

Efectividad de nemátodos entomopatógenos para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari) bajo condiciones controladas¹

Yojana Rodríguez-Benito*, María Esther González-Vega**, Eliosmar Vázquez-López*, Ramón Antonio Ramos-Nava* y Josué Pérez-Castillo*

Resumen

Una de las problemáticas para el control de la broca del café radica en las poblaciones que se alojan en los frutos del suelo excedentes de la cosecha, donde no pueden ser alcanzadas por los insecticidas químicos ni algunos biológicos. En esta fase lo más apropiado es la utilización de los nemátodos entomopatógenos (NEP), que poseen la capacidad de desplazarse hasta el interior del fruto por donde la broca perfora, parasitando a sus estadios biológicos. Con el propósito de evaluar la efectividad de estos entomopatógenos en el control de las poblaciones de broca que se encuentran en el interior de los frutos, se diseñó un experimento bajo condiciones de laboratorio. Para ello se utilizaron bandejas plásticas, en las que se colocó sustrato estéril, constituido por suelo con hojarasca y materia orgánica, a una proporción 3:1, simulando las condiciones del cafetal. Se depositaron diferentes cantidades de frutos brocados, equivalentes a un metro cuadrado (139, 278, 417, 556, 695 frutos), los cuales constituyeron los tratamientos con cuatro réplicas. Se asperjó a cada bandeja una solución que contenía 6000 NEP, y a las 72 horas se evaluó la mortalidad. Se comprobó que al aumentar la densidad de frutos a 417 frutos/m² la mortalidad comienza a decrecer por debajo del 90%, lo que indica que para garantizar una buena efectividad de estos organismos debe realizarse una cosecha con calidad. Los NEP causaron en el insecto los síntomas característicos de la combinación patógena nemátodo-bacteria, aunque no alcanzaron más de una generación debido al tamaño de la broca.

Abstract

One of the problems for the coffee berry borer control resides in the populations that lodge in the fruits of the soil surpluses of the crop, where they cannot be reached by the chemical insecticides, neither some biological ones. In this phase the most appropriate thing is the use of the entomopathogen nematodes (NEP) that possess the capacity to move until the interior of the fruit for where the coffee berry borer perforates, and have parasitic to its biological states. With the purpose of evaluating the effectiveness of these entomopathogen in the coffee berry borer populations control that there are inside the fruits, an experiment under laboratory conditions was designed. For that were used it plastic trays, in those that sterile substratum was placed, constituted by soil with trash and organic matter, to a proportion 3:1, simulating the conditions of the coffee plantation. Different quantities of fruits brocades were deposited, equivalent at one m² (139, 278, 417, 556, 695 fruits), which constituted the treatments, with four replicates. Be sprayed to each tray a solution that 6000 NEP contained, at the 72 hours the mortality was evaluated. Was proven that when increasing the density of fruits at 417 fruits/m² the mortality it begins to fall below 90 %; what indicates that to guarantee a good effectiveness of these organisms should be carried out a crop with quality. The NEP caused in the insect the characteristic symptoms of the pathogen combination nematode-bacterium, although these didn't reach more than a generation due to the size of the coffee berry borer.

Palabras clave: nemátodos entomopatógenos, *Heterorhabditis* sp., Broca del café, *Hypothenemus hampei*, Control biológico, *Photorhabdus luminescens*.

Key words: entomopathogen nematodes, *Heterorhabditis* sp., coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, biological Control, *Photorhabdus luminescens*.

¹ Recibido: 4/10/2018

Aprobado: 17/1/2019

* Estación Experimental Agro-Forestal Tercer Frente, Santiago de Cuba. sanvegetal2@tercerfrente.inaf.co.cu.

**Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. San José de las Lajas, Mayabeque. esther@inca.edu.cu

Introducción

La broca del café (BC) (*Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)) es originaria del continente africano. En mayor o menor grado todas las variedades y especies de café de importancia comercial son atacadas por la broca del café (Le Pelley, 1973 y Barrera *et al.*, 2008), por lo que se considera como una plaga adaptada a las mismas condiciones donde se desarrolla el cultivo (Bustillo, 2006).

