

EVALUACIÓN POR RESISTENCIA A *Hypothenemus hampei* (Ferrari), EN POBLACIONES DERIVADAS DE CRUCES ENTRE CATURRA E INTRODUCCIONES ETÍOPES

Juan Vicente Romero*; Liliana Jimena Bustamante-Giraldo*; Hernando Alfonso Cortina-Guerrero**;
María del Pilar Moncada-Botero**

RESUMEN

ROMERO, J.V.; BUSTAMANTE G., L.J.; CORTINA G., H.A.; MONCADA B, M del P. Evaluación por resistencia a *Hypothenemus hampei* (Ferrari), en poblaciones derivadas de cruces entre Caturra e introducciones etiopes. Revista Cenicafé 63(2): 31-49. 2012

La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), es considerada la principal plaga café en Colombia. En este trabajo se muestra la respuesta a la broca en poblaciones F1 y F2, de los cruces entre *Coffea arabica* var. Caturra (susceptible) y dos introducciones etiopes, CCC363 y CCC534, que reducen la oviposición de la broca, como avance para el desarrollo de herramientas para la selección asistida por marcadores moleculares. En la F1 se evaluaron seis subpoblaciones del cruce con CCC363 y 11 con CCC534 y en la F2 dos y tres, respectivamente. Se evaluaron en el laboratorio, realizando crías de broca en café pergamino por 28 días, y en el campo infestando frutos en mangas entomológicas hasta los 60 días. Se evaluó el número de individuos de broca por grano de las progenies y los progenitores etiopes comparados con los de Caturra. En el laboratorio el promedio y desviación estándar de brocas por grano en Caturra fue de 38,9 (5,5), en CCC363 de 31,8 (4,1) y CCC534 31,9 (4,2), 20% menos que la variedad Caturra. En ambas F1 los promedios de las poblaciones fueron intermedios a los de sus progenitores, CxC363= 35,7 (5,2) y CxC534= 36,3 (5,4). Las F2 mostraron una distribución normal, segregación típica de un carácter cuantitativo, con una media de 32,4 (4,6) y 32,1 (4,1) y n=248 y 333 plantas, respectivamente. En el campo los promedios de las progenies y etiopes estuvieron por debajo de Caturra, aunque la variación fue amplia, por lo cual se presentaron pocas diferencias.

Palabras clave: Broca del café, antibiosis, resistencia genética, resistencia a insectos.

ABSTRACT

The coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari), is considered a major pest of coffee in Colombia, affecting the income of farmers and altering the beverage quality. This paper shows the evaluation of response to coffee berry borer of F1 and F2 populations of crosses between *Coffea arabica* var. Caturra (susceptible) and two ethiopian accessions, CCC363 and CCC534 that reduce its oviposition, as progress in the development of tools for marker-assisted selection. In F1 six and 11 populations of crosses with CCC534 and CCC363 were assessed and in F2, two and three populations respectively. Laboratory evaluations were performed, developing coffee berry borer offspring on parchment coffee during 28 days, and on field infesting fruits inside entomological sleeves up to 60 days. The number of individuals of coffee berry borer per grain was evaluated on F1 and F2 populations and on the Ethiopian male parents compared with those of the female parent, Caturra (ANOVA and Dunnett 0.05). On laboratory the average and standard deviation of biological stages of borer per grain on Caturra was 38.9 (5.5), on CCC363 31.8 (4.1) and in CCC534 31.9 (4.2), 20% less than the Caturra variety. On both F1 the average of the populations were intermediate to those of its parents, CxC363 = 35.7 (5.2) and CxC534 = 36.3 (5.4). On F2 populations there was a normal distribution, typical segregation of a quantitative trait, with means of 32.4 (4.6) and 32.1 (4.1), and n = 248 and n=333 plants respectively. On field the mean of progenies was below Caturra, although the variation was wide, and therefore, there were few differences. It implies that the sample size should be is revised.

Keywords: Coffee berry borer, antibiosis, genetic resistance, insect resistance.

* Investigador Asociado Disciplina de Mejoramiento Genético, Cenicafé.

** Investigador Científico II e Investigador Científico III, respectivamente. Disciplina de Mejoramiento Genético. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

En Colombia se cultivan variedades de café de la especie *Coffea arabica* L., que poseen alta producción y una calidad reconocida internacionalmente, pero altamente susceptibles al ataque de la broca, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Esta plaga ataca específicamente frutos de especies del género *Coffea*, donde penetra hasta el endospermo, se refugia, se alimenta y se reproduce en su interior (4). Debido a estos hábitos, que hacen difícil su control, por encontrar disponibilidad de alimento durante todo el año (3), por su presencia a lo largo de toda la zona cafetera, por su efecto en la reducción de la producción, la pérdida de la calidad, el aumento de los costos de producción y la disminución del precio, la broca es considerada la principal plaga del cultivo en nuestro país (8).

La Federación Nacional de Cafeteros recomienda implementar un programa de manejo integrado para el control de la broca del café. Este programa incluye el uso de cafetales jóvenes, una buena y oportuna cosecha, repases después de la cosecha principal y de mitaca, controles biológicos y químicos con insecticidas de baja categoría toxicológica, cuando es necesario, (9). Un componente fundamental en este tipo de estrategias son las variedades resistentes, las cuales reducen el número de individuos por generación lo que disminuye el crecimiento de la población, que conlleva a la reducción de la frecuencia y el aumento de la eficiencia de los demás controles, manteniendo las plagas por debajo de los niveles de daño económico (1). Sin embargo, actualmente no se cuenta con una variedad resistente a la broca del café.

Por esto, con el objetivo de desarrollar variedades que contribuyan al control de la broca, la disciplina de Mejoramiento genético inició la búsqueda de fuentes de resistencia en la Colección Colombiana de

Café (CCC), que se encuentra establecida en la Estación Central Naranjal, en el municipio de Chinchiná. Desde 1992 Moncada (15) y en 1995 Cortina (10), iniciaron el proyecto de búsqueda de fuentes de resistencia a la broca del café, como primer paso en el desarrollo de variedades resistentes a la plaga. Se evaluaron variedades comerciales e introducciones silvestres en el campo y el laboratorio (7, 11, 21, 27), encontrado que en algunas introducciones de origen etíope, la broca reduce su oviposición hasta un 30%, comparada con el promedio en la variedad susceptible Caturra (20, 22).

A pesar de que la búsqueda no ha concluido, seis introducciones etíopes se han utilizado para hacer cruzamientos con las variedades Caturra y Castillo®, para el desarrollo de variedades resistentes a la broca. En el campo se encuentran más de 3.000 plantas de primera (F_1) y segunda generación (F_2), poblaciones que deben ser evaluadas y seleccionadas, para avanzar en generaciones hasta obtener líneas que hagan parte de la nueva variedad.

Actualmente, las evaluaciones se realizan en el laboratorio, con el método propuesto por Álvarez *et al.* (2), estableciendo crías en café pergamino seco en viales y contando el número de individuos bajo un estereoscopio. Este método exige un gran número de jornales y largos periodos de evaluación. En el campo se usan las mangas entomológicas (16), para infestar frutos artificialmente con adultos de broca y mantenerlas aisladas en una rama; sin embargo, requiere sincronía de la floración entre genotipos, para obtener unidades experimentales homogéneas. Ambos métodos están limitados por la disponibilidad de frutos para la oviposición de las hembras, y en periodos entre cosechas su eficiencia se reduce por falta de frutos y en cosecha la cantidad disponible es superior a la evaluable.

Adicionalmente, la obtención de variedades mejoradas de café de por sí es lenta y costosa, debido a que requiere alrededor de 20-25 años para su desarrollo. Por esta razón, la utilización de herramientas como el mapeo genético, que al ligar características de interés a regiones genómicas, permite realizar selección asistida por marcadores (SAM), abarcando gran número de individuos, sin estar sujeta a la necesidad de frutos, disminuyendo el tiempo y los costos de la selección.

Para realizar la SAM se necesita desarrollar una población segregante para el carácter de interés, en este caso la reducción de oviposición de broca, razón por la cual se hicieron cruzamientos entre Caturra y dos introducciones etíopes, CCC363 y CCC534. Posteriormente, por un lado se debe evaluar el carácter de interés sobre los individuos de la población segregante, y por el otro caracterizar la misma población, utilizando marcadores moleculares con diferencias en la secuencia de ADN de los progenitores (polimorfismos). Esto permitirá identificar marcadores ligados a la resistencia por co-segregación.

