

## Supervivencia y parasitismo de nematodos entomopatógenos para el control de *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae) en frutos de café

J. P. MOLINA ACEVEDO, J. C. LÓPEZ NÚÑEZ

El uso de nematodos entomopatógenos (NE) para el control de la broca del café, en frutos que caen al suelo después de la cosecha y que usualmente quedan cubiertos por hojarasca, pueden ser una herramienta efectiva de control. La humedad es un factor limitante para la actividad de NE expuestos al ambiente, por lo que inicialmente se evaluó la supervivencia y la infección de juveniles infectivos (JI) pertenecientes a dos especies NE: *Heterorhabditis bacteriophora* (Milstead y Poinar) (Rhabditida: Heterorhabditidae) y *Steinernema feltiae* (Dutky) (Rhabditida: Steinernematidae). Se emplearon cuatro concentraciones (0,1; 0,5; 1; 10%) de dos químicos con actividad deslizante y antidesecante (Tween y Glicerina) aplicados solos y mezcla, estableciendo la solución que garantizó la mayor viabilidad e infección de los JI. Fue evaluado el índice de supervivencia de NE (ISE) y el índice de infección por NE (IIE) respectivamente, este último índice medido en larvas de *Galleria mellonella* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae). Posteriormente se colocaron los NE en una mezcla con la solución seleccionada, sobre una barrera que cubría un fruto de café, determinándose el desplazamiento, penetración y el parasitismo de los NE, mediante las variables: Índice de Alcance (IA), Índice de Penetración al Fruto (IPF) y Porcentaje de mortalidad de broca (PMIB). La unidad experimental fue una caja de Petri con un fruto de café cubierto por un círculo plástico (Diámetro=0,7cm), sobre el cual se colocaron 100±2 JI por especie de NE, hasta un tiempo de evaluación de 168 horas. *H. bacteriophora* fue la única especie que presentó respuesta a las variables IA e IPF con promedios de 16,9±2,6 y 13,8±2,2 (Promedio±EE) respectivamente, mostrando *H. bacteriophora* buenas características para el control *H. hampei* en futuros trabajos aplicados en campo.

J. P. MOLINA ACEVEDO: Departamento de Entomología. Universidade Federal de Lavras (MG), Brasil CEP 37200-000. E-mail: juanpamolina@mailcity.com; juanpamolina@yahoo.com.br

J. C. LÓPEZ NÚÑEZ: Disciplina de Entomología. Centro Nacional de Investigaciones del Café (Cenicafé), Chinchiná (Caldas), Colombia. A.A 2427.

**Palabras clave:** Nematodos entomopatógenos, movimiento, humedad, *Hypothenemus hampei*, *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*.

### INTRODUCCIÓN

La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) es considerada la principal plaga del cultivo a nivel mundial, causando grandes pérdidas en la calidad del grano. Se ha determinado que el

principal factor de infestación de la broca en nuevas cosechas, es la población remanente en frutos que han caído al suelo después de la recolección, quedando muchos de ellos cubiertos por hojarasca y materia orgánica en descomposición (mulch) (BUSTILLO *et al.*, 1998). Dichos frutos albergan en su interior

estados biológicos inmaduros y adultos de la plaga y después de un período seco se presenta un incremento poblacional y con la llegada de las lluvias, los adultos emergen y se dispersan por el cafetal, infestando frutos desarrollados a partir de las primeras floraciones de la siguiente cosecha (BAKER *et al.* 1994).

En la actualidad, para el control de la plaga en frutos que han caído en el suelo no se cuenta con una herramienta efectiva que esté enmarcada dentro del manejo integrado de la broca establecido en Colombia (MIB) (BUSTILLO *et al.*, 1998) en principio, porque ninguna medida de control (insecticida, hongos y bacterias entomopatógenas) logra localizarse directamente en el interior de los frutos que han caído al suelo, mas si están cubiertos por capas de hojarasca. De esta forma, los nematodos entomopatógenos (EN) al ser organismos habitantes del suelo, utilizados en programas de control biológico de plagas, potencialmente pueden tener la capacidad de desplazarse, penetrar en el fruto y causar una mortalidad a la broca (BAKER 1999). Estudios preliminares realizados por MOLINA y LÓPEZ (2002) en el Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé), demostraron que una aplicación de juveniles infectivos (JI) de *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* en el suelo, la broca es infectada dentro del fruto sobre y cubierto por suelo, reduciendo significativamente sus poblaciones. Sin embargo, para los futuros trabajos de aplicación en campo es necesario determinar, si los NE aplicados a libre exposición ambiental, tienen la capacidad de desplazarse sobre la hojarasca del suelo y localizar los frutos con los estados biológicos de la plaga. Por ello, se simuló un experimento para determinar la capacidad de desplazamiento de nematodos hacia frutos infestados por la broca del café superando un obstáculo artificial. Para tal efecto se emplearon las especies de NE: *Heterorhabditis bacteriophora* y *Steinernema feltiae* las cuales tienen una buena capacidad de desplazamiento, parasitismo

y alta vitulencia en anteriores experimentos con broca.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en los laboratorios del Departamento de Entomología de Cenicafé en Chinchiná (Caldas) Colombia, situado a 1.425 msnm.

