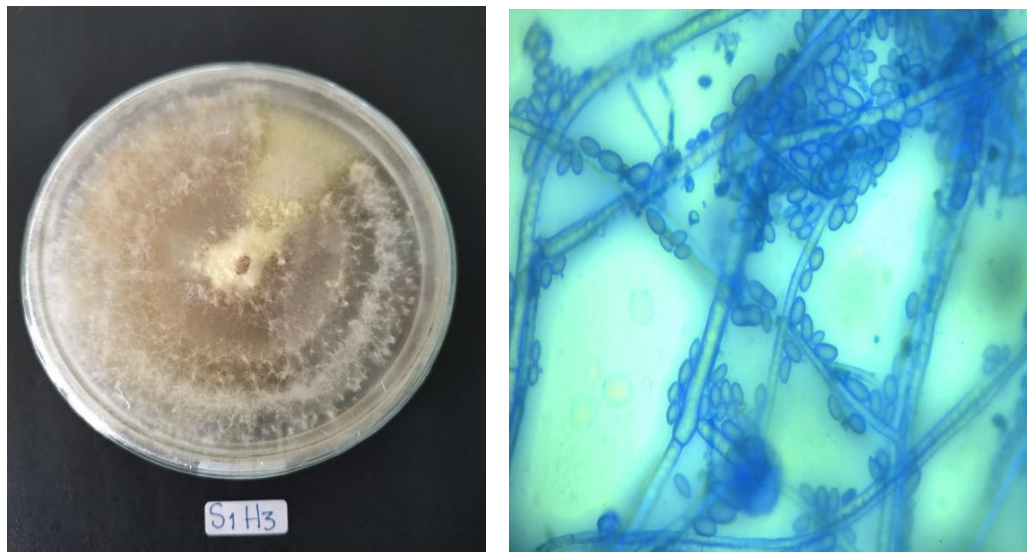


Figura 13. Hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*

**9 hongos entomopatógenos *Hirsutella sp.*** que forma colonias de forma afelpada, color gris o gris oliváceo y en ocasiones blanco, los conidios se producen de manera solitaria o en agrupaciones de dos o tres y presentan una morfología ovoide y verrugosa (Figura 14) (Toledo, Simurro & Balatti, 2013).

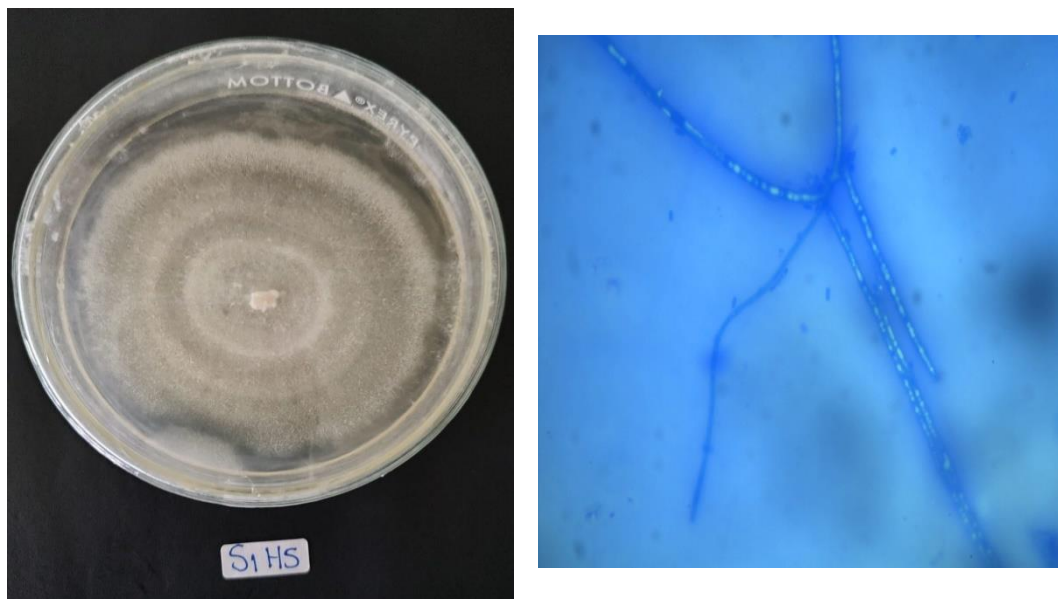


Figura 14. Hongo entomopatógeno *Hirsutella sp.*



**9 hongos entomopatógenos *Fusarium ssp.*** que en el medio de cultivo presenta un micelio de color blanco algodonoso con pigmentación rojo naranja en el medio de cultivo, conidióforos simples, cilíndricos, laterales, con clamidósporas laterales e intercalares, microconidios cilíndricos ovoides (Figura 15) (Castillo, Vega, Lezcano, Piepenbring & Cáceres, 2013).

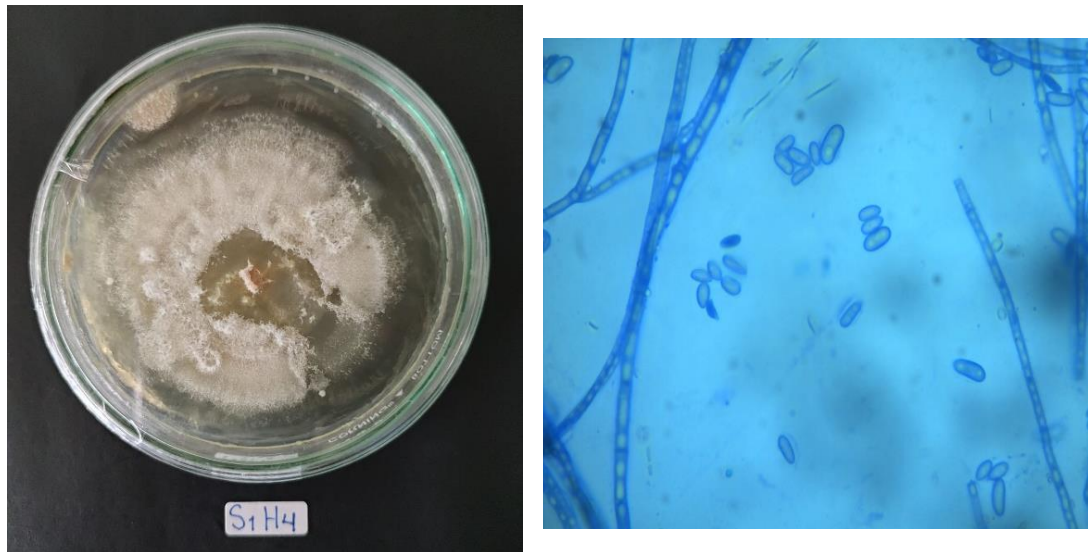


Figura 15. Hongo entomopatógeno *Fusarium ssp.*

**3 hongos entomopatógenos *Lecanicillium lecanii*,** forma colonias en PDA con coloración blanca y crema en su reverso, además de poseer textura algodonosa. Las conidias presentaron formas elípticas-cilíndricas. Presentó hifas hialinas, con fiálides en grupos de tres. Las conidias son elipsoidales a cilíndricas, emergiendo en el extremo superior de la fiálide (Figura 16) (González, Santamaría, Castrejón, Sanjur, Herrera & Monzón, 2020).

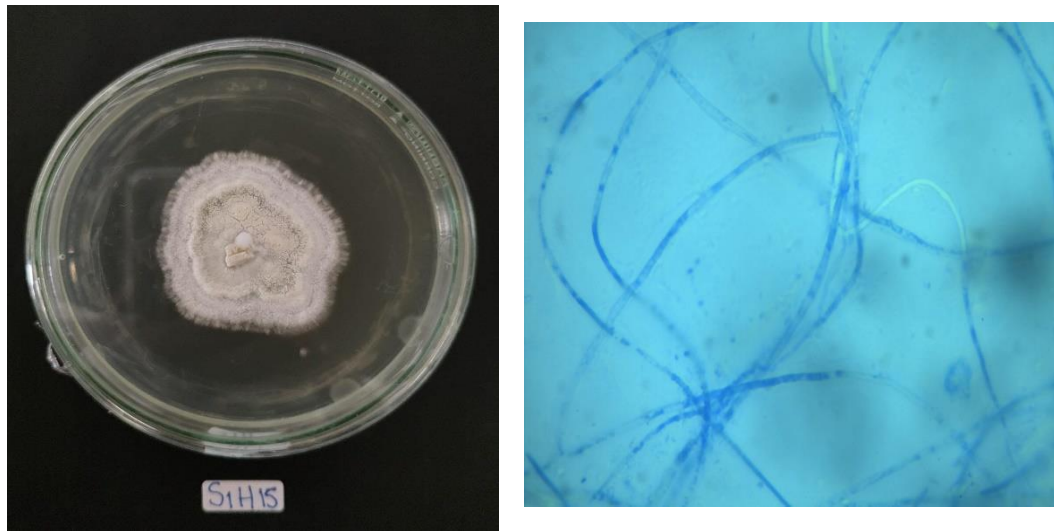


Figura 16. Hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii*.

**11 hongos entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus*** tienen una consistencia algodonosa color café cremoso, crece con micelio blanco, crecimiento expandido las conidias son menores a  $3.5 \mu\text{m}$ , el color de la colonia puede ser rosado-gris, rosado-oscuro, gris y el reverso de la colonia cultivada es amarilla (Figura 17) (CUPUL, 2009).

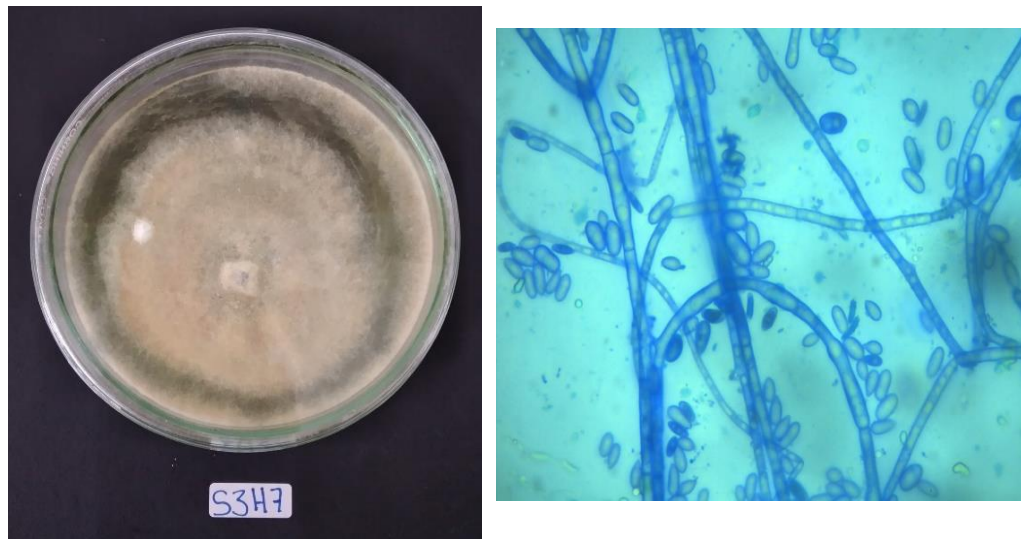


Figura 17. Hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus*

**8 hongos entomopatógenos *Paecilomyces farinosus*** presenta micelio tabicado, conidióforos verticilados, células conidiógenas o fiálides alargadas con cuello estrecho, donde nacen los conidios que son ovoides, desarrollándose en sucesión basipétala. En medio de cultivo presenta micelio blanco algodonoso, observándose coloración amarilla a amarillo-naranja en el envés de la placa (Figura 18) (Gómez, 1999).



Figura 18. Hongo entomopatógeno *Paecilomyces farinosus*

Y por último en los sitios dos y tres hubo 10 cepas de hongos entomopatógenos no identificados con las siguientes claves (Figura 19).

Hongos entomopatógenos
Cepas no identificadas
S2H8
S2H12
S2H14

S2H15
S2H23
S2H25
S3H8
S3H11
S3H12
S3H23

Figura 19. Cepas de hongos entomopatógenos no identificados.

A los hongos entomopatógenos se les realizó una caracterización fisiológica, que incluyó crecimiento micelial (cm) y velocidad de germinación. Los hongos entomopatógenos aislados en el medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa adicionado con 0.1% de extracto de levadura (ADS+EL), tuvieron un mejor desarrollo y un rápido crecimiento de cepas. En los siguientes cuadros se muestran las medidas de los hongos entomopatógenos aislados en este medio de cultivo, de los tres sitios establecidos (Figura 20), (Figura 21), (Figura 22) y (Figura 23).

SITIO 1	
Hongo	Crecimiento (Cm)
1	2.1
2	2.6
3	2.4
4	2.5
5	2.0
6	2.4
7	3.2



8	2.7
9	2.8
10	2.4
11	2.9
12	3.1
13	2.2
14	2.2
15	1.9
16	2.1
17	1.8
18	2.0
19	2.9
20	3.3
21	2.9

Figura 20. Medidas de crecimientos de los hongos entomopatógenos a los 5 días de siembra, aislados en el medio de cultivo ADS+EL del sitio uno.

SITIO 2	
Hongo	Crecimiento (Cm)
1	2.4
2	2.7
3	2.3
4	2.7
5	2.1

6	2.7
7	2.5
8	3.2
9	2.2
10	1.9
11	3.1
12	2.2
13	3.5
14	2.0
15	2.6
16	2.8

Figura 21. Medidas de crecimientos de los hongos entomopatógenos a los 5 días de siembra, aislados en el medio de cultivo ADS+EL del sitio dos.

SITIO 2	
Hongo	Crecimiento (Cm)
17	3.0
18	2.9
19	3.4
20	2.1
21	2.9
22	1.9
23	2.8
24	2.0

25	3.2
26	2.8
27	3.1
28	3.2
29	3.1
20	3.4
31	3.6

Figura 22. Medidas de crecimientos de los hongos entomopatógenos a los 5 días de siembra, aislados en el medio de cultivo ADS+EL del sitio dos.

SITIO 3	
Hongo	Crecimiento (Cm)
1	2.4
2	2.5
3	2.9
4	2.6
5	3.4
6	2.8
7	3.0
8	2.1
9	1.9
10	2.4
11	2.2
12	2.0

13	2.1
14	2.5
15	2.5
16	2.8
17	3.1
18	2.6
19	3.5
20	3.6
21	3.5
22	3.3

Figura 23. Medidas de crecimientos de los hongos entomopatógenos a los 5 días de siembra, aislados en el medio de cultivo ADS+EL del sitio tres.

Los hongos entomopatógenos aislados en el medio de cultivo PDA no tuvieron un buen desarrollo de cepas, ni presentaron rápido crecimiento de cepas y además en el sitio uno hubo 2 hongos que no tuvieron ningún desarrollo no crecieron solo hubo presencia de contaminación. En los siguientes cuadros se muestran las medidas de los hongos entomopatógenos aislados en el medio de cultivo PDA de los tres sitios establecidos. (Figura 24), (Figura 25), (Figura 26) y (Figura 27).

SITIO 1	
Hongo	Crecimiento (Cm)
1	2.2
2	3.2
3	8.3

4	6.5
5	7.4
6	6.0
7	8.3
8	4.1
9	4.8
10	2.9
11	5.6
12	6.4
13	X
14	3.5
15	4.2
16	5.9
17	X
18	3.0
19	8.5
20	3.5
21	4.9

Figura 24. Medidas de crecimiento de los hongos entomopatógenos a los 10 días de siembra, aislados en el medio de cultivo PDA del sitio uno.

SITIO 2	
Hongo	Crecimiento (Cm)
1	3.0

2	4.3
3	5.0
4	8.3
5	6.2
6	5.4
7	8.5
8	6.7
9	8.5
10	7.0
11	5.7
12	X
13	6.4
14	8.5
15	3.1
16	4.1

Figura 25. Medidas de crecimiento de los hongos entomopatógenos a los 10 días de siembra, aislados en el medio de cultivo PDA del sitio dos.

17	8.1
18	7.9
19	4.8
20	5.3
21	4.9
22	7.5

23	4.1
24	6.3
25	7.8
26	8.3
27	8.5
28	7.2
29	3.8
30	5.7
31	8.1

Figura 26. Medidas de crecimiento de los hongos entomopatógenos a los 10 días de siembra, aislados en el medio de cultivo PDA del sitio dos.

SITIO 3	
Hongo	Crecimiento (Cm)
1	5.5
2	4.7
3	2.1
4	8.5
5	6.6
6	5.6
7	4.8
8	5.4
9	8.3
10	3.9

11	4.7
12	2.5
13	4.6
14	6.8
15	5.8
16	4.3
17	5.1
18	5.6
19	5.7
20	8.3
21	8.5
22	6.3
23	5.5

Figura 27. Medidas de crecimiento de los hongos entomopatógenos a los 10 días de siembra, aislados en el medio de cultivo PDA del sitio tres.