Dado que Cenicafé cuenta con un mapa genético, con marcadores distribuidos en 21 grupos de ligamiento, el siguiente paso es la caracterización de las poblaciones segregantes de los cruces entre la variedad susceptible Caturra y las dos introducciones etíopes mencionadas. Esto permitirá realizar análisis de ligamiento, para localizar las regiones del genoma responsables de la baja oviposición de la broca del café, con el objetivo de hacer selección asistida. El presente trabajo muestra los resultados de las evaluaciones a las poblaciones F1 y F2 de Caturra x CCC363, y Caturra x CCC534, en condiciones controladas y en el campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron plantas F1 y F2 de la especie *Coffea arabica* L., sembradas en la Estación Central Naranjal, ubicada en el municipio de Chinchiná (Caldas) a 4° 58' de latitud Norte, a 1.381 m de altitud, con una temperatura media de 21°C, humedad relativa de 77,55% y un promedio de la precipitación anual de 2.782 mm.

Como progenitor susceptible se utilizó la variedad Caturra, introducida a Colombia en 1952 procedente del Brasil, originada por una mutación espontánea para porte en una plantación de la variedad Borbón. Se difundió ampliamente entre los caficultores por su porte bajo, alta producción, excelente calidad de la bebida, amplia adaptación y buenas características del grano; desafortunadamente es altamente susceptible a enfermedades como la roya del café, *Hemileia vastatrix* Berk & Br. (18, 19), y a plagas como la broca del café *H. hampei* (10). Los padres donantes utilizados en los cruces fueron las introducciones CCC363 y CCC534, recolectadas por la misión de la FAO de 1964, derivadas de semillas de plantas únicas, recolectadas en la provincia de Kaffa (Etiopía), en altitudes entre los 1.700 y 2.000 m (14). Son plantas de porte alto, que fueron evaluadas en el campo, donde mostraron 50% menos infestación, y en el laboratorio 20% menos estados biológicos que Caturra (10, 21, 22).

La población híbrida está compuesta por 17 cruzamientos, 6 con CCC363 y 11 con CCC534, cuya genealogía y el número de plantas de cada genotipo se presentan en la Tabla 1. Las progenies F1 fueron sembradas en el año 2005 y evaluadas a partir de 2007. Se realizaron autofecundaciones que dieron lugar a sendas poblaciones F2, con diferente número de

plantas, sembradas en 2009 y evaluadas a partir del año 2010. De éstas se evaluaron las cinco poblaciones con mayor número de plantas, dos del cruce con CCC363 y tres del cruce con CCC534.

Estas poblaciones se evaluaron en condiciones controladas ($26^{\circ}\text{C} \pm 1$; $70\% \pm 3$ de humedad relativa), en los laboratorios de Cenicafé (Manizales, Colombia) y para su confirmación se evaluaron algunas de las progenies en el campo, en la Estación Central Naranjal, siguiendo los siguientes procedimientos:

Evaluaciones en el laboratorio. Las poblaciones F1 se evaluaron utilizando una muestra masal de granos. Adicionalmente, en cinco de estas poblaciones se evaluaron cada una de las plantas que las constituían, para determinar diferencias intrapoblacionales. En

las poblaciones F2 se tomó una muestra de cada una de las plantas.

Se utilizó el método desarrollado por Álvarez *et al.* (2), con modificaciones, para ver el efecto que producen los granos de las progenies sobre la reproducción de la broca, criándolas en cada una de ellas. Cuando la mayoría las hembras llegaron a estado adulto melanizado (35-40 días después del inicio de la cría) y se aparearon, se individualizaron poniendo una hembra en un vial con un grano pergamino de la misma planta donde fue criada y se registró su descendencia 28 días después de la infestación (DDI). Se evaluó la descendencia de 12 brocas por planta en la F1 y 20 para la F2, bajo un diseño completamente al azar. Se registró el número de individuos en cada estado de desarrollo, diseando los granos observando a través de un estereoscopio, sin embargo

Tabla 1. Listado de los 15 microsátélites evaluados.

Cruzamiento		Diez plantas F1 (MEG14.06)	Planta autofecundada	Plantas F2 (MEG14.13)	Código
Madre	Padre				
Caturra 26	CCC363 1542	21-30	26	131-180	CxC363_2
Caturra 42	CCC363 1546	81-90	83	781-840	CxC363_6
Caturra 78	CCC363 1546	151-160	153	521-600	CxC363_6
Caturra 26	CCC363 1547	31-40	34	961-1.140	CxC363_7*
Caturra 38	CCC363 1548	61-70	61	841-900	CxC363_8
Caturra 38	CCC363 1550	71-80	74	1201-1.360	CxC363_0*
Caturra 65	CCC534 1421	141-150	149	601-720	CxC534_0
Caturra 44	CCC534 1422	91-100	93	1.451-1.520	CxC534_1*
Caturra 63	CCC534 1423	121-130	125	61-130	CxC534_2
Caturra 36	CCC534 1424	41-50	41	351-520	CxC534_3
Caturra 61	CCC534 1425	111-120	116	1.521-1.690	CxC534_4*
Caturra 25	CCC534 1426	1-10	1	251-350	CxC534_5*
Caturra 25	CCC534 1427	11-20	20	181-250	CxC534_6
Caturra 60	CCC534 1428	101-110	106	1.361-1.450	CxC534_7
Caturra 78	CCC534 1428	161-170	161	1.141-1.200	CxC534_8
Caturra 36	CCC534 1429	51-60	54	901-960	CxC534_8
Caturra 63	CCC534 1430	131-140	139	721-780	CxC534_9

* Poblaciones evaluadas en F2.

la variable de interés principal fue el total de individuos por grano.

Las evaluaciones se realizaron por medio de experimentos que evaluaron hasta siete genotipos y sus progenitores, debido a la capacidad de evaluación del personal. Se realizaron tres evaluaciones de las progenies F1, la primera con evaluaciones cada 6 días desde el cuarto día del montaje, las demás evaluaciones, incluyendo la evaluación a las progenies F2, con una única evaluación a los 28 DDI.

Se realizó análisis de varianza y prueba de Dunnett (5%), para identificar las progenies con menor número de individuos que Caturra. En las poblaciones F2, en cada planta se calculó el porcentaje de individuos respecto a los encontrados en Caturra, y se construyeron histogramas de frecuencia.

Evaluaciones en el campo. En los experimentos de campo se usó como unidad experimental la planta. En cada una de ellas se seleccionaron tres ramas, con un promedio de 20-22 frutos, de 150 días de edad aproximadamente, o de 27% de materia seca (MS). Estas ramas fueron individualizadas con mangas entomológicas, y sus frutos fueron infestados con hembras de broca criadas en el laboratorio (35-40 días de edad), en relación de dos brocas por un fruto.

La determinación de la edad aproximada de los frutos se realizó en la F1 por medio de un muestreo de frutos, identificando ramas con frutos verdes con endospermo consistente, en la última evaluación de frutos provenientes de una floración marcada previamente. En la F2, a los frutos muestreados se les calculó el porcentaje de materia seca, seleccionando aquellas ramas con frutos con 27% MS, cuando el endospermo es adecuado para la oviposición y desarrollo de las crías (17, 23, 25).

En la F1 y F2 se realizaron tres y dos evaluaciones, respectivamente. En las poblaciones F1 se evaluaron 12 frutos por planta y tres plantas por progenie. Se evaluaron frutos con una sola perforación y, al igual que en el laboratorio, se cuantificó el número de individuos por estado de desarrollo, disecando los frutos a los 28, 35, 40, 50, 55, 60, 70 DDI. En la F2, donde la evaluación fue individual, de cada planta se evaluaron entre 20 y 30 frutos infestados por una broca, dependiendo de la disponibilidad, únicamente 60 DDI. En ambas generaciones se realizó análisis de varianza del número de individuos por fruto y prueba de Dunnett (5%), comparando con Caturra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Poblaciones F1

Evaluación en condiciones controladas. La primera evaluación de las poblaciones F1 se realizó evaluando cada 6 días, desde los 4 días hasta los 35 DDI, lo que permitió ver el desarrollo de la broca en cada una de las progenies (Figura 1). Desde los 4 DDI hasta la última fecha de evaluación se cuantificaron huevos, con un pico a los 10 DDI con disminución a los 28 y un nuevo aumento a los 35 DDI. Los primeros adultos se observaron a los 28 DDI, con la mayoría en la última evaluación (Figura 1). Este patrón fue similar tanto en Caturra como en las progenies, al igual que en los progenitores etíopes (22), lo que indica que no hay alteración en el ciclo de desarrollo del insecto.