### Material biológico

Se evaluaron dos especies de nematodos entomopatógenos (NE) *Steinernema feltiae* UK strain\* (Rhabditida: Steinernematidae) y *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) las cuales fueron suministradas por los Drs. Bernard Briscoe y William Hominick del Instituto Internacional de Parasitología (IIP-Bioscience) en Egham, Inglaterra .

La reactivación y multiplicación del estado infectivo del nematodo, los juveniles infectivos (JI), de las especies descritas, se realizó en larvas de último instar de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) de acuerdo con la metodología descrita por MOLINA y LÓPEZ (2001). Los JI recuperados, se almacenaron a una temperatura de 12°C, durante un periodo no superior a 5 días antes de su inmediata utilización para los diferentes bioensayos.

Se utilizaron frutos de café secos (de 270 días de edad fisiológica) de la variedad Colombia encontrados usualmente en el plato del árbol cubiertos por hojarasca. Inicialmente se utilizaron frutos sobremaduros de árboles en campo (de 240 días de madurez fisiológica), los cuales se infestaron artificialmente en campo mediante el uso de mangas entomológicas y se liberaron en estas una proporción de 3 brocas por fruto.

A los 30 días de efectuada la infestación, se obtuvieron todos los estados biológicos del ciclo de la broca del café (huevos, larvas, pupas y adultos) que comúnmente se encuentran en frutos secos de 270 días. La broca utilizada para la infestación de los frutos, fue suministrada por la unidad de cría de parasitoides de la Disciplina de Entomología de Cenicafé.

Tabla 1.- Tratamientos utilizados para la evaluación de la supervivencia de JI.

Tratamientos	Compuestos	Especie de NE
T1	(Glicerina + Tween) al 10%	<i>H. bacteriophora</i>
T2	(Glicerina + Tween) al 10%	<i>S. feltiae</i>
T3	(Glicerina + Tween) al 1%	<i>H. bacteriophora</i>
T4	(Glicerina + Tween) al 1%	<i>S. feltiae</i>
T5	(Glicerina + Tween) al 0,5%	<i>H. bacteriophora</i>
T6	(Glicerina + Tween) al 0,5%	<i>S. feltiae</i>
T7	(Glicerina + Tween) al 0,1%	<i>S. feltiae</i>
T8	(Glicerina + Tween) al 0,1%	<i>H. bacteriophora</i>
T9	(Glicerina) al 10%	<i>S. feltiae</i>
T10	(Glicerina) al 10%	<i>H. bacteriophora</i>
T11	(Glicerina) al 1%	<i>S. feltiae</i>
T12	(Glicerina) al 1%	<i>H. bacteriophora</i>
T13	(Glicerina) al 0,5%	<i>S. feltiae</i>
T14	(Glicerina) al 0,5%	<i>H. bacteriophora</i>
T16	(Tween) al 10%	<i>S. feltiae</i>
T17	(Tween) al 10%	<i>H. bacteriophora</i>
T18	(Tween) al 1%	<i>S. feltiae</i>
T19	(Tween) al 1%	<i>H. bacteriophora</i>
T20	(Tween) al 0,5%	<i>S. feltiae</i>
T21	(Tween) al 0,5%	<i>H. bacteriophora</i>
T22	(Tween) al 0,01%	<i>S. feltiae</i>
T23	(Tween) al 0,01%	<i>H. bacteriophora</i>
T24	(Testigo) ADE	<i>S. feltiae</i>

### Efecto de componentes químicos en la viabilidad e infección de los nematodos entomopatógenos

La aplicación de JI de NE en condiciones de campo, restringe su viabilidad en principio por efectos de desecación y anhidrobiosis. Para tal efecto, se evaluaron cuatro concentraciones (0,1, 0,5, 1 y 10%) de dos químicos: Tween al 80% de concentración (tensoactivo que rompe la tensión superficial del medio del JI, permitiendo su desplazamiento) y Glicerina al 87% de concentración (que actúa como humectante evitando la desecación de la cutícula del JI), con el objetivo de evaluar su efecto en el control de la desecación ambiental, la viabilidad y la infección de los JI. Esos ensayos se hicieron utilizando los químicos solos y en mezcla más un testigo que consistió en agua destilada estéril

(ADE), constituyendo un total de 24 tratamientos con 20 repeticiones por tratamiento (Tabla 1). Como unidad experimental (UE) se utilizó una caja de Petri (Diámetro=51mm) en cuyo centro se aplicó 100JI en un volumen final de 35ml con los químicos solos o en mezcla de acuerdo al tratamiento. Posteriormente, las UE se dejaron en incubación a  $24\pm 2^{\circ}\text{C}$  y a 100% de humedad relativa (HR) durante un periodo de siete días. Posteriormente, se contaron los JI vivos por cada tratamiento y se estableció el porcentaje de supervivencia de los NE (PSE):

$$PSE = \left( \frac{\text{JI vivos}}{\text{JI muertos}} \right) \times 100$$

Los JI vivos se concentraron en 1 ml de ADE por cada tratamiento, del que se tomó una concentración de 200JI y se aplicó a 20

larvas de *G. mellonella* en una caja de Petri con papel filtro (Diámetro=9cm). Las cajas de Petri se sellaron y se colocaron a incubación a  $24\pm 2^\circ\text{C}$  y a 70% HR durante 5 días. Por tratamiento se hizo conteo de larvas vivas y muertas de *G. mellonella*. A las larvas muertas se les evaluó la sintomatología típica de infección por NE y se determinó el porcentaje de infección por NE (PIE)

$$PIE = \left( \frac{\text{larvas infectadas por EN}}{\text{total de larvas empleadas}} \right) \times 100$$