Se realizó una caracterización patogénica, para eso se seleccionaron 10 hongos entomopatógenos del sitio uno. Los hongos entomopatógenos seleccionados fueron los siguientes con sus respectivas claves S1H3, S1H4, S1H5, S1H7, S1H14, S1H15, S1H16, S1H18, S1H19 y S1H20 y con estos hongos entomopatógenos se llevó a cabo el procedimiento para la caracterización patogénica, se registró la mortalidad de los insectos y a los 3 días se comenzó a ver esporulación sobre los insectos muertos.

Los primeros hongos entomopatógenos que empezaron atacar al insecto fueron los siguientes S1H4, S1H14, S1H15, S1H16, S1H18 y S1H20. Y estos hongos a los 3 días



después de colocarlos en las cámaras húmedas ya tenían esporulación (Figura 28) y (Figura 29).

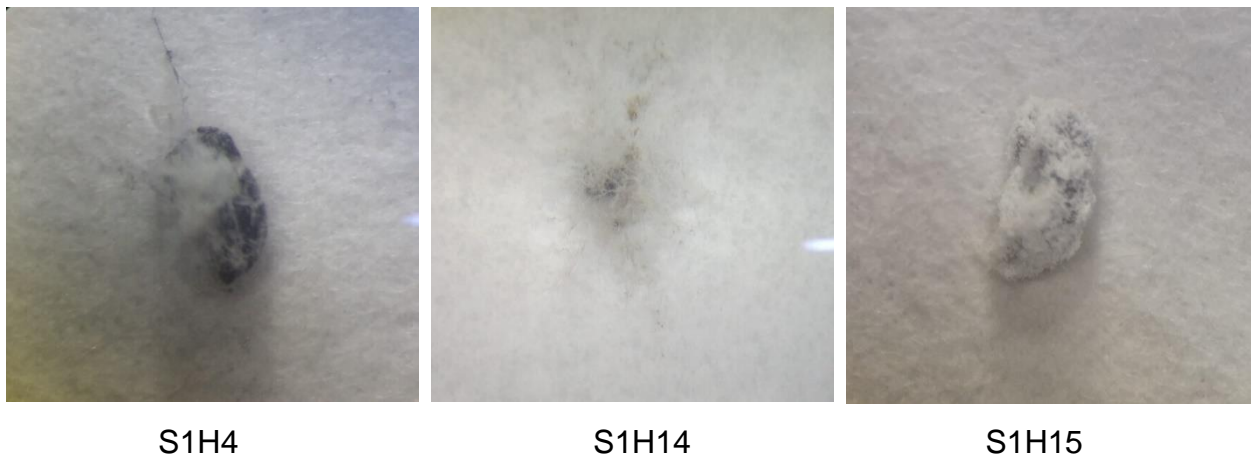


Figura 28. Primeros hongos entomopatógenos (S1H4, S1H14, S1H15), en atacar a la broca de café.

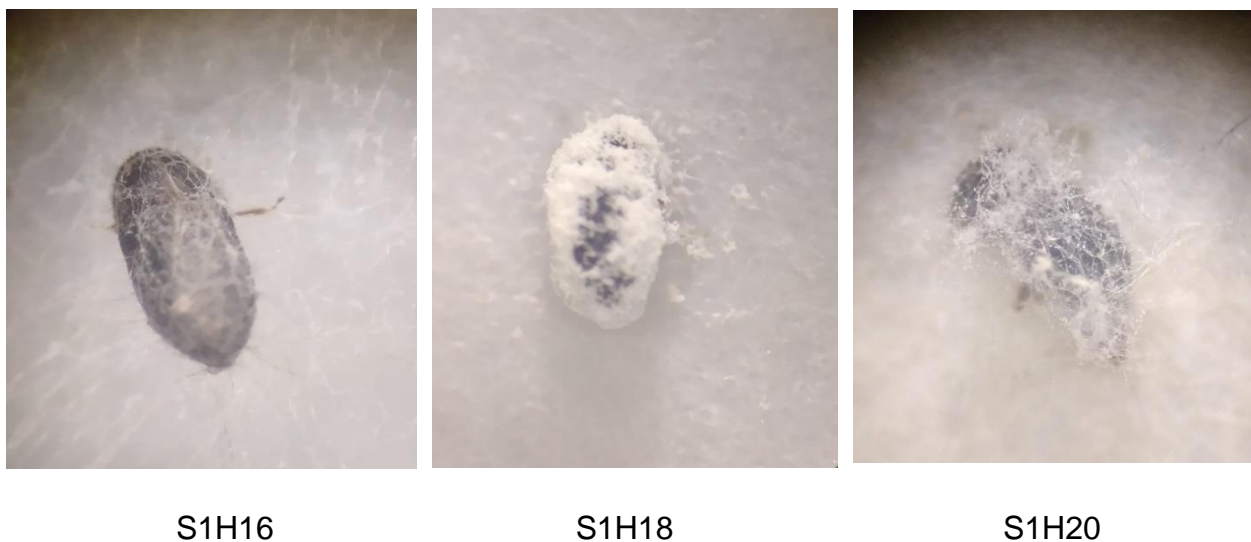


Figura 29. Primeros hongos entomopatógenos (S1H6, S1H18, S1H20), en atacar a la broca de café.

Los siguientes hongos entomopatógenos que tardaron un poco más de tiempo en atacar a los insectos fueron los siguientes S1H3, S1H5, S1H7 y S1H19 (Figura 30) y (Figura 31).



S1H3



S1H15

Figura 30. Hongos entomopatógenos (S1H3, S1H15), que tardaron en atacar a la broca del café



S1H7



S1H19

Figura 31. Hongos entomopatógenos (S1H7, S1H19), que tardaron en atacar a la broca del café

## **IX. CONCLUSIONES**

Se aislaron 74 cepas de hongos entomopatógenos en medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa adicionado con 0.1% de extracto de levadura con posible potencial para desarrollar un bioinsecticida.

De los tres sitios establecidos en las huertas de café, el sitio dos fue donde hubo más cepas de hongos entomopatógenos en este sitio se aislaron 31 hongos entomopatógenos.

Y en los sitios uno y tres hubo menor aislamiento de cepas de hongos entomopatógenos, el sitio uno tuvo 21 hongos y en el sitio tres hubo 23 cepas de hongos entomopatógenos.

Se aislaron otras 74 cepas de hongos entomopatógenos en medio de cultivo PDA para llevar acabo la identificación de estos hongos entomopatógenos.

Se identificaron en el sitio uno, 19 cepas de hongos entomopatógenos con sus diferentes características morfológicas, en el sitio dos se identificaron 25 cepas de hongos entomopatógenos y por último en el sitio tres se identificaron 19 cepas de hongos entomopatógenos.

Los hongos entomopatógenos aislados en el medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa adicionado con 0.1% de extracto de levadura presentaron un mejor desarrollo y rápido crecimiento de los hongos.

Y por lo contrario los hongos entomopatógenos aislados en el medio de cultivo PDA no tuvieron un buen desarrollo ni un rápido crecimiento de cepas.

Los 10 hongos entomopatógenos seleccionados del sitio uno si atacaron a la broca del café.

Los hongos entomopatógenos que atacaron al insecto fueron identificados morfológicamente con los siguientes nombres:

H3, H14, H16, H19 Y 20 fueron *Metarhizium anisopliae*.

Los hongos H5 y H7 fueron identificados como *Hirsutella sp.*

El hongo H15 fue identificado como *Lecanicillium lecanii*.

Y por último el hongo H18 fue identificado como *Beauveria bassiana*.

## **X. RECOMENDACIONES**

Se recomienda continuar con el estudio de los hongos entomopatógenos, para seguir con la caracterización patogénica de los hongos entomopatógenos de los sitios establecidos dos y tres y además para identificar los hongos entomopatógenos molecularmente.

También se recomienda continuar con este estudio para desarrollar un bioinsecticida para un control biológico contra la broca del café, plaga de importancia económica en la comunidad de Naranjos municipio de Totutla Veracruz.

## XI. FUENTES DE CONSULTA

- Arias Torres, E. P. (2018). Ciclo biológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867)), en condiciones de laboratorio en Tingo María.
- Barrera, J. F., Villacorta, A., & Herrera, J. (2004). Fluctuación estacional de las capturas de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) con trampas de etanol-metanol e implicaciones sobre el número de trampas. *Entomología Mexicana*, 3, 540-544.
- Botero Benavides, Y. J. (2019). Efecto de la ubicación de trampas atrayentes en la captura de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae) en cultivos de café en la provincia del Sumapaz
- Briceño Meléndez, G. J. (2017). Eficacia del control biológico y etológico de la broca del café *Hypothenemus Hampei* (ferrari) en los Distritos de Huambo y San Nicolás, Provincia Rodríguez de Mendoza, Amazonas.
- Bustillo, A. E., Cárdenas, R., Villalba, D. A., Benavides, P., Orozco, J., & Posada, F. J. (1998). Manejo integrado de la broca del café: *Hypothenemus hampei* Ferrari en Colombia.
- Cabrera, J., & Alejandro, J. (2019). Identificación de los insectos controladores de la broca del café *Hypothenemus hampei* ferari en la parroquia Vilcabamba y los cantones Olmedo, Chaguarpamba, Puyango y Quilanga, de la provincia de Loja (Bachelor's thesis, Loja).

- Castillo, S. Y., Vega, J. A. B., Lezcano, J., Piepenbring, M., & Cáceres, O. (2013). Hongos entomopatógenos asociados a insectos recolectados en plantaciones de café en el oeste de Panamá. *Tecnociencia*, 15(2), 29-39.
  
- Chan-Cupul, W., Ruiz-Sánchez, E., Cristóbal-Alejo, J., Pérez-Gutiérrez, A., Munguía-Rosales, R., & Lara-Reyna, J. (2010). Desarrollo in vitro de cuatro cepas nativas de *Paecilomyces fumosoroseus* y su patogenicidad en estados inmaduros de mosquita blanca. *Agrociencia*, 44(5), 587-597.
  
- CUPUL, W. C. (2009). CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA Y MOLECULAR DE *Paecilomyces fumosoroseus* (WIZE) BROWN & SMITH Y SU PATOGENICIDAD EN ESTADIOS INMADUROS DE *Bemisia tabaci* (GENNADIUS) (Doctoral dissertation, INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL).
  
- Dianderas Peralta, E. A. E. (2019). Susceptibilidad de cinco variedades de café al ataque de “broca de café” (*Hypothenemus hampei* Ferrari), distrito Daniel Alomía Robles.
  
- Gómez, H. (1999). Aislamiento e identificación de hongos entomopatógenos en Lima, Perú. *Revista Peruana de Entomología*, 41(1), 83-86.
  
- Góngora, C. E., Marín, P., & Benavides, P. (2013). Claves para el éxito del hongo *Beauveria bassiana* como controlador biológico de la broca del café. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).

- González-Dufau, G. I., Santamaría-Guerra, J., Castrejon, K., Sanjur, M., Herrera, I., & Monzón, A. (2020). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE *Akanthomyces lecanii* (HYPOCREALES: CORDYCIPITACEAE): HIPERPARÁSITO DE *Hemileia vastatrix* (PUCCINIALES: PUCCINIACEAE). *Ciencia Agropecuaria*, (31), 169-181.
- Jaramillo, J. L., Montoya, E. C., & Benavides, P. (2015). *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para el control de broca del café en frutos del suelo. *Revista colombiana de entomología*, 41(1).
- Leónides Castellanos. (2011). Proceso de colonización de *H. hampei* por el hongo *B. bassiana*. [https://www.researchgate.net/figure/Figura-3-Proceso-de-colonizacion-de-H-hampei-por-el-hongo-B-bassiana\\_fig3\\_322909182](https://www.researchgate.net/figure/Figura-3-Proceso-de-colonizacion-de-H-hampei-por-el-hongo-B-bassiana_fig3_322909182)
- Moore y Prior. (2015). El uso de hongos entomopatógenos en el control de la broca del café. <https://www.researchgate.net/publication/274065455El.uso.de.entomopatogenos.en.el.control.de.la.broca.del.cafe.en.Colombia>.
- Orozco, J., & Aristizábal, L. F. (1996). Parasitoides de origen africano para el control de la broca del café. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).
- Pacheco Hernández, M., Reséndiz Martínez, J., & Arriola Padilla, V. J. (2019). Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: una revisión. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(56), 4-32.



- Pardey, A. E. B. (2005). El papel del control biológico en el manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleóptera: Curculionidae: Scolytinae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 29, 55-68.
  
- Pérez, A. C., Elósegui, O., & Padrón, N. B. (2003). Aislamiento, caracterización morfológica y fisiológica del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* (WIZE) Broum & Smith. *Fitosanidad*, 7(3), 27-32.
  
- Posada, F. J. (1993). Control biológico de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) con hongos. In *Memorias Congreso Sociedad Colombiana de Entomología* (pp. 137-151).
  
- Raymundo-Jiménez, R., García-Ibarra, E., López-Arroyo, J. I., Ramírez-Cabral, N. Y. Z., & Rodríguez-Guerra, R. (2019). Producción y germinación de conidios del hongo entomopatógeno *Hirsutella citriformis* (Ascomycota: Ophiocordycipitaceae). *Scientia fungorum*, 49.
  
- Schrank, A. y Vainstein, MH (2010). Enzimas y toxinas de *Metarhizium anisopliae*. *Toxicón*, 56 (7), 1267-1274.
  
- Toledo, A. V., Simurro, M. E., & Balatti, P. A. (2013). Morphological and molecular characterization of a fungus, *Hirsutella* sp., isolated from planthoppers and psocids in argentina. *Journal of Insect Science*, 13(1).

- Vélez-Arango, P., Estrada-Valencia, M., González-García, M. T., Valderrama-Fonseca, A. M., & Bustillo-Pardey, A. E. (2001). Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. *Manejo Integrado de Plagas*, 62(1), 38-53.
  
- Vilchez García, G. K. (2019). Evaluación y caracterización de cepas nativas de *Beauveria* spp. con potencial para el control de *Hypothenemus hampei*, colectadas de plantaciones comerciales de café.

