

Control de la broca del café *Hypothenemus hampei* utilizando dos nematodos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y el insecticida Clorpirifos durante la maduración del fruto

Adrián Bauer Stillman

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2016**

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Control de la broca del café *Hypothenemus hampei* utilizando dos nematodos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y el insecticida Clorpirifos durante la maduración del fruto

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

Presentado por

Adrián Bauer Stillman

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2016

Control de la broca del café *Hypothenemus hampei* utilizando dos nematodos entomopatógenos, *Beauveria bassiana* y el insecticida Clorpirifos durante la maduración del fruto

Adrián Bauer Stillman

Resumen. La broca del cafeto *Hypothenemus hampei*, es el principal problema entomológico para los caficultores de Centro América, generando pérdidas económicas de hasta 50% de la producción. El objetivo de este estudio fue identificar entre los tres enemigos naturales: un hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* y dos nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapse*, el más apto para el control de la broca del cafeto entre los 107 a 137 días después de floración, cuando la broca se encuentra buscando frutos donde parasitar. Los efectos de los enemigos naturales se compararon con el efecto del insecticida organofosforado (Clorpirifos) que produce una fosforilación de la acetilcolina en las uniones colinérgicas de las neuronas. Se hicieron aplicaciones en campo y se muestreó siete días después de cada aplicación. También, en el Laboratorio de Control Biológico de Zamorano, se evaluó el comportamiento de la *Hypothenemus hampei* y se identificaron las parasitadas por los nematodos entomopatógenos 7 días después de inocularlas *in vitro*. En campo, el enemigo natural *Beauveria bassiana* presentó el control más apto con la mayor mortalidad de la *Hypothenemus hampei* dentro del fruto. En condiciones *in vitro*, el comportamiento de la broca al ser parasitada por los nematodos fue evasivo, saliendo del fruto donde se identificó el que la broca tiende a morir afuera.

Palabras claves: *Coffea arabica*, enemigos naturales, entomopatógenos, *in vitro*.

Abstract. The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, is the main pest attacking productions around the world, causing damages of up to 50% of productions in Central America. The aim of this study was to identify the most suitable natural enemy to control populations of coffee berry borer when it is on the look for coffee berries to parasitize. The study utilized three natural enemies, the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, and entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapse* and *Heterorhabditis bacteriophora*, and organophosphate insecticide (Chlorpirifos) between 107 to 137 days after flowering. The treatments were targeted to the coffee berries on the productive branches, applied 107 and 130 days after flowering. The samples were taken and observed 7 days after each application and evaluated in Zamorano Biological Control Laboratory. Additionally, the study analyzed the behavior of *Hypothenemus hampei* while being parasitized by entomopathogenic nematodes in controlled conditions. Coffee berries parasitized by the borer where inoculated in water containing the nematodes. Treatments were also evaluated 7 days after the application. The field studies identified *Beauveria bassiana* as the fittest natural enemy to control *Hypothenemus hampei*; it demonstrated the highest mortalities inside the gallery on the berry. The behavior of the borer being parasitized by entomopathogenic nematodes in controlled conditions was evasive as it tends to leave the fruit, causing the death of the borer outside the gallery of the fruit.

Key Words: *Coffea arabica*, entomopathogenic, *in vitro*, natural enemies.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de cuadros y figuras.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	6
4. CONCLUSIONES.....	10
5. RECOMENDACIONES.....	11
6. LITERATURA CITADA.....	12

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Tratamientos y la dosis por hectárea, aplicada en la “Hacienda El Brasil”, El Paraíso, Honduras, 2016.....	3
2. Evaluación in vitro del comportamiento de la broca parasitada por <i>Heterorhabditis bacteriophora</i> y <i>Steinernema carpocapse</i> . Datos expresados en cantidad de brocas evacuadas del fruto brocado. Analizado 7 días después de inoculación en el Laboratorio de Control Biológico Zamorano, Honduras, 2016.....	8