En la Figura 2 se observa el incremento del número de individuos por grano en uno de los experimentos, el cual muestra una tendencia cuadrática, similar en todas las poblaciones. También se observa que los rangos de intervalos de confianza aumentan a

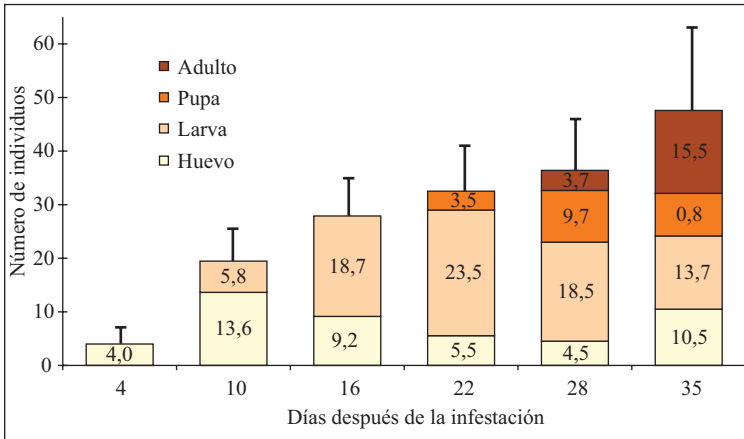


Figura 1. Número promedio de individuos por grano en evaluaciones de laboratorio. Promedio de estados días después de la infestación, de todas las progenies F1 y progenitores de los cruces Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534. Las barras corresponden al error estándar del total.

medida que hay mayor número de individuos, como resultado de una mayor varianza. Sin embargo, tanto en éstas como en evaluaciones anteriores (20, 22), en las primeras etapas del ciclo no hubo diferencias estadísticas entre ni entre progenitores contrastantes, ni entre éstos y las progenies. Teniendo en cuenta estos resultados, los siguientes experimentos se evaluaron únicamente a los 28 DDI, tiempo en el cual se ha completado el ciclo de vida, que reúne la mayor parte de progenie de la hembra fundadora, antes de que ocurra la oviposición de la segunda generación, lo cual permite la discriminación del efecto de los genotipos sobre la broca.

En la Tabla 2 se presenta el promedio del número de individuos por grano, a los 28 DDI, para las tres evaluaciones. En Caturra los promedios de evaluaciones variaron entre 37 y 47 individuos, mientras que en los progenitores etíopes entre 30 y 38 individuos, valores que están por encima del promedio de experimentos anteriores (35 ± 3). Los promedios de las progenies oscilaron entre 27 y 46 individuos en las tres evaluaciones.

El promedio del número de brocas, tanto en los descendientes de CCC363 como en los de CCC534, muestra un rango estrecho

de distribución, comparado con el de sus progenitores (Figura 3). Nueve progenies presentaron diferencias estadísticas con Caturra en una de las evaluaciones, sin embargo ninguna de ellas es consistentemente inferior al padre susceptible. Solo las progenies CxC363_0, CxC534_4, CxC534_6 y CxC534_9, presentaron diferencias estadísticas en dos de las evaluaciones.

En la evaluación de plantas individuales de cinco progenies, los promedios de Caturra estuvieron entre 28 y 34 individuos y las introducciones etíopes estuvieron por debajo del promedio de Caturra, aunque en estas evaluaciones no presentaron diferencias (Tabla 3). Se encontraron diferencias en dos plantas del cruce CxC534_1 (plantas 8 y 3). En las demás plantas no hubo diferencias estadísticas, a pesar que los promedios fueron intermedios entre los progenitores. Entre plantas de la misma progenie tampoco hubo diferencias destacables.

Evaluaciones en el campo. En el primer experimento, con cuatro evaluaciones entre los 28 y 50 DDI, se evaluaron 13 progenies y Caturra (Tabla 4), usando frutos con madurez fisiológica y apariencia homogénea. En Caturra se encontraron entre 16 y 18 individuos,

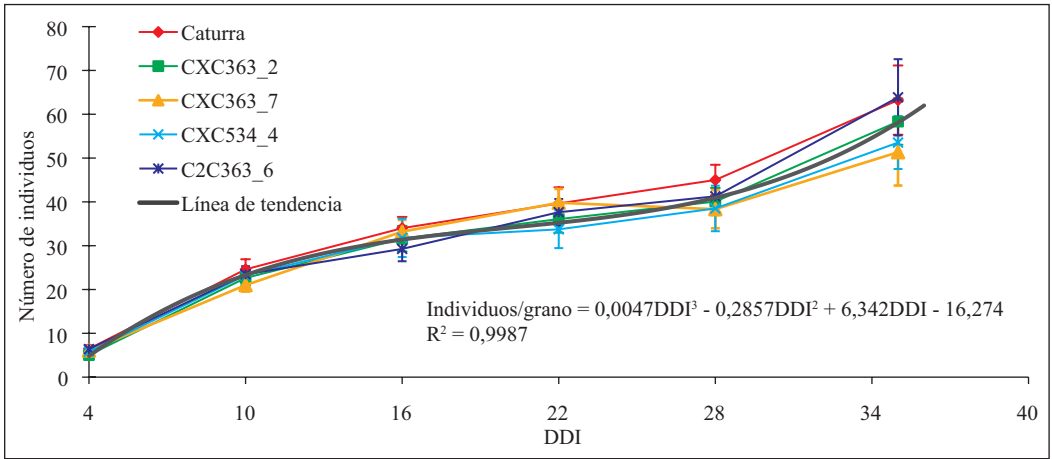


Figura 2. Número de brocas por grano en progenies F1 hasta 35 días después de la infestación. Evaluaciones de laboratorio. Las barras indican intervalos de confianza (5%).

Tabla 2. Número de brocas por grano de poblaciones F1 de cruces entre Caturra y las introducciones CCC363 y CCC534. Tres evaluaciones de laboratorio, 28 días después de la infestación.

Genotipo	Evaluación			Promedio	Porcentaje respecto a Caturra %
	1	2	3		
Caturra	46,9 (2,1) ¹	36,8 (1,7)	38,4 (3,9)	40,7 (5,5)	100
CCC 363	-	32,1 (2,8)*	29,7 (3,7)*	30,9 (1,7)	75,9
CCC 534	-	33,0 (1,9)*	37,7 (5,9)	35,4 (3,3)	86,9
CxC363_0	31,9 (7,3)*	33,7 (6,1)	27,1 (3,9)*	30,9 (3,4)	75,9
CxC363_2	40,1 (6,3)	41,9 (5,9)	29,6 (8,9)	37,2 (6,7)	91,4
CxC363_6	41,3 (5,8)	40,1 (10,3)	32,7 (6,7)	38,0 (4,7)	93,4
CxC363_6	40,6 (8,8)*	43,8 (9,2)	38,1 (5,4)	40,8 (2,8)	100,3
CxC363_7	38,3 (5,5)*	41,7 (6,3)	30,6 (5,8)	36,9 (5,7)	90,6
CxC363_8	35,7 (5,5)*	41,1 (5,0)	37,1 (6,4)	38,0 (2,8)	93,3
CatxC363	38,0 (3,6)	40,4 (3,5)	32,5 (4,3)	37,0 (4,0)	90,8
CxC534_0	43,8 (9,2)	41,9 (7,3)	43,3 (8,2)	43,0 (1,0)	105,7
CxC534_1	41,9 (7,7)*	38,3 (9,7)	40,3 (10,3)	40,2 (1,8)	98,7
CxC534_2	46,0 (9,0)	33,5 (14,0)	44,8 (6,6)	41,4 (6,9)	101,8
CxC534_3	38,7 (8,1)*	44,1 (6,3)	43,6 (6,1)	42,1 (3,0)	103,6
CxC534_4	38,5 (8,1)*	34,4 (6,1)	29,6 (7,6)*	34,2 (4,4)	84,0
CxC534_5	43,3 (6,1)*	37,3 (6,9)	37,3 (5,0)	39,3 (3,4)	96,5
CxC534_6	39,9 (10,6)*	42,5 (7,8)	31,7 (6,1)*	38,0 (5,7)	93,4
CxC534_7	39,9 (11,1)	36,3 (12,1)	27,8 (6,2)*	34,7 (6,2)	85,2
CxC534_8	39,1 (7,3)*	39,8 (7,5)	41,3 (10,9)	40,0 (1,1)	98,4
CxC534_8	40,9 (8,5)	33,1 (9,3)	34,3 (5,3)*	36,1 (4,2)	88,8
CxC534_9	37,0 (8,6)*	34,9 (4,1)	30,8 (6,1)*	34,2 (3,2)	84,1
CatxC534	40,8 (2,7)	37,8 (3,8)	36,8 (6,2)	38,5 (2,1)	94,6

¹ Promedio (Desviación estándar); * Estadísticamente inferior a Caturra (Dunnett 0,05).