## XII. ANEXOS



Disección de brocas de café



colocación de insectos en las cámaras húmedas



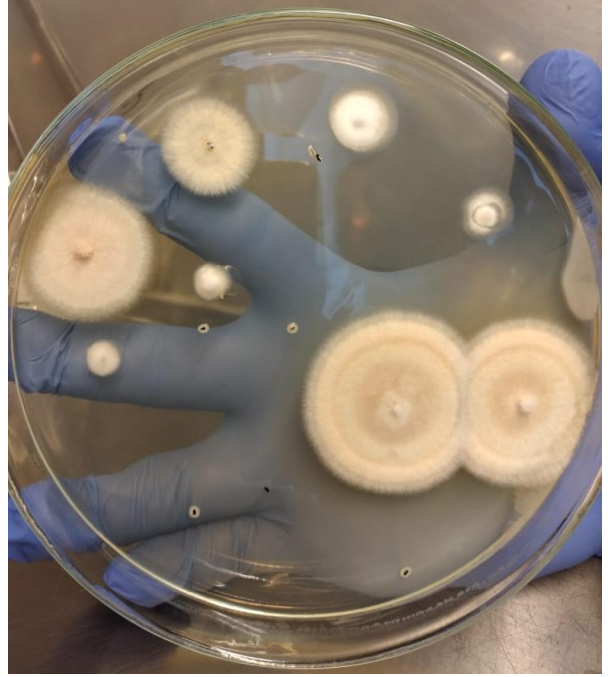
Preparación del medio de cultivo



Vaciando medio de cultivo en cajas petri



Colocación del insecto directamente al medio

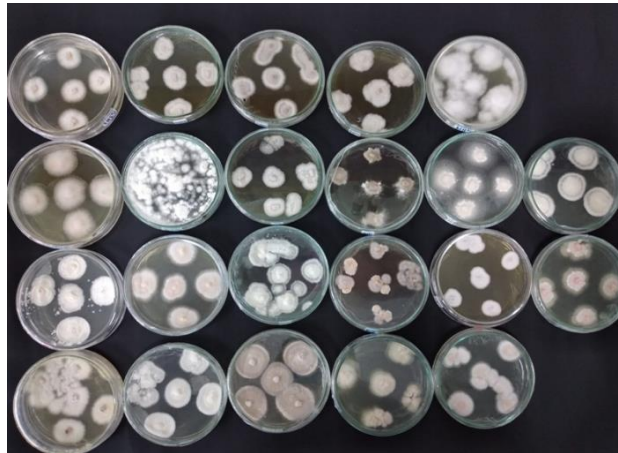


Crecimiento de hongos



Sembrando hongo entomopatógico a cajas petri con medio de cultivo

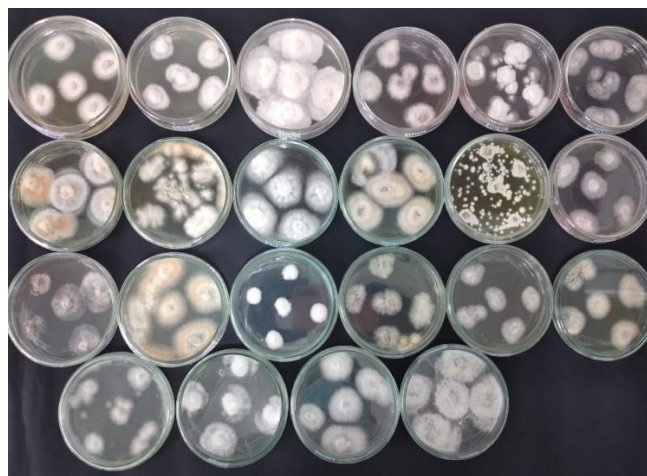




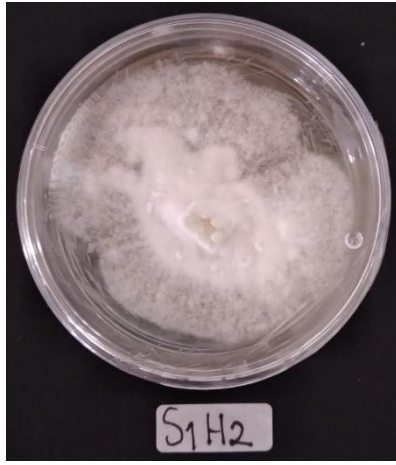
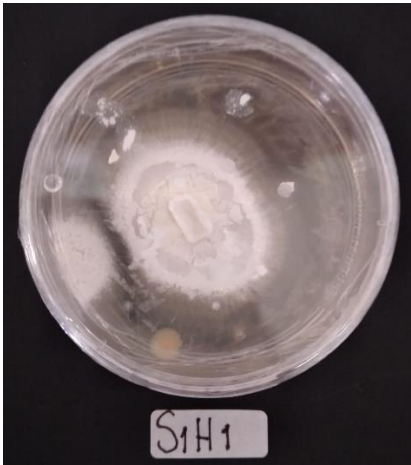
Aislamiento de hongos entomopatógenos del sitio uno



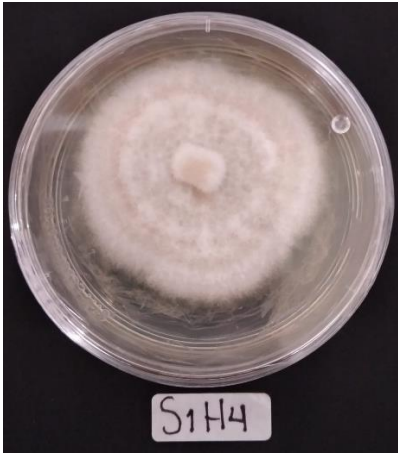
Aislamiento de hongos entomopatógenos del sitio dos



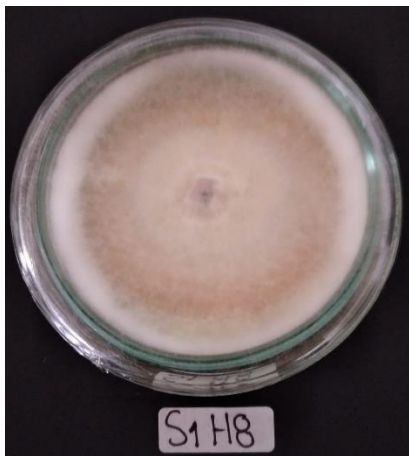
Aislamiento de hongos entomopatógenos del sitio tres



Hongos entomopatógenos del sitio uno sembrados en medio de cultivo ADS+EL

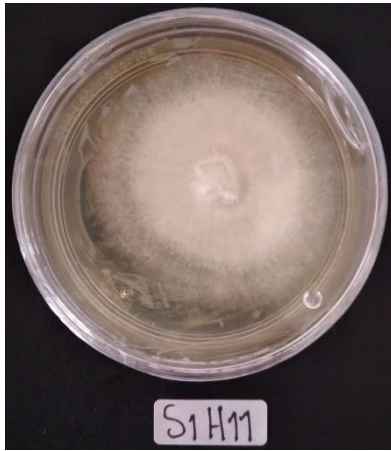
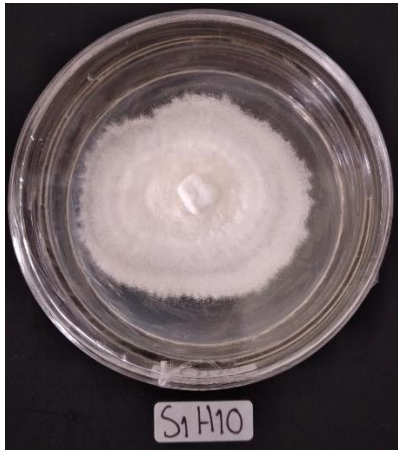


Hongos entomopatógenos del sitio uno sembrados en medio de cultivo ADS+EL

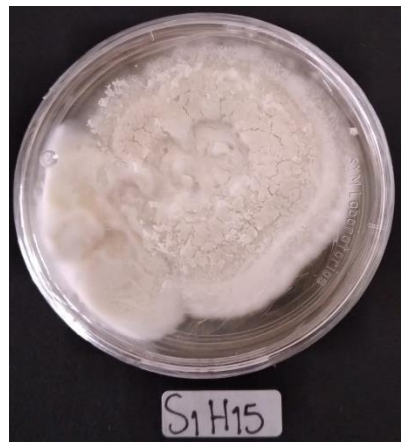


Hongos entomopatógenos del sitio uno sembrados en medio de cultivo ADS+EL

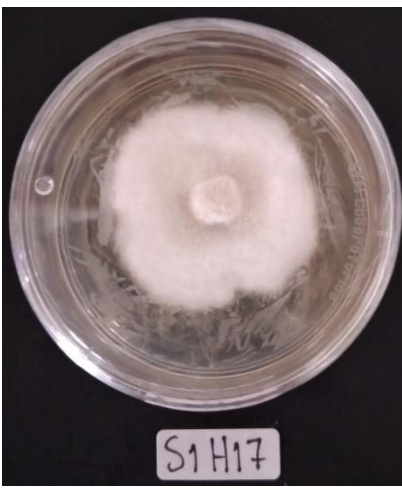
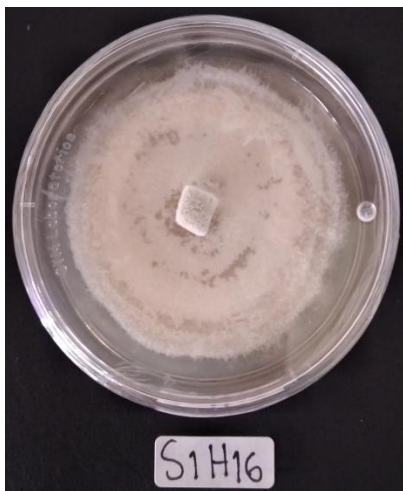




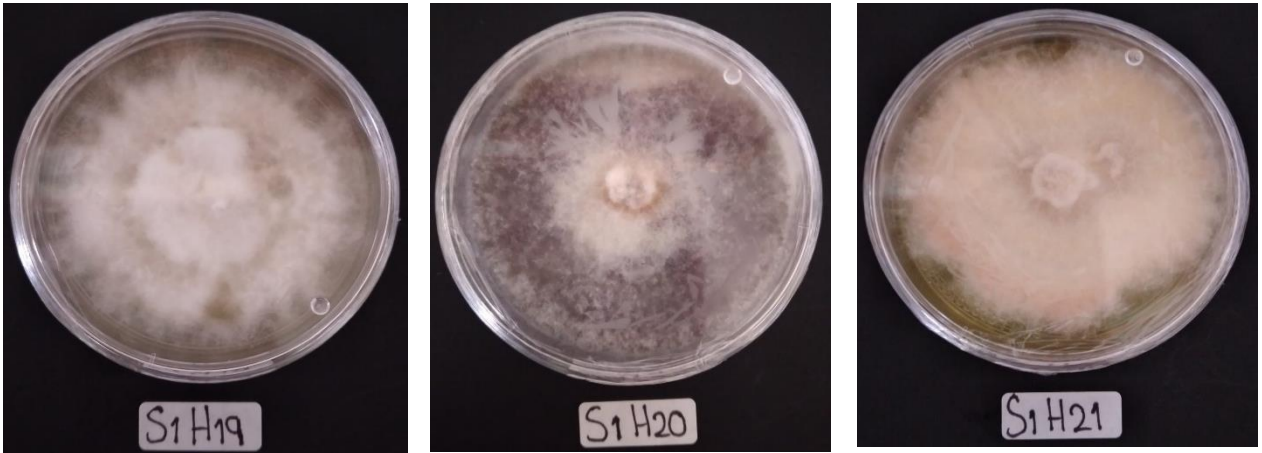
Hongos entomopatógenos del sitio uno sembrados en medio de cultivo ADS+EL



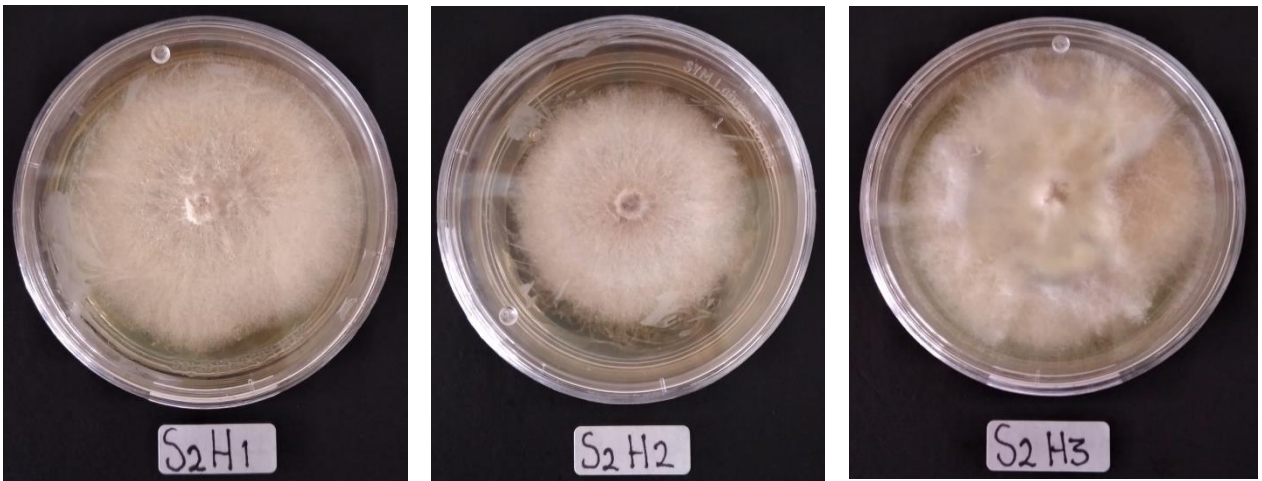
Hongos entomopatógenos del sitio uno sembrados en medio de cultivo ADS+EL



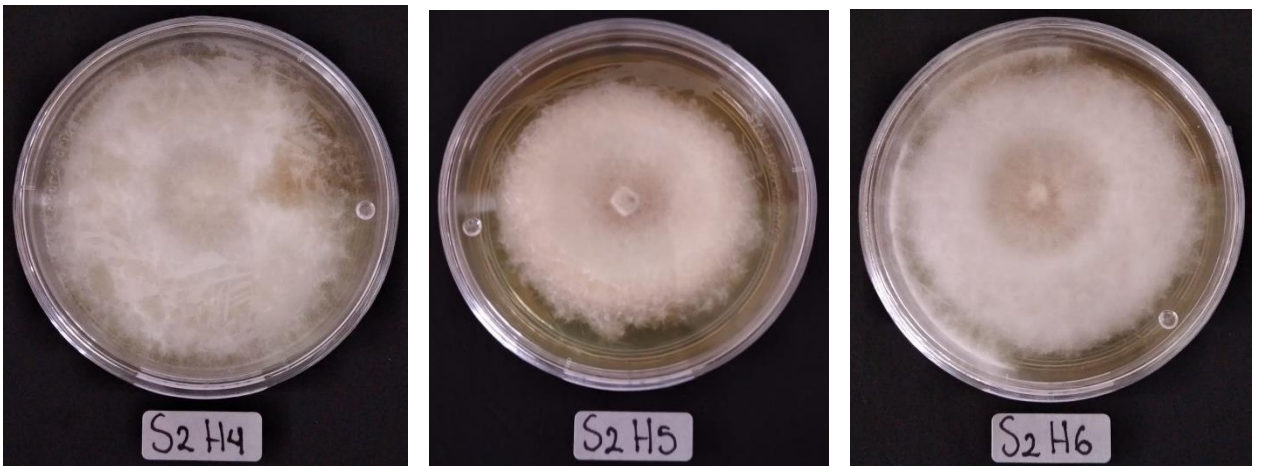
Hongos entomopatógenos del sitio uno sembrados en medio de cultivo ADS+EL



Hongos entomopatógenos del sitio uno sembrados en medio de cultivo ADS+EL

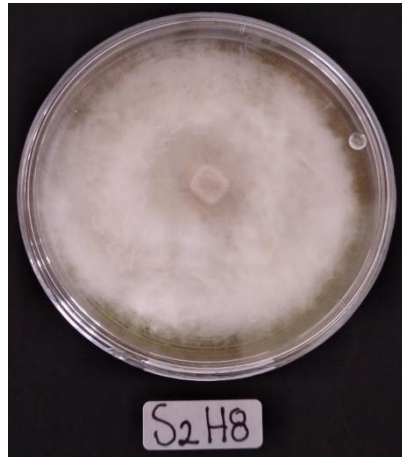
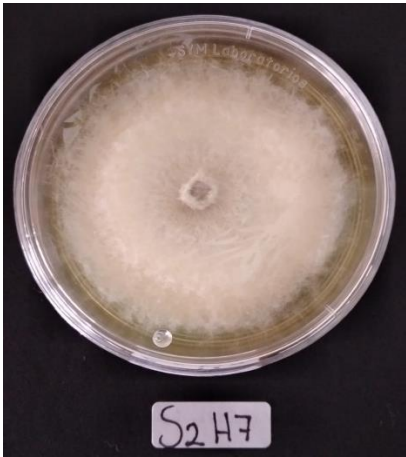


Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL

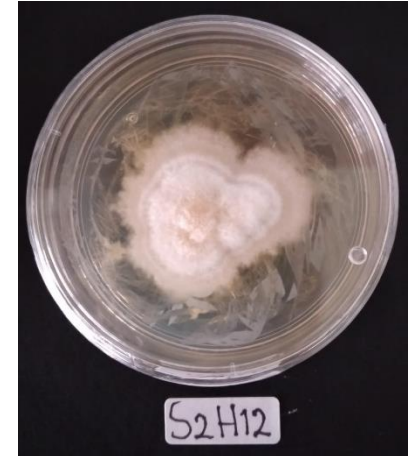
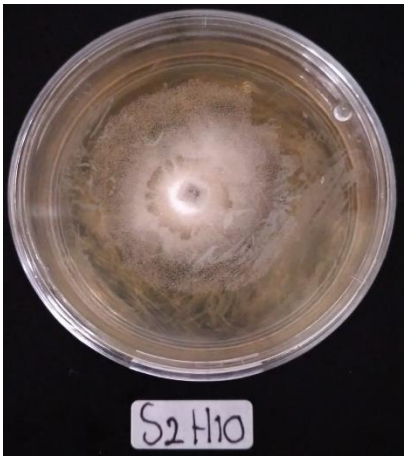


Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL





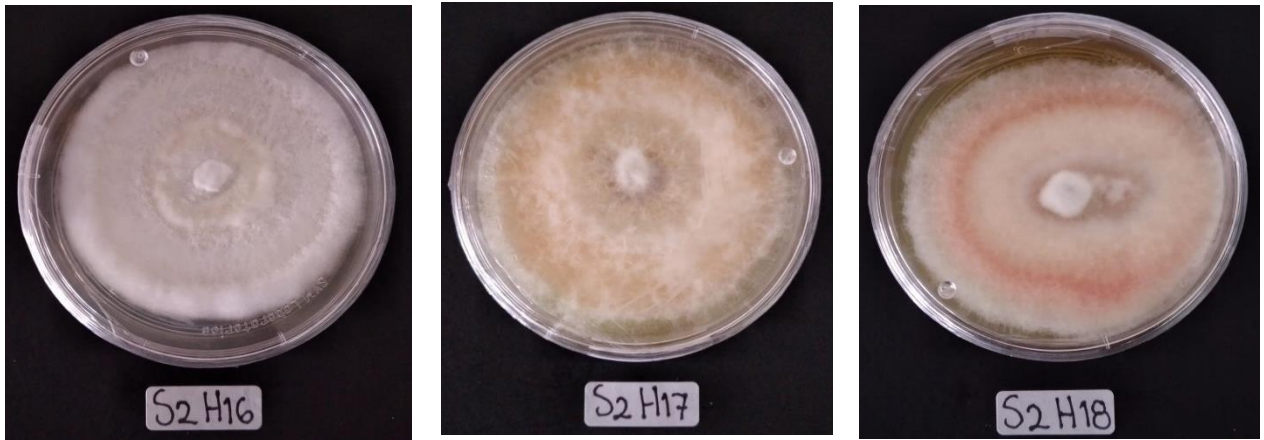
Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL



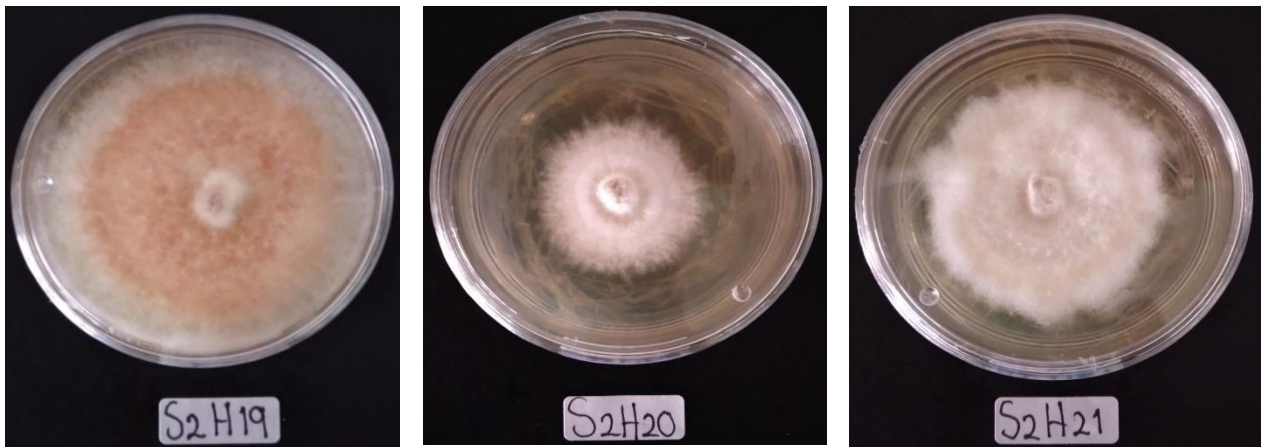
Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL



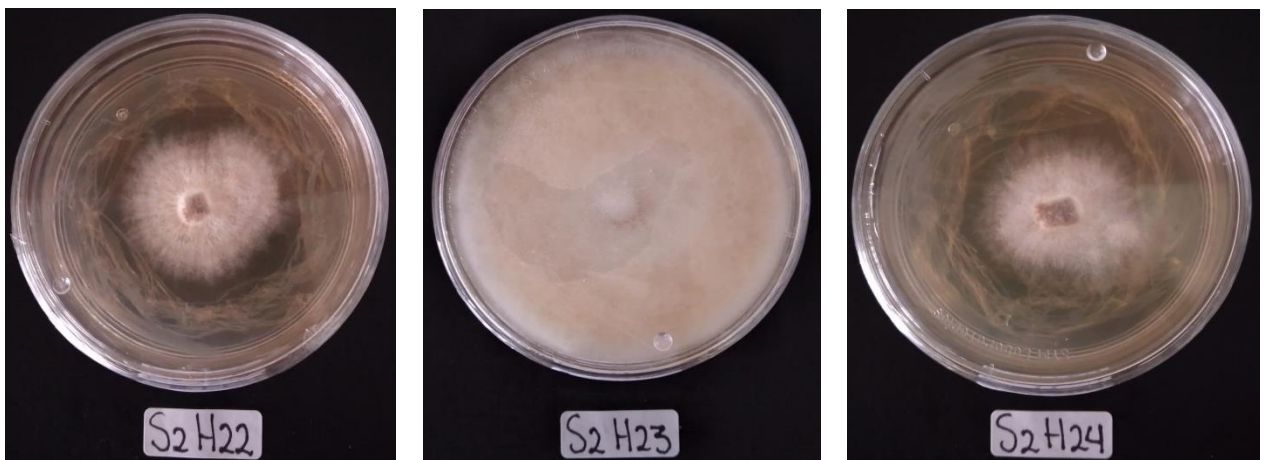
Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL



Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL

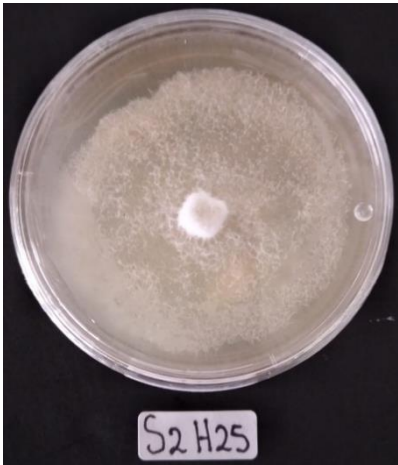


Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL



Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL





S2H25



S2H26



S2H27

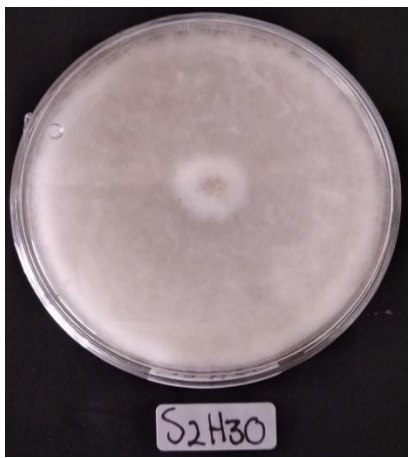
Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL



S2H28

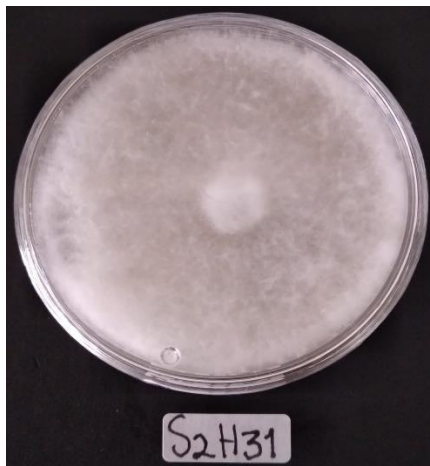


S2H29



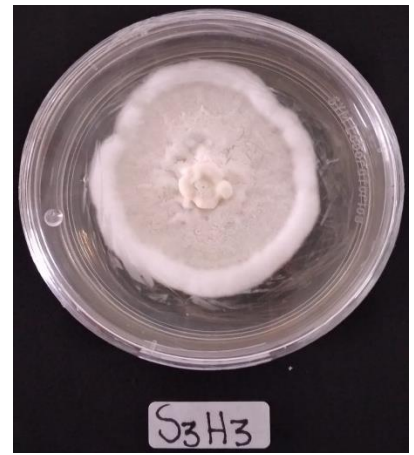
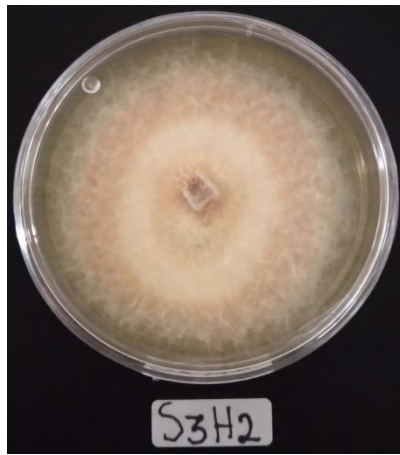
S2H30

Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL

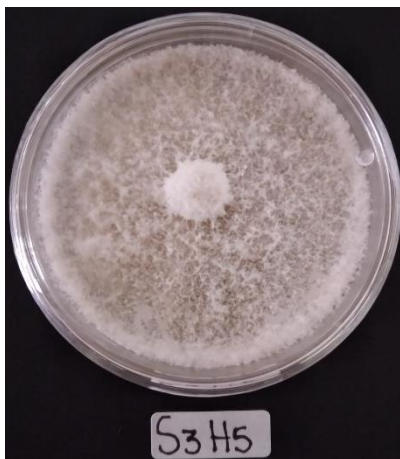


S2H31

Hongos entomopatógenos del sitio dos sembrados en medio de cultivo ADS+EL



Hongos entomopatógenos del sitio tres sembrados en medio de cultivo ADS+EL

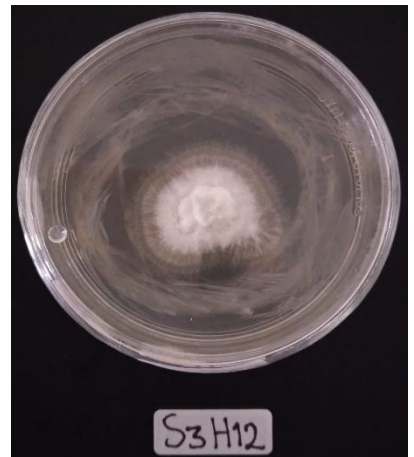
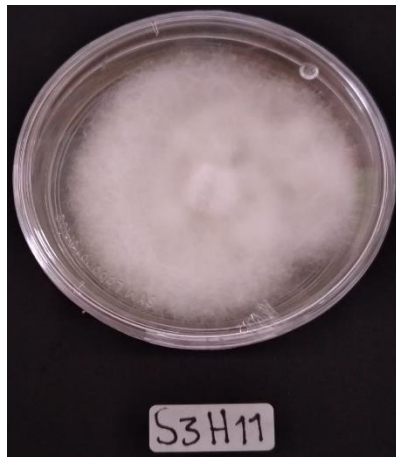


Hongos entomopatógenos del sitio tres sembrados en medio de cultivo ADS+EL

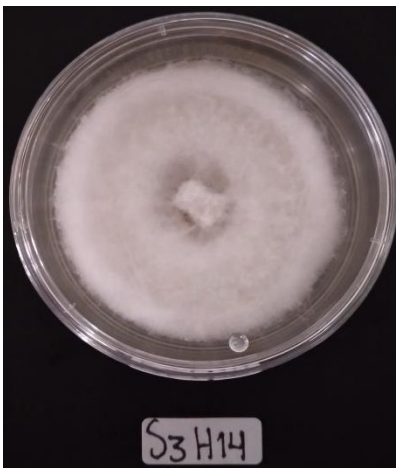


Hongos entomopatógenos del sitio tres sembrados en medio de cultivo ADS+EL





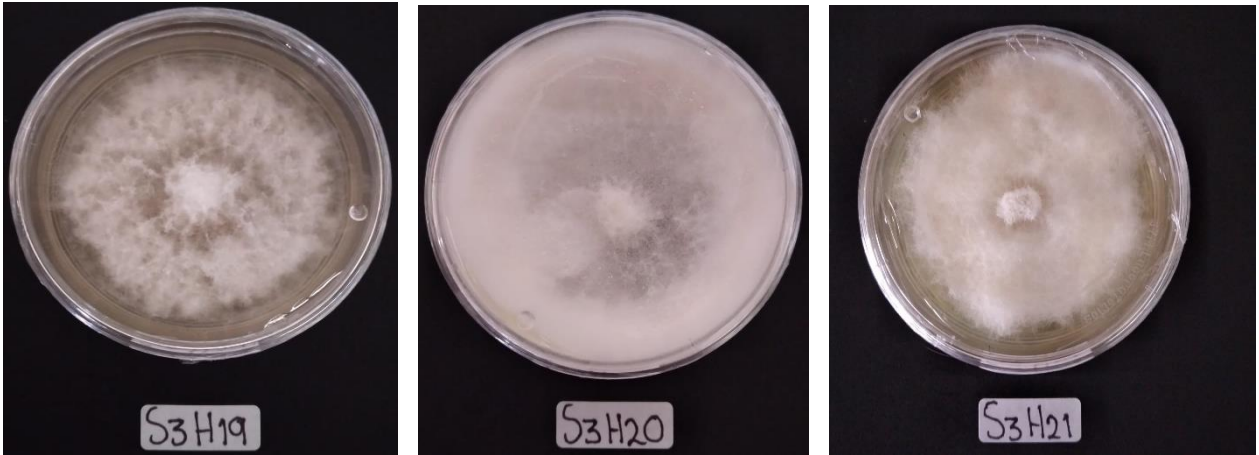
Hongos entomopatógenos del sitio tres sembrados en medio de cultivo ADS+EL



Hongos entomopatógenos del sitio tres sembrados en medio de cultivo ADS+EL



Hongos entomopatógenos del sitio tres sembrados en medio de cultivo ADS+EL



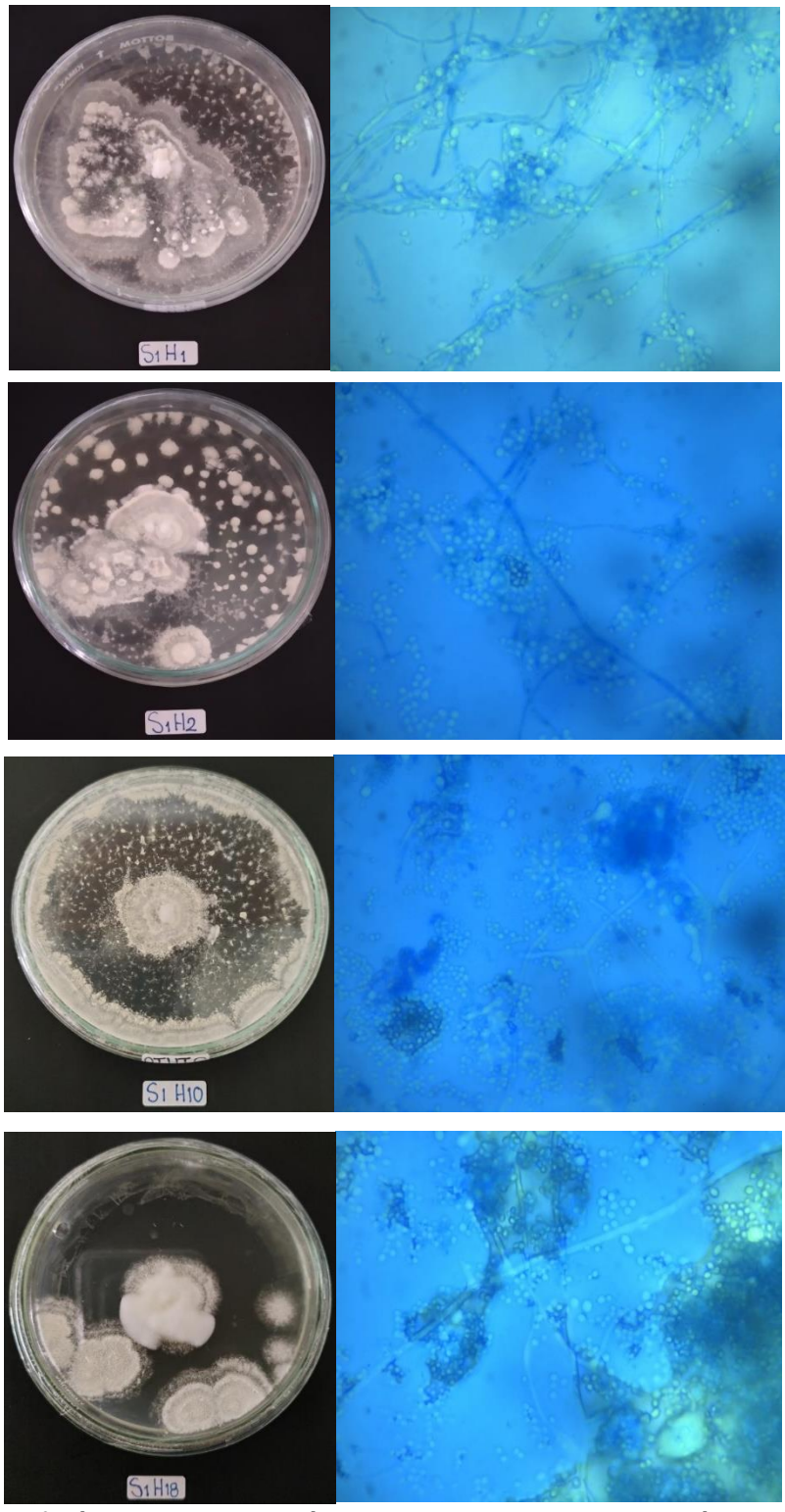
Hongos entomopatógenos del sitio tres sembrados en medio de cultivo ADS+EL