En Cuba se registró por primera vez en 1995. Al llegar sin sus enemigos naturales, encontró condiciones favorables para su desarrollo, por lo que su dispersión fue muy rápida. Para el combate de esta plaga se desarrolló una estrategia de control basada fundamentalmente en el empleo de productos químicos. Posteriormente se fueron eliminando los químicos y se incorporaron los controladores biológicos, combinados con las trampas y el saneamiento de los frutos excedentes de la cosecha (Vázquez y col., 2008). Este último se hace difícil y costoso porque demanda una gran cantidad de fuerza de trabajo, razón por la que los nemátodos entomopatógenos constituyen una alternativa viable para el control de las poblaciones de broca que permanecen en esos frutos del suelo.

Los entomonemátodos se consideran una herramienta de control biológico de insectos plaga y vectores de enfermedades, tanto en humanos como en mamíferos, logrando que su uso no se restrinja solamente al campo agrícola, sino que su aplicabilidad se extienda a otros campos como el médico y veterinario. Su capacidad para sobrevivir en ambientes diversos bajo condiciones extremas les brinda gran versatilidad para adaptarse a diferentes condiciones, lo que ha posicionado esta herramienta como una de las más promisorias para su uso frente a condiciones de variabilidad climática (Rodríguez *et al.*, 2011).

Son potenciales agentes de control biológico de varias especies de insectos dentro del orden Lepidoptera y Coleoptera (Muthulakshmi *et al.*, 2012). Poseen atributos deseables en los biorreguladores, tales como amplia gama de hospedantes y capacidad para provocar altos índices de mortalidad; son ambientalmente seguros; pueden producirse mediante métodos *in vivo* e *in vitro*; los estadios infectivos pueden ser formulados y almacenados; el registro de los productos se requiere en pocos países; son fácilmente aplicables con los equipos estándar

y el riego, y numerosas cepas son compatibles con diversos productos químicos y otros agentes de control biológico (Rodríguez y col., 2012).

Los nemátodos entomopatógenos (NEP) más importantes en el control de plaga pertenecen a las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae. Las especies que corresponden a estas familias tienen una asociación simbiótica mutualística con las bacterias de los géneros *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, respectivamente (Mejía *et al.*, 2013).

Tanto las especies *Steinernema* como de *Heterorhabditis* una vez que penetran al cuerpo del insecto descargan la bacteria que cargan en sus intestinos, recogen la proteína L-proline y segregan toxinas que inhiben el sistema inmunológico del insecto. La bacteria se multiplica y el insecto muere por septicemia (Chacón-Orozco, 2014). La bacteria posee dos fases (I y II). En la fase I produce metabolitos secundarios que impiden que el cadáver del insecto se descomponga, lo que le permite al nemátodo alcanzar de dos a tres generaciones (Eleftherianos *et al.*, 2007).

Sáenz y Olivares (2008) plantean que estos organismos tienen la capacidad de desplazarse y buscar su presa donde se encuentren refugiados, siempre que el suelo posea un contenido de humedad entre los 25 y 30 % de agua. Destacan que si esta humedad es superior al 45 % e inferior al 15 %, se afecta su movilidad.

Por lo antes planteado se desarrolló la presente investigación con el objetivo de evaluar la efectividad de los nemátodos entomopatógenos en el control de la broca del café sobre diferentes densidades de frutos.

Materiales y métodos

La investigación se realizó bajo condiciones controladas en el laboratorio de producción de nemátodos entomopatógenos de la Estación Experimental Agro-Forestal, perteneciente al Instituto de Investigaciones Agro-Forestales, donde se mantuvo condiciones de temperatura de ± 25 °C.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado donde se utilizaron bandejas plásticas, en las cuales se colocó un sustrato estéril, constituido por suelo y materia orgánica, a una proporción de 3:1, según las normas técnicas para el cultivo del café (Díaz y col., 2013). También se ubicó hojarasca para simular las condiciones del cafetal. La mezcla se esterilizó en autoclave a 121 °C durante una hora. Las bandejas con los frutos se colocaron en

una bolsa de malla antiáfidos para evitar el escape de las brocas.

Sobre este sustrato (entre la hojarasca) se depositaron diferentes cantidades de frutos brocados, equivalentes a 139, 278, 417, 556 y 695 frutos por metro cuadrado. Las cerezas se encontraban maduras para garantizar la presencia de todos los estadios biológicos. Estas proporciones constituyeron los tratamientos y se establecieron cuatro réplicas.