Finalmente se seleccionó el tratamiento que presentó los mayores PSE y PIE para emplearlo en el experimento con broca del café. De esta forma, se seleccionó el tratamiento que obtuvo los mayores valores en dichos índices.

### Desplazamiento de nematodos entomopatógenos hacia frutos infestados por broca, superando un obstáculo

Se evaluó la capacidad de desplazamiento y penetración de los NE *S. feltiae* y *H. bacteriophora*, hacia un fruto de café seco infestados después de superar un obstáculo.

En el centro de una caja de Petri (Diámetro=9cm), se colocó una base que sostenía un fruto de café con un fruto seco. Sobre este se colocó una cubierta de acetato de 0,7cm de diámetro (obstáculo), soportada con seis tensores atados en los extremos de la caja de Petri (Fig. 1.A.).

En el centro de la cubierta de acetato, se aplicaron  $100\pm 2\text{JI}$  en un volumen de 35ml con la solución seleccionada en el ensayo preliminar (Tween y Glicerina al 1%), por cada especie de NE. Esta caja de Petri modificada, se constituyó en la unidad experimental (UE).

Posteriormente, en el interior de un recipiente plástico (45x30x15cm) se colocó una caja de Petri (Diámetro=51mm) con 10ml y ADE para garantizar la saturación de humedad del sistema (100% HR) y se ubicaron las UE (cinco por cada recipiente plástico) constituyendo el sistema de bioensayo (Fig. 1.B.). Finalmente los recipientes plásticos resultantes con las UE, se llevaron a incubación bajo

condiciones controladas de temperatura ( $24\pm 2^\circ\text{C}$ ) en un cuarto climatizado estéril en oscuridad constante y 100% HR, durante un tiempo de evaluación de 168 horas. Cada 12 horas se realizó un monitoreo, para cuantificar el desplazamiento de los NE.

Al final del tiempo de evaluación, se realizaron las disecciones de los frutos y se contaron el número de JI que lograron penetrar y el número de brocas en diferentes estados biológicos muertas por causa de NE. Adicionalmente se hizo un lavado de la barrera física (tapa cobertura) y se contabilizó el número de JI que quedaron en el fruto y que no lograron penetrarlo.

Se utilizó un diseño completamente aleatorio. Se establecieron tres tratamientos (dos especies de EN y un testigo (ADE sin JI), cada uno con 15 repeticiones (Tabla 2).

Las variables respuesta evaluadas en las cuales se determinó el desplazamiento de las especies de EN (IA), la penetración (IPF) y la mortalidad de individuos en diferentes estadios de la broca (PMIB) en el fruto se describen a continuación:

**Índice de alcance (IA)**, el cual está dado por la relación entre el número de JI que llegaron tanto a la superficie como los que ingresaron al fruto, sobre el número de JI aplicados por tratamiento.

$$IA = \left( \frac{\text{No JI en la superficie del fruto} + \text{Nor JI dentro de fruto}}{\text{No JI aplicados}} \right) \times 100$$

**Índice de penetración en fruto (IPF)**, el cual está dado por la relación entre el número de JI encontrados dentro del fruto y el número de JI iniciales aplicados por tratamiento.

$$IPF = \left( \frac{\text{No JI dentro de fruto}}{\text{No JI aplicados}} \right) \times 100$$

**Porcentaje de mortalidad (PM)**, el cual se estimó como la relación entre el número de individuos de broca en diferentes estadios muertos (larvas, pupas y adultos) y el número total de individuos de broca (vivos y muertos) en diferentes estadios de la plaga presentes dentro del fruto.

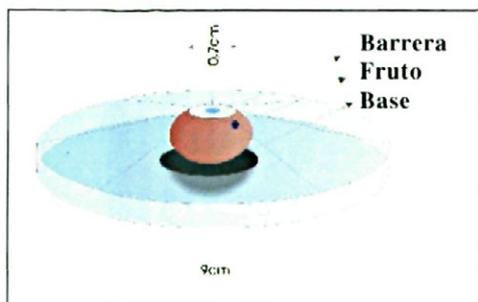


Figura 1a: Modelo de la UE empleada.