Hongos entomopatógenos del sitio tres sembrados en medio de cultivo ADS+EL

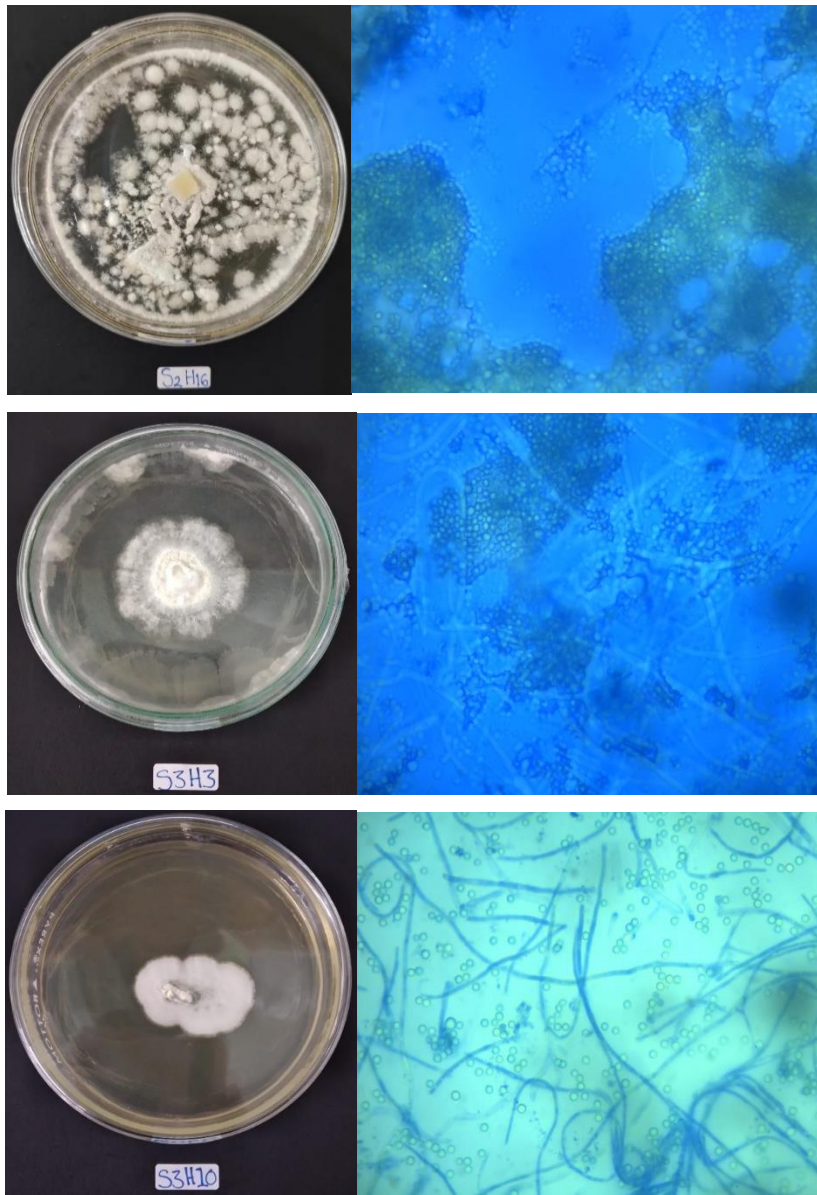


Midiendo el crecimiento de los hongos entomopatógenos aislados en el medio ADS+EL



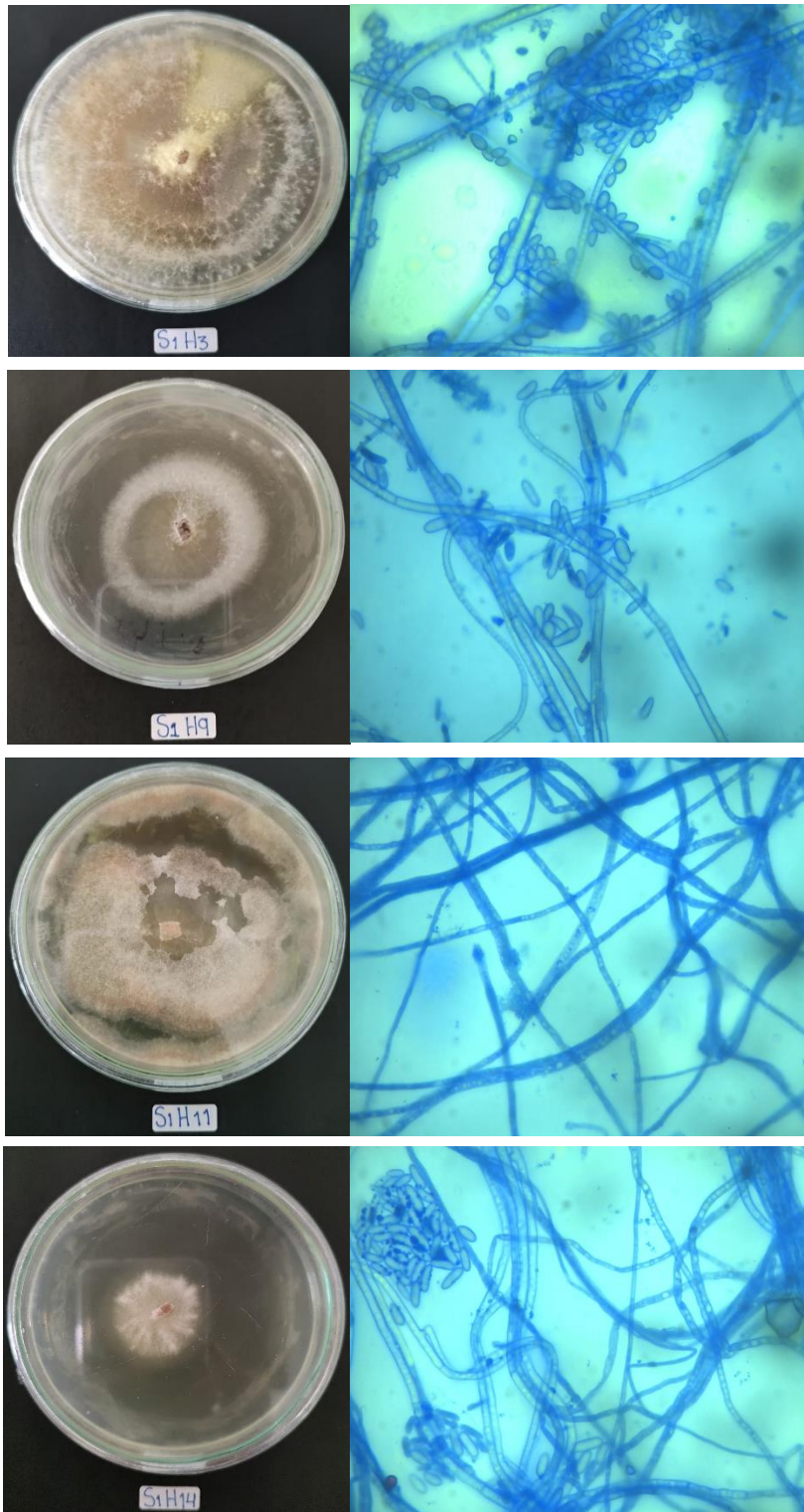
Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *B. bassiana* en medio PDA



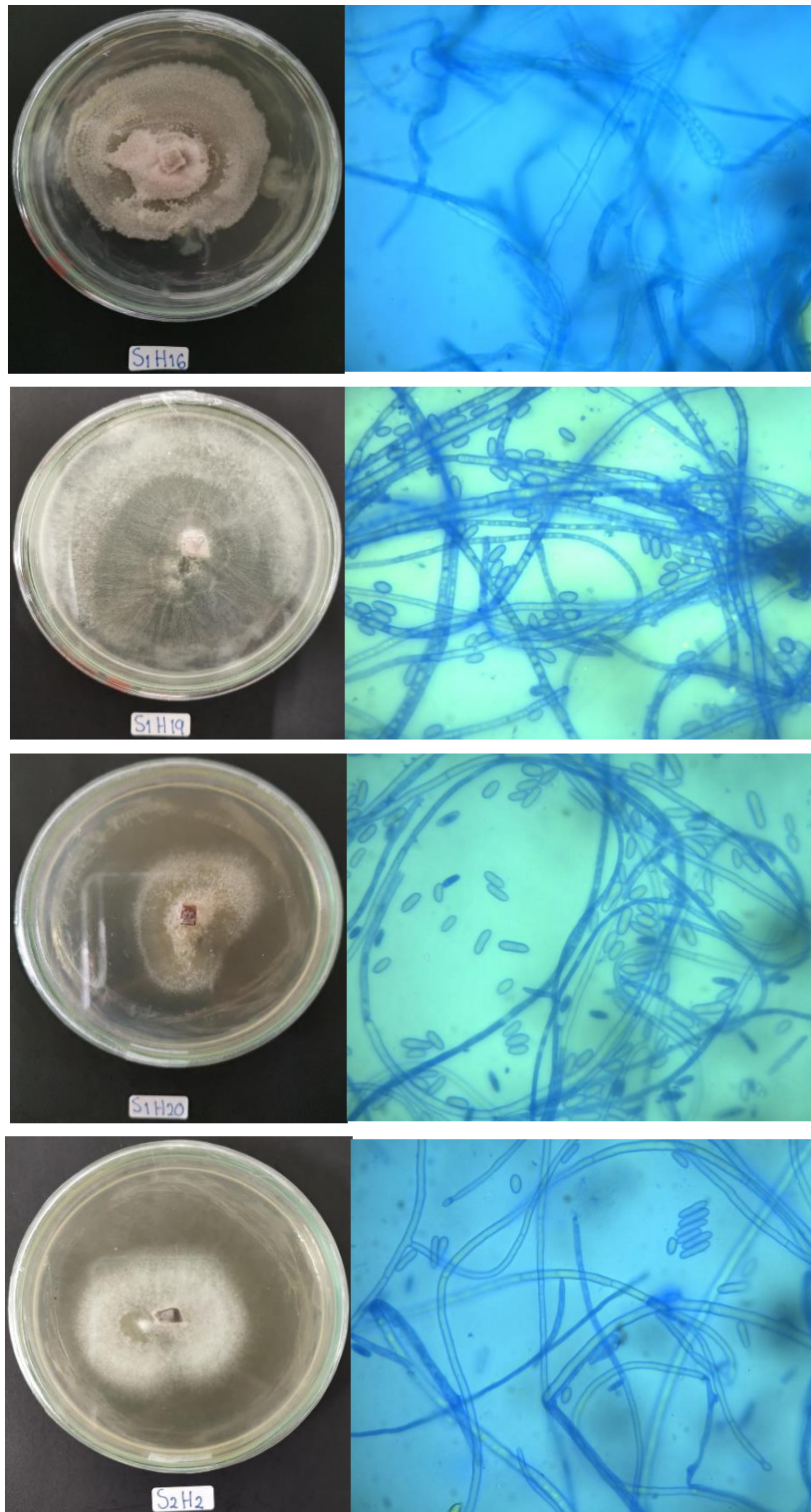


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatígeno *B. bassiana* en medio PDA



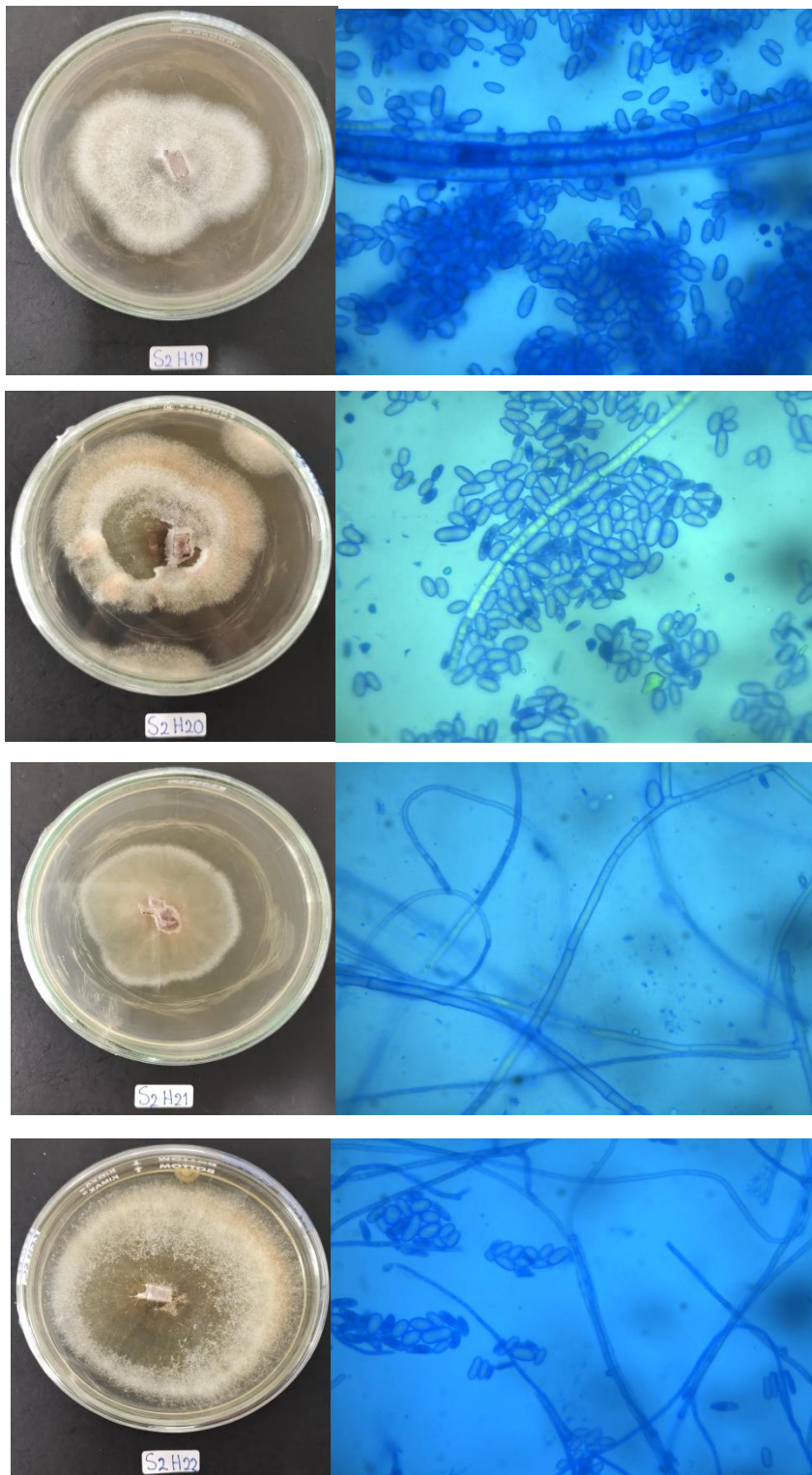


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatígeno *Metarhizium anisopliae* en medio PDA