Figuras	Página
1. Dimensiones de parcela experimental y área muestreada en la evaluación...	4
2. Porcentaje de mortalidad de adultos de broca a los 114 y 137 días después de floración.” Hacienda El Brasil”, El Paraíso, Honduras, 2016.....	6
3. Porcentaje de frutos evacuados de broca a los 114 y 137 días después de floración. “Hacienda El Brasil”, El Paraíso, Honduras, 2016	7
4. Porcentaje de brocas vivas en estado adulto a los 114 y 137 días después de floración. “Hacienda El Brasil”, El Paraíso, Honduras, 2016	9

1. INTRODUCCIÓN

La broca del café *Hypothenemus hampei*, es el principal problema entomológico para los caficultores de Centro América, generando pérdidas económicas de hasta 50% de la producción (Ramírez 2001). Los niveles críticos definidos por ANACAFE (2003) en campo son del 5%.

Pertenece al orden *Coleóptera*, familia *Scolytidae*, con metamorfosis completa donde se hospeda en los frutos de café la mayoría ciclo de su vida. Proviene de Uganda y llegó a Brasil en 1913 donde se adaptó al ecosistema y aumentó su población con facilidad debido a las condiciones favorables para su desarrollo y la carencia de enemigos naturales (Bustillo 2006).

La broca ataca al café entre los 70-170 días después de floración, atraída por metabolitos secundarios que producen aromas azucarados. Las hembras zarpan de los remanentes de la floración anterior y realiza una galería en un fruto nuevo hasta llegar al endospermo donde depositan dos o tres huevos al día por 20 días hasta su muerte (Camilo et al. 2003). Las larvas se alimentan del interior dejándolo vacío y degradado, muy susceptible a procesos de fermentación aerobia de microorganismos que entran a través de la galería. El ciclo del insecto dura entre 45-60 días, favorecida por lluvias o altas humedades relativas y temperaturas entre 19-22° C (Bustillo et al. 2006). La putrefacción del grano, los procesos de fermentación y la descomposición del fruto genera pérdidas en peso, densidad y malos olores afectando la producción y el perfil de la taza (Montoya 1999).

El control químico se recomienda solamente cuando la plaga está por encima del nivel crítico de 5%. Es preferible prevenir el aumento poblacional con un Manejo Integrado de Broca (MIB) adecuado. Hasta el 2012, el insecticida Endosulfán era el más utilizado a nivel mundial. Sin embargo, el uso de esa molécula organoclorada fue prohibida en el Convenio de Estocolmo 2011 por El Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Actualmente se está usando el insecticida de amplio espectro Clorpirifos que contiene una molécula organofosforada de largo efecto residual y actúa después de ingestión, inhalación o contacto con el insecto. Es ampliamente utilizada para el control de plagas insectiles.

La *Beauveria bassiana* ha demostrado ser un excelente enemigo natural de la broca. Sus esporas se adhieren a la cutícula del insecto y, en acción combinada con mecanismos físicos y químicos comienza a ejercer fuerza para penetrar el tegumento. Produce un tubo germinativo, haustorio, el cual comienza la secreta de quitinasas, proteasas, y lipasas las cuales degradan el tejido en el sitio de penetración del tegumento del insecto hasta llegar al hemocele. También puede ingresar por medio de la cavidad bucal, espiráculos, entre otras aberturas del insecto. Una vez penetrado en el hemocele, el hongo se ramifica por dentro secretando toxinas, induciendo al insecto a la septicemia. La micosis fungoide induce los síntomas fisiológicos anormales del

insecto generando comportamiento alterado, parálisis, carencia de coordinación y convulsiones. El hongo se alimenta del insecto hasta que se acaben los nutrientes, donde se comienza el desarrollo de micelio. Cuando se dan las condiciones adecuadas, las hifas emergen al exterior del cadáver y el hongo esporula (Téllez et al. 2009).

Los nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapse* se han adaptados a nuevos ambientes con condiciones adversas, presentan resistencia a productos químicos y son altamente específicos contra insectos e inoos al ambiente y mamíferos. Los nematodos también son compatibles entre sí, resaltando su importancia en programas de manejo integrado de plagas (Sáenz et al. 2011). En el ámbito cafetalero existe investigación dirigida a las aplicaciones del nematodo cuando el fruto se encuentra en el suelo. Por ejemplo, en Colombia se aplicaron los nematodos al plato de los árboles posterior a la cosecha. Estudio que demostró la capacidad de penetración del nematodo en los frutos de café brocados, causando mortalidad y multiplicándose en los frutos caídos infestados por broca.

