



universidad
de león

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

Programa de Doctorado en Ingeniería de Biosistemas

Tesis de Doctorado

**BIOECOLOGIA DA BROCA-DO-CAFÉ, *HYPOTHENEMUS HAMPEI*
(FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE, SCOLYTINAE), NA ILHA
DE SÃO TOMÉ**

**BIOECOLOGÍA DE LA BROCA DEL CAFÉ *HYPOTHENEMUS HAMPEI*
(FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE, SCOLYTINAE) EN LA
ISLA DE SANTO TOMÉ**

Directores:

**Prof. Doutor Albino António Bento
Prof. Doutor Raul Narciso Carvalho Guedes
Prof. Doutor Pedro Antonio Casquero Luelmo**

Autor:

**Miclay dos Reis Pereira Carvalho
León, novembro de 2021**

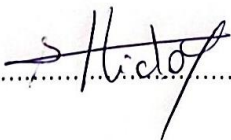


D. **Miclay dos Reis Perelra Carvalho** declara que la memoria de la tesis presentada bajo el título "**BIOECOLOGÍA DE LA BROCA DEL CAFÉ *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE) EN LA ISLA DE SANTO TOME**" es, conforme al artículo 13.1 del R.D. 99/2011, de 28 de enero, un trabajo original de investigación, sin contribución significativa de otra persona que no aparezca reflejada en la misma, y citando adecuadamente la procedencia del contenido no original, conforme a la normativa vigente.

Asimismo, declaro que este trabajo no ha sido presentado y no lo será en el futuro como tesis doctoral, en ninguna universidad o institución de investigación, en España o en el extranjero.

Entiendo la política de tolerancia cero frente al plagio de la Universidad de León, la cual se reserva el derecho a retirar mi título de doctor y adoptar cuantas medidas procedan legalmente, en caso de incumplimiento de este compromiso.

29 de octubre de 2021

Fdo.: 

“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro”.

Albert Einstein

Agradecimentos

A concretização da tese constitui mais um passo na caminhada profissional de todos que o desejam, dependendo direta ou indiretamente do apoio de várias entidades, quer públicas quer individuais.

Durante a execução do presente trabalho recebi valiosos apoios das seguintes entidades, às quais gostaria de exprimir, cordialmente, os meus sinceros agradecimentos:

Ao Centro de Investigação Agronómica e Tecnológica de São Tomé e Príncipe (CIAT/STP) e a Cooperativa de Exportação de Café Biológico (CECAFEB) pelo todo apoio logístico.

Ao Professor Albino António Bento, orientador durante a execução do trabalho, por todo apoio técnico-científico e o interesse demonstrado para a conclusão do mesmo.

Ao Professor Raul Narciso Carvalho Guedes, orientador deste trabalho, pela sua constante dedicação, apoio técnico-científico e disponibilidade durante a execução de trabalho.

Ao Professor Pedro Antonio Casquero Luelmo, orientador deste trabalho, pela sua constante dedicação, apoio especial e disponibilidade prestada ao longo destes anos de trabalho.

Meu agradecimento é também extensivo a todos amigos e colegas, do CIAT/STP, especialmente ao Eng.º Luís Manuel Afonso Pires dos Santos, ao Eng.º Alex Bandeira Lopes e João Manuel Santo. A professora Filomena Nóbrega do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., pela ajuda dada no âmbito da biologia molecular. Também é extensivo a todos amigos e colegas, da CECAFEB, especialmente ao Faustino Lopes, Luís Mário, Leliangel Gomes e senhor Ezequiel.

A todos que direta ou indiretamente deram o seu contributo para que esta caminhada fosse feita de forma vitoriosa. Deixo os meus muito profundos agradecimentos.

Bioecologia da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), na ilha de São Tomé

Resumo

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, é uma séria limitação na produção de café biológico na ilha de São Tomé, no Golfo da Guiné, devido a informação limitada sobre a fenologia sazonal desta espécie nas ilhas limita a implementação do controlo biológico. No presente estudo, sete plantações de café foram monitorizadas durante dois anos para descrever padrões de infestação, percentagens de penetração em broca-do-café em frutos em desenvolvimento e mortalidade da broca pelo fungo entomopatogénico em duas espécies de *coffea* (*C. arabica* L. e *C. canephora* Pierre ex A. Froehner), de acordo com uma amostragem de 30 árvores segundo o "método CENICAFÉ". Os resultados revelaram que a posição da broca, infestação, e frutos com evidência de fungo entomopatogénico foram significativamente afetadas pela variedade de café. A média da infestação nos sete locais foi $(11,5 \pm 3,5\%)$; média \pm erro padrão (SE)), com dois locais mostrando uma infestação média $<5\%$. A análise molecular indicou quatro estirpes de *Beauveria bassiana* (B-Bug; VKBb03 18S; bbR1f e LPSC 1226) presentes na Ilha de São Tomé. As percentagens mais elevadas de infestação e *Beauveria bassiana* por ramo foram observadas em *C. arabica* L. (Red Caturra, Bourbon e Red Catuaí), em comparação com *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta), nos meses de menor pluviosidade. Foram encontradas fases imaturas da broca (ovos, larvas e pupas) e adultos durante todo o período de amostragem. Não foi observado nenhum predador e parasitoides da broca durante o estudo. De acordo com os índices populacionais registrados em todas as fases de seu ciclo biológico, nas áreas estudadas, conclui-se que a broca-do-café encontra ambiente favorável para sua multiplicação em São Tomé, requerendo, portanto, medidas para o seu controlo.

Palavra chaves: Biocontrolo; *Beauveria Bassiana*; *Coffea arabica*; *Coffea canephora*; índice de infestação;

Bioecology of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in Sao Tome island

Abstract

The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, is serious limitation in organic coffee production in Sao Tome Island in the Gulf of Guinea, limited information regarding this species seasonal phenology on the islands limits the implementation of biological control. In the present study, seven coffee plantations were monitored over two years to describe infestation patterns, penetration rates into coffee berries, and mortality by the entomopathogenic fungus in two *coffea* species (*C. arabica* L. and *C. canephora* Pierre ex A. Froehner), according to 30-tree sampling of fruits following the "CENICAFÉ method". The results revealed that the borer position within the berries, infestation, and green berries with entomopathogenic fungus were significantly affected by coffee variety. The infestation mean across all seven sites was $(11.5 \pm 3.5\%$; mean \pm standard error (SE)), with two sites showing mean infestation $<5\%$. Molecular analyse indicated four *Beauveria bassiana* strains (B-Bug; VKBb03 18S; bbR1f and LPSC 1226) present in São Tomé Island. The highest infestation and *Beauveria bassiana* rates per branch were observed in *C. arabica* L. (Red Caturra, Bourbon and Red Catuaí), compared with *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta) in the months of lower rainfall. Borer immature stages (eggs, larvae and pupae) and adults were found throughout the sampling period. No CBB predator and parasitoids were observed in the survey. The population level and developmental rate indicated that the coffee borer met favourable environmental conditions in the studied areas and control measures are required for reducing damage.

Keywords: Biocontrol; *Beauveria bassiana*; *Coffea arabica*; *Coffea canephora*; infestation level;

Captura em massa da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) na ilha de São Tomé

Resumo

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), é uma séria limitação na plantação de café orgânico na ilha de São Tomé. Até à data, a informação limitada sobre a fenologia sazonal desta espécie de praga nas ilhas limita a implementação de programas de gestão integrada de pragas. Como parte de um programa de formação de cafeicultores, avaliou-se três atraentes em armadilhas vermelhas vs. transparentes para avaliar o olfato e estímulos visuais da broca-do-café. A experiência foi delineada em (“split block”) com três tipos de atraentes: etanol comercial (E) + 40 g de café Robusta maduro (A1), proporção 3:1 de metanol e etanol (A2), e etanol comercial + 10 g de café Arábica torrado moído (A3); e duas armadilhas caseiras transparentes (D1) e vermelhas (D2). Os resultados mostraram que não houve uma interação significativa entre a armadilha e o atraente, mas houve uma interação significativa entre a armadilha e a localidade (altitude/microclima/variedade) na captura da broca-do-café. O tratamento D1A2 mostrou o melhor resultado com uma média de $47,4 \pm 19,2$ adultos capturados por armadilha por semana. A armadilha transparente iscada capturou maior quantidade de broca-do-café em Novo Destino e Bem-Posta, enquanto armadilha vermelha iscada capturou mais broca-do-café em Poiso Alto. Uma maior captura de CBB foi registada no final de maio até outubro. Em suma, as armadilhas caseiras por si só não são eficazes para controlar a broca do café, mas são úteis na monitorização desta espécie.

Palavra chaves: Café; atraentes; gestão integrada de pragas (IPM); nível de infestação;

Mass trapping of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) in Sao Tome Island

Abstract

Coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), is a serious insect pest of organic coffee plantation in São Tomé Island. To date, limited information regarding the seasonal phenology of this pest species on the islands limits the implementation of integrated pest management programmes. As part of a coffee farmer training programme, three attractants were evaluated in red vs. transparent traps to assess olfactory and visual stimuli. The experiment was delineated in a split-block design with three types of attractants: commercial ethanol + 40 g of ripe Robusta coffee (A1), proportion 3:1 methanol and ethanol (A2), and commercial ethanol + 10 g of ground roasted Arabica coffee (A3); and two home-made transparent (D1) and red (D2) traps. The results showed that there was no significant interaction between the trap and the attractant, but there was a significant interaction between trap and locality (elevation/microclimate/variety) for CBB capture. D1A2 treatment exhibited the best result with an average of 47.4 ± 19.2 adults/trap/week. Transparent trap baited captured more borer at Novo Destino and Bem-Posta, while red trap baited provided the best result in Poiso Alto. A greater capture of CBB was recorded late May through October. In short, home-made traps alone are not effective for controlling the coffee berry borer, but they are useful in monitoring this species.

Keywords: coffee, attractants, integrated pest management (IPM), infestation level;

Índice General

RESUMEN (RESUMEN DE LA TESIS EN ESPAÑOL)

El objeto de la Investigación.....	- 1 -
Metodología de la Investigación.....	- 2 -
Resultados y Conclusiones	- 14 -
Índice Geral.....	i
Índice de figuras.....	vii
Índice de tabelas.....	ix
Índice de apêndices	x
1. Capítulo I	1
1.1. Introducción	1
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos específicos	3
1.3. Principales hipótesis de trabajo	3
1.4. Revisão bibliográfica	4
1.4.1. Importância económica da <i>Hypothenemus hampei</i>	4
1.4.2. Taxonomía	4
1.4.3. Origen y distribución	5
1.4.4. Aspectos morfológicos y biológicos.....	5
1.4.5. Factores que influyen en la infestación de <i>Hypothenemus hampei</i>	10
1.4.6. Enemigos naturales	11
1.4.7. Métodos de gestión integrada contra el <i>Hypothenemus hampei</i>	14
1.5. Referências bibliográficas	19
2. Capítulo II.....	34
Bioecología de la broca del café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), en la isla de Santo Tome.....	34

Resumen.....	34
2.1. Introducción	36
2.2. Metodología de la Investigación	37
2.2.1. Clima.....	37
2.2.2. Caracterización del sitio.....	38
2.2.3. Determinaciones analíticas	39
2.2.4. Análisis estadístico	43
2.3. Resultados	45
2.3.1. Infestación del campo de <i>Hypothenemus hampei</i>	45
2.3.2. Penetración de <i>Hypothenemus hampei</i> durante el desarrollo del fruto	47
2.3.3. Estadios inmaduros y adultos de <i>Hypothenemus hampei</i> durante el desarrollo del fruto del café.....	48
2.3.5. Identificación molecular de <i>Beauveria bassiana</i>	52
2.4. Discusión.....	54
2.5. Conclusiones	57
2.6. Referencias bibliográficas	58
3. Capítulo III.....	64
Captura masiva de la broca del café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) en la isla de Santo Tomé	64
Resumen.....	64
3.1. Introducción	66
3.2. Metodología de la Investigación	67
3.2.1. Trampas	67
3.2.2. Atrayentes	68
3.2.3. Delineamiento experimental	68
3.2.4. Determinaciones analíticas	69
3.2.5. Análisis estadístico	69
3.3. Resultados	70