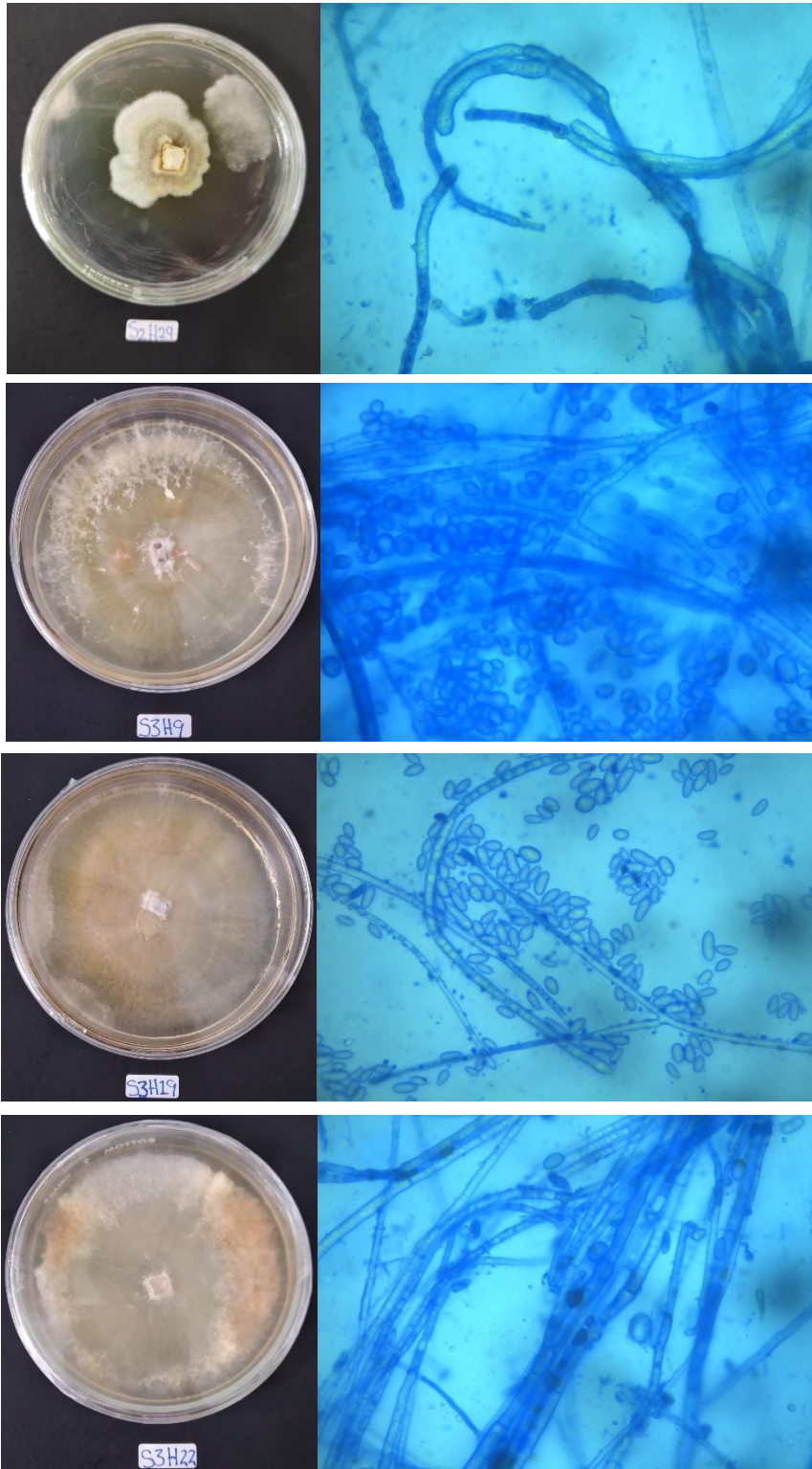


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en medio PDA



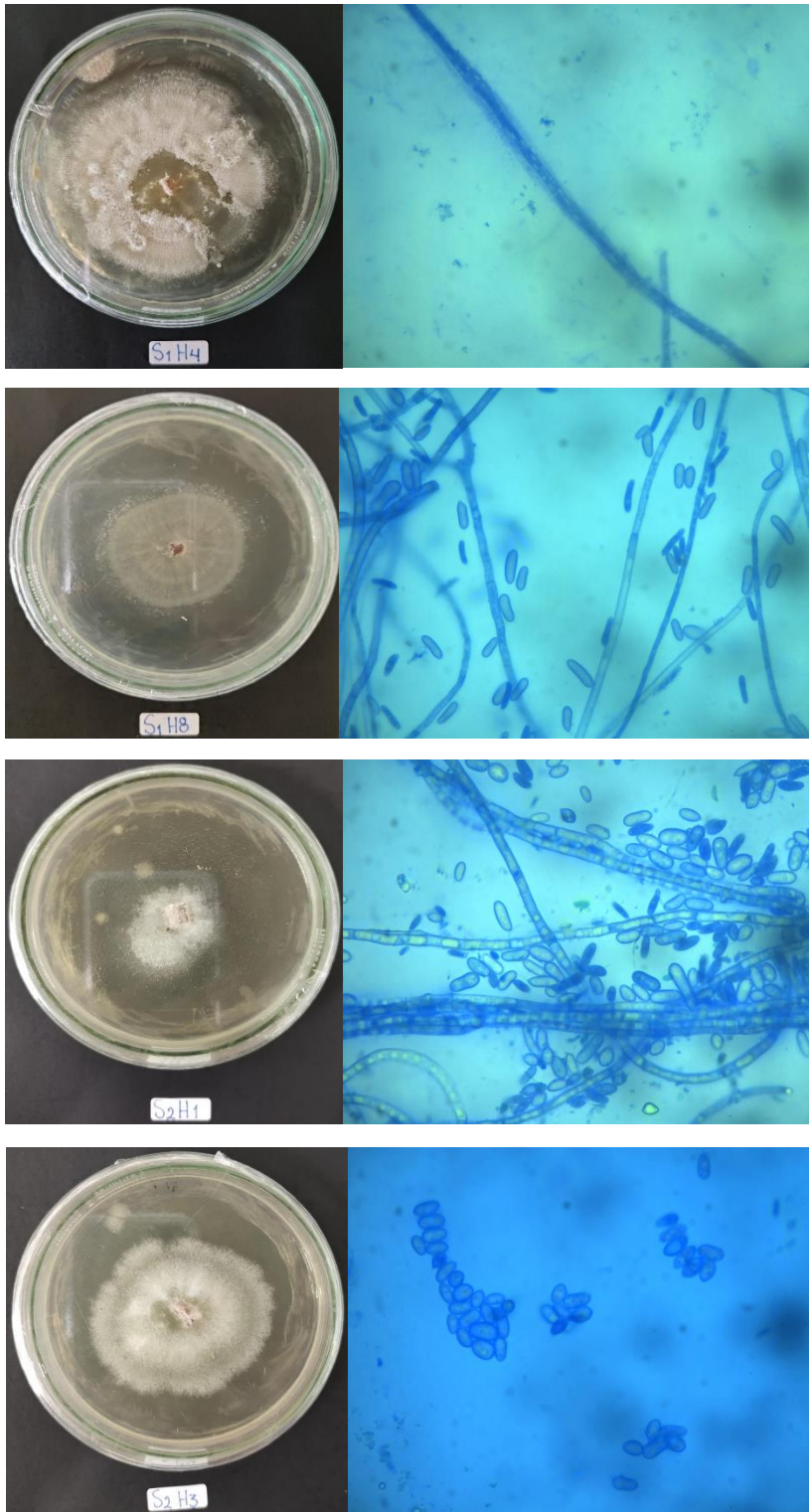


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en medio PDA

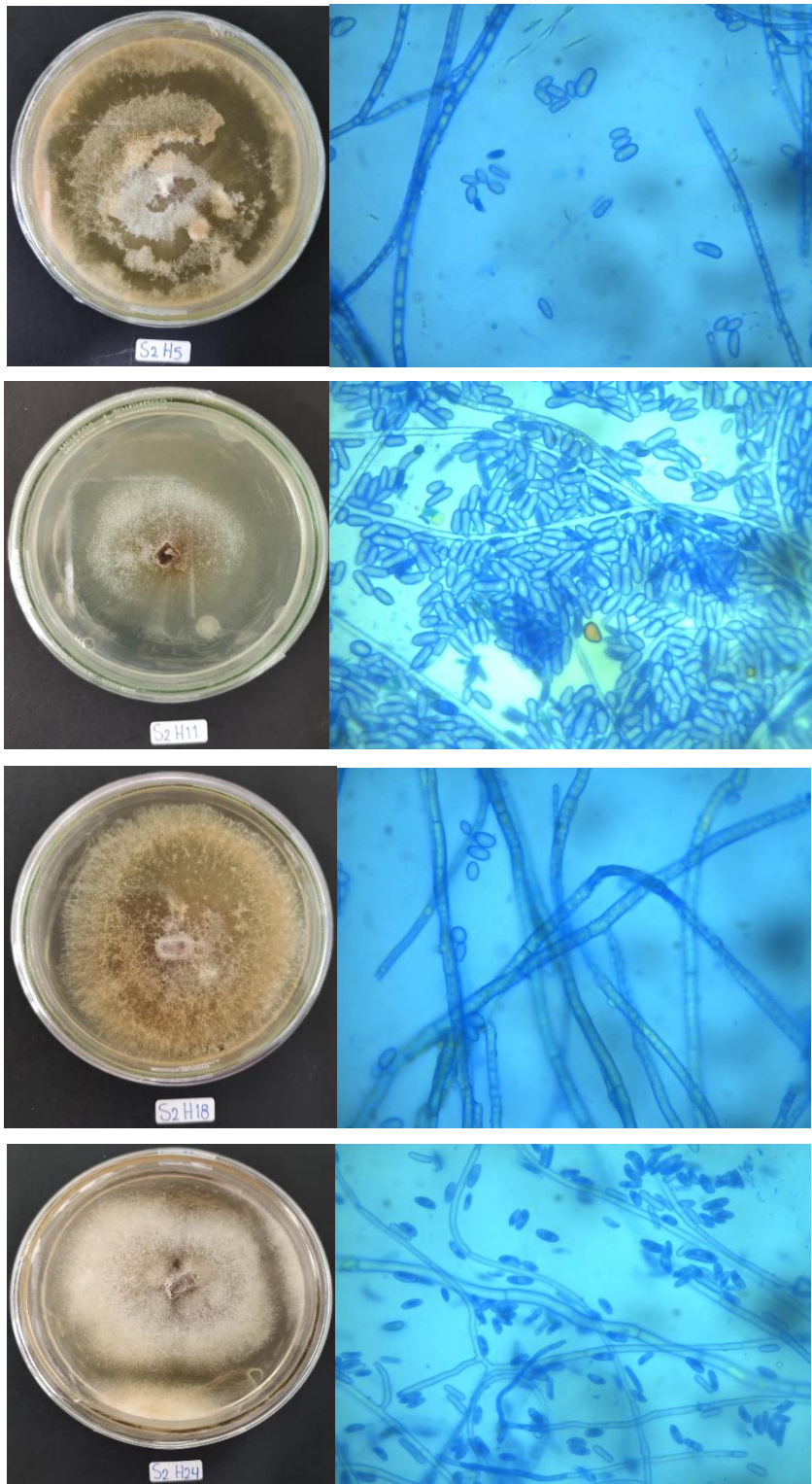


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* en medio PDA

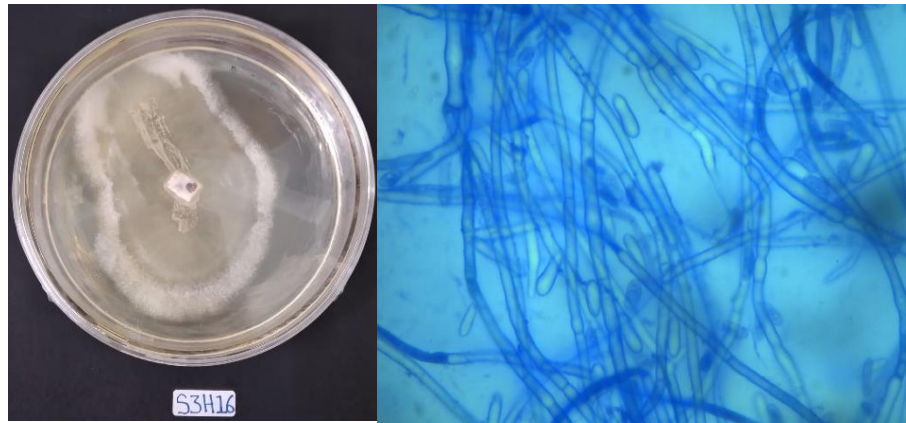




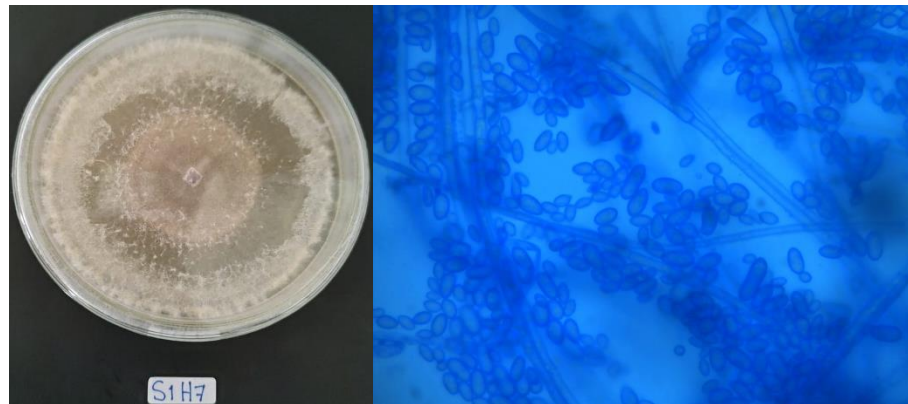
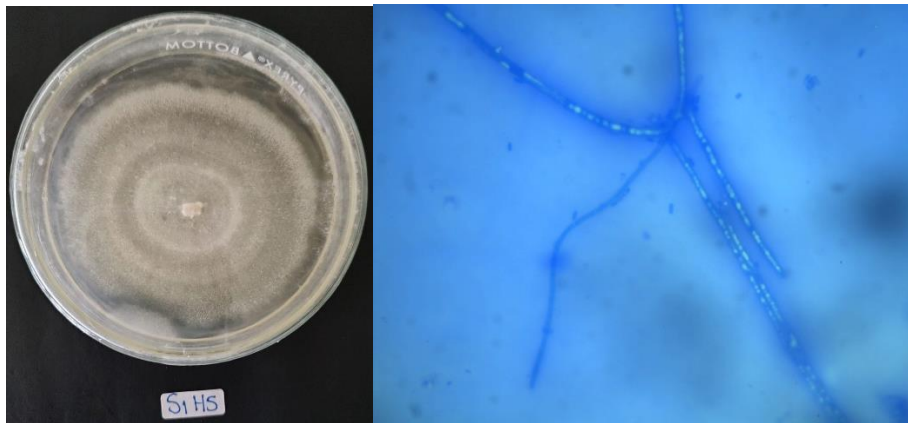
Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Fusarium* ssp. en medio PDA



Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Fusarium* ssp. en medio PDA

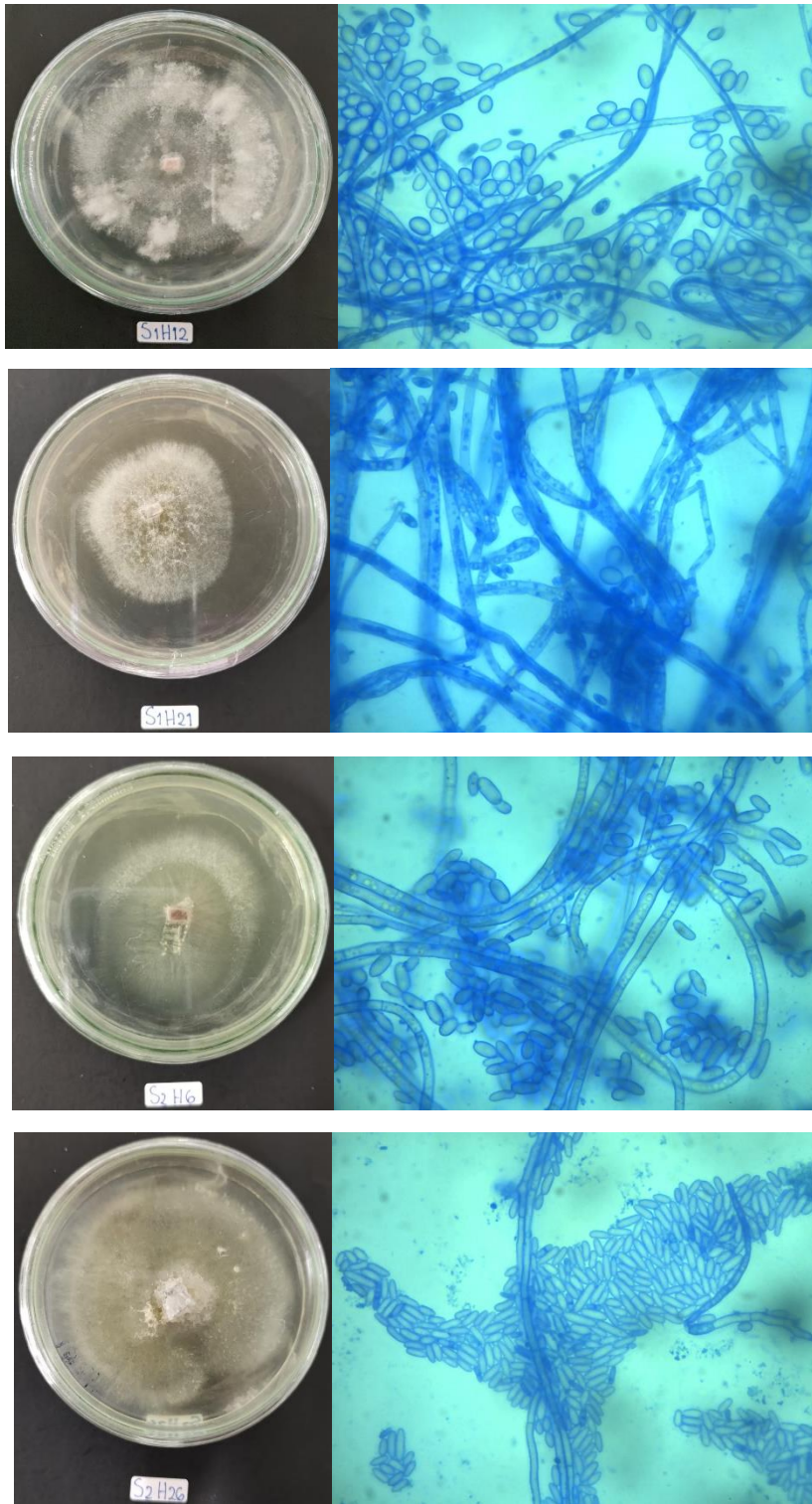


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Fusarium* ssp. en medio PDA



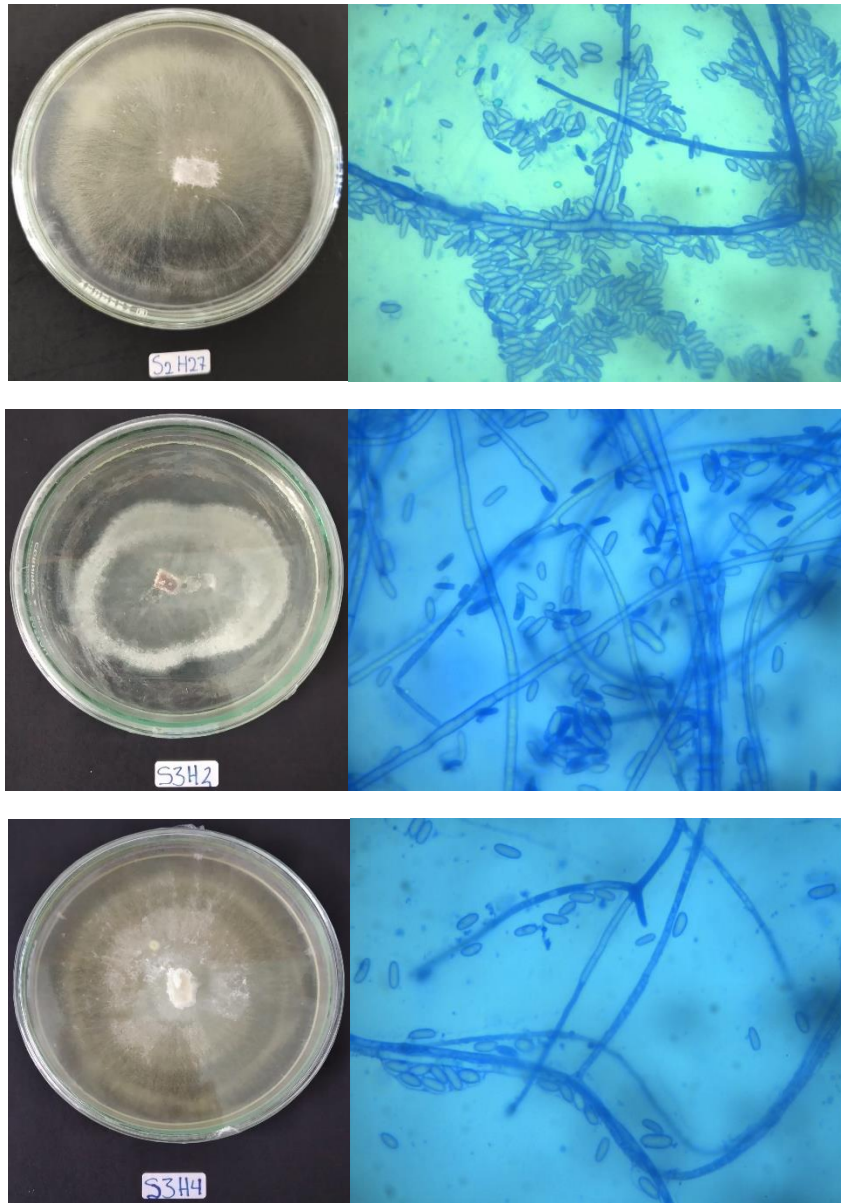
Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Hirsutella* sp. en medio PDA



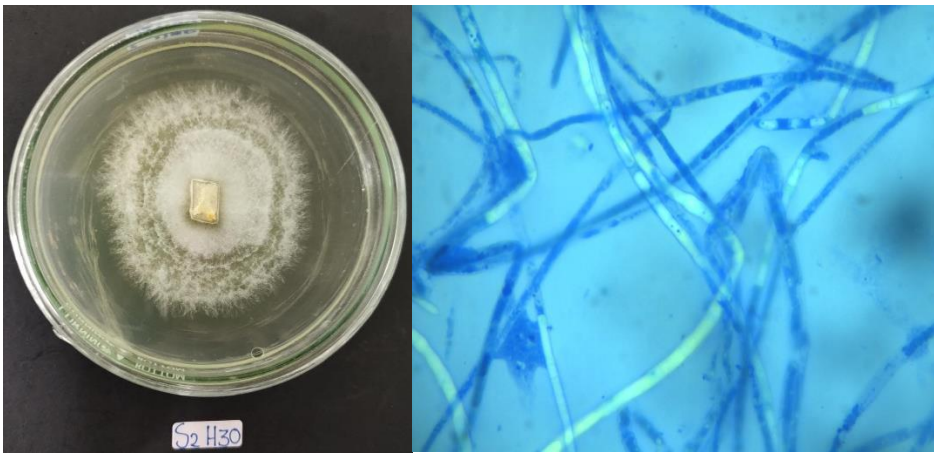
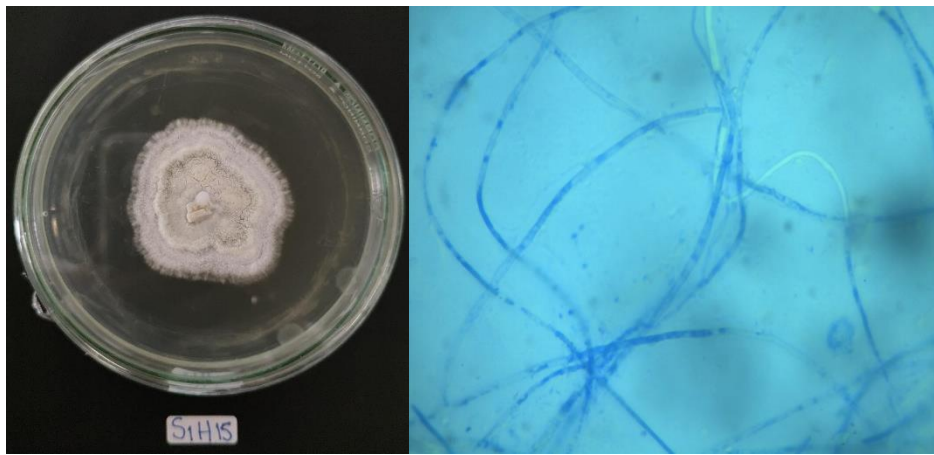
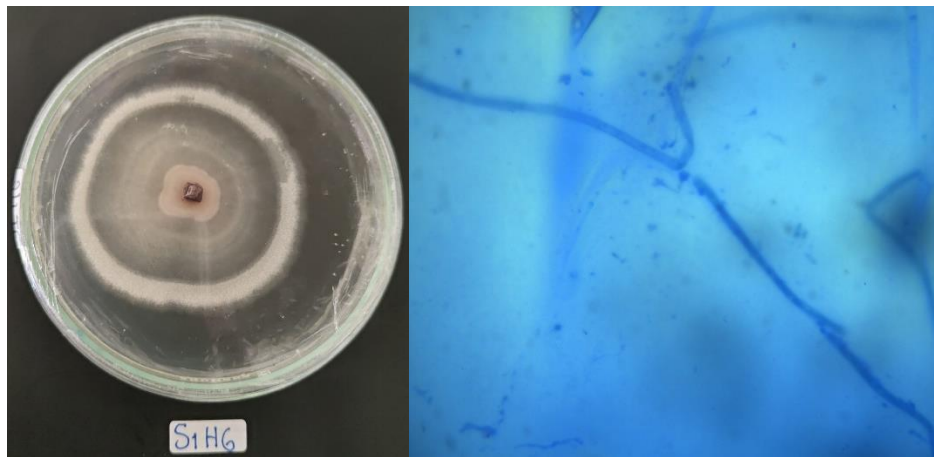


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Hirsutella* sp. en medio PDA

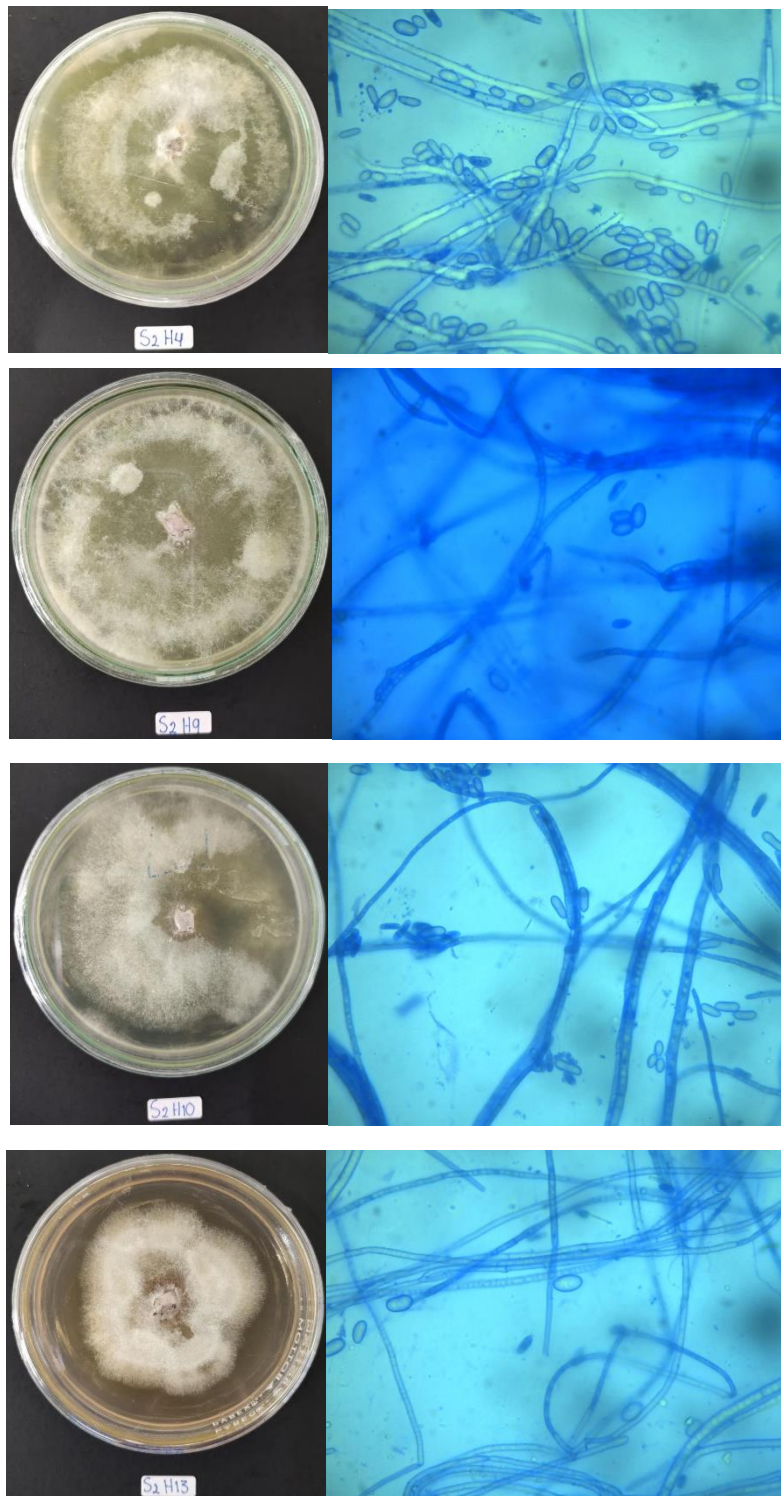




Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Hirsutella* sp. en medio PDA

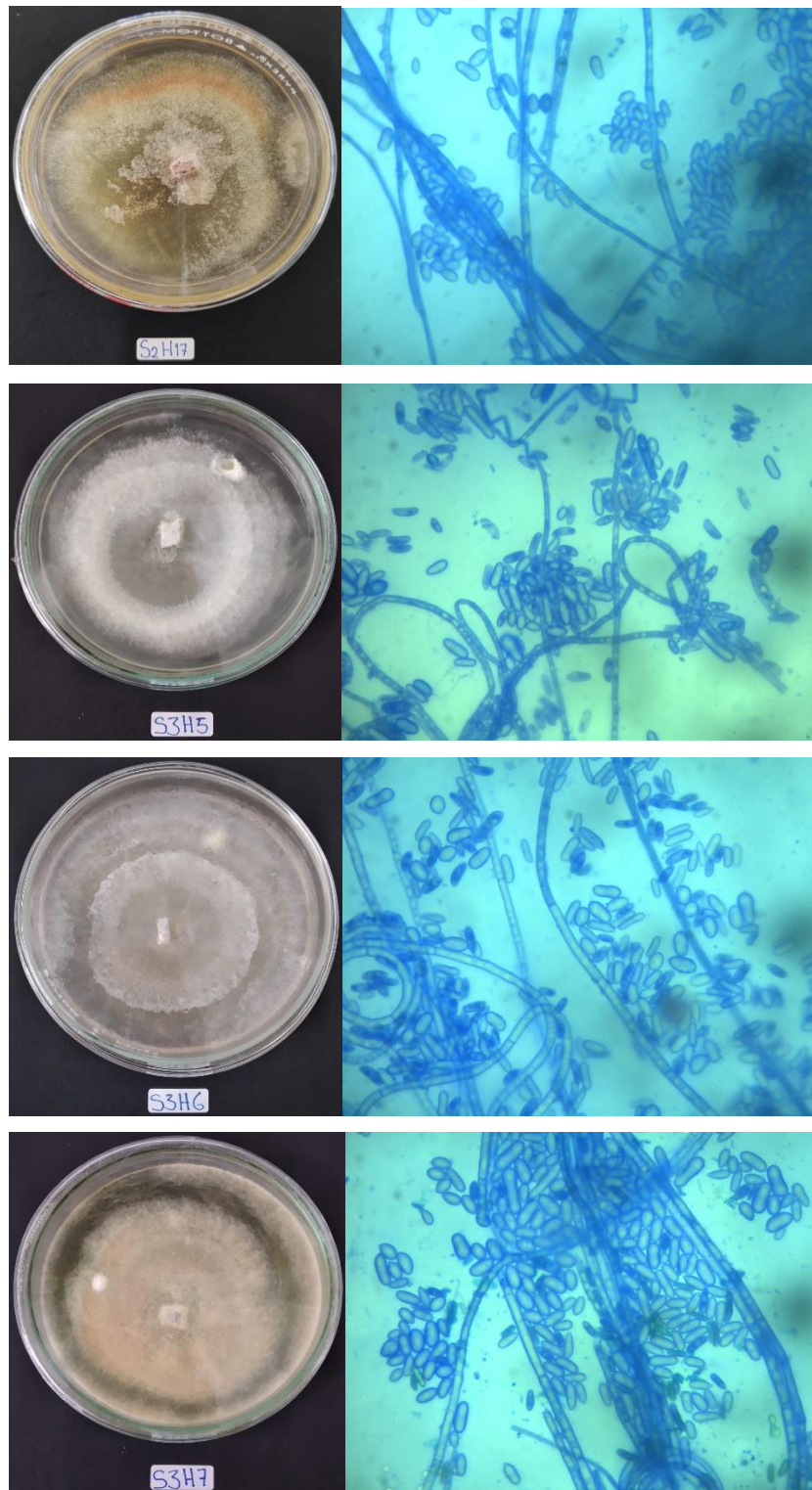


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Lecanicillium lecanii* en medio PDA