El nematodo *H. bacteriophora* está catalogado como un nematodo ambulante ya que se mueve con agilidad hasta penetrar al insecto. A diferencia del nematodo *S. carpocapse*, este tiene un comportamiento de emboscada y la capacidad de saltar para adherirse al insecto cuando este cerca. Ambos son atraídos por el CO₂ y penetran el insecto en de juvenil infectivo. a través de aberturas naturales (boca, ano, espiráculos) (Arthurs et al. 2004). *H. bacteriophora* se diferencia ya que tiene un diente en la parte anterior del intestino que le permite penetrar las membranas intersegmentales del hospedero y facilitar su acceso (Sáenz et al. 2011). Una vez en nematodo logra penetrar al hemocele del insecto, se liberan bacterias simbiotes que se reproducen aceleradamente, produciendo toxinas y enzimas líticas que causan su muerte. El insecto muere 48 horas después de la infección.

El uso de controladores biológicos es una alternativa efectiva, en especial para producciones orgánicas y cafés certificados los cuales generan un valor agregado al productor y consumidor.

Los objetivos de este estudio fueron determinar en nematodo entomopatógeno más efectivo para el control de la broca del café durante los 107-137 días después de floración, determinar entre los enemigos naturales evaluados el más efectivo para el control de adultos de *Hypothenemus hampei* durante los, 107-137 días después de floración y por último comparar los 3 enemigos naturales con el referente químico Clorpirifos para determinar cuál es más eficaz en el control de adultos de *Hypothenemus hampei*, 107-137 días después de floración.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación. Estudio de campo se realizó entre los meses de junio-septiembre del 2016 en la “Hacienda El Brasil” ubicada en El Paraíso, Yuscarán, Honduras a 1200 msnm. Históricamente se registra una precipitación promedio anual de 1500 mm y una temperatura promedio de 26° C. La variedad de café Pacamara y se encuentra en su segundo año productivo fue sembrada en el 2013 con dimensiones de 1.3 m x 1.3 m.

Se utilizaron tres tratamientos biológicos que se compararon con el insecticida organofosforado Clorpirifos y el testigo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos y la dosis por hectárea, aplicada en la “Hacienda El Brasil”, El Paraíso, Honduras, 2016.

Producto	Dosis utilizada	Ingrediente
BAZAM	4.16×10^8 esporas/ha	<i>Beauveria bassiana</i>
NEMAPOWER HB	4.00×10^8 nematodos/ha	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>
NEMAPOWER SC	4.00×10^8 nematodos/ha	<i>Steinernema carpocapse</i>
BRUSKO 48 EC	1.75 L /ha	Clorpirifos (840 g i.a./ha)
Testigo	N/A	N/A

Aplicación de tratamientos. La aplicación de los tratamientos fue dirigida a los frutos en la planta asegurando una buena cobertura en la bandola de la planta del café. Se realizaron dos aplicaciones, la primera a los 107 días después de floración y la segunda a los 130 días después de floración utilizando una bomba de motor modelo Aritmitsu SD-253, de 25 litros a un caudal de 6.8 litros/min a 1900 rpm (200 L/ha) y con boquillas dobles especiales para una aplicación dirigida y uniforme tipo Yamaha D-6. Los tratamientos fueron mezclados agregando 1 cc/L del adherente y surfactante BreakThru[®].

Diseño experimental. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar (BCA) con cuatro repeticiones por tratamiento haciendo un total de 20 unidades experimentales distribuidas al azar en parcelas de 10 m × 10 m, aproximadamente con 60 plantas por unidad experimental (UE) (Figura 1).