Por cada bandeja se asperjó una dosis de 6000 juveniles infectivos (Ji) de nemátodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* sp. La solución se preparó con agua destilada estéril (ADE). Los NEP empleados fueron reproducidos en el laboratorio sobre larvas de *Galleria mellonella*, criadas también en estas condiciones. Se asperjó agua destilada sin nemátodos sobre frutos brocados para comprobar la efectividad del inóculo. Para ello también se seccionaron frutos bajo el estereo y se observó el estado de las poblaciones de broca presentes en estos frutos, donde se comprobó que no hubo ningún efecto.

A las 72 horas después de la inoculación de los NEP en los frutos de las bandejas, se evaluó la mortalidad en los estadios biológicos de broca y se observó el estado de las larvas y pupas para seleccionar las que tuvieran la posibilidad de contener nemátodos y ponerlas a descargar en Trampas White (Woodring y Kaya, 1988).

La muerte de los estadios de broca se determinó teniendo en cuenta la carencia de movimiento y por la coloración típica que muestran las larvas y pupas parasitadas, así como la separación de la cabeza y el tórax en el caso de los adultos. La mortalidad de la broca causada por los NEP se estimó a través de la fórmula:

$$MB (\%) = BMP/TB \times 100$$

donde:

MB: Mortalidad de broca

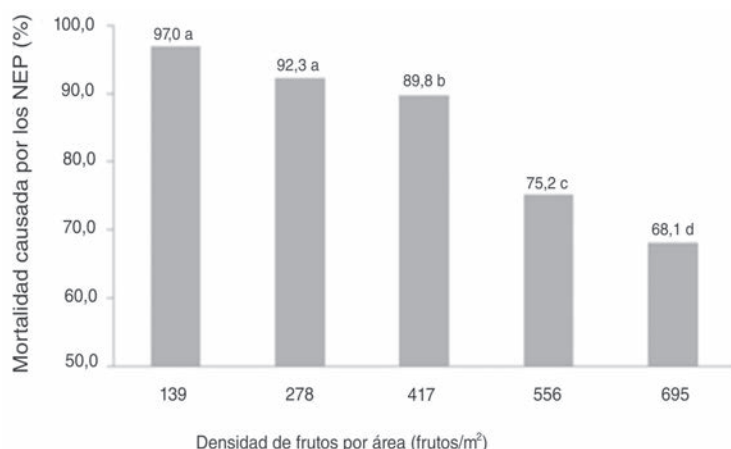
BMP: Brocas muertas parasitadas

TB: Total de broca en el interior del fruto

Para comprobar la presencia de nemátodos se tomaron individuos de los diferentes estadios, que fueron seccionados y observados bajo un estereoscopio. Los datos se procesaron empleando el paquete estadístico Statgraphics 5.1, a través de un análisis de varianza. Los mismos se transformaron utilizando la ecuación $2 \times \arcsen \sqrt{\%}$. La comparación de las medias se hizo a través de la prueba de rangos múltiples de Duncan. La normalidad de los datos se comprobó a través de la prueba de Shapiro-Wilk (1965) y la homogeneidad de la varianza utilizando la prueba de Levene (1960). Se correlacionó la densidad de los frutos/m² con la mortalidad causada por los nemátodos.

Resultados y discusión

A las 72 horas de inoculados los NEP se observó que solo los tratamientos con 139 y 278 frutos/m² no mostraron diferencias significativas, y ambos manifestaron una mayor mortalidad de la broca, la cual estuvo por encima del 95 %. Sin embargo, se muestra una tendencia de esta variable a disminuir por debajo de 90 %, a medida que incrementa la densidad de frutos en el suelo (417 frutos/m²) para todos los tratamientos (Fig. 1). Estos resultados sugieren que para lograr una mayor efectividad en el control con los NEP debe hacerse una adecuada recolección de los frutos durante la cosecha.



Los valores seguidos por letras iguales no poseen diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Duncan ($p \leq 0,05$).

Fig. 1. Mortalidad causada por la inoculación de 6000 Ji de nemátodos entomopatógenos sobre diferentes densidades de frutos en condiciones de laboratorio.

Vergara *et al.* (1997) plantean que en larvas inoculadas con nemátodos en el laboratorio, el mayor porcentaje de mortalidad se alcanza a las 72 horas de la inoculación, independientemente de la dosis que se utilicen.