Figura 1b: Montaje del sistema de bioensayo.

$$PM = \left( \frac{\text{No de individuos de broca en diferentes estadios muertos}}{\text{No total de individuos de broca en diferentes estadios dentro del fruto}} \right) \times 100$$

Después de obtener los porcentajes de mortalidad para cada tratamiento y testigos, se procedió a estimar el **porcentaje de mortalidad de individuos en diferentes estadios de broca por fruto (PMIB)**, mortalidad corregida para los tratamientos con el porcentaje de mortalidad de su testigo respectivo:

$$PMIB = \left( \frac{PM \text{ del tratamiento} - Pm \text{ del testigo}}{100 - PM \text{ del testigo}} \right) \times 100$$

Se calculó para las variables respuesta IA, IPF, PMIB, promedios, variación, análisis de varianza (ANAVA) al nivel del 5%. Se aplicó una prueba de comparación de medias, diferencia mínima significativa (LSD) al nivel del 5%, y para los ensayos preliminares una prueba Tukey al nivel del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto de compuestos químicos en la viabilidad e infección de los juveniles infectivos

Al evaluar las diferentes concentraciones de Glicerina y Tween solas y en mezcla con JI, se pudo establecer que el tratamiento en mezcla Glicerina y Tween en concentración al 1%, fue el que generó la mejor condición de supervivencia y controló mejor la desecación de JI de *H. bacteriophora* y *S. feltiae*. Estos JI fueron sometidos a libre exposición a una H.R del 100% y a 24±2°C, presentando PSE de 80,65 y 76,41% respectivamente, respuesta estadísticamente diferente a lo presentado por los demás tratamientos evaluados (Tukey≤0,05) (Fig. 2). Las mezclas inferiores y los químicos con concentraciones inferiores al 1%, no mostraron un efecto antidesecante sobre los JI, encontrándose en su gran mayoría muertos e inactivos en el punto de inoculación. Por el contrario los químicos y las mezclas al 10% de concentración, a pesar de mostrar un efecto antidesecante sobre los JI, causaron una alta mortalidad, posiblemente por efecto directo de los compuestos en alta concentración en el metabolismo de los JI. Trabajos realizados por SHAPIRO *et al.*, (1985), encontraron que compuestos como glicerina y folicote presentaron efectividad como antievaaporantes y

Tabla 2.- Desplazamiento de nematodos entomopatogenos hacia frutos infestados superando un obstáculo artificial.

Tratamientos (NE/GMF)	Nomenclatura
<i>S. feltiae</i> / fruto seco	T1
<i>H. bacteriophora</i> fruto seco	T2
Testigo/ fruto seco/agua sin NE	T3

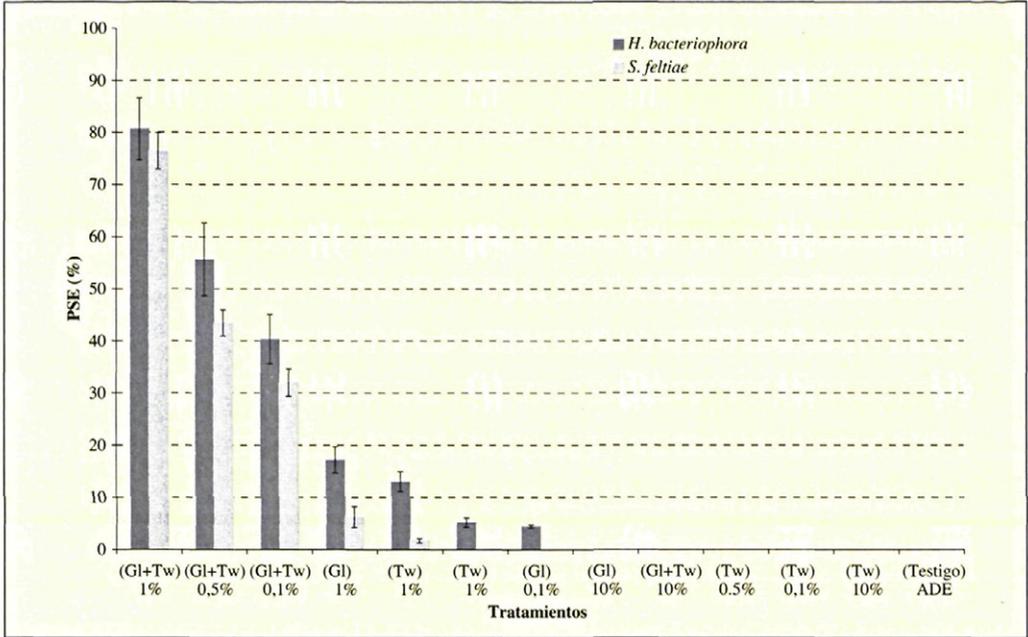


Figura 2: Efecto de compuestos químicos en la viabilidad de los JI de las especies de NE.