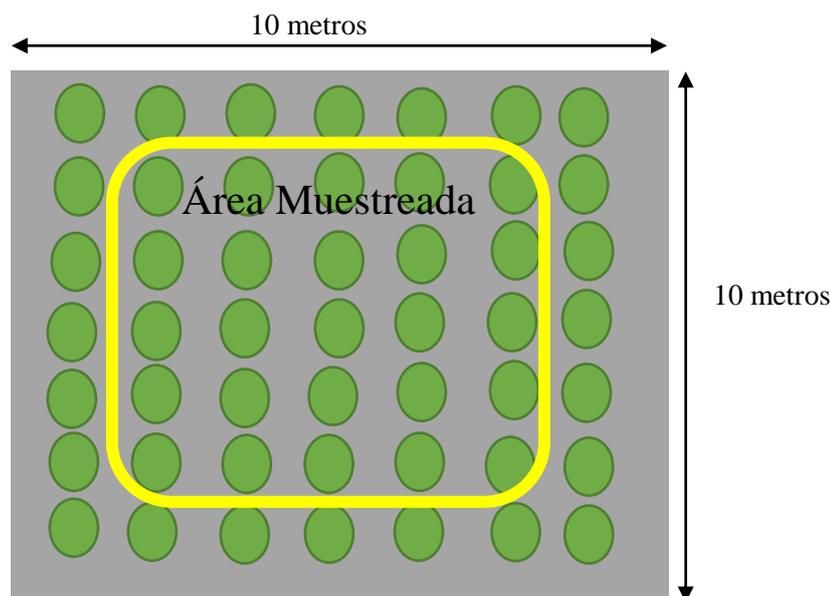


Figura 1. Dimensiones de parcela experimental y área muestreada en la evaluación.

Muestreo de incidencia. Se muestrearon las UE individualmente para definir los niveles poblacionales de broca en campo utilizando cinco cafetos por unidad experimental y cuatro bandolas del cafeto al azar, contando los frutos brocados en relación a la cantidad de frutos totales en la bandola para expresarlo en porcentaje.

Muestreo pos aplicación. Se muestrearon las UE usando cinco plantas por UE y cuatro ramas por planta, contando los granos brocados y haciendo una relación con el grano sano. Se recolectaron 50 granos brocados por UE en bolsas de papel manila y luego traídas al laboratorio de control biológico de Zamorano para su evaluación. Se realizó una disección del grano con bisturí para extraer la broca y poder definir el estado viable de la broca.

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados con el Modelo Lineal General (GLM) con el programa SAS 9.4. La separación de medias se analizó utilizando la prueba Duncan a una significancia de $P \leq 0.05$ para las variables mortalidad e infección. Se realizó una transformación de datos con la raíz cuadrada del arco-seno del porcentaje de brocas muertas, vivas y frutos vacíos. Transformaciones de datos arco-seno permiten eliminar el efecto de las varianzas en los tratamientos del ensayo.

Variables medidas pos aplicación. Se contabilizaron las brocas vivas, muertas y frutos vacíos definiendo en porcentajes. Brocas muertas por el hongo *B. bassiana* eran fácilmente identificables por presencia de hifas o esporas blancuecinas. Las brocas controladas con el tratamiento químico fueron frecuentemente encontradas muertas en el interior de la galería. Brocas provenientes de tratamientos aplicados con nematodos entomopatógenos procedieron a un montaje en placa con azul de lactofenol para ser observadas en microscopio y definir parasitismo del nematodo dentro de la broca. En el muestreo se observaron altos porcentajes de frutos evacuados para los tratamientos de los nematodos entomopatógenos.

Evaluación *in vitro* del comportamiento de la broca del café al ser parasitada por nematodos entomopatógenos. Para definir el comportamiento de la broca parasitada por el nematodo se procedió a inocular los frutos brocados de café para observarla en condiciones controladas. El propósito fue identificar si la broca presenta algún comportamiento de abandono del fruto al ser parasitada por el nematodo.

Para la evaluación, se recolectaron 180 frutos brocados libres de aplicación. Se realizó una inmersión que consistió en sumergir 15 frutos por repetición dentro de una malla de tela en solución de cloro al 0.01%, por un minuto, luego fueron sumergidos en 100 ml de agua destilada durante otro minuto para eliminar los residuos de cloro. Se procedió a la inoculación de los nematodos que consistió en una solución de 10 ml de agua con una concentración de 2×10^3 nematodos juveniles por ml de agua, las brocas fueron sumergidas durante dos minutos. Se realizaron 4 repeticiones por tratamiento para ambos nematodos (*H. bacteriophora*, *S. carpocapse*) y se evaluaron 4 repeticiones de testigo sumergidos en agua para imitar las mismas condiciones. Datos evaluados a los 7 días después de la inoculación.