3.3.1. Atrayentes en las trampas caseras para lo monitoreo de <i>Hypothenemus hampei</i>	70
3.4. Discusión.....	73
3.5. Conclusiones	75
3.6. Referencias bibliográficas	76
4 Capítulo IV	81
4.1. Conclusiones finales	81
4.2. Apéndices.....	82

Índice Geral Índice Geral

Índice Geral Índice Geral.....	XI
El objeto de la Investigación.....	- 1 -
Metodología de la Investigación.....	- 2 -
Resultados y Conclusiones	- 14 -
Índice Geral.....	i
Índice de figuras.....	vii
Índice de tabelas.....	ix
Índice de apêndices	x
1. Capítulo I	1
1.1. Introdução	1
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo geral.....	3
1.2.2. Objetivos específicos	3
1.3. Principais hipóteses do trabalho.....	3
1.4. Revisão bibliográfica	4
1.4.1. Importância económica da <i>Hypothenemus hampei</i>	4
1.4.2. Taxonomia	4
1.4.3. Origem e distribuição.....	5
1.4.4. Aspetos morfológicos e biológicos.....	5
1.4.5. Fatores que influenciam a infestação da <i>Hypothenemus hampei</i>	10
1.4.6. Inimigos naturais.....	11
1.4.7. Métodos de manejo integrado contra a <i>Hypothenemus hampei</i>	14
1.5. Referências bibliográficas	19
2. Capítulo II.....	34

Bioecologia da broca-do-café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), na ilha de São Tomé	34
Resumo	34
Abstract	35
2.1. Introdução	36
2.2. Material e Métodos	37
2.2.1. Clima.....	37
2.2.2. Caracterização das localidades	38
2.2.3. Determinações analíticas	39
2.2.4. Análise estatística	43
2.3. Resultados	45
2.3.1. Níveis de infestação de campo de <i>Hypothenemus hampei</i>	45
2.3.2. Penetração dos frutos por <i>Hypothenemus hampei</i>	47
2.3.3. Estados imaturos e adultos da <i>Hypothenemus hampei</i> durante o desenvolvimento do fruto de café	48
2.3.5. Identificação molecular da <i>Beauveria bassiana</i>	52
2.4. Discussão	54
2.5. Conclusões	57
2.6. Referências bibliográficas	58
3. Capítulo III.....	64
Captura em massa da broca-do-café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) na ilha de São Tomé.....	64
Resumo	64
Mass trapping control the coffee berry borer, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) in Sao Tome Island.....	65
Abstract.....	65
3.1. Introdução	66
3.2. Material e Métodos	67

3.2.1. Armadilhas	67
3.2.2. Atraentes	68
3.2.3. Delineamento experimental	68
3.2.4. Determinações analíticas	69
3.2.5. Análise estatística	69
3.3. Resultados	70
3.3.1. Atraente em armadilhas caseiras iscada para a captura em massa de <i>Hypothenemus hampei</i>	70
3.4. Discussão	73
3.5. Conclusões	75
3.6. Referências bibliográficas	76
4 Capítulo IV	81
4.1. Conclusões finais	81
4.2. Apêndices.....	82

Lista de Siglas

CBB-Broca-do-café

CECAFEB-Cooperativa de Exportação de Café Biológico de São Tomé e Príncipe

CENICAFÉ-Centro Nacional de Investigação de café em Colômbia

CIAT/STP-BECI-Centro de Investigação Agronómico e Tecnológico de São Tomé e Príncipe-
Base experimental de cultura industrial

CIRAD-Centro de Investigação Agrícola para o Desenvolvimento

PROCAFÉ-Instituição Integrante do Consórcio Pesquisa Café

RESUMIO

(RESUMEN DE LA TESIS EN ESPAÑOL)

BIOECOLOGÍA DE LA BROCA DEL CAFÉ *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE, SCOLYTINAE) EN LA ISLA DE SANTO TOME

Bioecología de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) en la Isla de Santo Tome

Resumen

La broca del café, *Hypothenemus hampei*, es una grave limitación para la producción de café ecológico en la isla de Santo Tomé, en el Golfo de Guinea, ya que la escasa información sobre la fenología estacional de esta especie en las islas limita la aplicación del control biológico. En el presente estudio, se monitorearon siete cafetales durante dos años para describir los patrones de infestación, las tasas de penetración de la broca del café en los frutos en desarrollo y la mortalidad por el hongo entomopatógeno en dos especies de *Coffea* (*C. arabica* L. y *C. canephora* Pierre ex A. Froehner), según un muestreo de 30 árboles de acuerdo al "método CENICAFE". Los resultados revelaron que la posición de la broca dentro de los frutos, la infestación y los frutos verdes con hongo entomopatógeno fueron afectados significativamente por la variedad de café. La infestación media en los siete sitios fue ($11,5 \pm 3,5\%$; media \pm error estándar (SE)), con dos sitios que mostraron una infestación media $<5\%$. Los análisis moleculares indicaron cuatro cepas de *Beauveria bassiana* (B-Bug; VKBb03 18S; bbR1f y LPSC 1226) presentes en la isla de Santo Tomé. Las mayores tasas de infestación y de *Beauveria bassiana* por rama se observaron en *C. arabica* L. (Red Caturra, Bourbon y Red Catuaí), en comparación con *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta), en los meses de menor precipitación. Durante todo el periodo de muestreo se encontraron estados inmaduros de la broca (huevos, larvas y pupas) y adultos. No se encontraron depredadores ni parasitoides en las muestras de fruta recolectadas en las parcelas durante el período evaluado. De acuerdo con las tasas de población registradas en todas las etapas de su ciclo biológico, en las áreas estudiadas, se concluye que la broca del café encuentra un ambiente favorable para su multiplicación en Santo Tomé, por lo que se requieren medidas para su control.

Palabras-clave: Biocontrol; *Beauveria bassiana*; *Coffea arabica*; *Coffea canephora*; nivel de infestación.

Captura masiva de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) en la isla de Santo Tome

Resumen

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), es una grave limitación para la plantación de café ecológico en la isla de Santo Tomé. Hasta la fecha, la escasa información sobre la fenología estacional de esta especie de plaga en las islas limita la aplicación de programas de gestión integrada de plagas. Como parte de un programa de formación de caficultores, evaluamos tres atrayentes en trampas rojas vs. transparentes para evaluar los estímulos olfativos y visuales de la broca del café. El experimento se diseñó en ("split block") con tres tipos de atrayentes: etanol comercial (E) + 40 g de café Robusta maduro (A1), una proporción 3:1 de metanol y etanol (A2), y etanol comercial + 10 g de café Arábica tostado molido (A3); y dos trampas caseras transparentes (D1) y rojas (D2). Los resultados mostraron que no había una interacción significativa entre la trampa y el atrayente, pero sí entre la trampa y la localidad (altitud/microclima/variedad) para capturar la broca del café. El tratamiento D1A2 mostró el mejor resultado con una media de $47,4 \pm 19,2$ adultos capturados por trampa y por semana. La trampa transparente cebada capturó mayor cantidad de broca del café en Novo Destino y Bem-Posta, mientras que la trampa roja cebada capturó más broca del café en Poiso Alto. Las mayores capturas de broca se registraron entre finales de mayo y octubre. En resumen, las trampas caseras por sí solas no son eficaces para controlar la broca del café, pero son útiles para vigilar esta especie.

Palabras-clave: Café; atrayentes; manejo integrada de plagas (MIP); nivel de infestación;

Índice

El Objeto de la Investigación.....	-1-
Metodología de la Investigación.....	-2-
Bioecología de la broca del café <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) en la isla de Santo Tome	-5-
Captura masiva de la broca del café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) en la isla de Santo Tome	-10-
Resultados y Conclusiones	-15-

El objeto de la Investigación

El objetivo general de este trabajo consiste en evaluar, en las condiciones de Santo Tome, la bioecología de la broca del café, índice de infestación, identificación de enemigos naturales, así como mejorar la eficiencia de trampas para captura masiva los adultos de esa plaga.

Como objetivos específicos se pretende:

1. Evaluar la bioecología de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) en la isla de Santo Tome.
2. Evaluar la captura masiva de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) en la isla de Santo Tome

Metodología de la Investigación

El clima

La isla de Santo Tomé está situada en la latitud 0° y la longitud 6° 30' este con una superficie de unos 900 km² y está dominada por una montaña volcánica, que culmina a 2.024 m sobre el nivel del mar. El clima de Santo Tomé es subecuatorial con precipitaciones muy altas. El promedio de precipitación anual varía de 1,5 mm a 1000 mm en la zona baja (norte y noreste) a más de 230 mm a 6.000 mm en la zona alta (sur y suroeste). Los meses más secos son junio, julio y agosto y los más húmedos son marzo, abril y mayo. La humedad atmosférica anual es 80% y la temperatura media anual al nivel del mar es de 25,4 °C (Afonso, 1969; World bank, 2017).

Las experiencias se realizaron entre los meses de febrero a diciembre de 2018 y de enero a diciembre de 2019 en 6 localidades pertenecientes a Cooperativa de Exportación de Café Biológico de Santo Tomé y Príncipe (CECAFEB), siendo: São Carlos, São Nicolau, Bem-Posta, Novo Destino, Brigoma, Poiso Alto y una parcela del Centro de Investigación Agronómica y Tecnológica de Santo Tomé y Príncipe en la base experimental de cultura industrial (CIAT/STP-BECI).

Los datos meteorológicos se registraron en las estaciones meteorológicas del Instituto Nacional de Meteorología de Santo Tomé y Príncipe. La temperatura, la humedad relativa del aire y la precipitación se registraron diariamente durante el período que tuvo lugar el trabajo experimental. Las características agroclimáticas anuales y las características de las parcelas se encuentran en (Tabla 1 y 2). Los valores medios mensuales de la temperatura del aire, las precipitaciones y la humedad relativa del aire se encuentran en (Tabla A1.1., Tabla A1.2. y Tabla A1.3.) en los apéndices.

Tabla 1. Características agroclimáticas anuales de las parcelas de café seleccionadas.

Localidad	Precipitación (mm)	Temperatura (°C)		Humedad relativa (%)	Altitud (m)	Coordenadas geográficas (UTM)	
		Min	Max				
S. Carlos	1257,3	17,3	28,8	85,5	1051	233887,0	36244,0
S. Nicolau	1257,3	17,3	28,8	85,5	914	218844,0	29163,0
Bem Posta	1514,9	13,6	32,4	85,3	744	235805,0	35496,0
Novo Destino	1514,9	13,6	32,4	85,3	647	235301,0	34253,0
Brigoma	2472,0	19,1	28,9	82,0	68	235736,0	31005,0
CIAT/STP-BECI	1514,9	13,6	32,4	85,3	324	235181,0	33164,0
Poiso Alto	1257,3	17,3	28,8	85,5	562	238518,0	37273,3

Características de las parcelas para la realización del estudio de la bioecología de *Hypothenemus hampei*

En cada lugar se seleccionó una parcela de café; las características de estas parcelas se mencionan en la (Tabla 2 y Figura 1). Las prácticas culturales en estas parcelas son: escarda, poda y cosecha profiláctica, sin uso de pesticida.