Rodríguez y col. (2018) destacan la importancia de realizar una adecuada recolección del café (como una práctica dentro del manejo integrado de la broca), donde no queden frutos en la planta ni en el suelo, debido a que el insecto continúa con su reproducción en el interior de los frutos que quedan en la plantación después de la cosecha, y en este período puede llegar a desarrollar hasta tres generaciones más, lo que determina la infestación de la cosecha siguiente. Ellos exponen además la fuerte relación entre la cantidad de frutos excedentes de la cosecha y la infestación de la plaga. Ruiz-Cárdenas y Baker (2010) obtienen resultados similares.

Sánchez y Rodríguez (2007) observaron hasta más de un 70 % de mortalidad de la broca cuando se asperjaron los nemátodos sobre frutos del suelo. Benavides *et al.* (2010) reportaron una mortalidad superior al 75 % sobre los estadios de broca con las especies de *Heterorhabditis* y *Steinernema* después de 72 horas de aplicados sobre frutos brocados.

Molina y López (2009), al evaluar el efecto de NEP también sobre frutos perforados, obtuvieron mortalidad de 49,6 % y 50,9 %, con dosis de 125 y 625 Ji/fruto, respectivamente. De igual forma constataron un índice de penetración de 18,68 % y 15,04 % para estas mismas dosis, lo que demuestra que los juveniles infectivos (Ji) se trasladan a través de las cámaras de oviposición que construye la broca, posiblemente atraídos por los volátiles emitidos por los frutos y los estadios del insecto. Por otro lado, Castillos *et al.* (2010) plantean que los NEP son habitantes naturales del suelo que poseen la capacidad de buscar, parasitar y causar la muerte a una gran variedad de insectos plagas.

En esta investigación, al seccionar los frutos brocados (Fig. 2A.), se observó la presencia de NEP y los síntomas causados por estos organismos a los estadios biológicos de la broca. Se comprobó que las larvas y las pupas presentaron la coloración pardo-rojiza, la cual es típica de las afectaciones ocasionadas por los nemátodos (Figs. 2B, C y D). En esta misma figura se puede presenciar la diferencia en cuanto a la coloración entre las pupas parasitadas y las que se encontraban libres de nemátodos.

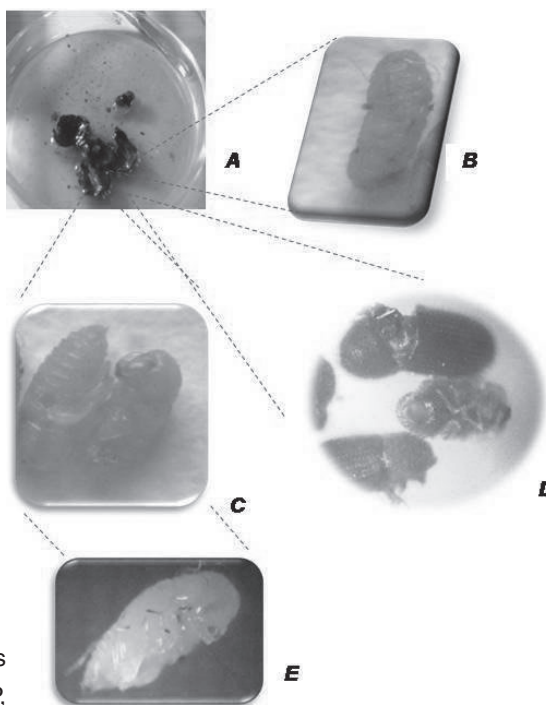


Fig. 2. Fruto de café seccionado con presencia de los estadios biológicos de *Hypothenemus hampei* infectados por NEP, que muestran los síntomas típicos del parasitismo.

No se encontraron afectaciones en la fase de huevo. Pero en el caso de los adultos muertos se observó la separación de la cabeza del tórax, que es un síntoma característico del ataque en esta fase del insecto (Fig. 2C). Sin embargo, no se pudo determinar el número de nemátodos por estadios biológicos de la broca, ya que un alto porcentaje de los estadios se encontraban totalmente desechos. No obstante, se visualizaron adultos hermafroditas del nemátodo en algunos cadáveres de broca, lo que sugiere que los nemátodos solo pudieron alcanzar una generación en algunos individuos de broca.

En condiciones similares a las descritas en esta investigación, Manton *et al.* (2012) observaron la misma manifestación en el color y textura de la larva de broca parasitada, y reportan una mortalidad del insecto causada por los entomonemátodos de 26,6 % en adultos y de 23,7 % en larvas.