Se contaron la cantidad de brocas muertas tanto dentro como fuera del fruto, vivas y frutos vacíos para analizar el comportamiento de broca, al ser parasitada.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mortalidad de broca adulta. Para la primera aplicación de los 107-140 D.D.F. los tratamientos de *B. bassiana* y el insecticida Clorpirifos presentaron mortalidades de 52% y 53% respectivamente. Estos tratamientos presentaron porcentajes de mortalidad mayor que los nematodos entomopatógenos significativamente, los nematodos entomopatógenos presentaron mortalidades de 29% y 30% *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapse*. El testigo presentó la mortalidad más baja con 5% diferente significativamente de todos los tratamientos evaluados. Para la aplicación de los 130-137 D.D.F. se observaron porcentajes de mortalidad similar a los encontrados a los 107-114 D.D.F. Nuevamente *B. bassiana* y el insecticida Clorpirifos obtuvieron los porcentajes de mortalidad más altos de 58% y 60% respectivamente y no fueron diferentes a la probabilidad de $P \leq 0.05$ Los nematodos entomopatógenos tuvieron mortalidades de 32% para *H. bacteriophora* y 33% para *S. carpocapse* estos porcentajes fueron más bajos significativamente que los porcentajes de mortalidad presentados por los tratamiento de *B. bassiana* y el insecticida Clorpirifos. El testigo se mantuvo por debajo del 10% de mortalidad. Se observó una alta dispersión del hongo *B. bassiana* en los 2000 m² del ensayo, debido a las condiciones ambientales óptimas de alta humedad relativa y temperaturas que imperaron durante la evaluación. En la figura 2 se pueden observar las mortalidades de broca de todos los tratamientos siete días posterior a la primera aplicación.

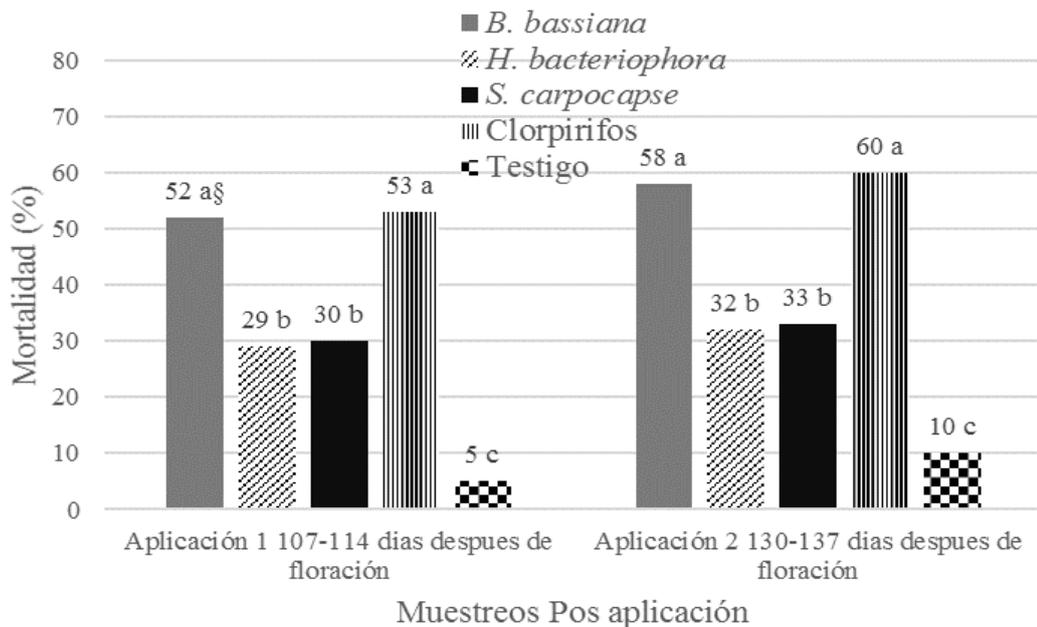


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de adultos de broca a los 114 y 137 días después de floración. “Hacienda El Brasil”, El Paraíso, Honduras, 2016.