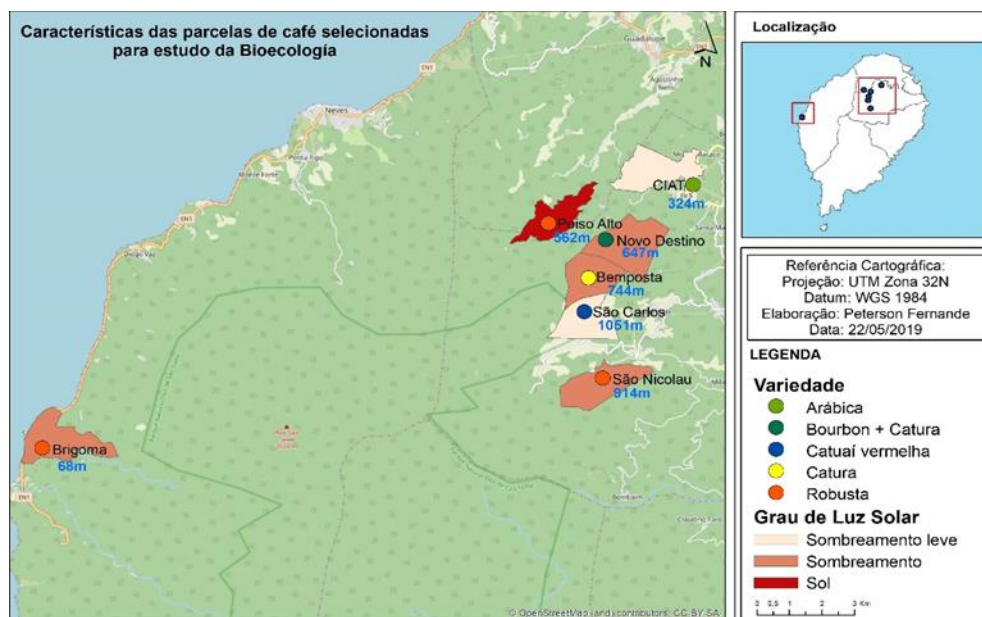


Figura 1: Característica de las parcelas de café seleccionadas para el estudio de la Bioecología de la broca del café. Mapa elaborado por Fernandes (2019).

Tabla 2. Características de las parcelas de café seleccionadas para estudio de la Bioecología.

Localidad	Edad de la Plantación (años)	Marco de plantación (m)	Topografía	Área (ha)	Grado de Luz solar	Variedad
São Carlos	40	2,0 x 2,0	Inclinado	0,5	Sombra leve	Catuai vermelha
São Nicolau	40	3,0 x 3,0	Inclinado	0,5	Sombreamento	Robusta
Bem-Posta	4	2,0 x 2,0	Inclinado	0,5	Sombreamento	Caturra
Novo Destino	4	1,0 x 2,0	Inclinado	0,5	Sombreamento	Bourbon + Caturra
Brigoma	15	3,5 x 5,0	Corrugado	0,5	Sombreamento	Robusta
CIAT/STP-BECI	11	3,0 x 3,0	Sentado	0,5	Sombra leve	Arábica
Poiso Alto	2	2,0 x 2,0	Sentado	0,5	Al sol	Robusta

São Nicolau y **Brigoma**: en estas parcelas predomina el sistema de cultivo agroforestal de café Robusta asociado con la *Erythrina*, mientras que en **Poiso Alto** las especies de café Robusta se plantan en un sistema de cultivo intensivo a plena luz solar.

São Carlos, **CIAT/STP-BECI**, **Novo Destino** y **Bem-Posta**: son los consorcios del sistema agroforestal del café (*Coffea arabica* L.) predominante con *Erythrina*, algunos

vegetales e inclusión de árboles a distancias variables. El espacio para la *Erythrina* era de 12 m x 12 m. Más detalles de la plantación experimental de café se muestran en (Tablas 1 y 2).

Bioecología de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) en la isla de Santo Tomé

La broca del café, *H. hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), es considerada la principal plaga del cultivo del café en el mundo (Fernández y Cordero, 2007), y es uno de los factores que contribuyen directa e indirectamente a la reducción de su productividad (Barrera, 2002; Camilo et al., 2003), debido a los ataques a los frutos del cultivo del café en todos los estadios de maduración (Barrera, 2002).

Las condiciones ambientales, especialmente la temperatura y la humedad relativa, influyen en el desarrollo del fruto (Jaramillo-Robledo et al., 1984; Camilo et al., 2003) y de la broca del café (Baker et al., 1992; Jaramillo et al., 2010, Constantino et al., 2015). El período de maduración del fruto y la duración del ciclo de vida de la broca del café y sus interacciones dependen de las variaciones de temperatura de cada región (Camilo et al., 2003).

En general, los frutos del café empiezan a ser susceptibles al ataque de la broca del café cuando su peso seco es igual o mayor del 27%, lo que ocurre cuando el fruto alcanza más de 150 días de desarrollo, lo que depende de la latitud y altitud (Bustillo-Pardey, 2007).

El control biológico es la mejor opción del control de esta plaga debido a su eficiencia económica y ecológica, pero se deben tener en cuenta todos los factores que constituyen el ecosistema del café y sus múltiples interacciones. Es esencial conocer la fenología del cultivo en las diferentes zonas, especialmente la relacionada con los períodos de floración y, por lo tanto, la edad de los frutos a la que son susceptibles de ser atacados por la broca del café (Bustillo y Benavides, 1994; Benavides et al., 2002; Bustillo-pardey, 2007; Campos-Almengor, 2015). Al mismo tiempo, es necesario conocer la biología y los hábitos de reproducción de la broca del café, a fin de determinar los momentos de mayor susceptibilidad de la plaga en relación con las prácticas de control existentes, manteniendo así un nivel de ataque económicamente tolerable (Camilo et al., 2003, Campos-Almengor, 2015).

En el presente estudio, hemos tratado de describir la dinámica de la población de la broca del café en siete plantaciones de café que se extienden entre 68 y 1051 m asl en la isla de Santo Tome. Se recogieron datos sobre la bioecología de la broca del café, es decir, la presencia de estados inmaduros y adultos de la broca del café durante el desarrollo del fruto,

y se cuantificaron los niveles de población, los niveles de infestación, el grado de penetración de la broca del café y de los frutos de café verdes con pruebas de la presencia de hongos entomopatógenos.

Determinaciones analíticas

Se evaluaron las poblaciones iniciales de la broca del café, grado de penetración, nivel de infestación, los enemigos naturales y número de estadios inmaduros y adultos de la broca del café.

Muestreo de la población de *Hypothenemus hampei*

En el presente estudio, se tomaron muestras de treinta árboles conocidos como el "método Cenicafe" en Colombia (Bustillo et al., 1988). Este método consiste en 1) dividir la parcela de café en parcelas independientes de acuerdo con la edad de la plantación; 2) seleccionar al azar 30 cafetos por parcela (0,5-1,5 ha); 3) seleccionar una rama representativa en el centro de cada árbol que contenga 30-100 frutos en desarrollo; 4) examinar todos los frutos verdes con un orificio de entrada para la broca del café; 5) registrar el número de frutos verdes, frutos de café verdes infestados y aquellos con evidencia de hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bb); El porcentaje de hongos entomopatógenos se determinó mediante (ecuación 1),

$$\text{Porcentaje de hongos entomopatógenos} = \frac{\text{Total de frutos verde con Bb}}{\text{Total de frutos contados}} * 100\% \quad (1)$$

6) repetir el proceso moviéndose en un patrón de zigzag dentro de cada parcela (Aristizábal et al., 2016; Aristizábal et al., 2017). (7) Calcular el nivel de infestación de la broca para cada lote (ecuación 2).

$$\text{Nivel de infestación} = \frac{\text{Total de frutos infestados con broca}}{\text{Total de frutos contados}} * 100\% \quad (2)$$

Grado de penetración de *Hypothenemus hampei*

La posición de la broca hembra se ha determinado en los frutos verdes infestados (ecuación 3).

$$\text{Grado de penetración} = \frac{\text{Total de frutos en las posiciones (AB o CD)}}{\text{Total de frutos contados}} * 100\% \quad (3)$$

Para determinar el grado de penetración de la broca del café se determinó cosechando 3 frutos verdes infestados por rama de 30 árboles por hectárea y se diseccionaron para evaluar la posición de la broca del café en su interior (Aristizábal et al., 2015; Aristizábal et al., 2016; Johnson et al., 2018). Los frutos verdes infestados se clasificaron como AB y CD, dependiendo del grado de penetración (Figura 2).



Figura 2. La Broca del café en la posición AB (E) y broca del café en la posición CD con sus descendientes (F). Fotos tomadas por (Aristizábal et al., 2017).

Número de estadios inmaduros e adultos de *Hypothenemus hampei*.

Para determinar los estadios inmaduros (huevo, larva y pupa) y adultos de la broca del café y la presencia de parasitoides o depredadores, se recogieron 100 frutos infestados antes y después de la cosecha por lugar/muestra, donde se abrieron 20 y se examinaron con un aumento de 20x utilizando un estereoscopio para la detección y el recuento de las fases del ciclo biológico de la broca (Aristizábal et al., 2016; Johnson et al., 2018). Los demás frutos infestados se colocaron en jaulas de plástico para observar el aspecto de los parasitoides. Se tomaron muestras mensualmente durante los dos años de pruebas de campo.

Identificación del hongo entomopatógeno

Cosecha del fruto

Un total de 100 frutos de café verdes infestados con evidencias de hongos entomopatógenos fueron recolectados al azar en siete plantaciones de café a diferentes altitudes: Brigroma (68 m altitud), CIAT/STP-BECI (324 m altitud), Poiso Alto (562 m altitud), Novo Destino (647 m altitud), Bem-Posta (744 m altitud), São Nicolau (914 m altitud) y São Carlos (1051 m altitud) (Isla de São Tomé). Los frutos verdes infestados con

evidencia de hongos entomopatógenos se colocaron en bolsas esterilizadas, y las muestras se llevaron inmediatamente al laboratorio, donde se almacenaron en frío a 6°C.

Aislamiento de hongos de adultos de *Hypothenemus hampei*

En el laboratorio, el fruto verde infestado se examinó más a fondo para detectar la presencia de adultos muertos de la broca del café con evidencia de hongos entomopatógenos, el fruto se cortó suavemente para exponer los adultos que estaban en posición AB. Los adultos muertos con evidencia de hongos entomopatógenos se desinfectaron externamente siguiendo este procedimiento: 1 minuto en alcohol al 70%; 5 minutos en hipoclorito de sodio al 5%; 1 minuto en alcohol al 70%; 3x 1 minuto en agua estéril. Tras la desinfección, los adultos muertos se secaron en papel absorbente estéril y se colocaron grupos de cinco adultos muertos en la superficie de un medio de cultivo de papa-dextrosa-agar (PDA) con la adición de antibióticos estreptomycinina (60 mg) y penicilina G potásica (60 mg). Las placas se pusieron a incubar a 25°C en la oscuridad durante quince días hasta que se observó el crecimiento del hongo.

El hongo obtenido de cada adulto muerto se trasplantó a una nueva placa de PDA y se colocó a 25°C en la oscuridad. Este procedimiento se repitió tantas veces como fue necesario hasta obtener cultivos puros y observar la producción de esporas. Los aislados puros, fueron trasplantados a tubos con Agar de Dextrosa de Patata (PDA) inclinados, para el mantenimiento de la colección de trabajo (5°C), y a -80°C para su conservación a largo plazo. Los cultivos puros de cada aislado se depositaron en la colección de cultivos del Instituto Politécnico de Braganza (Escuela de Agricultura).

Extracción de ADN fúngico

Los hongos aislados se inocularon en medio PDA y se mantuvieron a 25 + 2°C en la oscuridad durante 1-2 semanas. La morfología de la colonia, el tamaño y la forma de las esporas se utilizaron para la primera identificación y para agrupar las cepas (Benham & Miranda 1953; Kovač et al., 2020). Se recogieron conidios de cada aislado y se utilizaron para los análisis moleculares. El DNA genómico se extrajo utilizando el DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. El micelio fresco se disolvió mediante vórtex con aproximadamente 200 µl de perlas de vidrio (450-600 µm de diámetro) añadidas al tampón de extracción. El DNA se almacenó a -20°C hasta su uso.