Contrariamente, Doucet y Giayetto (1994) y Rubio (2003) refieren una mayor mortalidad en larvas que en adultos debido a características morfológicas específicas que limitan la entrada de los entomonemátodos, como son los pequeños espiráculos encubiertos debajo de los élitros, ano estrecho, deyecciones continuas y su gran movilidad, a diferencia de las larvas que tienen una menor movilidad y una cutícula más blanda que favorecen la entrada de los Ji de nemátodos.

Molina y López (2002) también registraron la separación de la cabeza del tórax en adultos de broca infectados con *H. bacteriophora*.

La coloración presentada por las larvas y pupas de broca parasitadas se debe a la asociación mutualista que se produce entre *Heterorhabditis* sp. y la bacteria simbiote del género *Photorhabdus*, lo que refleja igualmente que la bacteria ha alcanzado la fase primaria (I). Esta fase resulta apropiada para el desarrollo de la patogenicidad del nemátodo y a la vez le permite su reproducción, contribuyendo a la permanencia de estos organismos en el suelo (Sánchez, 2002).

Valdés y Escobar (2006) comprobaron que las especies de nemátodos *Steinernema cubanum* y *Heterorhabditis indica* lograron reproducirse en cadáveres de las larvas de *H. hampei*, al observar que muchas de estas larvas contenían en su interior hembras gigantes del nemátodo cargadas de huevos. No obstante, una gran parte de los cadáveres estaban prácticamente desintegrados, con nemátodos adultos a su alrededor.

Resultados similares obtuvieron Valdés y Escobar (2006) cuando aplicaron *Steinernema cubanum*, *Heterorhabditis bacteriophora* y *H. indica* directamente sobre los estadios biológicos de la broca. Ellos observaron los NEP en los cadáveres del insecto; sin embargo, no pudieron cuantificarlos debido al deterioro de los mismos, ya que el tamaño diminuto de la broca no es capaz de sostener el ciclo reproductivo de los nemátodos hasta juveniles del tercer estadio. Igualmente presenciaron la coloración pardo-rojiza en larvas y pupas, así como la separación entre la cabeza y el tórax en los adultos; afirman que estas separaciones son causadas por las hembras gigantes presentes en el interior del cuerpo del insecto, que para emerger rompen el exoesqueleto.

Dependiendo del tamaño del insecto, el nemátodo puede alcanzar hasta dos generaciones; eventualmente algunas especies pueden lograr hasta tres generaciones, como es el caso de *Steinernema feltiae* en larvas del último estadio de *G. mellonella*. En insectos pequeños puede ocurrir una sola generación o una generación incompleta (Capinera y Epsky, 1992 citado por Castillo, 1995).

Estos resultados corroboran que los NEP tienen la capacidad de penetrar al interior del fruto por la galería que abre la broca para depositar su progenie, donde parasitan a todos los estadios biológicos del insecto (Sánchez, 2002 y Molina y López, 2009). Por otro lado, han mostrado compatibilidad con otros entomopatógenos como *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Sánchez y Rodríguez, 2008), atributos que los convierten en un organismos con alta potencialidad para el combate de la broca del café dentro del programa de manejo integrado.

Por la efectividad mostrada por estos organismos es necesario encaminar esfuerzos para su inclusión dentro de los programas de MIB, combinándolos con otras alternativas. Barrera (2002) señala que ninguno de los métodos disponibles ha logrado por sí solo reducir las poblaciones de broca a niveles que no causen daños económicos.

Conclusiones

- Al aumentar la densidad de frutos a 417 frutos/m² la mortalidad comienza a decrecer por debajo del 90 %, lo que indica que una adecuada calidad de la recolección garantiza una buena efectividad de los NEP.

- Los NEP penetraron al interior del fruto por el orificio que realiza la broca, parasitando sus estadios biológicos, los cuales presentaron los síntomas característicos del parasitismo causado por estos organismos.
- Los NEP completaron su primera generación en algunos individuos, pero no pudieron continuar con la reproducción debido al tamaño del insecto, lo que ocasionó el deterioro del mayor porcentaje de los estadios biológicos.