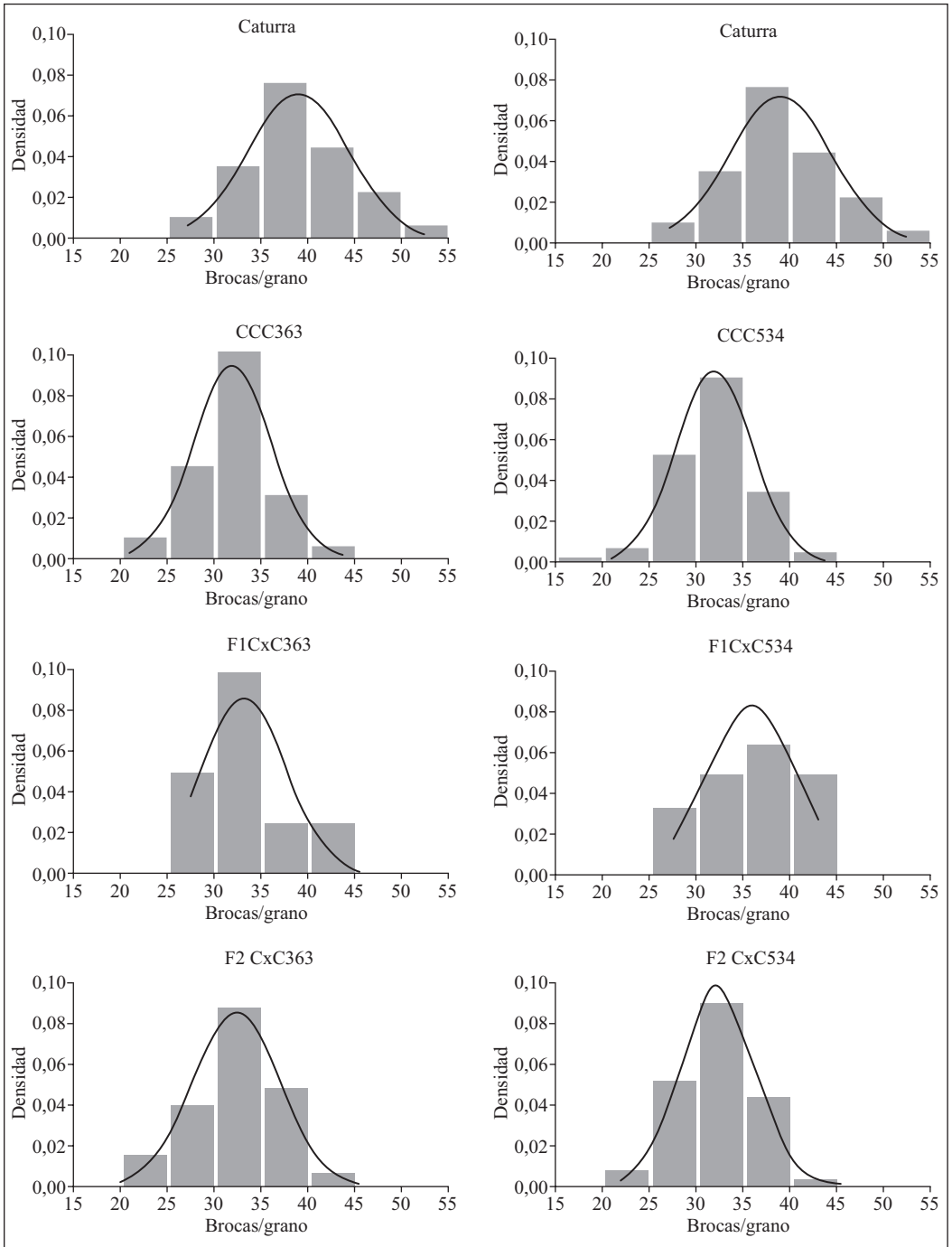


Figura 3. Histogramas de frecuencia de brocas por grano de poblaciones F1, F2 y progenitores de los cruces Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534. Evaluaciones de laboratorio, 28 días después de la infestación.

siendo este el genotipo con mayor número de estados por fruto. Aunque en promedio las progenies tuvieron un menor número de individuos, no se presentaron diferencias estadísticas en la mayoría de poblaciones y tiempos. En todas las progenies, a los 28 DDI, se encontraron huevos y larvas en igual proporción (Figura 4). Entre los 35 y 50 DDI el estado predominante fue el de larva, las pupas aparecieron desde 40 DDI, aumentando hasta los 50 DDI. Los adultos no melanizados se observaron en la última evaluación, aunque su promedio fue inferior a uno (Figura 4).

El segundo experimento se evaluó entre los 40 y 70 DDI, con el fin de identificar la tiempo en la cual el desarrollo de adultos se completa y observar el máximo número de descendientes de la hembra fundadora, antes de la oviposición de la segunda generación. Se evaluaron las cinco progenies que tuvieron diferencias estadísticas en el primer experimento de laboratorio.

A los 40 DDI se encontraron huevos, larvas y pupas, y a los 56 y 70 DDI se observaron todos los estados (Figura 4). La proporción de huevos por fruto se redujo de 19% a 12% entre los 40 y 56 DDI, posteriormente aumentó al 29%, posiblemente como consecuencia de la oviposición de las hembras de la segunda generación, que aumentaron del 16% al 37% entre los 56 y 70 DDI. Al igual que en el experimento anterior, los promedios en Caturra estuvieron entre 16% y 20%, por encima de las progenies (Tabla 4), sin embargo solo dos progenies mostraron diferencias luego de los 55 DDI (Cx363_0 y Cx363_7).

Para verificar los resultados, se repitió este experimento, evaluando a los 55 y 60 DDI (Tabla 4), la infestación de frutos de 150 días provenientes de una floración identificada. En éste, la proporción de adultos aumentó de 7% a 19% entre los 55 y 60 DDI, mientras que la proporción de huevos permaneció constante (8%), es decir, los adultos de la

Tabla 3. Número de brocas por grano en plantas de progenies F1 de cruces entre Caturra y las introducciones CCC363 y CCC534. Evaluación 28 días después de la infestación.

Planta	Progenie				
	CxC363_0 ¹⁻²	CxC363_7	CxC534_1	CxC534_8	CxC534_6
1	25,3 (7,7)c	28,3 (6,7)a	31,3 (4,5)bc	26,1 (8,2)a	29,6 (9,7)a
2	25,1 (7,2)c	27,4 (9,3)a	29,8 (3,5)bc	26,3 (4,0)a	29,5 (6,5)a
3	29,3 (8,3)abc	29,8 (7,0)a	27,7 (3,6)c	25,3 (6,6)a	23,8 (5,1)a
4	25,1 (5,6)c	23,9 (6,6)a	30,3 (5,5)bc	30,7 (7,0)a	28,8 (8,9)a
5	26,1 (7,9)bc	25,5 (7,7)a	29,3 (3,8)bc	26,1 (10,0)a	30,3 (4,8)a
6	29,5 (7,5)abc	30,7 (8,1)a	29,7 (4,7)bc	25,4 (5,1)a	
7	32,6 (5,5)a	26,6 (7,9)a	30,0 (6,0)bc	26,3 (7,1)a	
8	24,8 (6,2)c		27,9 (3,4)c	23,8 (4,6)a	
9	24,6 (5,6)c		38,2 (7,2)a	24,6 (6,4)a	
10	32,4 (5,5)ab		30,9 (7,9)bc		
Promedio	27,5 (3,2)	27,5 (2,4)	30,5 (2,9)	26,0 (1,9)	28,4 (2,6)
Caturra	28,3 (8,3)abc	31,0 (10,3)a	34,3 (5,8)ab	31,9 (6,3)a	28,9 (7,3)a
CCC363	26,1 (6,6)bc	26,3 (5,2)a			
CCC534			29,6 (5,7)bc	25,9 (6,7)a	24,1 (7,9)a

¹ Promedio (Desviación estándar); ² Progenies con promedios con distinta letra son estadísticamente diferentes.