§ Medias con diferente letra en cada columna son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) con prueba Duncan

Brocas evacuadas. Para la primera aplicación a los 107-114 D.D.F se observó que ambos tratamientos de nematodos entomopatógenos presentaron la mayor cantidad de frutos evacuados que los tratamientos Clorpirifos y testigo. El tratamiento *H. bacteriophora* con 47% y *S. carpocapse* con 46% de frutos evacuados, no fueron diferentes del tratamiento de *B. bassiana* que presentó un 32% de frutos evacuados. Los porcentajes de frutos evacuados en los tratamientos del insecticida Clorpirifos, *B. bassiana* y testigo no presentaron diferencias significativas, estos no sobre pasaron el 32%. Para la segunda aplicación de los 130-137 D.D.F. se mantuvo el comportamiento evasivo de las brocas adultas a los nematodos entomopatógenos sin tener diferencias significativas, estando por encima de 42% de brocas evacuadas. No existieron diferencias significativas entre el tratamiento *B. bassiana* y el insecticida Clorpirifos con un porcentaje de frutos evacuado abajo del 26%. El testigo tuvo el menor porcentaje de frutos evacuados significativamente del resto de los tratamientos con un 16%. (Figura 3). Lara et al. en el 2004 hacen mención de dicho comportamiento, donde especifica que la broca al ser parasitada por el nematodo genera un tipo de malestar en el insecto, logrando que este evacúe el fruto inmediatamente. Dentro de su estudio se observaron porcentajes de evacuación de la broca alrededor del 90 al 100%.

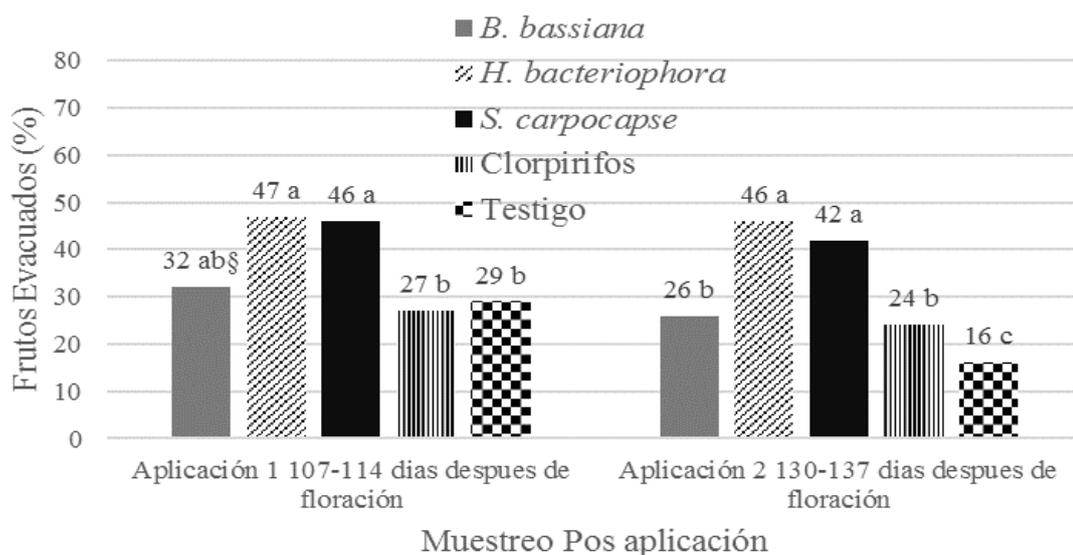


Figura 3. Porcentaje de frutos evacuados de broca a los 114 y 137 días después de floración. “Hacienda El Brasil”, El Paraíso, Honduras, 2016.

§ Medias con diferente letra en cada columna son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) con prueba Duncan.