Amplificación por PCR y secuenciación

Se realizaron reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar una región de DNA - el espaciador transcrito interno del DNA ribosómico (ITS) con los cebadores universales ITS5/ITS4 (White et al. 1990). Todas las reacciones de PCR se llevaron a cabo utilizando la mezcla maestra de PCR DreamTaq (2x) (Thermo Scientific, Vilnius, Lituania) en un termociclador Biometra TGradient (Biometra, Göttingen, Alemania). Cada reacción se realizó en un volumen de reacción final de 50 μ L que contenía 1 μ L (50-150 ng) de ADN molde, 0,4 μ M de cada cebador y el tampón 1x PCR Master Mix, que incluía 1,5 mM de MgCl₂ y 0,2 mM de cada dNTP. Las condiciones del ciclo térmico fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 94 °C durante 3 minutos, seguida de 35 ciclos consistentes en desnaturalización a 94 °C durante 30 s, recocido a 55 °C durante 30 s y extensión a 72 °C durante 1 min, y una extensión final a 72 °C durante 10 min. Los productos de la PCR se resolvieron por electroforesis a 5 V.cm⁻¹ en un gel de agarosa (1,5%) que contenía 0,5 μ g/mL de bromuro de etidio y un tampón de funcionamiento Tris-borato-EDTA (TBE) de 0,5x. Las amplificaciones se visualizaron utilizando el sistema de imágenes VersaDoc (BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA) y las reacciones que amplificaron un único producto de PCR se seleccionaron para su purificación utilizando el kit DNA Clean and Concentrator (Zymo Research Corp, Irvine, CA, USA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los fragmentos purificados se secuenciaron en el Laboratorio de Secuenciación STABVida (Portugal) en un analizador de DNA ABI PRISM 3730xl (Applied Biosystems) en ambas direcciones, utilizando los mismos cebadores que los utilizados para las reacciones de amplificación. Las nuevas secuencias obtenidas se editaron con el programa BioEdit versión 7.2.6 (Hall, 1999), y se hicieron secuencias consenso a partir de las secuencias directa e inversa.

Análisis filogenéticos

Las secuencias se compararon con las disponibles en la base de datos GenBank (NCBI-National Centre for Biotechnology Information) utilizando la búsqueda BLASTn que se llevó a cabo contra la base de datos de nucleótidos no redundante (nr) para recuperar las secuencias más similares para la inferencia filogenética. Se seleccionaron secuencias adicionales correspondientes a las principales especies del género *Beauveria* y se incorporaron a los análisis filogenéticos (Tabla 3). Dos secuencias de la región ITS de *Isaria fumosorosea* (número de acceso AY624182) y de *Cordyceps_militaris* (número de acceso AB070374) fueron elegidas como taxones de fuera de grupo de acuerdo con los resultados de análisis previamente publicados. Las relaciones filogenéticas se estimaron utilizando

MEGA X v10.1 (Kumar et al., 2018) y el método de máxima verosimilitud (ML) en el modelo de Tamura de 3 parámetros con distribución Gamma. La robustez del árbol ML se infirió utilizando 1000 réplicas bootstrap.

Tabla 3. Detalles de los aislados de *Beauveria bassiana* obtenidos en este estudio (♣) y de las cepas que representan especies de *Beauveria* recuperadas del GenBank y utilizadas en los análisis filogenéticos.

Espécies	País	GenBank Acceso nrs
<i>Beauveria bassiana</i> ♣	S. Tomé Island	NA
<i>Beauveria bassiana</i> ♣	S. Tomé Island	NA
<i>Beauveria bassiana</i> ♣	S. Tomé Island	NA
<i>Beauveria bassiana</i> ♣	S. Tomé Island	NA
<i>Beauveria bassiana</i>	Palestine	MK862359
<i>Beauveria bassiana</i>	Colombia	MH233292
<i>Beauveria bassiana</i>	India	MK050627
<i>Beauveria bassiana</i>	Argentina	MG712624
<i>Beauveria bassiana</i>	Thailand	MN401664
<i>Beauveria bassiana</i>	Brazil	KF958305
<i>Beauveria bassiana</i>	Ethiopia	MW077114
<i>Beauveriabassiana</i>	Antarctica	KU954338
<i>Beauveria bassiana</i>	Spain	MT000957
<i>Beauveria bassiana</i>	Korea	MG952537
<i>Beauveria asiatica</i>	South Korea	HQ880787
<i>Beauveria australis</i>	Australia	HQ880789
<i>Beauveria caledonica</i>	UK	HQ880817
<i>Beauveria caledonica</i>	UK	MH873831
<i>Beauveria kipukae</i>	USA	HQ880803
<i>Beauveria malawiensis</i>	Malawi	HQ880825
<i>Beauveria malawiensis</i>	Malawi	DQ376247
<i>Beauveria_lii</i>	China	JN689372
<i>Beauveria pseudobassiana</i>	Portugal	HQ880791
<i>Beauveria medogensis</i>	China	KU994837
<i>Beauveria sungii</i>	Japan	HQ880809
<i>Beauveria varroae</i>	France	HQ880800
<i>Beauveria vermiconia</i>	Chile	HQ880822

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó con IBM SPSS Statistics 23. El análisis de varianza (ANOVA) se realizó con la variedad como variable independiente y los medios de tratamiento se sometieron a la prueba de HSD de Tukey ($p < 0,05$) siempre que fue apropiado. Se realizó un análisis de correlación (Pearson's; r) entre los frutos verdes infestados, la posición AB y los frutos verdes con evidencia de hongos entomopatógenos para evaluar si la presencia de hongos entomopatógenos está asociada con la incidencia de plagas que

ayudan a su control y, por lo tanto, ayudan en el eventual proceso de toma de decisiones sobre el control de la plaga.

Captura masiva de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) en la isla de Santo Tomé

H. hampei (Ferrari, 1867) es el factor limitante de la producción de café orgánico en la isla de Santo Tomé. Inicialmente, el CECAFEB utilizó aceite de Neem para el control de la broca del café sin un impacto significativo en la población de las especies plaga (CECAFEB, 2014). El aceite de Neem fue sustituido por el uso de *Bacillus thuringiensis* (Dipel), que demostró ser eficaz en el control de la broca, pero fue prohibido en la producción de café ecológico (COLEACP, 2020). Actualmente, el CECAFEB utiliza trampas transparentes de fabricación casera con dos aberturas con atrayente que contienen etanol para la captura masiva de la broca del café (CECAFEB, 2020).

Las señales visuales desempeñan un papel importante en la preferencia de la broca por los frutos maduros (rojos) frente a los inmaduros (verdes) (Giordanengo, 1992; Mathieu, 1995; Mathieu et al., 1997; Mathieu et al., 2001; Rainho, 2015). Los escarabajos han demostrado una preferencia por el negro y el rojo (Ticheler, 1963; Mathieu et al., 2001). Las hembras de la broca del café tienen ojos más grandes y responden al movimiento, mientras que los machos tienen ojos rudimentarios y poca visión (Mandelsham y Wood, 2007; Vega et al., 2014). Las hembras también son atraídas por los semioquímicos liberados por el fruto en desarrollo (Mathieu et al., 2001; Mendesil et al., 2009; Cruz y Malo, 2013). Los semioquímicos de los frutos del café están compuestos por diferentes alcoholes (Ortiz et al., 2004). Las atrayentes visuales para la broca del café se utilizan para mejorar la vigilancia mediante el uso de cebos. Por lo tanto, el uso de trampas con semioquímicos para el monitoreo y la posible captura masiva de adultos de la broca del café es una alternativa eficiente y barata (Moreno et al., 2010; Fernandes et al., 2011). A lo largo de los años, se han realizado varios estudios utilizando trampas que contienen una mezcla de alcoholes, como etanol y metanol, para el seguimiento de los adultos de la broca del café (Mathieu et al., 1997; Dufour y Frérot, 2008; Rostaman y Prakoso, 2020). El atrayente compuesto por una mezcla de etanol (99,9% de pureza) y metanol (100% de pureza) en proporción 1:3 es bastante eficiente en la captura masiva de adultos de broca (Barrera et al., 2004, 2006; Dufour y Frérot, 2008; Pereira et al., 2012).

En el presente estudio, evaluamos tres atrayentes en trampas rojas frente a las transparentes para evaluar la posible captura masiva de la broca del café.

Características de las parcelas para la realización del estudio de la captura masiva de *Hypothenemus hampei*

Las experiencias fueron realizadas entre los meses de agosto a diciembre de 2018 y de enero a diciembre de 2019 en 3 localidades perteneciente a CECAFEB, siendo: Bem-Posta, Novo Destino y Poiso Alto.

En cada lugar se seleccionó una parcela de café; las características de estas parcelas se mencionan en la Tabla 4. Las prácticas culturales en estas parcelas son: escarda, poda y cosecha profiláctica, sin uso de pesticida.

Tabla 4. Características de las parcelas de café seleccionadas para instalación de trampa.

Localidad	Bem-Posta		Novo Destino		Poiso Alto	
Distrito	Mé-Zochi		Mé-Zochi		Lobata	
Coordenadas geográficas (UTM)	235805,0	35496,0	235301,0	34253,0	238518,0	37273,3
Altitud (m)	744		647		562	
Temperatura media anual (°C)	23		23		23,1	
Precipitación media (mm)	1514,9		1514,9		1257,3	
Humedad relativa del aire	85,5		85,5		85,5	
Marco de plantación (m)	2 x 2		1 x 2		2,5 x 2,5	
Edad da plantación (años)	4		4		3	
Topografía	Inclinado		Inclinado		Inclinado	
Área (ha)	1,0		1,0		0,7	
Trampa (n°)	30		30		20	
Variedad	Caturra		Caturra		Robusta	

Trampas

Las trampas utilizadas fueron del diseño "ECOIAPAR": se utilizaron 2 tipos de trampas: la transparente hecha con botellas "PET" de 0,5 L, con dos aberturas laterales rectangulares (3 x 11 cm); y la roja hecha con botellas "PET" de 1,5 L, con una abertura lateral rectangular (10 x 15 cm) y pintada con pintura roja al óleo RGB (128.0.0) (Figura 3). Este color se utilizó porque es el más atractivo para los adultos de la broca del café (Mathieu et al., 1997, 1999; Barrera et al., 2006; Dufour y Frérot, 2008). Las botellas se sujetaron a las plantas a 1,5 metros del suelo Barrera et al. (2004) y Aristizábal et al. (2016) con alambre galvanizado. En el fondo de la trampa se añadieron 120 ml de agua con un 5% de detergente neutro (Barrera et al., 2004; Dufour y Frérot, 2008).

Se distribuyeron 30 trampas por hectárea para cubrir toda la zona Fernandes y otros (2014) y se monitorearon mensualmente. La distancia entre las trampas era de 10 m (Panuk, 2014), colocadas en agosto de 2018 y terminadas en julio de 2019.



Figura 3. Tipos de trampas caseras para capturar adultos de la broca del café. D1 = trampa transparente con dos aberturas laterales rectangulares; D2 = trampa roja con una abertura lateral rectangular. Fotos tomadas por el autor.

Atrayentes

En el interior de la trampa se fijó una botella de vidrio de 10 ml (0,7 cm de diámetro x 4,3 cm de longitud) que contenía el atrayente (Pereira et al., 2012; Aristizábal et al., 2015, 2016). Se utilizaron tres tipos de atrayentes (Tabla 5). El atrayente A1 estaba compuesto por etanol comercial (pureza del 96,0%) más café de especie robusta maduro. El procedimiento de esta mezcla consistía en colocar 40 gramos de frutos de café robusta bien maduro en 1 litro de etanol comercial (con una pureza del 96,0%) durante 4 días para liberar en etanol todas las sustancias contenidas en la pulpa del fruto. La tasa de liberación de esta mezcla fue de 0,67 ml/día. El atrayente A2 estaba compuesto por una mezcla de etanol (pureza del 96%) y metanol (pureza del 100%) en la proporción de 1:3 (Moreno et al., 2010; Rosalía et al., 2015). La tasa de liberación de esta mezcla fue de 1,3 ml/día. Por último, el atrayente A3 estaba compuesto por una mezcla comercial de etanol (pureza del 96,0%) más 10 gramos de café arábica tostado molido por litro de solvente, ya que la tasa de liberación de esta mezcla era de 0,67 ml/día. El fluido en el interior de las trampas fue cambiado y el atrayente fue restablecido en cada evaluación. En la tabla 4 se muestran más detalles del experimento.