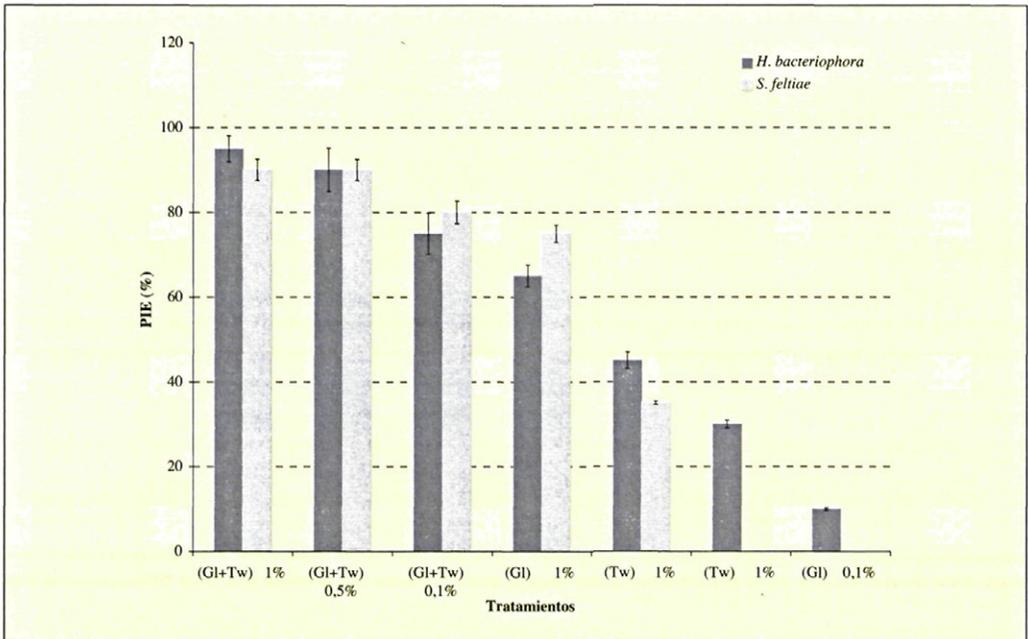


Figura 3: Porcentaje de infección de las especies de NE con compuestos químicos en larvas de *G. mellonella*

antidesecantes manteniendo la viabilidad e infectividad de los JI de *S. feltiae*, pero otros presentaron efecto en la viabilidad de los JI.

Así mismo, los JI expuestos a los tratamientos en mezcla que presentaron el mayor PSE (Tween y Glicerina al 1% y 0,5%), tuvieron el mayor PIE en larvas de *G. mellonella* (95% y 90%), resultados estadísticamente diferentes a lo presentado por los tratamientos evaluados (Tukey $\leq$ 0,05) (Fig. 3). Lo anterior demuestra, que los JI que presentaron un alto PSE igualmente tuvieron una alta infección, a pesar que los JI estuvieron sometidos a condiciones de libre exposición, teniendo en cuenta que el habitat natural de los EN es el suelo. Por el contrario, JI que presentaron procesos de anhidrobiosis encontrados en los tratamientos de menor PSE, los JI vivos, presentaron una baja infectividad, ya sea por efectos de las concentraciones de los químicos aplicados o por el desgaste metabólico empleado por los JI en garantizar su supervivencia, entrando en un período de quiescencia (estado de animación suspendida) hasta el final del tiempo de evaluación (168h). SHAPIRO *et al.* (1985), encontró que altas concentraciones de Glicerina y otros compuestos evaluados restringieron la infección de algunas especies de steinerematidos y heterorhabdítidos evaluados, en larvas de *G. mellonella*. Por otra parte KUNG *et al.*, (1991) y KOPPENHOFER *et al.*, (1995), afirman que los nematodos sometidos a una óptima humedad, presentan una alta infectividad; por el contrario un déficit de humedad estimula procesos de anhidrobiosis en los JI y por ende, puede presentarse una baja infectividad.

Finalmente se seleccionó el tratamiento Tween y Glicerina en mezcla al 1%, como el que garantizó la mayor supervivencia e infectividad de las dos especies de NE, para utilizarla en el experimento con broca .

### **Desplazamiento de nematodos entomopatógenos hacia frutos infestados por broca, superando un obstáculo**

En general, sólo la especie *H. bacteriophora* presentó respuesta a las variables IA e

IPF con promedios de  $16,87\pm 2,6$  y  $13,8\pm 2,19$  (Promedio $\pm$ E.E) respectivamente, mostrando su alta capacidad de desplazamiento, penetración y capacidad de búsqueda de los estados biológicos de la broca dentro del fruto, a diferencia de *S. feltiae* que bajo las condiciones del experimento no presentó respuesta a las variables evaluadas, mostrando su imposibilidad de desplazarse y localizar el fruto infestado con los estados de la plaga.

No obstante, a pesar que las dos especies de NE, tuvieron las mismas condiciones de bioensayo (100% de HR y JI acondicionados con la mezcla de Glicerina y Tween al 1%, la respuesta positiva que presentó *H. bacteriophora* se puede atribuir a su naturaleza de especie con desplazamiento en dirección a su hospedero. Las especies con este desplazamiento, presentan muy desarrollada la atracción por volátiles en el momento en que la plaga hospedante los emite a cierta distancia, induciendo a los JI a su búsqueda con un rápido movimiento (ISHIBASHI y KONDO, 1990). Para este caso las sustancias volátiles pudieron ser emitidos por el fruto y/o estados biológicos de la broca dentro este, con una respuesta direccional de los JI. Posiblemente este tipo de respuesta indujo a los JI de *H. bacteriophora* a desplazarse inicialmente en sentido horizontal sobre la barrera, la bordearon y finalmente los pocos JI que tuvieron contacto con el fruto, se desplazaron en sentido vertical y alcanzaron el orificio de perforación.