Evaluación *in vitro*. La evaluación del comportamiento de las brocas siendo parasitadas por los nematodos entomopatógenos pudo definir el mecanismo evasivo de defensa de la broca al ser parasitada por un nematodo. Las brocas inoculadas buscaron la salida y presentaron un movimiento activo 24-48 horas después de ser parasitadas previo a su muerte. En el laboratorio se disectaron las brocas aún vivas y muertas pudiendo observar el nematodo viable que logro parasitar. En el cuadro 2 se puede observar un 32% (*H. bacteriophora*) y 28% (*S. carpocapse*) de brocas parasitadas que murieron fuera del fruto, en la base del plato Petri a los 7 días después de aplicación. El testigo *in vitro* aplicados

con agua no presentó frutos abandonados. El ataque de los nematodos entomopatógenos puede provocar cierta incomodidad de la broca lo cual da una señal de alerta para retirarse del fruto, sin embargo, esta ya ha sido parasitada.

Cuadro 2. Evaluación *in vitro* del comportamiento de la broca parasitada por *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapse*. Datos expresados en cantidad de brocas evacuadas del fruto brocado. Analizado 7 días después de inoculación en el Laboratorio de Control Biológico Zamorano, Honduras, 2016.

Tratamiento	Muertas	Vivas	Muerte Fuera
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	13 a§	1 b	5 a
<i>Steinernema carpocapse</i>	13 a	1 b	4 a
Testigo	0 b	14 a	0 b
Pr>F	<0.0001	<0.0001	0.0041
C.V.	11.48	14.91	31.91
R ²	0.99	0.99	0.91

§ = Medias con diferente letra en cada columna son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) con prueba Duncan.

Brocas vivas. Los porcentajes de brocas vivas después de la primera aplicación 107-114 D.D.F., no fue diferente significativamente entre los tratamientos, pero si del testigo que presentó el mayor porcentaje de brocas vivas con un 67%. El resto de los tratamientos presentaron un rango de vivas entre 16% y 25%. En la segunda aplicación a los 130-137 D.D.F. se destacaron los tratamientos *B. bassiana*, el insecticida Clorpirifos y el nematodo *H. bacteriophora*, los cuales presentaron el menor porcentaje brocas vivas significativamente. No existieron diferencias significativas entre las brocas vivas encontradas en los tratamientos *H. bacteriophora* y *S. carpocapse*. Los enemigos naturales demostraron la habilidad de poder parasitar a la broca sin diferenciarse con el control ejercido por el químico (Figura 4).

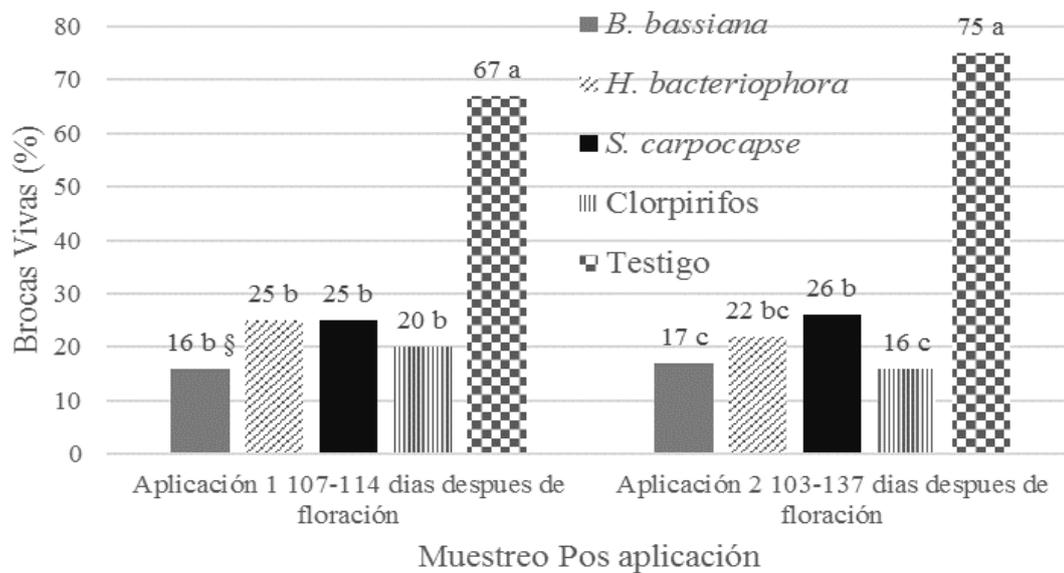


Figura 4. Porcentaje de brocas vivas en estado adulto a los 114 y 137 días después de floración. “Hacienda El Brasil”, El Paraíso, Honduras, 2016.