Diseño experimental

Los tratamientos en ensayo consistieron en tres tipos de atrayentes: A1, A2 y A3 y dos tipos de trampas D1 y D2, respectivamente. El ensayo fue diseñado en parcelas subdivididas ("split block") en el que la parcela principal es el tipo de trampa y la subparcela los diferentes tipos de atrayentes (Tabla 5). Se realizaron cinco repeticiones por cada tratamiento. La dimensión de cada subparcela fue de 33 x 50 m.

Tabla 5. Detalles de experimento e tratamiento

Factores	Tratamiento
A1=etanol comercial (96,0%) + 40 g de café robusta maduro	D1A1
A2=proporción 3:1 metanol (100%) e etanol (96,0%)	D1A2
A3=etanol comercial (96,0%) + 10 g de café arábica tostado molido	D1A3
D1=trampa transparente	D2A1
D2=trampa roja	D2A2
	D2A3

Determinaciones analíticas

Se evaluó el número brocas del café capturadas mensualmente: tipo de atrayente, el color y el tipo de la trampa.

Adultos de *Hypothenemus hampei* capturados

Cada trampa era revisada mensualmente y su contenido se filtraba a través de un tamiz de malla fina. El contenido de la trampa filtrada se colocó en bolsas de plástico que contenían un 70% de etanol. Los adultos de la broca del café se contaron con menos de 20 aumentos usando un estereoscopio y se separaron otros insectos/escarabajos encontrados en las trampas (Moreno et al., 2010; Fernandes et al., 2011; Johnson et al., 2018).

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó con IBM SPSS Statistics 23. El análisis de la varianza (ANOVA) se realizó con el tipo de trampa y atrayente como variables independientes y los medios de tratamiento se sometieron a la prueba de HSD de Tukey ($p < 0,05$), siempre que fuera apropiado. Se realizó un análisis de correlación (Pearson's; r) entre el número de la broca capturados y el nivel de infestación en Bem-Posta.

Resultados y Conclusiones

Infestación del campo de *Hypothenemus hampei*

Se observaron frutos infestados por la broca en todos los meses de muestreo, aunque la proporción de frutos infestados fue globalmente más alta en São Carlos (1051 m altitud) en comparación con los cafetales de Brigroma (68 m altitud) ($p < 0,001$). Los niveles más altos de infestación se registraron en São Carlos ($20,0 \pm 3,9\%$; media \pm error estándar (SE)) (1051 m altitud), y en CIAT/STP-BECI ($19,2 \pm 4,2\%$) (324 m altitud), pero sin diferencias significativas ($p = 1,00$). No hubo diferencias significativas ($p = 0,70$) entre Brigroma ($2,3 \pm 0,6\%$) (68 m altitud), São Nicolau ($7,1 \pm 1,6\%$) (914 m altitud), y Poiso Alto ($3,7 \pm 0,8\%$) (562 m altitud). No se observaron diferencias significativas ($p = 0,99$) entre Bem-Posta ($13,2 \pm 3,7\%$) (744 m altitud) y Novo Destino ($14,6 \pm 3,5\%$) (647 m altitud). Se observaron diferencias significativas ($p = 0,01$) entre Bem-Posta ($13,2 \pm 3,7\%$) (744 m altitud) y Brigroma ($2,3 \pm 0,6\%$) (68 m altitud). La diferencia entre el Brigroma ($2,3 \pm 0,6\%$) (68 m altitud) y el Novo Destino ($14,6 \pm 3,5\%$) (647 m altitud) fue significativa ($p = 0,002$) (Tabla 6). La variedad de café y la localidad (altitud/microclima/manejo) afectaron significativamente los niveles de infestación ($F = 15,74$; $df = 160$; $p < 0,001$) (Tabla A3.4. en los apéndices). Los niveles más altos de infestación se registraron en el *Coffea arabica*. L. Se registró una correlación positiva entre el nivel de infestación de la broca del café y los frutos verdes con la evidencia de hongos entomopatógenos en el campo ($t = 15,06$; $r = 0,59$; $p = 0,001$) (Tabla 6).

Tabla 6. Nivel de infestación de la broca del café (CBB), posición de CBB (AB-CD) y frutos verdes infestados con evidencia de fungo entomopatógeno (FE), en Bem-Posta, Novo Destino, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos, São Nicolau, and Poiso Alto, en la isla de Santo Tomé desde febrero de 2018 hasta diciembre de 2019.

Localizaciones	Variedad	Altitud	CBB	AB	CD	FE
			Media \pm SE			
Brigroma	Robusta	Baja	$2,3 \pm 0,6^b$	$0,5 \pm 0,1^c$	$0,5 \pm 0,1^d$	$0,1 \pm 0,0^b$
Novo Destino	Bourbon + Caturra	Alta	$14,6 \pm 3,5^{ab}$	$1,8 \pm 0,4^{ab}$	$1,7 \pm 0,3^{ab}$	$1,4 \pm 0,6^b$
CIAT/STP-BECI	Arábica	Media	$19,2 \pm 4,2^a$	$1,7 \pm 0,3^{ab}$	$1,6 \pm 0,3^b$	$4,5 \pm 1,4^a$
Poiso Alto	Robusta	Alta	$3,7 \pm 0,8^b$	$1,0 \pm 0,2^{bc}$	$0,6 \pm 0,2^d$	$0,2 \pm 0,1^b$
Bem-Posta	Catura roja	Alta	$13,2 \pm 3,7^{ab}$	$2,0 \pm 0,5^a$	$1,4 \pm 0,3^c$	$2,1 \pm 1,4^{ab}$
São Nicolau	Robusta	Alta	$7,1 \pm 1,6^b$	$1,6 \pm 0,2^b$	$0,8 \pm 0,1^{cd}$	$1,0 \pm 0,5^b$
São Carlos	Catuaí roja	Alta	$20,0 \pm 3,9^a$	$1,9 \pm 0,3^{ab}$	$2,3 \pm 0,3^a$	$2,0 \pm 0,6^{ab}$
Media total	$11,5 \pm 3,5$	$1,5 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,9$
Correlación			**	**		**

Notas: CBB = % de infestación de la broca del café, AB e CD = % de la penetración de la CBB en el fruto (posiciones AB y CD), FE = % de frutos verdes infestados con evidencia de fungo entomopatógeno. Correlación ** (positivo). Zona baja (68 m altitud), zona media (324 m altitud) e zona alta (>562 m altitud).

†Las medias seguidas de la misma letra en la columna no son significativamente diferentes por la prueba Tukey HSD ($p = 0,05$).

Se observaron niveles más altos de infestación por rama en *C. arabica* L. (Caturra Roja, Borbón y Catuaí Roja) (Figuras 4, 5, 6 y 7) en comparación con *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta) (Figuras 8, 9 y 10).

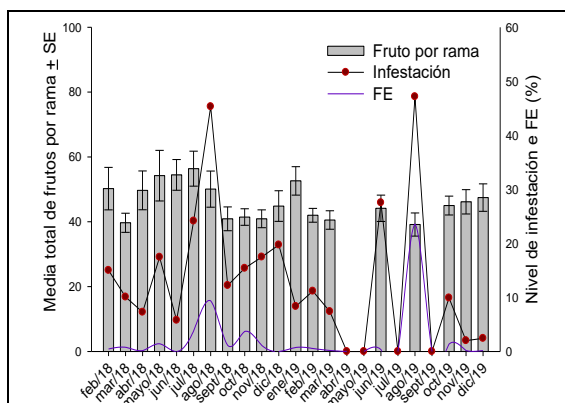


Figura 4. Promedio de frutos por rama, nivel de infestación y frutos verdes infestados con evidencia de fungo entomopatogénico por mes en Bem-Posta entre febrero de 2018 y diciembre de 2019.

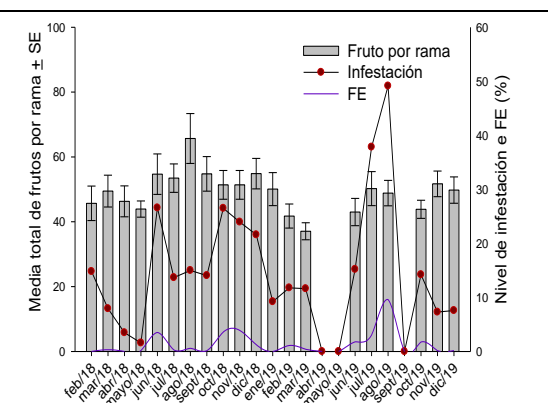


Figura 5. Promedio de frutos por rama, nivel de infestación y frutos verdes infestados con evidencia de fungo entomopatogénico por mes en Novo Destino entre febrero de 2018 y diciembre de 2019.

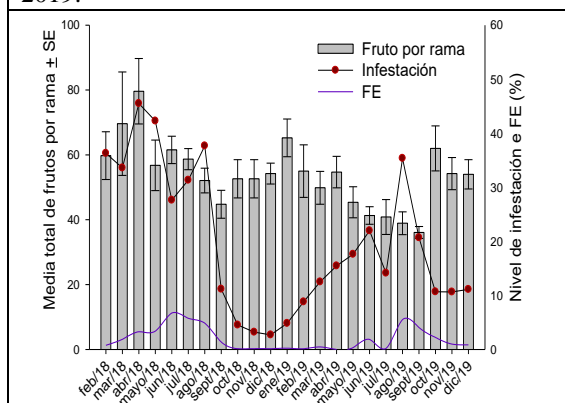


Figura 6. Promedio de frutos por rama, nivel de infestación y frutos verdes infestados con evidencia de fungo entomopatogénico por mes en São Carlos entre febrero de 2018 y diciembre de 2019.

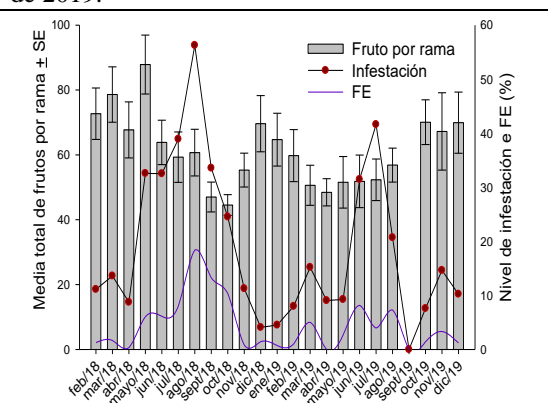


Figura 7. Promedio de frutos por rama, nivel de infestación y frutos verdes infestados con evidencia de fungo entomopatogénico por mes en CIAT/STP-BECI entre febrero de 2018 y diciembre de 2019.

Notas: Nivel de infestación y frutos verdes infestados con evidencia de con fungo entomopatogénico (Bb) en *C. arabica* L.

La floración de *C. arabica* L. se observó en marzo, mayo, julio, agosto, septiembre, noviembre y diciembre, mientras que el fructificación se observó durante todo el período de muestreo en São Carlos, pero no se observó en abril, mayo, julio y septiembre en Bem-Posta, en abril, mayo y septiembre en Novo Destino, y en septiembre en CIAT/STP-BECI (figuras 4, 5, 6 y 7, y Tablas A2.1., A2.2. de los apéndices). La floración de *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta) se observó de febrero a diciembre, mientras que el fructificación se observó durante todo el período de muestreo en Brigroma y São Nicolau, pero no se

observó en julio y agosto de 2019 en Poiso Alto (figuras 8, 9 y 10 y Tablas A2.1. y A2.2. de los Apéndices).

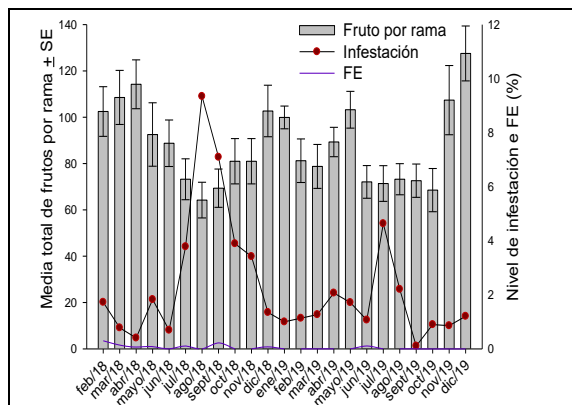


Figura 8. Promedio de frutos por rama, nivel de infestación y frutos verdes infestados con evidencia de con fungo entomopatogénico por mes en Brigroma entre febrero de 2018 y diciembre de 2019.