Bibliografía

- Barrera, J. F.: Las plagas del café en Chiapas, Capítulo 4. La Broca del café: Una plaga que llegó para quedarse. Colegio de la Frontera Sur. – Pp 17-20, 2002.
- Barrera, J. F.; Gómez, J.; Castillo, A.; López, E.; Herrera, J. y G. González: Casos de control biológico en México: Broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae). México: Dirección General de Sanidad Vegetal, Sociedad Mexicana de Control Biológico, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Colegio de Postgraduados, Mundi Prensa México, S.A. de C.V. 1ra edición, 23 pp, 2008.
- Benavides M., P.; Quintero V., C. y J. C. López N.: Evaluación en el laboratorio de nemátodos entomopatógenos nativos para el control de la broca del café. *Cenicafé*, 61 (2): 119-131, 2010.
- Bustillo, A. E.: Una revisión sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 32(2): 101-116, 2006.
- Castillo, A.: "Evaluación de nemátodos entomopatógenos (Rabbitida: *Steinernematidae* y *Heterorhabditidae*) para el control biológico de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferr. en Chiapas, México" [inédito], tesis de candidatura. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Subdirección General Adjunta de Enseñanza. Programa de Postgrado. Turrialba, Costa Rica. 1995.
- Castillos, Carmen; Gallegos, P.; Asaquiab, C. y Marcia Oña: *Guía de prospección y multiplicación de nemátodos entomopatógenos para el control de plagas en Ecuador*. Estación Experimental Santa Catalina. 1ra Edición, Manual Técnico. No. 88, Quito-Ecuador, 2010.
- Chacón-Orozco, Julie Giovanna: "Caracterização e virulência de bactérias simbiotes de nematoides entomopatógenos nativos do Brasil, e toxicidade de seus metabolitos secundários para larvas de traça da colméia (Lepidoptera: Pyralidae)" [inédito] tesis de candidatura. Fitosanidad y Biotecnología Aplicada. Universidad Rural Federal de Rio de Janeiro. Instituto de Biotecnología. Río de Janeiro, Brasil, 2014.
- Díaz, W.; Caro, P.; Bustamante, C.; Sánchez, C.; Maritza Idilia Rodríguez; Vázquez, E.; Grave de Peralta, G.; Ramajo, J.; Ramos, R.; Délira Navarro; Fernández, I.; Martínez, F.; Yojana Rodríguez; Arañó, L.; Yero, A. y N. Morán: *Instructivo Técnico Café Arábico (Coffea arabica Lin.)*. Instituto de Investigaciones Agro-Forestales. Ministerio de la Agricultura. Dirección de Café y Cacao del Grupo Empresarial de Agricultura de Montaña. Estación Experimental Agro-Forestal Tercer Frente, Santiago de Cuba. 137 pp., 2013.
- Doucet, M. A. y A. Giayetto: Gama de huéspedes y especificidad en *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Heterorhabditidae: Nematoda). *Nematol. Medit.*, 22: 171-178, 1994.
- Eleftherianos, I.; Boundy, S.; Susan A. Joyce; Shazia Aslam; Marshall, J. W.; Cox, R. J.; Simpson, T. J.; Clarke, D. J.; R.; French-Constant, H. and S.E. Reynolds: An antibiotic produced by an insect-pathogenic bacterium suppresses host defenses through phenoloxidase inhibition. *PNAS Microbiology*, 14(7): 2419–2424, 2007.
- Le Pelley, R. H.: *Las Plagas del Café*. La Habana: Ediciones de Ciencia y Técnica. Instituto Cubano del Libro., 693 pp, 1973.
- Levene, H.: *Contributions to probability and statistics*. In I. Olkin, S. G. Ghurye, W. Hoeffding, W. G. Madow, and H. B. Mann [eds.], *Essays in Honor of Harold Hotelling*. Stanford University Press. Pp. 278-292, 1960.
- Manton, Jessica L.; Hollingsworth, R. G. and Roxana Y. M. Cabos: Potential of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) against *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) in Hawaii. *Florida Entomologist*, 95(4): 1194-1197, 2012.
- Mejía-Torres, María Camila and Adriana Sáenz-Aponte: Biological characterization of the Colombian isolate *Heterorhabditis* sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Maringá*, 35(3): 445-449, 2013.
- Molina, J. P. y J.C. López: Desplazamiento y parasitismo de los entomonemátodos *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) y *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) hacia frutos