Tabla 4. Número de brocas por fruto en progenies F1 de cruces Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534, en tres evaluaciones de campo.

Genotipo	Evaluación											
	1				2				3			
	28 DDI	35 DDI	40 DDI	50 DDI	40 DDI	55 DDI	70 DDI	55 DDI	60 DDI			
Caturra	17,1 (3,6) ¹	18,1 (0,8)	15,7 (2,4)	18,2 (4,9)	16,3 (3,2)	21,2 (4,9)	32,5 (13,3)	17,2 (3,0)	17,5 (2,8)			
CxC363_0	15,4 (2,3)	14,2 (1,3)	14,8 (4,8)	12,5 (5,5)	15,4 (6,8)	14,7 (2,6)*	13,8 (4,2)*	16,3 (2,4)	13,5 (1,9)			
CxC363_6	14,8 (4,0)	15,5 (2,6)	12,0 (2,8)	12,8 (1,0)	-	-	-	-	-			
CxC363_6	14,7 (2,4)	13,4 (0,7)	15,5 (2,0)	15,4 (5,7)	-	-	-	-	-			
CxC363_7	12,7 (0,8)	14,6 (1,3)	13,2 (1,0)	11,0 (4,7)*	13,8 (6,1)	12,8 (5,3)*	27,7 (10,5)	10,0 (1,1)	10,1 (0,5)			
CxC363_8	17,8 (3,9)	15,7 (3,1)	14,9 (0,4)	14,8 (3,6)	-	-	-	-	-			
CxC363	15,1 (1,8)	14,7 (1,0)	14,1 (1,4)	13,3 (1,8)	14,6 (1,2)	13,7 (1,3)	20,7 (9,9)	14,8 (3,4)	11,8 (2,2)			
CxC534_0	14,5 (5,2)	15,4 (4,5)	10,6 (2,4)	14,0 (2,1)	-	-	-	-	-			
CxC534_1	-	-	-	-	17,5 (4,0)	17,2 (11,5)	25,1 (19,4)	18,4 (2,5)	10,8 (1,3)			
CxC534_2	11,9 (3,0)	16,9 (4,3)	12,6 (4,1)	11,4 (1,2)*	-	-	-	-	-			
CxC534_3	14,7 (1,2)	14,9 (2,0)	11,6 (1,8)	13,6 (4,0)	-	-	-	-	-			
CxC534_4	18,1 (1,4)	16,7 (3,5)	13,9 (2,9)	-	-	-	-	-	-			
CxC534_5	15,3 (2,2)	14,9 (0,4)	12,8 (0,9)	13,5 (1,6)	-	-	-	16,3 (4,1)	14,2 (3,9)			
CxC534_6	-	-	-	-	16,1 (5,0)	17,3 (4,5)	27,7 (14,6)	10,7 (1,4)	10,8 (2,7)			
CxC534_7	15,3 (3,0)	18,4 (1,7)	14,9 (2,4)	-	-	-	-	-	-			
CxC534_8	15,2 (1,9)	16,5 (2,6)	12,5 (3,8)	12,3 (1,2)	-	-	-	-	-			
CxC534_8	15,0 (1,5)	11,6 (3,4)	12,3 (2,2)	16,2 (4,5)	16,0 (3,4)	16,5 (5,3)	26,6 (19,5)	16,9 (1,4)	15,0 (3,7)			
CxC534	15,0 (1,7)	15,7 (2,0)	12,6 (1,3)	13,5 (1,6)	16,5 (0,8)	17,0 (0,5)	26,5 (1,3)	15,6 (4,4)	12,7 (2,4)			

DDI: Días después de la infestación; IPromedio (Desviación estándar); * Estadísticamente inferior a Caturra (Dunnnet 0,05).

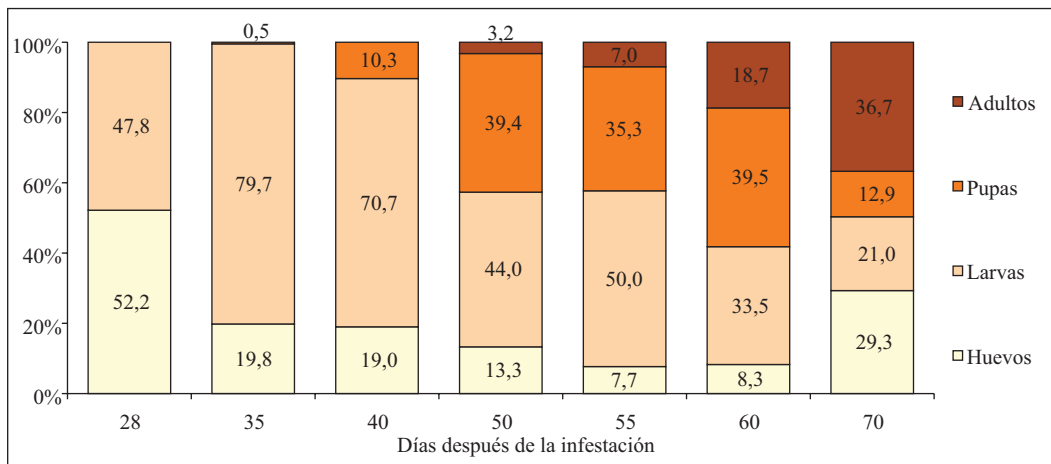


Figura 4. Proporción promedio de estados por frutos de todas las progenies F1 y los progenitores de los cruces Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534 en el campo.

segunda generación no habían empezado a ovipositar (Figura 4). El promedio de individuos en Caturra, en el tiempo fue de 17 individuos por grano, y se encontraron diferencias estadísticas a los 55 y 62 DDI en las progenies: CXC363_7 y CXC534_6, y solo a los 62 DDI en CXC534_0.

Tanto los experimentos de campo como los de laboratorio muestran que las progenies estudiadas presentan la tendencia de un comportamiento intermedio al de sus progenitores, pero la reducción en el número de estados por grano no alcanzó a ser significativa. Estas evaluaciones también permitieron identificar en ambos ambientes los tiempos de evaluación más adecuados.

Poblaciones F2

Evaluación en condiciones controladas.

Se evaluaron 581 plantas de las cinco poblaciones más grandes, como se indica en la Tabla 5. El promedio de brocas por grano más alto se encontró en Caturra (Tabla 5, Figura 5); mientras que en las introducciones etíopes comparadas con la variedad Caturra,

se obtuvo una reducción en el número de individuos cercano al 20%. Esta diferencia es consistente con los resultados previos de Romero y Cortiina (22), y similares a los hallados en las evaluaciones de la F1.

Las dos poblaciones, vistas como unidad de cruzamiento, mostraron una distribución normal (Figura 3), con promedios similares a las de los progenitores etíopes. Esta distribución es típica de caracteres de variación continua, como se presume corresponde al rasgo estudiado. Respecto a Caturra (Figura 5 a y d), la población F2 CxC363 está entre 60% y 120% y entre 45%-110% para la F2 CxC534, es decir, que una parte de las poblaciones poseen promedios cercanos a Caturra y hasta superiores, pero la mayoría presentaron promedios inferiores. El 53% de las plantas analizadas en el cruce CxC363 y el 62% en CxC534, fueron inferiores significativamente a Caturra en el número de individuos desarrollados.

De éstas, 76 de las 248 plantas evaluadas en el cruce CxC363, mostraron porcentajes respecto a Caturra inferiores a 80% (Tabla 5),

y 164 de las 333 plantas del cruce CxC534; es decir, que una alta proporción de individuos de estas poblaciones tiene diferencias iguales o superiores a las de sus respectivos progenitores etíopes. Por otro lado, ninguna de las plantas evaluadas presentó promedios significativamente superiores a los de Caturra.

Al analizar cada subpoblación independientemente (Figuras 5 b, c, e, f, y g), se observa que las poblaciones CxC363_7 y CxC363_0, mostraron una distribución similar, con rangos entre 60% y 120% y una media de 84% y 80%, respectivamente. Coinciden también en que pocos individuos están por encima del 90%, la mayoría de la población posee valores cercanos al del CCC363 (81,4%).

Las poblaciones CxC534_4 y CxC534_5 mostraron la misma tendencia que las del cruce anterior, coincidiendo también en los promedios, sin embargo su rango fue entre 50% a 110%. Por otro lado, su población hermana CxC534_1, mostró una distribución más simétrica, y una media igual a la de su padre resistente (Tabla 5), con un rango de 40% -110%. En esta subpoblación se encontró el mayor número de individuos

por debajo de 80% respecto a Caturra (67 de 90 analizados), y sólo un individuo con valores superiores al 100%.