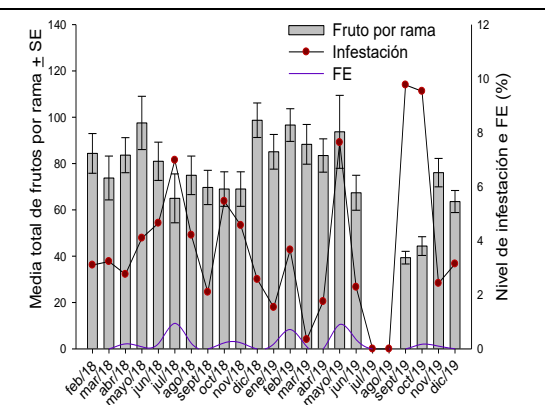


Figura 9. Promedio de frutos por rama, nivel de infestación y frutos verdes infestados con evidencia de con fungo entomopatogénico por mes en Poiso Alto entre febrero de 2018 y diciembre de 2019.

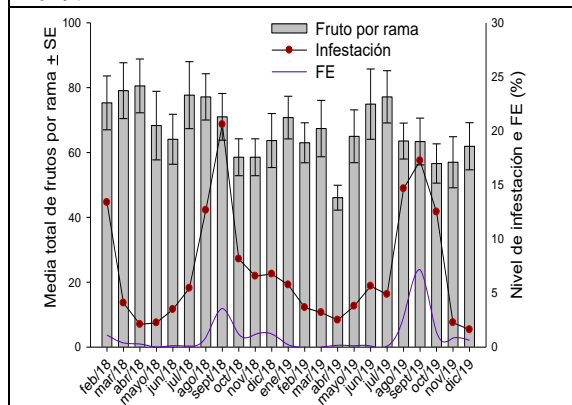


Figura 10. Promedio de frutos por rama, nivel de infestación y frutos verdes infestados con evidencia de con fungo entomopatogénico por mes en São Nicolau entre febrero de 2018 y diciembre de 2019.

Notas: Nivel de infestación y frutos verdes infestados con evidencia de con *fungo entomopatogénico* (Bb) en *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta).

Penetración de los frutos por *Hypothenemus hampei*

Los mayores porcentajes de la broca en posición AB se observaron en Bem-Posta ($2,0 \pm 0,5\%$) (744 m altitud) comparado con Brigroma ($0,5 \pm 0,1\%$) (68 m altitud). No se observaron diferencias significativas entre los porcentajes de la broca (posición AB) en Novo Destino ($1,8 \pm 0,4\%$) (647 m altitud) ($p=1,00$), São Carlos ($1,9 \pm 0,3\%$) (1051 m altitud) ($p=0,99$), y CIAT/STP-BECI ($1,7 \pm 0,3\%$) (324 m altitud) ($p=0,99$). En la posición CD, São Carlos ($2,3 \pm 0,3\%$) (1051 m altitud) tuvo los porcentajes más altos y Brigroma ($0,5 \pm 0,1\%$) (68 m altitud) los más bajos. No hubo una diferencia significativa ($p=0,99$) entre los

porcentajes de la broca (posición CD) en Brigroma ($0,5\pm 0,1\%$) (68 m altitud) y Poiso Alto ($0,6\pm 0,2\%$) (562 m altitud) (Tabla 6). La variedad de café y la localidad (altitud/microclima/manejo) afectaron significativamente los porcentajes de la broca en posición (AB-CD) ($F=6,51$ $df=160$; $p<0,001$) (Tabla A3.1 y A3.2. en los Apéndices). Los mayores porcentajes de la broca en posición (AB-CD) se registraron en el *Coffea arabica*. L. (Tabla 6). Se encontraron los datos mensuales de los porcentajes de la broca del café en posición (AB-CD) durante el período de prueba (Tablas A2.5 y A2.6 de los Apéndices).

Estadios inmaduros y adultos de *Hypothenemus hampei* durante el desarrollo del fruto del café

Se encontraron fases inmaduras (huevos, larvas y pupas) y adultos de la broca a lo largo del período de muestreo. El mayor número de huevos de la broca por mes se observó en Poiso Alto (562 m altitud) y el menor en Bem-Posta (744 m altitud). En la localidad de Brigroma (68 m altitud) se registró un promedio mensual más elevado de larvas, pupas y adultos. En Novo Destino (647 m altitud) se encontró un promedio menor de larvas, pupas y adultos por mes (Tabla 7). No hubo diferencias entre las localidades en el número medio de huevos ($F=0,74$; $df=160$; $p=0,62$) (Tabla A3.6. de los Apéndices), larvas ($F=1,42$; $df=160$; $p=0,21$) (Tabla A3.7. de los Apéndices) y pupas ($F=1,48$; $df=160$; $p=0,19$) (Tabla A3. 8. en los Apéndices) presentes en los frutos verdes, maduros y maduros, pero hubo diferencias significativas ($F=3,42$; $df=160$; $p=0,003$) en el número medio de adultos de la broca del café (Tabla A3.9. en los Apéndices).

Tabla 7. Promedio de estados inmaduros (huevos, larvas y pupas) y adultos de la broca del café observados en 20 frutos de café en Bem-Posta, Novo Destino, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos, São Nicolau y Poiso Alto, en la isla de São Tomé, entre febrero de 2018 y diciembre de 2019.

Localidad	Variedad	Altitud	Huevos	Larva	Pupa	Adulto
			Media \pm SE			
Brigroma	Robusta	Baja	21,5 \pm 4,2 ^a	43,1 \pm 11,0 ^a	12,0 \pm 3,7 ^a	25,6 \pm 5,9 ^a
Novo Destino	Bourbon + Caturra	Alta	20,6 \pm 6,5 ^a	20,3 \pm 7,4 ^a	3,7 \pm 1,5 ^a	13,7 \pm 1,4 ^b
CIAT/STP-BECI	Arabica	Media	20,8 \pm 4,9 ^a	28,1 \pm 9,9 ^a	10,4 \pm 3,9 ^a	23,2 \pm 4,2 ^{ab}
Poiso Alto	Robusta	Alta	27,6 \pm 7,6 ^a	38,5 \pm 10,5 ^a	8,0 \pm 3,0 ^a	22,5 \pm 3,0 ^{ab}
Bem-Posta	Catura roja	Alta	17,3 \pm 4,5 ^a	30,3 \pm 10,7 ^a	8,5 \pm 3,9 ^a	17,0 \pm 2,6 ^{ab}
São Nicolau	Robusta	Alta	21,9 \pm 5,1 ^a	26,1 \pm 6,8 ^a	5,9 \pm 2,7 ^a	14,7 \pm 3,1 ^{ab}
São Carlos	Catuai roja	Alta	27,2 \pm 8,0 ^a	40,1 \pm 10,7 ^a	11,4 \pm 4,4 ^a	15,6 \pm 2,9 ^{ab}

†Las medias seguidas de la misma letra en la columna no son significativamente diferentes por la prueba Tukey HSD ($p=0,05$). Zona baja (68 m altitud), zona media (324 m altitud) e zona alta (>562 m altitud).

Se observó oviposición en todos los meses del año 2018 en Bem-Posta (Figura 11), São Carlos (1051 m altitud) (Figura 13), en CIAT/STP-BECI (324 m altitud) (Figura 14), pero no se observó oviposición en octubre en Novo Destino (647 m altitud) (Figura 12). En

2019, no se observó oviposición en septiembre y diciembre en el CIAT/STP-BECI (324 m altitud) (Figura 14), en junio, julio, agosto y diciembre en Bem-Posta (744 m altitud) (Figura 11), en junio en Novo Destino (647 m altitud) (Figura 12) y en septiembre en São Carlos (1051 m altitud) (Figura 13).

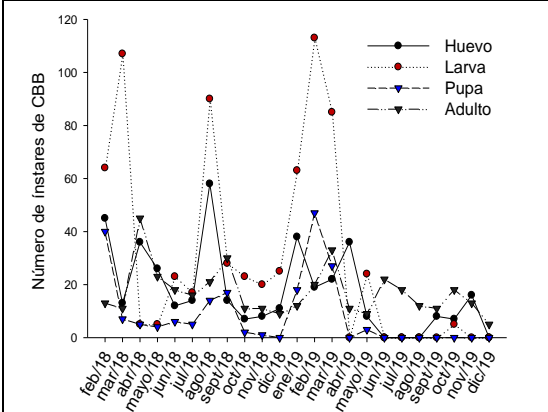


Figura 11: Número de estadios inmaduros y adultos de la broca del café observados mensualmente en 20 frutos de café en Bem-Posta durante los años 2018 a 2019.

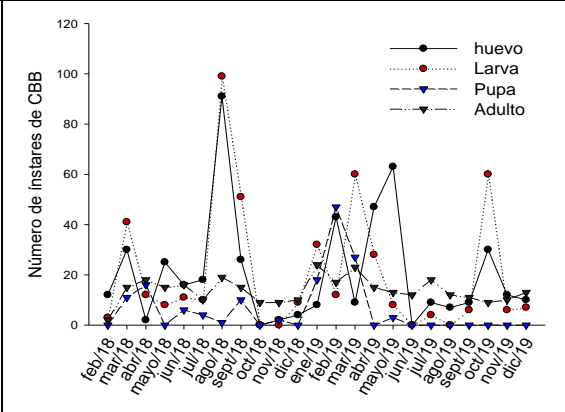


Figura 12: Número de estadios inmaduros y adultos de la broca del café observados mensualmente en 20 frutos de café en Novo Destino durante los años 2018 a 2019.

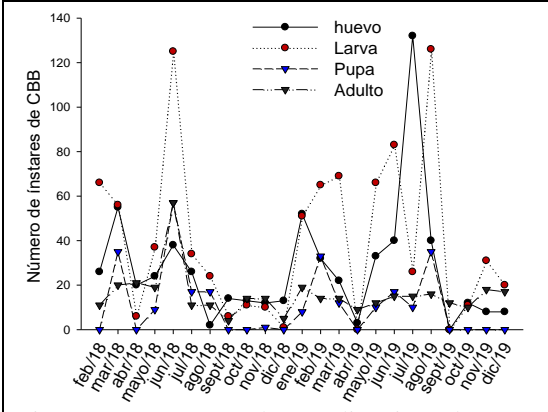


Figura 13: Número de estadios inmaduros y adultos de la broca del café observados mensualmente en 20 frutos de café en São Carlos durante los años 2018 a 2019.

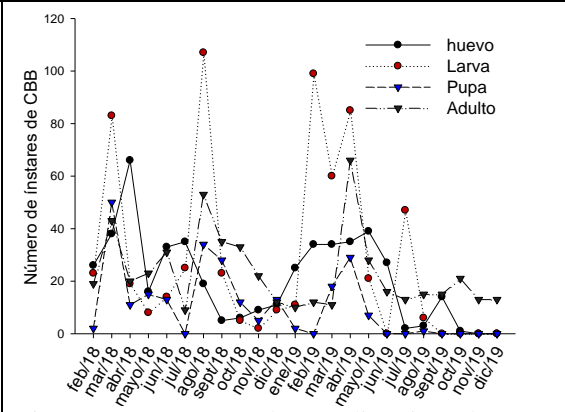


Figura 14: Número de estadios inmaduros y adultos de la broca del café observados mensualmente en 20 frutos de café en CIAT/STP-BECI durante los años 2018 a 2019.

Notas: estados inmaduros (huevo, larva y pupa) y adultos de *Hypothenemus hampei* en *C. arabica* L.