Por el contrario, los JI de *S. feltiae* no se desplazaron sobre la barrera, probablemente porque no alcanzaron a percibir las sustancias volátiles emitidos por la plaga o el fruto o por la excesiva saturación de humedad del medio que hizo que los JI entraran en un estado de quiescencia. En algunos casos, especies emboscadoras no presentan respuesta alguna hacia su hospedante, si no perciben en cantidades suficientes los gradientes de CO<sub>2</sub> o el estímulo atrayente (CAMPBELL y KAYA, 1999). BEGLEY (1990), afirma que una humedad relativa alta (superior al 90%) y el rocío, a pesar de favorecer la supervivencia e infección de JI a libre expo-

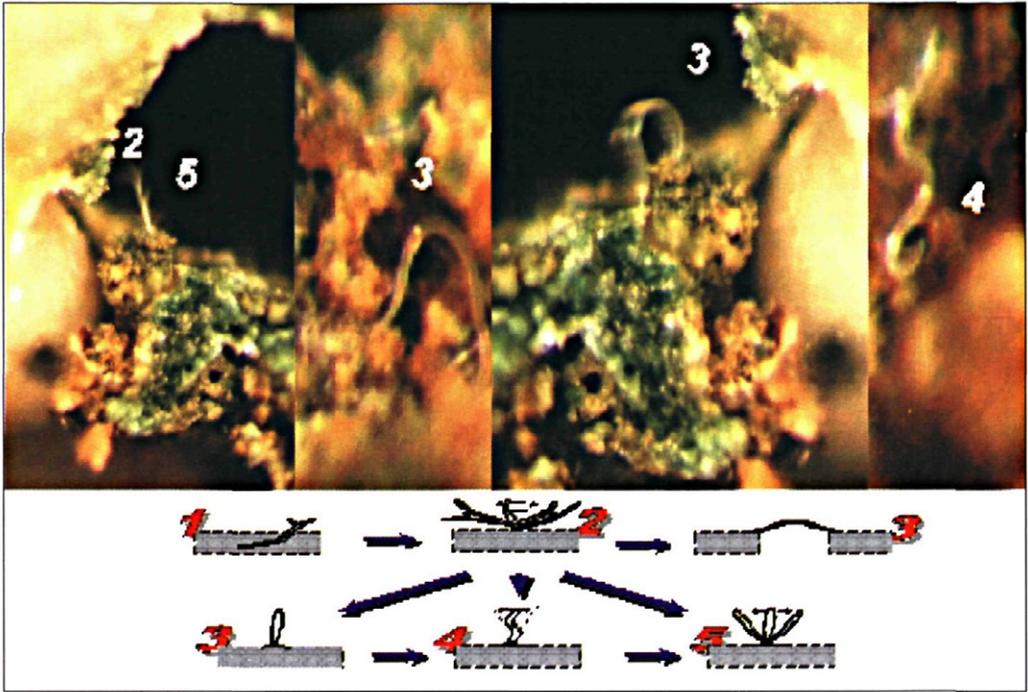


Figura 4: Secuencia del movimiento "nictation" de los JI de *H. bacteriophora* al interior del fruto de café.

sición, en algunas especies de EN puede favorecer fenómenos de quiescencia. Por otra parte, los JI no presentaron problemas por desecación, ya que siempre estuvieron humectados y sometidos a una alta HR.

Es de resaltar que los primeros JI de *H. bacteriophora* que llegaron al fruto, presentaron el movimiento característico de los NE conocido como "nictation" descrito por ISHIBASHI y KONDO, (1990). A través de ese movimiento, los JI se desplazaron por el interior de las galerías hechas por la broca y localizaron los estados biológicos de esta plaga. Así mismo se logró determinar toda la secuencia del movimiento de los JI en cinco posiciones al interior de las galerías de un fruto afectado por la broca del café (Fig. 4). En primera instancia, al ingresar el JI por el orificio de perforación del fruto, este prolongó la parte posterior de su cuerpo y formó planos (Posición 1), extendiendo su cuerpo en forma ondulatoria constantemente, y quedó totalmente parado en su parte poste-

rior (Posición 2, 5). Luego el JI prolongó la parte anterior de cuerpo en sentido horizontal hasta que estableció contacto nuevamente con la superficie del fruto, con un movimiento ondulatorio pausado (Posición 3). El JI continuó con las posiciones 1,2,3 hasta el momento en el cual el JI localizó a su hospedante posiblemente por quimiotaxis o por gradientes de CO<sub>2</sub> y finalmente el JI se preparó para efectuar un salto (Posición 4) y penetrar en el estado biológico de la broca.