- infestados con la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 28 (2): 63-69, 2002.
- Molina-Acevedo, J. P. e J. C. López-Núñez: Efeito da Aplicação de Nematoides Entomopatogênicos sobre Frutos Infestados com Broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Nematologia Brasileira*, 33(2):115-122, 2009.
- Muthulakshmi, M.; Kumar, S. and S. Subramanian: Biology of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* sp. and *Steinernema* spp. *JBiopest*, 5 (Supplementary): 60-61, 2012.
- Rodríguez, Adriana Inés; Adriana Saenz Aponte; Ana Milena Caicedo; Carabalí, A.; Carolina María Jaramillo; Clara Yalaxy Delgado; Gabriela Maciel Vergara; Torres, G.; Muñoz, J. E.; Celeita, J. J.; López, J. C.; Molina, J. P.; Leite, L. G.; Mabell Orbio; Uribe, M.; Mitzi Flores; Chavarría, N.; Paola Andrea Zuluaga y R. Montiel: *Experiencias con Nemátodos Entomopatógenos*. Retos y oportunidades de su uso en Centroamérica. —Primera edición. —Bogotá D.C.: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo (CYTED). Red de implementación de enemigos naturales para el control de plagas y enfermedades en cultivos hortícolas de importancia en Iberoamérica COBIHO. ISBN: 978-958-46-1409-4. —235 p., 2011.
- Rodríguez, Mayra G.; Dainé Hernández y Lucila Gómez. Nemátodos entomopatógenos: elementos del desarrollo histórico y retos para su consolidación como biorreguladores en la agricultura en Cuba. *Rev. Protección Veg.*, 27(3): 137-146, 2012.
- Rodríguez-Benito, Yojana; María Esther González-Vega; Vázquez- López, E.; García-Gutiérrez, C.; Magallanes-Tapia, M. A.; Débora-Duarte, B. N.; Sánchez- Chávez, E. y Sandra Pérez-Álvarez: Recolección de Frutos Después de la Cosecha para Reducir la Infestación de la Broca del Café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Santiago de Cuba. *Southwestern Entomologist*. 43(2): 447- 456, 2018.
- Rubio, J. D.: "Estudios morfológicos de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) en la búsqueda de estructuras de Mycangia" [inédito], tesis de candidatura. Manizales: Universidad de Caldas. Facultad de ciencias agropecuarias, Colombia, 2003.
- Ruiz-Cárdenas, R. and P. Baker: Life table of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) in relation to coffee berry phenology under Colombian field conditions. *Sci. Agric.*, 67: 658-668, 2010.
- Sáenz, Adriana y W. Olivares: Capacidad de búsqueda del nemátodo entomopatógeno *Steinernema* sp. SNIO 198 (Rhabditida: Steinernematidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 34 (1): 51-56, 2008.
- Sánchez, Lourdes y Mayra G. Rodríguez: Potencialidades de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar cepa HC1 para el manejo de *Hypothenemus hampei* Ferr. I. parasitismo y capacidad de búsqueda. *Rev. Protección Veg.*, 22 (2): 80-84, 2007.
- Sánchez, Lourdes y Mayra G. Rodríguez: Potencialidades de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar cepa HC1 para el manejo de *Hypothenemus hampei* Ferr. II. compatibilidad con *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y endosulfan. *Rev. Protección Veg.*, 23 (2): 104-111, 2008.
- Sánchez, Lourdes: "*Heterorhabditis bacteriophora* HC1. Estrategia de desarrollo como agente de control biológico de plagas insectiles" [inédito], tesis de candidatura. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La Habana, 2002.
- Shapiro, S. S. and M. B. Wilk: An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52: 591-611, 1965.
- Valdés, Yirina y Mercedes Escobar: Susceptibilidad de *Hypothenemus hampei* Ferrari a las especies de nemátodos entomopatógenos *Steinernema cubanum*, *Heterorhabditis indica* y *Heterorhabditis bacteriophora*. *Fitosanidad*, 10 (3): 245-246, 2006.
- Vázquez, L. L.; Elósegui, O.; Janet Alfonso y Andrea Álvarez: Regulación natural de la broca del café. *Agricultura Orgánica*, 3: 32-34, 2008.
- Vergara O., J. D.; López, J. C. y C. Chaves: Evaluación de la patogenicidad del nemátodo *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Rhabditida: Heterorhabditidae) sobre la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari en condiciones de laboratorio. En: *Resumen de Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología*, 24. Pereira (Colombia), Julio 16-18. <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&ca.> 23 pp., 1997.
- Woodring, J. L. and H. K. Kaya: Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A handbook of biology and techniques. Arkansas Agricultural Experiment Station, Fayetteville, AR. *Southern Cooperative Series Bulletin*, 331.—21 pp., 1988.