Se verificó la presencia de larvas en todos los meses del año 2018 en Bem-Posta (744 m altitud) (Figura 11) y São Carlos (1051 m altitud) (Figura 13), pero no se registró en octubre y noviembre en Novo Destino (647 m altitud) (Figura 12) y en diciembre en CIAT/STP-BECI (324 m altitud) (Figura 14). En 2019, no se registraron larvas de abril a diciembre en Bem-Posta (744 m altitud) (Figura 11), en junio y agosto en Novo Destino (647 m altitud) (Figura 12), en abril y septiembre en São Carlos (1051 m altitud) (Figura 13), y en octubre a diciembre en CIAT/STP-BECI (324 m altitud) (Figura 12).

El mayor número de pupas se registró en febrero de ambos años en Bem-Posta (744 m altitud) (Figura 11), en marzo y abril de 2018 y en febrero y marzo de 2019 en Novo Destino (647 m altitud) (Figura 12), pero no se registraron pupas en diciembre de 2018 y en abril a diciembre de 2019 en Bem-Posta (744 m altitud) (Figura 11), en febrero, mayo, octubre y diciembre del año 2018 y en abril a diciembre de 2019 en Novo Destino (647 m altitud) (Figura 12), en febrero, abril, septiembre, octubre y diciembre del año 2018 y 2019 en São Carlos (1051 m altitud) (Figura 13). No se registraron pupas en julio del año 2018 y en febrero, junio, julio, septiembre, octubre, noviembre y diciembre de 2019 en CIAT/STP-BECI (324 m altitud) (Figura 14). Se observaron adultos todos los meses durante el ensayo. Los datos medios de los estados inmaduros (huevo, larva y pupa) y los adultos de la broca del café se encontraron en (Tablas A2.8, A2.9, A2.10 y A2.11 en los Apéndices).

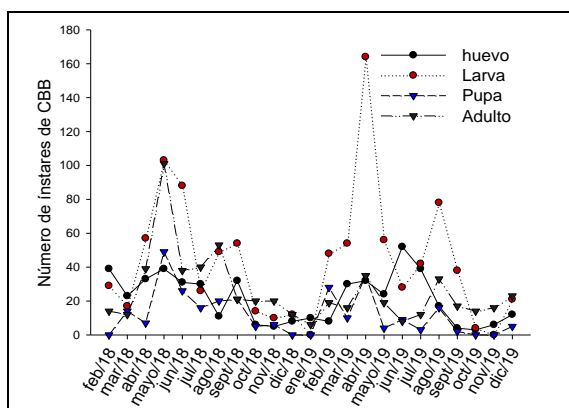


Figura 15: Número de estadios inmaduros y adultos de la broca del café observados mensualmente en 20 frutos de café en Brigroma durante los años 2018 a 2019.

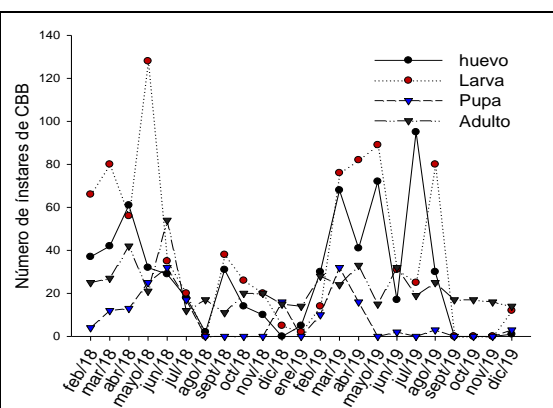


Figura 16: Número de estadios inmaduros y adultos de la broca del café observados mensualmente en 20 frutos de café en Poiso Alto durante los años 2018 a 2019.

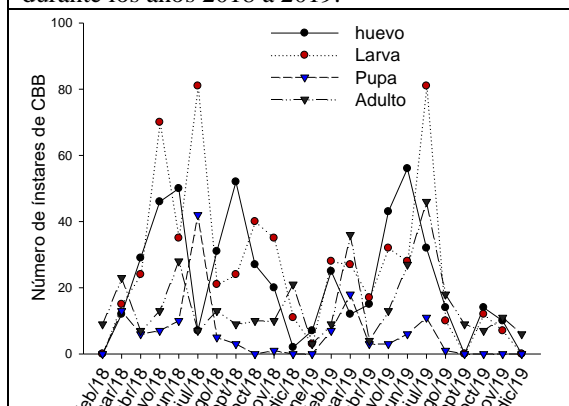


Figura 17: Número de estadios inmaduros y adultos de la broca del café observados mensualmente en 20 frutos de café en Brigroma durante los años 2018 a 2019.

Notas: estados inmaduros (huevo, larva y pupa) y adultos de *Hypothenemus hampei* en *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta).

No hubo oviposición en Poiso Alto (562 m altitud) en diciembre de 2018 y en septiembre, octubre y noviembre de 2019 (Figura 16), en São Nicolau (914 m altitud) en febrero de 2018 y en septiembre y diciembre de 2019 (Figura 17). La oviposición se observó en el Brigroma (68 m altitud) en todos los meses de ambos años (Figura 15).

No se encontraron larvas en Poiso Alto (562 m altitud) en agosto de 2018 y en septiembre, octubre y noviembre de 2019 (Figura 16), en São Nicolau (914 m altitud) en febrero de 2018 y en septiembre y diciembre de 2019 (Figura 17). En Brigroma (68 m altitud) se observó la presencia de larvas en todos los meses del año 2018, pero no en enero y diciembre del año 2019 (figura 15).

El mayor número de pupas se observó en el mes de mayo de 2018 y en abril del año 2019. No se registraron pupas en los meses de febrero y diciembre del año 2018 y en los meses de enero, octubre y noviembre de 2019 en Brigroma (68 m altitud) (figura 15). El mayor número de pupas se registró en mayo y junio de 2018 y en marzo de 2019. No se registraron pupas en agosto, septiembre, octubre y noviembre del año 2018 y en febrero, mayo, junio, julio, septiembre, octubre y noviembre de 2019 en Poiso Alto (562 m altitud) (Figura 16), pero no se registraron en febrero, octubre y diciembre del año 2018 y en enero, septiembre, octubre, noviembre y diciembre de 2019 en São Nicolau (914 m altitud) (Figura 17). Se observaron adultos todos los meses durante el ensayo. Los datos medios de los estados inmaduros (huevo, larva y pupa) y los adultos de la broca del café se encontraron en (Tablas A2.8, A2.9, A2.10 y A2.11 en los Apéndices).

Identificación molecular de *Beauveria bassiana*

Para determinar la posición filogenética de los aislados de *B. bassiana*, se realizaron análisis filogenéticos basados en los datos de la secuencia ITS. La amplificación por PCR de las regiones ITS del ADNr de los hongos entomopatógenos aislados generó un único producto para todos los aislados de aproximadamente 550 pb. Los resultados de BLAST mostraron que las secuencias ITS eran idénticas en un 99-100% (valor e 0,0, Query Cover 99%) a los aislados de *B. bassiana*. En el árbol filogenético, observamos que todas las secuencias de *B. bassiana* obtenidas de los aislados B-Bug; VKBb03 18S; bbR1f y LPSC 1226 de la isla de Santo Tomé se agruparon con cepas fúngicas de *B. bassiana* de otras regiones geográficas (Figura 18).

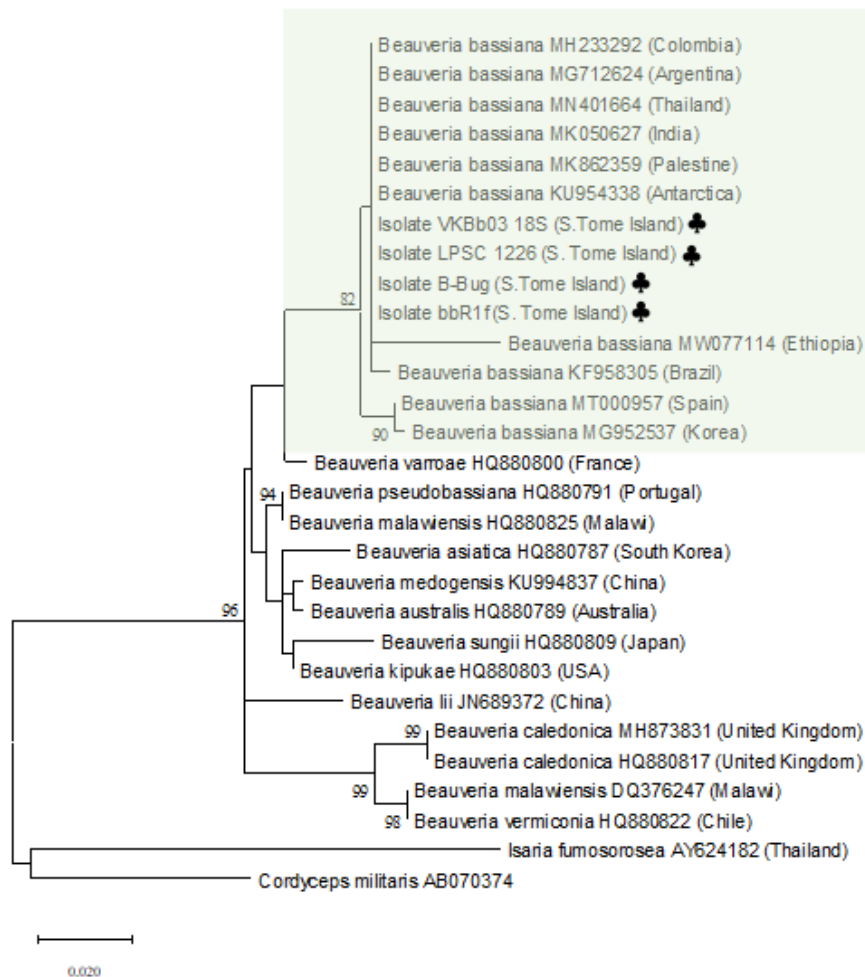


Figura 18. Relações filogenéticas de *Beauveria bassiana* isolados de bagas de café infestadas com base no alinhamento das sequências (550 bp) da região ITS.

Árbol filogenético resultante de los análisis de máxima verosimilitud de la región ITS para las especies de *Beauveria bassiana*. Los valores de Bootstrap superiores a 50 se indican en los nodos. Las nuevas secuencias (♣) y las secuencias de *B. bassiana* incluidas en este estudio se indican en color. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA X.

Atrayentes en las trampas caseras para la captura masiva de *Hypothenemus hampei*

El tratamiento D1A2 mostró el mayor número de adultos capturados por semana ($47,4 \pm 19,2$) y el tratamiento D2A1 mostró el menor número de adultos capturados ($7,5 \pm 4,9$). Se observaron diferencias significativas ($p < 0,001$) entre D1A2 y los restantes tratamientos, pero no entre D1A1 ($15,9 \pm 4,0$) y D2A3 ($14,1 \pm 7,1$). No hay diferencias significativas ($p = 0,99$)

entre estos dos tratamientos, así como entre D2A2 ($30,0 \pm 17,6$) y D1A3 ($23,0 \pm 8,1$) ($p=0,69$) (Figura 19).