En este experimento se observó el salto y penetración en larvas y pupas principalmente (Fig. 4). En adultos se observó a los JI desplazándose en su dorso, localizando las aberturas intersegmentales del insecto para penetrarlo (Fig. 5). Se estima que el tiempo que tardó el JI en desplazarse al interior del fruto y parasitar a los estados de la broca es inferior a las 120 horas. Esta tendencia de movimiento es característica de *H. bacteriophora* que por poseer un desplazamiento crucero, responde positivamente a las sustancias

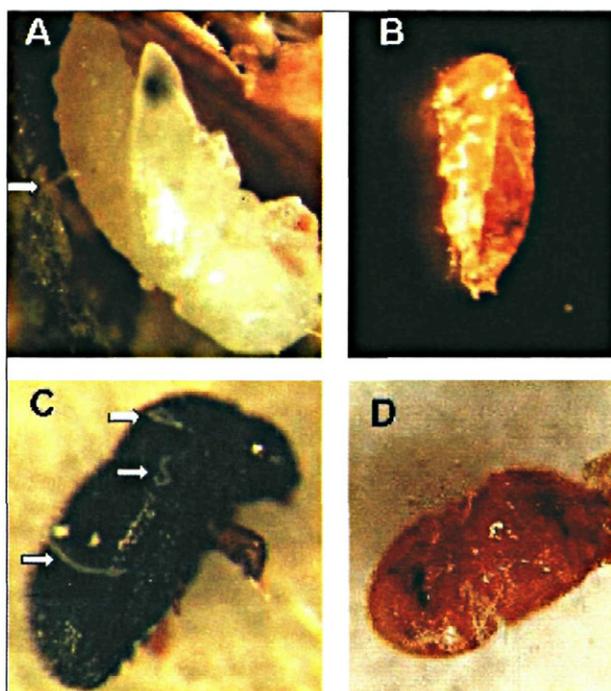


Figura 5: A y B. JI de *H. bacteriophora* penetrando y causando infección en pupas de broca. C y D. JI de *H. bacteriophora* penetrando y causando infección en adulto melanizado y no melanizado de broca.

volátiles del hospedante y recorre cierta distancia con movimiento nictatorio hasta localizarlo accediendo a este por el salto o desplazándose rompiendo su cutícula (LEWIS *et al.*, 1993).

Finalmente, para la variable PMIB sólo presentó respuesta la especie *H. bacteriophora* con un  $6,18 \pm 2,27$  (Promedio  $\pm$  E.E). A pesar que fue baja, es importante considerar que los JI que parasitaron los estados de la plaga, tuvieron que superar la barrera, desplazarse sobre el fruto, penetrar por el orificio de perforación y desplazarse por las galerías de este en menor de 168 horas. Teniendo en cuenta el IPF ( $13,8 \pm 2,19$  Promedio  $\pm$  E.E), se puede suponer que a un mayor tiempo de evaluación y a una mayor concentración de JI aplicados, este PMIB aumente ya que se encontraron principalmente los estados biológicos de pupa y adulto de broca con JI de *H. bacteriophora* nictando y penetrando en

estos (Fig. 5. A y C) y estos mismos estados de broca, parasitados por *H. bacteriophora* con la sintomatología característica (Fig. 5. B y D)

Los resultados demuestran que el fruto infestado y cubierto, atrae a los JI de *H. bacteriophora*, especie que podría desempeñar una función fundamental en la regulación de las poblaciones de broca en los frutos que caen al suelo y están cubiertos por hojarasca, por lo cual debe tenerse en cuenta para su evaluación en futuros trabajos experimentales dentro del MIB en suelo.

## CONCLUSIONES

Una baja humedad ofrece el medio donde se encuentran los JI, presentan baja supervivencia presentando estados de anhidrobiosis y quiescencia, que inciden negativamente en su infectividad.

Con la mezcla Glicerina y Tween en concentración del 1%, se obtuvieron los mejores índices de supervivencia e infección de las especies *S. feltiae* y *H. bacteriophora*.

A diferencia de *S. feltiae*, *H. bacteriophora* fue la única especie que logró superar la barrera física y penetrar en el interior del fruto, presentando respuesta a las variables IA e IPF.

Se observó parasitismo en pupas y en adultos no melanizados de broca, lo que señala la posibilidad de control de poblaciones de broca en frutos en el suelo cubiertos por hojarasca.

Se comprobó que la broca del café remanente dentro del fruto cubiertos por un obstáculo, son afectados el efecto patogénico de los NE.

Para futuros trabajos de aplicación de nematodos en campo, se debe tener en cuenta las condiciones ambientales del medio, ya que como se demostró en este trabajo, los NE son sensibles a contenidos de humedad bajos, incidiendo negativamente en su desplazamiento e infectividad sobre la plaga.

Se deben desarrollar formulaciones con NE nativos a base de tensoactivos y humectantes, con el objetivo de que los nematodos aplicados en campo, no pierdan efectividad, facilitando su persistencia en el medio, así como se deben evaluar sistemas de aplicación de NE, que permitan localizar más eficientemente los JI en el plato del árbol de café.

## AGRADECIMIENTOS

A los Drs. Bernard Briscoe y William Homnick del IIP-Bioscience (Egham, Inglaterra) por el suministro de las especies de NE, al personal de la Disciplina de Entomología de Cenicafé (Colombia), en especial al auxiliar Uriel Posada por su colaboración en laboratorio, al Dr. Fernando Cantor de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad militar Nueva Granada (Bogotá) por las sugerencias en la versión final del texto y al diseñador Cesar Augusto Rodríguez Montejo por las ideas ofrecidas en la ilustración de fotos y figuras.