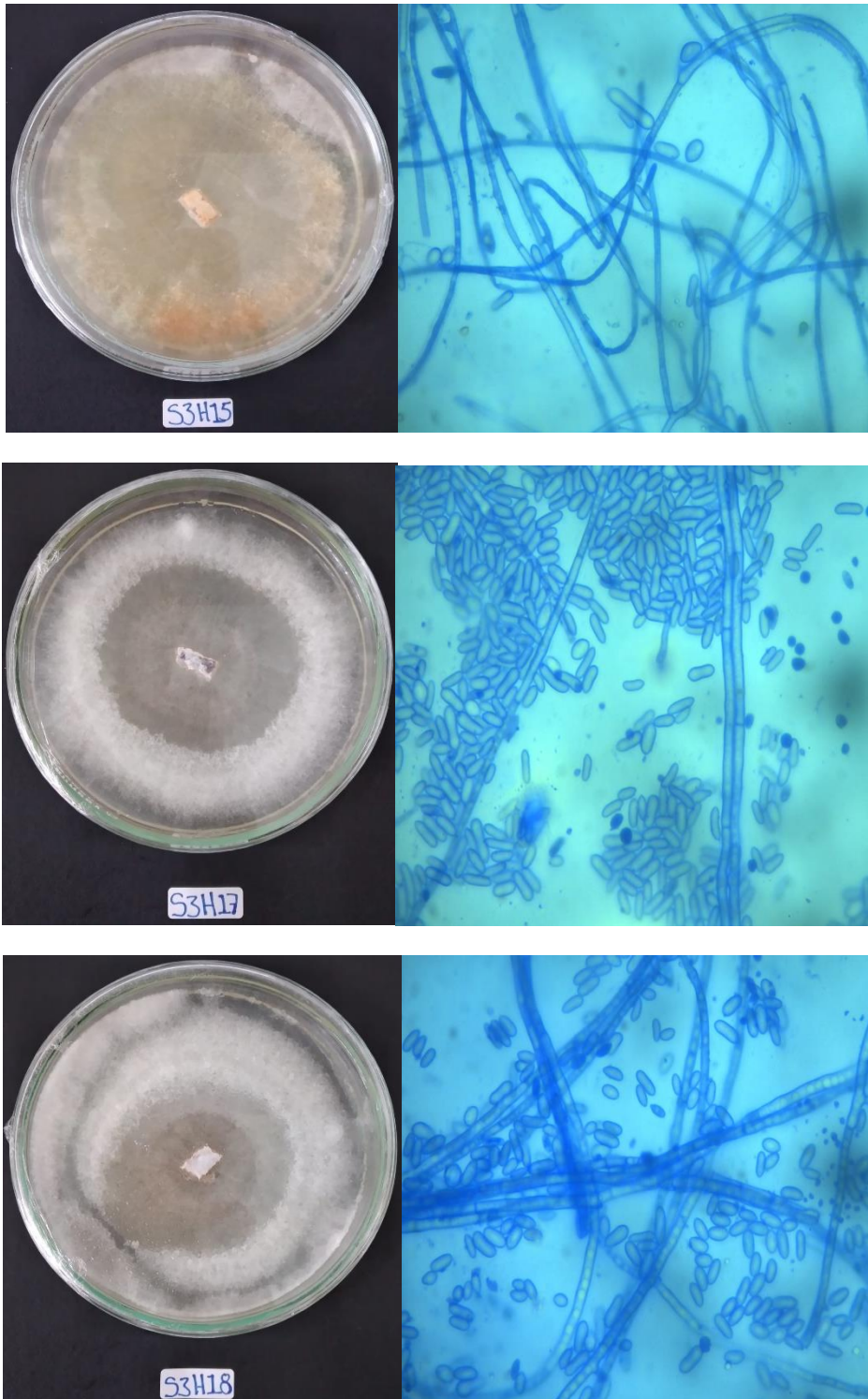


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* en medio PDA



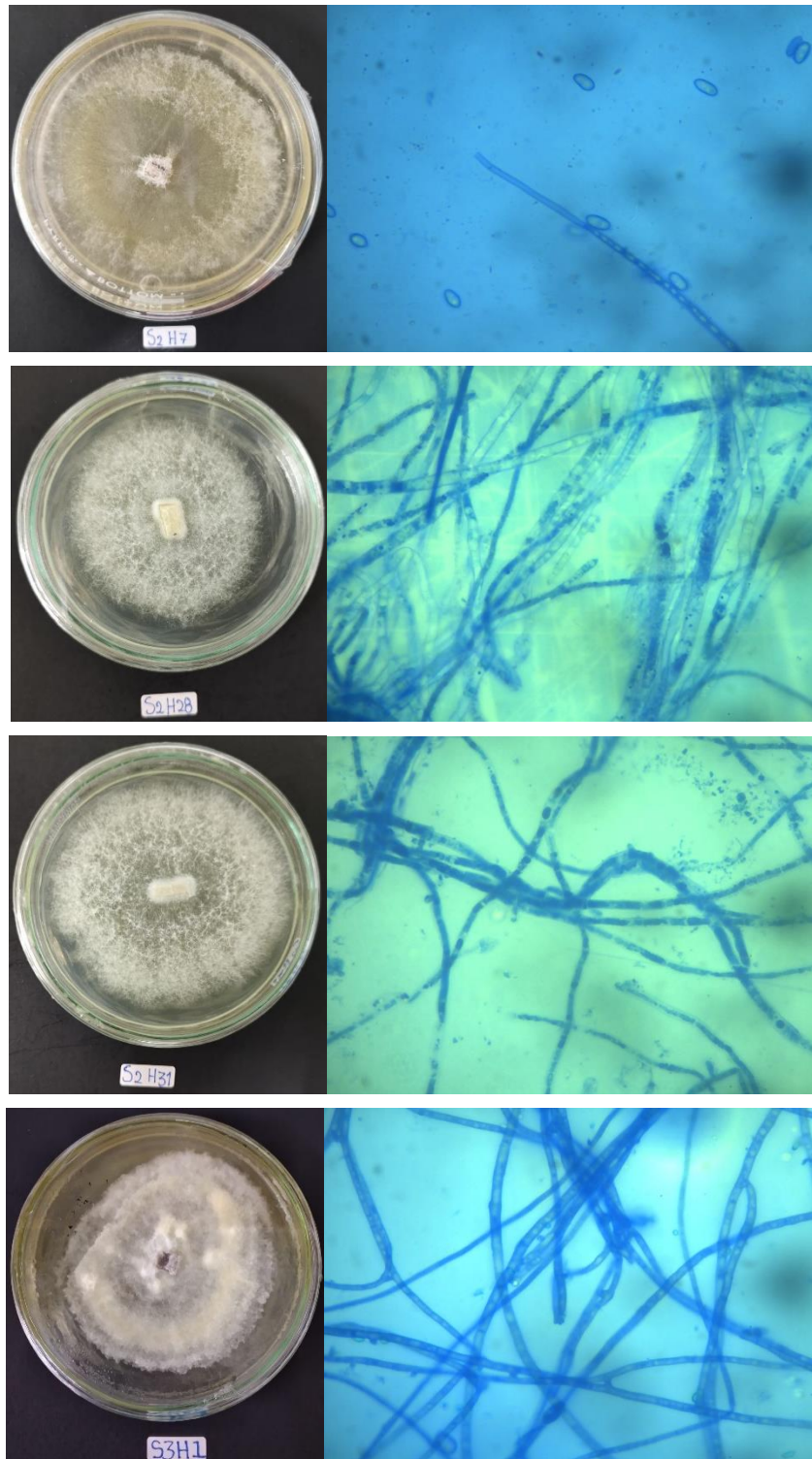


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* en medio PDA

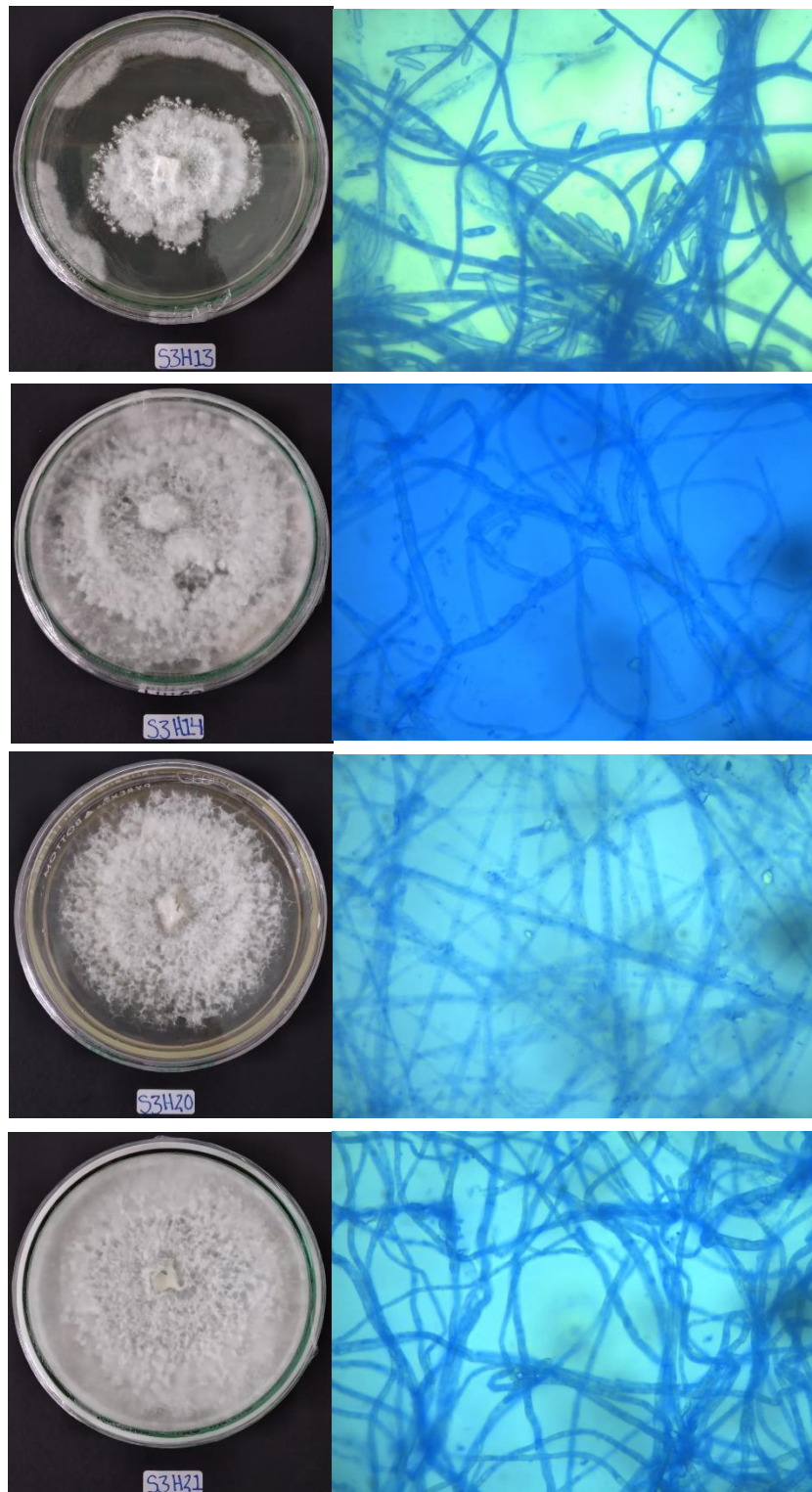


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Paecilomyces fumosoroseus* en medio PDA





Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Paecilomyces farinosus* en medio PDA

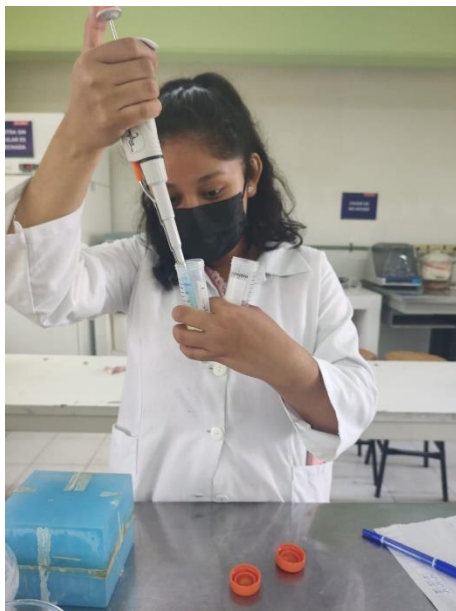


Características morfológicas y microscópicas del hongo entomopatógeno *Paecilomyces farinosus* en medio PDA



Midiendo el crecimiento de los hongos entomopatógenos aislados en el medio PDA

Observando las características Microscópicas de los hongos entomopatógenos



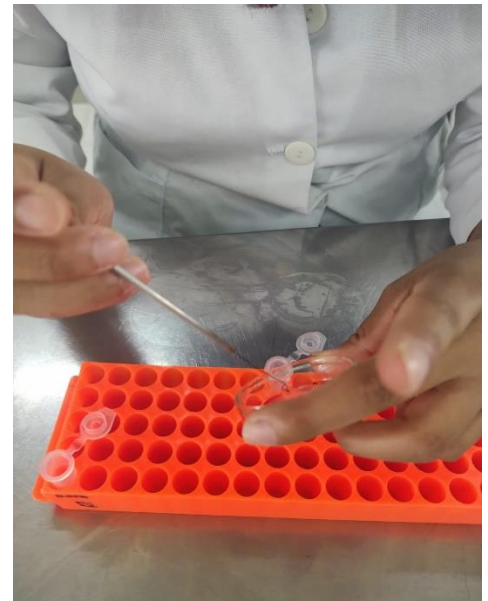
Preparando la solución de agua+tween para la caracterización patogénica





Raspando el micelio del hongo entomopatógeno

Sumergiendo el insecto en una solución por 1 min.



Colocación del insecto en la cámara húmeda



LICENCIA DE USO OTORGADA POR DANIELA GONZALEZ OCHOA, de nacionalidad MEXICANA mayor de edad, con domicilio ubicado en NARANJOS MUNICIPIO DE TOTUTLA, en mi calidad de titular de los derechos patrimoniales y morales y autor de la tesis denominada EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS CONTRA LA BROCA DEL CAFÉ en adelante "LA OBRA" quien para todos los fines del presente documento se denominará "**EL AUTOR Y/O EL TITULAR**", a favor del Instituto Tecnológico de ÚRSULO GALVÁN del Tecnológico Nacional de México, la cual se registrá por las clausulas siguientes:

**PRIMERA -OBJETO:** "**EL AUTOR Y/O TITULAR**", mediante el presente documento otorga al Instituto Tecnológico de ÚRSULO GALVÁN del Tecnológico Nacional de México, licencia de uso gratuita e indefinida respecto de "LA OBRA", para almacenar, preservar, publicar, reproducir y/o divulgar la misma, con fines académicos, por cualquier medio en forma física y a través del repositorio institucional y del repositorio nacional, éste último consultable en la página: (<https://www.repositorionacionalcti.mx/>).

**SEGUNDA - TERRITORIO:** La presente licencia se otorga, de manera no exclusiva, sin limitación geográfica o territorial alguna, de manera gratuita e indefinida.

**TERCERA -ALCANCE:** La presente licencia contempla la autorización para formato uso de "LA OBRA" en cualquier formato o soporte material y se extiende a la utilización, de manera enunciativa más no limitativa a los siguientes medios: óptico, magnético, electrónico, virtual (red), mensaje de datos o similar conocido por conocerse en medio óptico, magnético, electrónico, en red, mensajes de datos o similar, conocido o por conocerse.

**CUARTA - EXCLUSIVIDAD:** La presente licencia aquí establecida no implica exclusividad en favor del Instituto Tecnológico de ÚRSULO GALVÁN; por lo tanto, "**EL AUTOR Y/O TITULAR**" conserva los derechos patrimoniales y morales de "LA OBRA", objeto del presente documento.

**QUINTA - CRÉDITOS:** El Instituto Tecnológico de ÚRSULO GALVÁN y/o el Tecnológico Nacional de México reconoce que el "**AUTOR Y/O TITULAR**" es el único, primigenio y perpetuo titular de los derechos morales sobre "LA OBRA"; por lo tanto, siempre deberá otorgarle los créditos correspondientes por la autoría de la misma.

**SEXTA - AUTORÍA:** "**EL AUTOR Y/O TITULAR**" manifiesta ser el único titular de los derechos de autor que derivan de "LA OBRA" y declara que el material objeto del presente fue realizado por él, sin violentar o usurpar derechos de propiedad intelectual de terceros; por lo tanto, en caso de controversia sobre los mismos, se obliga a ser el único responsable.

Dado en la Ciudad de ÚRSULO GALVÁN, a los 30 días del mes de SEPTIEMBRE de 2022.

"EL AUTOR Y/O TITULAR"  
(Nombre y firma)

**DANIELA GONZALEZ OCHOA**