En cuanto al número de individuos de cada estado de broca, se encontró que la distribución para todos los genotipos es muy similar (Figura 6), así: mayor proporción de larvas, seguida de pupas y menor número de adultos y huevos, que concuerdan con las proporciones encontradas en la F1, en el mismo tiempo de evaluación. En Caturra se encontró el mayor número de individuos de cada estado.

Por otro lado, del total de las plantas de ambos cruzamientos (581), 225 presentaron diferencias estadísticas con Caturra en el número de adultos (Dunnett $P < 0,05$), 231 plantas en el número de pupas, 141 en el número de larvas y 44 en el número de huevos; siendo el número de estados inferior. La mayor diferencia se presentó en adultos y pupas, lo cual refleja una menor oviposición en los primeros 10 días después de la infestación.

Evaluación de campo. Con el muestreo de materia seca de los frutos de las plantas

Tabla 5. Promedios de brocas por grano en cinco progenies F2 de cruces Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534. Evaluación en laboratorio 28 días después de la infestación.

Población	Nº plantas evaluadas	Brocas/grano ¹	Porcentaje respecto a Caturra ²	Nº Plantas resistentes ³
Caturra	107	39,2 (5,4)	100	
CCC363	51	31,9 (4,3)	81,4	
CCC534	66	31,7 (4,2)	80,9	
CxC363_7	141	33,1 (4,3)	84,4	49
CxC363_0	107	31,3 (4,8)	79,8	27
CxC534_4	143	31,5 (4,4)	80,4	59
CxC534_1	90	31,8 (3,8)	81,1	67
CxC534_5	100	33,1 (3,7)	84,4	38

¹ Promedio (Desviación estándar); ² Porcentaje promedio; ³ Plantas con diferencias significativas con el testigo (Dunnett $P < 0,05$), y porcentajes respecto a Caturra menor o igual a 80%.

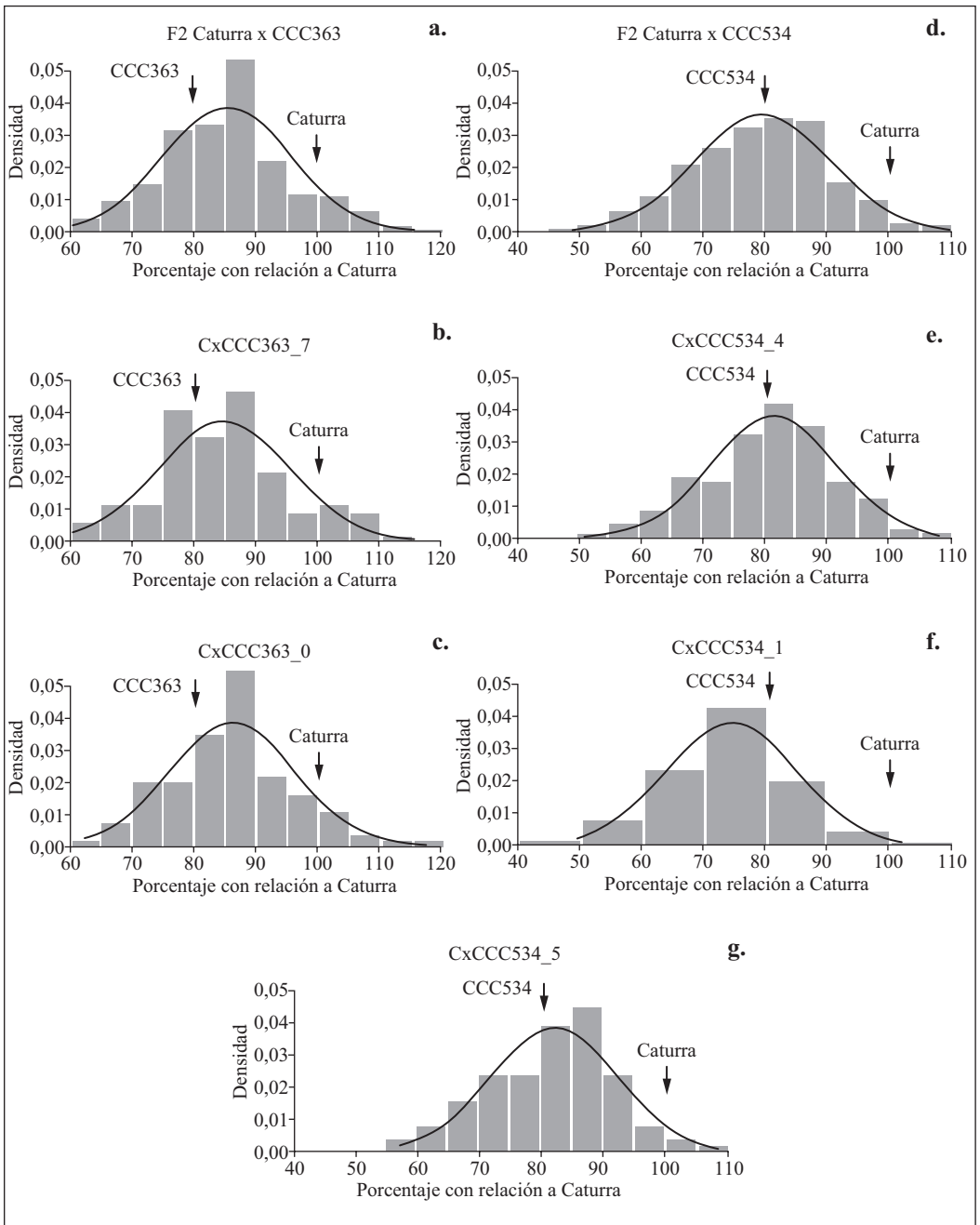


Figura 5. Histograma de frecuencia de la proporción de brocas respecto a Caturra, de las poblaciones F2 de los cruzamientos Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534. Evaluaciones de laboratorio 28 días después de la infestación. Las flechas indican la ubicación la proporción de los padres. **a.** y **d.** Histogramas con la información de todas las progenies evaluadas. **b., c., e., f.** y **g.** Histogramas de subpoblaciones según el cruzamiento.

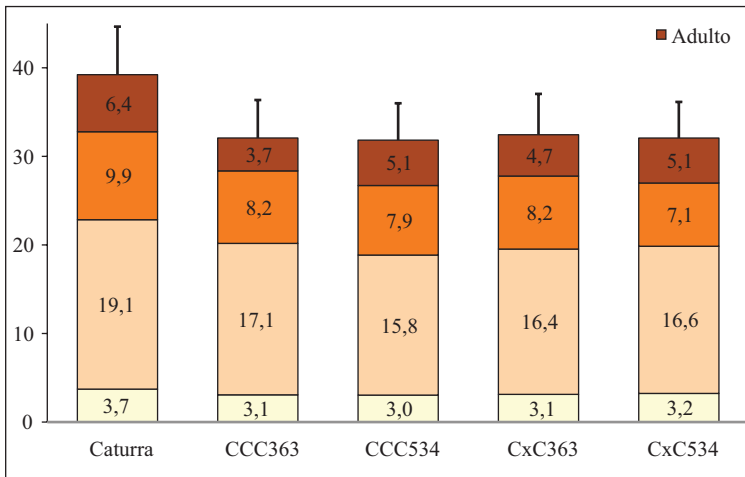


Figura 6. Número promedio de individuos por grano de progenies F2 y progenitores de los cruces Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534. Evaluaciones de laboratorio a los 28 días después de la infestación. Las barras corresponden a la desviación estándar del total.

a evaluar, se identificaron dos posibles floraciones, por lo cual se realizaron dos grupos de evaluaciones, con diferencia de 3 semanas. Las progenies de CCC534 tenían en promedio 3% más materia seca que las de CCC363, es decir, estaban más desarrolladas, por tal razón un experimento posee más descendientes de una introducción que la otra. La infestación en los frutos se realizó cuando el estado de desarrollo fisiológico de cada grupo alcanzó cerca de 27% de MS.

Utilizando este método, en la evaluación (60 DDI), el 5% de los frutos infestados se encontraron en estado verde, el 25% maduro y el 70% sobremaduro (33,4% MS). En estos últimos el desarrollo de la broca fue mejor, se completó el ciclo y se encontraron en promedio 12 brocas en el primer experimento y 15 en el segundo, por lo cual para el análisis se tuvo en cuenta únicamente la información de estos frutos, para procurar la homogeneidad de la muestra.