## ABSTRACT

MOLINA ACEVEDO J. P., J. C. LÓPEZ NÚÑEZ, 2003. Survival and parasitism of entomopathogenic nematodes for the control of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in coffee fruits. *Boletín de Sanidad Vegetal de Plaga*, 29: 523-533.

The use of entomopathogenic nematodes (EPN) for the control of coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) that remains in fallen berries in soil after harvest and usually covered by mulch, EPN can be an effective tool of control. Moisture is a factor for the activity of EPN exposed to environment, thus, first were evaluated the survival and the infection of infective juveniles (IJ) of two EPN species: *Heterorhabditis bacteriophora* (Milstead and Poinar) (Rhabditida: Heterorhabditidae) y *Steinernema feltiae* (Dutky) (Rhabditida: Steinernematidae), using four concentrations (0,1, 0,5, 1, 10%) of two chemical substances with antidesecant activity (Tween and Glycerine) applied alone and mixed, establishing the solution that guaranteed the biggest viability and infection of the IJ. Were evaluated the the index of survival of EPN (ISE) and the infection index for EPN (IIE) respectively, the last index was measured in larvae of *Galleria mellonella* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae). Later, on the displacement of the species, were proved the EPN species with the selected solution on a on a artificial barrier that covered a coffee berry, the penetration and the parasitism were determined through the variables: Index of displacement (IA), Index of Penetration to the Fruit (IPF) and Percentage of coffee berry borer's mortality (PMIB). The experimental unit was a petri dish with a coffee berry covered by a plastic circulate (Diameter= 0,7cm), which 100±2IJ were placed by EPN species, which it was put 100 of this (Two IJ for each one of the EPN species), it remained a time of evaluation of 168 hours. *H. bacteriophora* was the only specie that presented an answer to the variable IA and IPF with averages of 16,9±2,6 and 13,8±2,2 (Average±standar error) respectively, showing the best characters of *H. bacteriophora* for control of *H. hampei* in future works in field.

**Key words:** Entomopathogenic nematodes, movement, moisture, *Hypothenemus hampei*, *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*.

## REFERENCIAS

- BAKER, P. S. 1999. La broca del café en Colombia; informe final del Proyecto MIB para el café DFID – CENICAFE – CABI Bioscience. Chinchiná, (Colombia), DFID, 154 p.
- BAKER, P. S.; RIVAS, A.; BALBUENA, R.; BARRERA, J. F. 1994. Abiotic mortality factors of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 71: 201-209.
- BEGLEY, J. W. 1990. Efficacy against insects in habitats other than soil. *In: Entomopathogenic nematodes in biological control.* (Gaugler R.; Kaya, H. K editors). CRC Press Inc.; Boca Raton, FL. p. 215-231.
- BUSTILLO P., A. E.; CARDENAS M., R.; VILLALBA G., D.; BENAVIDES M., P.; OROZCO H., J.; POSADA F., J. 1998. Manejo Integrado de la Broca del Café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) en Colombia. Centro Nacional de Investigaciones de Café “Pedro Uribe Mejía” Cenicafé. 127 p.
- CAMPBELL, F. J.; KAYA, K. 1999. How and why a parasitic nematode jumps. *Nature*. 397: 485-486.
- ISHIBASHI, N.; KONDO, E. 1990. Behaviour of infective juveniles. *In: Entomopathogenic nematodes in biological control.* (Gaugler R.; Kaya, H. K editors). CRC Press Inc.; Boca Raton, FL. 139-150.
- KOPPENHOFER, A. M.; KAYA, H. K.; TAORMINO, S. P. 1995. Infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae) at different soil depths and moistures. *Journal of Invertebrate Pathology*. 65(2): 193-199.
- KUNG, S. P.; GAUGLER, R.; KAYA, H. K. 1991. Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. *Journal of Invertebrate Pathology*. 57: 242-249.
- LEWIS, E. E.; GAUGLER, R.; HARRISON, R. 1993. Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. *Canadian Journal of Zoology*. 71(4): 765-769.
- MOLINA A, J. P.; LÓPEZ N, J. C. 2001. Producción *in vivo* de tres nematodos entomopatógenos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. *Revista colombiana de entomología* . 27 (1-2): 73-78.
- MOLINA A, J. P.; LÓPEZ N, J. C. 2002. Desplazamiento y parasitismo de entomonemátodos hacia frutos infestados con la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleptera: Scolytidae). *Revista colombiana de entomología* . 28 (2): 145-151.
- SHAPIRO, M.; MCLANE, W.; BELL, R. 1985. Laboratory evaluation of selected chemicals as antidesiccants for the protection of the entomogenous nematode, *Steinernema feltiae* (Rhabditidae: Steinernematidae), against *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Journal of Economic Entomology*. 78(6): 1437-1441.

(Recepción: 4 febrero 2003)

(Aceptación: 18 junio 2003)