§ Medias con diferente letra en cada columna son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) con prueba Duncan.

4. CONCLUSIONES

- El enemigo natural con mayor mortalidad para el control de la broca del cafeto *Hypothenemus hampei* es el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.
- No existen diferencias significativas en la capacidad de control de los nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapse* a pesar de sus características y comportamientos distintos.
- *Beauveria bassiana* y el insecticida Clorpirifos presentaron los porcentajes de mortalidad más altos para *Hypothenemus hampei*.
- *Hypothenemus hampei* presenta un comportamiento de abandono del fruto al ser parasitado por nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema carpocapse*.

5. RECOMENDACIONES

- Probar aplicaciones dirigidas al plato del cafeto en la época post cosecha. El nematodo se puede favorecer en condiciones de suelo y hojarasca para permitir buen control, reduciendo la labor de limpieza del cafetal (pepena).
- Realizar estudios de establecimiento de los enemigos naturales en el ecosistema del cultivo de café realizando evaluaciones durante todo el ciclo.
- Hacer uso de dichos enemigos naturales en un manejo integrado de broca del café para promover el balance y bienestar del ecosistema.

6. LITERATURA CITADA

- ANACAFE. 2003. La Broca del fruto del cafeto en la caficultura guatemalteca. Guatemala; (Consultado 31 de agosto 2016). http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Broca_del_cafeto.
- Arthurs S, Heinz KM, Prasifka JR. 2004. An analysis of using entomopathogenic nematodes against above-ground pests. Bulletin of entomological research; (Consultado 23 de agosto 2016). 94(04):297–306.
- Bustillo AE. 2006. A review of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in Colombia. Revista Colombiana de Entomología; (Consultado 23 de agosto 2016). 32(2):101–116. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882006000200001.
- Camilo JE, Olivares FF, Jiménez HA. 2003. Fenología y reproducción de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari) durante el desarrollo del fruto. Agronomía mesoamericana. 14(1):59–64. http://www.mag.go.cr/rev_meso/v14n01_059.pdf.
- Lara C, Lopez J. Carlos, Bustillo AE. 2004. Effect of entomopathogenic nematodes on populations of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), in berries on the soil. Revista Colombiana de Entomología; (Consultado 19 de octubre, 2016). https://www.researchgate.net/publication/262759738_Effect_of_entomopathogenic_nematodes_on_populations_of_the_coffee_berry_borer_Hypothenemus_hampe_i_Coleoptera_Scolytidae_in_berries_on_the_soil.
- Montoya EC. 1999. Caracterización de la infestación del café por la broca y efecto del daño en la calidad de la bebida. Cenicafé. 50(4):245–258. [http://www.cenicafe.org/es/publications/arc050\(04\)245-258.pdf](http://www.cenicafe.org/es/publications/arc050(04)245-258.pdf).
- Ramírez LG. 2001. La broca del fruto del café nos amenaza. Boletín Informativo. Regional Turrialba-Instituto del Café de Costa Rica; (Consultada 24 de julio, 2016). 1:2–4. <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=orton.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expression=mfn=048683>.

- Sáenz A, López JC. 2011. Ciclo de vida y patogenicidad del aislamiento nativo *Heterorhabditis* sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Revista Colombiana de Entomología*; (Consultado 22 de mayo del 2016). 37(1):43–47. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v37n1/v37n1a07.pdf>.
- Téllez A, Ramírez C, Arana A. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista mexicana de micología*; (Consultado 23 de agosto, 2016). 30:73–80. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-31802009000200007&script=sci_arttext&tlng=en.