Como en las evaluaciones en el laboratorio, la proporción de estados fue similar en todas las poblaciones (Figura 7), lo que indica que las introducciones etíopes y su descendencia no afectan el desarrollo de la broca. Tampoco

hubo un estado predominante, encontrándose similar proporción de larvas, pupas y adultos.

En Caturra se encontraron entre 16-17 brocas en el primer experimento y entre 19-23 brocas en el segundo, y en ambos casos los mayores promedios con relación a etíopes y progenies (Tablas 6 y 7). Sin embargo, únicamente una planta (1233), y los etíopes fueron estadísticamente inferiores a Caturra en el primer experimento, y tres en el segundo (696, 1134, 1667). Las plantas 1134, 1233 y 1667 presentaron menos del 65% de individuos que Caturra, comportamiento similar al que se registró en el laboratorio. Por otro lado, en la planta 696 se encontró cerca de la mitad de individuos que en Caturra, a pesar que en el laboratorio no presentó diferencias con el padre susceptible.

Las demás plantas, aunque no tuvieron diferencias significativas, redujeron en promedio 20% la presencia de broca, respecto a Caturra. La evaluación en la etapa adecuada del ciclo de desarrollo de la broca y la homogeneización de la muestra a partir de la medida de la materia seca contribuyen a la determinación de diferencias.

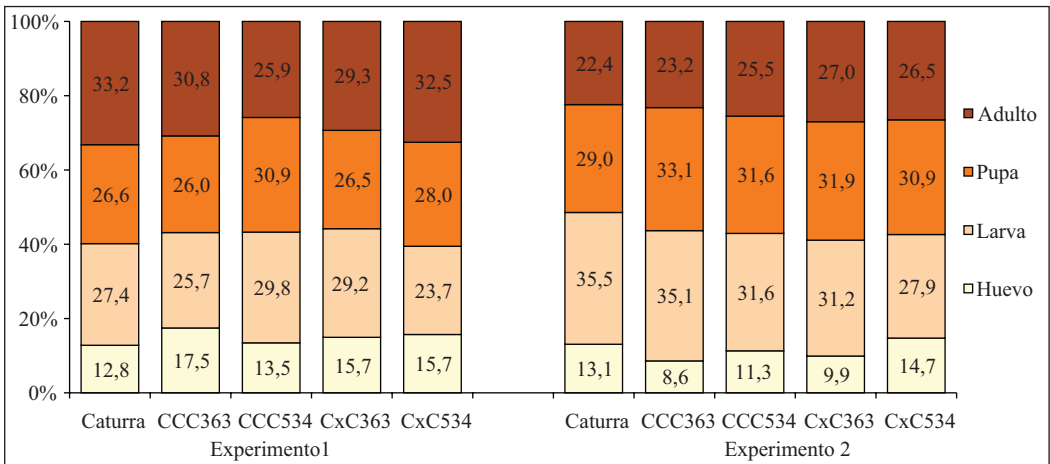


Figura 7. Proporción promedio de estados por frutos de progenies F2 y progenitores de los cruces Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534 evaluados en el campo. Resultados de dos experimentos.

No obstante, en el campo los resultados tienen rangos de respuesta muy amplios, como el de la planta 387 en la que se encontraron desde 2 hasta 39 individuos por fruto. A pesar de esto, en Caturra se observó una clara tendencia en el número de individuos desarrollados a los 60 DDI (17 ± 2), en las dos generaciones. Varianzas tan altas necesita muestras más grandes para detectar diferencias.

En el laboratorio, la respuesta en Caturra también fue consistente, con promedios cercanos a 40 brocas, tanto en la primera como en la segunda generaciones, y similar a las evaluaciones previas (20, 22). De igual forma, las introducciones etíopes redujeron el número de individuos en cerca del 20% respecto a Caturra, en ambas generaciones y con diferencias en el campo y el laboratorio.

Por su parte, las poblaciones descendientes heredaron el carácter de interés (Figuras 3 y 6), tanto CxC363 como CxC534, aunque esta última tiende a tener mayores diferencias con respecto a Caturra, principalmente la

subpoblación CxC534_1 (Figura 6). Los resultados también confirman que no hay efecto sobre el desarrollo de la broca, sólo disminución en el número individuos y probablemente reducción en la oviposición en los primeros 10 días.

Actualmente en el mundo no hay una variedad comercial de café resistente a la broca, y las principales observaciones señalan posibles fuentes de resistencia en especies diploides (*C. liberica*, *C. eugenioides* y *C. kapakata*), relacionadas con mecanismos de no preferencia (12, 26, 28, 29). El mejoramiento de *C. arabica* es prolongado, especialmente si es necesaria la hibridación interespecífica, por lo cual es deseable introducir características de defensa a partir de genotipos de la misma especie, aunque los niveles sean relativamente bajos.

El éxito de variedades que reducen las poblaciones de plagas, aunque sea en bajas proporciones, está en la combinación con otras medidas. Éstas disminuyen el número de individuos por generación y por lo tanto

Tabla 6. Número de brocas por fruto en progenies F2 de cruces Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534. Experimento de Campo 1, evaluado 60 días después de la infestación.

Población	Nº de identificación planta evaluada	Brocas/grano ¹	Porcentaje respecto a Caturra
Caturra	32	15,6 (8,3)	100
CCC363	1.694	10,4 (6,6)*	66,8
CCC363	1.720	7,8 (4,1)*	50,0
CCC363	1.735	10,0 (6,3)*	64,0
	Prom. CCC363	9,4 (1,4)	60,3
CCC534	1.754	11,3 (6,9)	72,7
CCC534	1.766	9,3 (2,9)*	59,9
CCC534	1.775	8,7 (3,6)*	55,7
	Prom. CCC534	9,8 (1,4)	62,8
CxC363_7	990	11,8 (6,3)	76,0
CxC363_7	1.101	14,0 (8,4)	89,8
CxC363_0	1.214	14,9 (6,6)	96,0
CxC363_0	1.233	10,2 (5,5)*	65,3
CxC363_0	1.234	10,6 (5,1)	68,2
CxC363_0	1.313	12,9 (5,7)	82,7
CxC363_0	1.354	14,3 (6,7)	92,1
CxC534_1	625	14,5 (6,8)	93,0

¹Promedio (Desviación estándar); * Estadísticamente inferior a Caturra (Dunnett 0,05).

Tabla 7. Número de brocas por fruto en progenies F2 de cruces Caturra x CCC363 y Caturra x CCC534. Experimento de Campo 2, evaluado 60 días después de la infestación.

Población	Nº de identificación planta evaluada	Brocas/grano ¹	Porcentaje respecto a Caturra
Caturra	18	19,1 (10,1)	100
CCC363	1.712	14,6 (7,2)	76,5
CCC534	1.766	15,1 (8,6)	79,0
CCC534	1.775	13,4 (7,8)	70,4
	Prom. CCC534	14,3 (1,2)	74,7
CxC363_7	1.091	13,8 (5,7)	72,1
CxC363_7	1.134	12,4 (8,2)*	64,9
CxC363_0	1.216	15,4 (9,3)	80,9
CxC534_4	387	16,1 (8,6)	84,1
CxC534_4	406	15,5 (9,5)	81,0
CxC534_1	696	10,4 (4,9)*	54,3
CxC534_5	1.606	13,8 (7,3)	72,3
CxC534_5	1.618	20,5 (11,0)	107,6
CxC534_5	1.667	11,4 (5,6)*	59,9

¹Promedio (Desviación estándar); * Estadísticamente inferior a Caturra (Dunnett 0,05).

el crecimiento poblacional y en combinación con los demás controles, mantiene las plagas por debajo de los niveles de daño económico (1).

Sin embargo, es mejor utilizar fuentes de resistencia con niveles superiores a los descritos. Con esta intención, en Cenicafé se evaluó otra parte del germoplasma etíope, encontrando algunas introducciones que reducen la oviposición en más del 30%, con las cuales ya se han realizado cruzamientos. Por lo tanto, es conveniente continuar con esta búsqueda en el germoplasma de *Coffea arabica*.

La mayor dificultad para la evaluación de germoplasma y poblaciones en mejoramiento, es el método por disección de granos, que aunque sencillo, en la práctica precisa de considerable tiempo y jornales. Los resultados, indican que la reducción de la oviposición es una característica heredable, haciendo que herramientas moleculares como la selección asistida por marcadores, sean una opción viable, disminuyendo el tiempo y los costos de la selección.

Cenicafé cuenta con un mapa genético, con marcadores distribuidos en 21 grupos de ligamiento, que junto con las poblaciones evaluadas, permitirán localizar regiones del genoma responsables de la baja oviposición, que permitirán hacer selección asistida. Pero antes es conveniente reevaluar y confirmar los resultados, especialmente de los individuos contrastantes. Esta herramienta ya se ha utilizado con éxito en otros cultivos como el fríjol (5, 6, 13) y la papa (24), buscando asociaciones por resistencia a coleópteros.

Adicionalmente, la información generada en el presente trabajo, permitirá la selección de genotipos para avanzar en la siguiente

generación, y continuar el mejoramiento de las poblaciones estudiadas. Paralelamente es recomendable realizar trabajos que expliquen las causas de la resistencia, como los trabajos de proteómica que se están adelantando.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la Federación Nacional de Cafeteros y el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia (Convenio de cooperación técnica y científica No. 067 "Iniciativa para el estudio del genoma del café, de la broca y de su agente controlador *Beauveria bassiana*" contrato 074 de 2007). Agradecimientos a Sandra L. Largo V. y demás colaboradores por su apoyo en el desarrollo de las evaluaciones.

LITERATURA CITADA

1. ADKINSSON, P.L.; DYCK, V.A. Variedades resistentes en los sistemas de manejo de plagas. p. 253-271. En: MAXWELL, F.G.; JENNINGS, P.R. Manejo de plantas resistentes a insectos. 1a. ed. México: Limusa, 1984.
2. ÁLVAREZ S., J.H.; CORTINA G., H.A.; VILLEGAS M., J.F. Métodos para evaluar antibiosis a *Hypothenemus hampei* (Ferrari), en café, bajo condiciones controladas. Cenicafé 52(3):205-214. 2001.
3. ARCILA P, J.; JARAMILLO R., A.; BALDION R., J.V.; BUSTILLO P., A.E. La floración del café y su relación con el control de la broca. Chinchiná : Cenicafé, 1993. 6 p. (Avances Técnicos No. 193).
4. BERGAMIN, J. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867) (Col. Ipidae). Arquivos do instituto biológico. 14:31-72. 1943.
5. BLAIR, M.W.; MUÑOZ, C.; GARZA, R.; CARDONA, C. Molecular mapping of genes for resistance to the bean pod weevil (*Apion godmani* Wagner) in common bean. Theoretical and applied genetics 114:913-23. 2006.

6. BLAIR, M.W.; MUÑOZ, C.; BUENDÍA, H.F.; FLOWER, J.; BUENO, J.M.; CARDONA, C. Genetic mapping of microsatellite markers around the arcelin bruchid resistance locus in common bean. *Theoretical and applied genetics* 121:393-402. 2010.
7. BUSTAMANTE G., L.J. Evaluación de resistencia a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) por antibiosis sobre *Coffea arabica* L. en condiciones controladas. Manizales : Universidad de Caldas. Facultad de ciencias agropecuarias, 2006. Tesis: Ingeniero agrónomo.
8. BUSTILLO P., A.E.; CÁRDENAS M., R.; VILLALBA G., D.A.; BENAVIDES M., P.; OROZCO H., J.; POSADA F., F.J. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Chinchiná : Cenicafé, 1998. 134 p.
9. BUSTILLO P., A.E. El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia. Chinchiná : Cenicafé, 2002. 40 p. (Boletín Técnico No. 24).
10. CORTINA G., H.A. Búsqueda de fuentes de resistencia genética a la broca *Hypothenemus hampei*, en germoplasmas de café: Informe técnico final a Colciencias. Chinchiná : Cenicafé, 2000. 90 p.
11. CORTINA G., H.A.; MONCADA B., M. DEL P.; ROMERO, J.V.; VARGAS A., B.I.; BUSTAMANTE G., L.J. Búsqueda de fuentes de resistencia genética a la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). p. 134. En: CONGRESO de la Sociedad colombiana de entomología. (33 : Julio 26-28 2006 : Manizales). Manizales : SOCOLEN, 2006.
12. DUARTE N., M.T. Determinación de la atractividad de frutos de varios cultivares de café a la broca del fruto del caféto *Hypothenemus hampei* F., utilizando el método de olfatometría a nivel de laboratorio. San Carlos de Guatemala : Universidad de San Carlos. Facultad de agronomía, 1992. 55 p. Tesis: Ingeniero agrónomo.
13. LIN, C.; CHEN, C.S.; HORNG, S.B. Characterization of resistance to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in mungbean variety VC6089A and its resistance-associated protein VrD1.J. *Economic Entomology* 98:1369-1373. 2005.
14. MEYER, F.G. FAO. Coffee mission to Ethiopia 1964 - 1965. Roma : FAO, 1968.
15. MONCADA B., M. del P. Búsqueda de fuentes de resistencia genética a la broca *Hypothenemus hampei*, en germoplasma de café. Chinchiná : Cenicafé, 1992.
16. MONCADA B., M. DEL P.; RIVERA M., A. Métodos de infestación en frutos de café con *Hypothenemus hampei* utilizando mangas entomológicas. p. 60. En: CONGRESO de la Sociedad colombiana de entomología. (22 : Julio 26-28 1995 : Santafé de Bogotá). Bogotá : SOCOLEN, 1995.
17. MONTROYA O., S.A.; CÁRDENAS M., R. Biología de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en frutos de café de diferentes edades. *Cenicafé* 45(1):5-13. 1994.
18. MORENO R., L.G.; ALVARADO A., G. La variedad Colombia; veinte años de adopción y comportamiento frente a nuevas razas de la roya del caféto. Chinchiná : Cenicafé, 2000. 32 p. (Boletín Técnico No. 22).
19. OROZCO C., F.J. Descripción de especies y variedades de café. Chinchiná : Cenicafé, 1986. 29 p. (Boletín Técnico No. 11).
20. ROMERO, J.V.; CORTINA G., H.A. Fecundidad y ciclo de vida de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en introducciones silvestres de café. *Cenicafé* 55(3):221-231. 2004.
21. ROMERO, J.V.; CORTINA G., H.A. Evaluación de germoplasma de café por antixenosis a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en condiciones controladas. *Cenicafé* 55(4):341-346. 2004.
22. ROMERO, J.V.; CORTINA G., H.A. Tablas de vida de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) sobre tres introducciones de café. *Revista colombiana de entomología* 33(1):10-16. 2007.
23. RUIZ C., R. Efecto de la fenología del fruto de café sobre los parámetros de la tabla de vida de la Broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Manizales : Universidad de Caldas. Facultad de ciencias agropecuarias, 1996. 87 p. Tesis: Ingeniero agrónomo.
24. SAGREDO, B.; BALBYSHEV, N.; LAFTA, A.; CASPER, H.; LORENZEN, J. A QTL that confers resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]) in tetraploid potato populations segregating for leptine. *Theoretical and applied genetics* 119:1171-81. 2009.
25. SALAZAR G., M.R.; ARCILAP, J.; RIAÑO H., N.M.; BUSTILLO P., A.E. Crecimiento y desarrollo del fruto del café y su relación con la broca. Chinchiná : Cenicafé, 1993. 4 p. (Avances Técnicos No. 194)

26. SERA, G.H.; SERA, T.; ITO, D.S.; RIBEIRO, C.; VILLACORTA, V.; SEIDI K., F.; RIBEIRO, C.; DEL GROSSI, L. Coffee berry borer resistance in coffee genotypes. *Brazilian archives of biology and technology* 53(2):261-268. 2010.
27. VARGAS A., B.I. Evaluación de germoplasma de café etíope (*Coffea arabica* L.) por resistencia a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en campo y en condiciones controladas. Bogotá : Universidad Nacional de Colombia, 2006. 97 p. Tesis de Maestría en Entomología
28. VILLAGRAN G., W. Atractividad relativa y susceptibilidad de varias especies y cultivares de café *Coffea* spp. a la broca del fruto *Hypothenemus hampei* Ferr. en condiciones de laboratorio. Guatemala : Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de agronomía, 1991. 43 p. Tesis: Ingeniero agrónomo.
29. VUILLET, J. Degré de sensibilité des différents caféiers au *Stephanoderes coffeae*. *Revue de botanique appliquée et d'agriculture tropicale* 5(48):601-604. 1925.