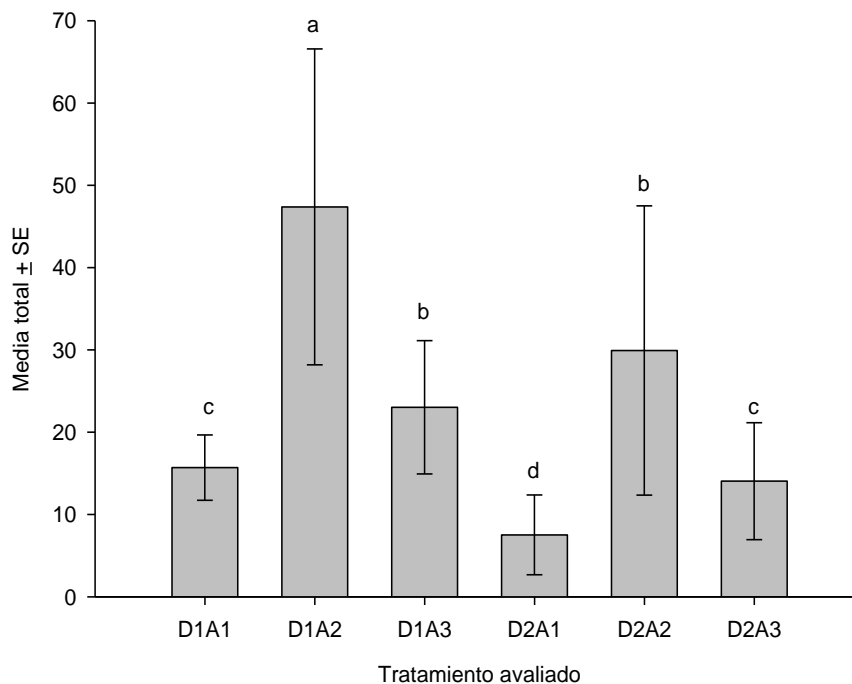


Figura 19: Número de adultos de la broca del café capturados por el tratamiento, trampa transparente cebada con etanol + 40 g de café robusta maduro (D1A1), trampa transparente cebada con proporción 3:1 de metanol y etanol (D1A2), trampa transparente cebada con etanol + 10 g de café arábica tostado molido (D1A3), trampa roja cebada con etanol + 40 g de café robusta maduro (D2A1), trampa roja cebada con proporción 3: 1 metanol y etanol (D2A2) y trampa roja cebada con etanol + 10 g de café Arábica tostado molido (D2A3) durante 12 meses consecutivos en Bem-Posta, Novo Destino y Poiso Alto (Isla de Santo Tomé) entre agosto de 2018 y julio de 2019. Barra seguida de la misma letra no son significativamente diferentes por la prueba de Tukey HSD ($p < 0,05$).

El tratamiento D1A2 capturó una media de $215,9 \pm 46,6$ adultos/trampa en agosto, septiembre $412,5 \pm 70,6$, octubre $260,7 \pm 56,4$, mayo $345,2 \pm 105,4$, junio $310,3 \pm 53,2$ y julio $375,5 \pm 82,8$. En cambio, D2A1 capturó una media de $30,4 \pm 16,3$ adultos/trampa en agosto, febrero $54,8 \pm 24,7$, mayo $38,1 \pm 95,9$ y junio $35,9 \pm 159,1$. Se encontraron diferencias altamente significativas ($F = 33,734$; $df=1059$; $p < 0,000$) en la captura mensual de adultos con las diferentes trampas (Figura 20). La trampa D2 también capturó otros insectos/escarabajos, mientras que la trampa D1 capturó *Ceratitidis capitata*.

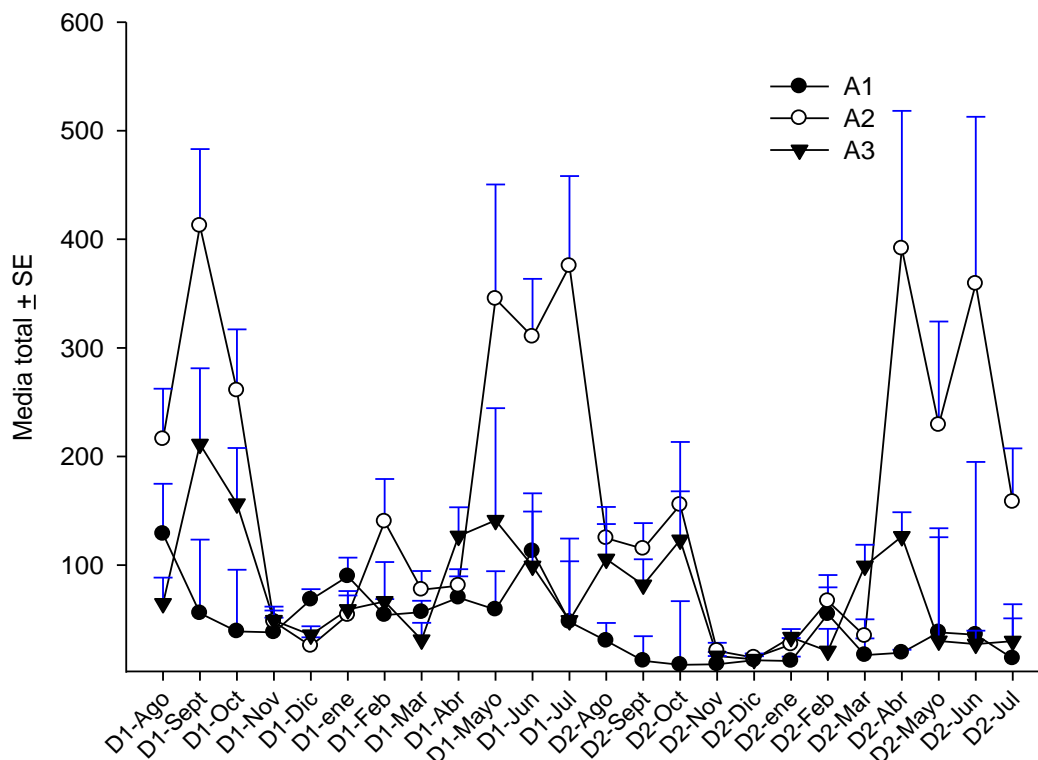


Figura 20: La captura mensual de adultos de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en "Bem-Posta", "Novo Destino" y "Poiso Alto" durante (agosto de 2018 a julio de 2019) mediante una trampa transparente (D1) y roja (D2) cebada con etanol + 40 g de café robusta maduro (A1); proporción 3:1 de metanol y etanol (A2) y etanol + 10 g de café arábica tostado molido (A3).

La mayor captura de adultos de la broca registrada con la trampa D1 fue en Novo Destino con una media de $133,4 \pm 60,8$ adultos capturados por trampa al mes, $118,0 \pm 47,9$ en Bem-Posta y con la trampa D2 se registró en Poiso Alto $145,3 \pm 99,9$. La captura más baja se obtuvo con D2 $32,0 \pm 15,0$ adultos capturados por trampa al mes en Bem-Posta. Hubo diferencias significativas ($p < 0,001$) entre las trampas D1 y D2. La mezcla de etanol y metanol (A2) tuvo la mayor captura mensual, mientras que el alcohol mezclado con café Robusta maduro (A1) fue el que menos capturó. Se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) en la captura mensual de adultos en los distintos tratamientos. No se encontraron diferencias significativas ($p = 0,11$) entre los tratamientos A1 y A3 (Tabla 8). Hubo una interacción significativa ($p = 0,000$) entre la trampa y la localidad (altitud/microclima/variedad), pero ninguna interacción significativa ($p = 0,22$) entre el modelo de trampa y el atrayente en la captura de la broca (Tabla 8, Tabla A3.10. en los apéndices). Las mayores capturas mensuales se registraron en Poiso Alto $112,3 \pm 75,6$ adultos por trampa al mes y con diferencias significativas ($p = 0,03$) para Novo Destino que capturó $93,7 \pm 47,0$ y Bem-Posta que tuvo $75,0 \pm 37,6$ (Tabla 8). El número total de CBB capturadas fue de 97218 hembras.

Tabla 8. Media total y adultos promedio de la broca del café capturados mensualmente, trampas (D1 y D2) y diferentes atrayentes (A1, A2 y A3) durante 12 meses consecutivos en Bem-Posta, Novo Destino y Poiso Alto, Santo Tome de agosto 2018 a julio de 2019.

Localidades	Media de adultos capturados mensualmente					
	Media total Capturado	Trampas		Atrayentes		
		D1	D2	A1	A2	A3
Bem-Posta	75,0±37,6 ^b	118,0±47,9 ^a	32,0±15,0 ^c	33,2±12,2 ^c	125,2±57,3 ^a	66,5±21,5 ^b
Novo Destino	93,7±47,0 ^{ab}	133,4±60,8 ^a	54,0±21,4 ^c	48,2±18,1 ^c	150,2±69,0 ^a	82,7±33,1 ^b
Poiso Alto	112,3±75,6 ^a	79,3±36,3 ^b	145,3±99,9 ^a	64,1±23,4 ^b	194,4±117,2 ^a	72,7±38,8 ^b

†ANOVA (localidades: F=3,410; $df=1059$; $p<0,033$; trampa: F=14,872; $df=1059$; $p<0,000$; trampa*localidad: F=16,177; $df=1059$; $p<0,000$; atrayente: F=33,734; $df=1059$; $p<0,000$ e trampa*atrayente: F=1,533; $df=1059$; $p<0,216$).

‡Las medias seguidas de la misma letra en la columna no son significativamente diferentes por la prueba Tukey HSD ($p<0,05$).

No hubo correlación positiva entre el número de brocas capturadas y el nivel de infestación ($r = 0,10$, $df=155$, $P = 0,56$).

La información disponible sobre de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleópteros: Curculionidae, Scolytinae), y las observaciones del presente trabajo, llevan a la conclusión de que:

1. La dinámica de la población de la broca del café y el nivel de infestación muestran que hay períodos más apropiados para adoptar prácticas destinadas a reducir la población de esta plaga en la isla de Santo Tomé.
2. Se ha demostrado que la especie de *Coffea arabica* L. es más susceptible al ataque de la broca del café que el *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta).
3. La actividad de los hongos entomopatógenos, *B. bassiana* fue más notable entre finales de mayo a octubre. Su presencia abre nuevas perspectivas para el control biológico de esta importante plaga del café.
4. La broca del café encuentra condiciones favorables en las zonas estudiadas y probablemente en las otras parcelas de la isla de Santo Tomé.
5. La mayor captura de la broca del café ocurrió entre finales de mayo y octubre. En general, estos resultados amplían la comprensión del uso de trampas como una estrategia útil para el manejo integrado de plagas (MIP) de la broca del café.

UNIVERSIDAD DE LEÓN
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Programa de Doctorado en Ingeniería de Biosistemas

TESE DE DOUTORAMENTO

BIOECOLOGIA DA BROCA-DO-CAFÉ, *HYPOTHENEMUS HAMPEI*
(FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE, SCOLYTINAE), NA
ILHA DE SÃO TOMÉ

BIOECOLOGY OF THE COFFEE BERRY BORER, *HYPOTHENEMUS*
***HAMPEI* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE,**
SCOLYTINAE), IN SAO TOME ISLAND

Miclay dos Reis Pereira Carvalho

Índice Geral

Índice Geral Índice Geral	XI
El objeto de la Investigación	- 1 -
Metodología de la Investigación	- 2 -
Resultados y Conclusiones.....	- 14 -
Índice Geral.....	i
Índice de figuras.....	vii
Índice de tabelas.....	ix
Índice de apêndices	x
1. Capítulo I.....	1
1.1. Introdução.....	1
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo geral	3
1.2.2. Objetivos específicos.....	3
1.3. Principais hipóteses do trabalho	3
1.4. Revisão bibliográfica.....	4
1.4.1. Importância económica da <i>Hypothenemus hampei</i>	4
1.4.2. Taxonomia.....	4
1.4.3. Origem e distribuição	5
1.4.4. Aspetos morfológicos e biológicos	5
1.4.5. Fatores que influenciam a infestação da <i>Hypothenemus hampei</i>	10
1.4.6. Inimigos naturais	11
1.4.7. Métodos de manejo integrado contra a <i>Hypothenemus hampei</i>	14
1.5. Referências bibliográficas	19
2. Capítulo II	34
Bioecologia da broca-do-café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), na ilha de São Tomé	34

Resumo.....	34
Abstract	35
2.1. Introdução.....	36
2.2. Material e Métodos.....	37
2.2.1. Clima.....	37
2.2.2. Caracterização das localidades.....	38
2.2.3. Determinações analíticas.....	39
2.2.4. Análise estatística.....	43
2.3. Resultados	45
2.3.1. Níveis de infestação de campo de <i>Hypothenemus hampei</i>	45
2.3.2. Penetração dos frutos por <i>Hypothenemus hampei</i>	47
2.3.3. Estados imaturos e adultos da <i>Hypothenemus hampei</i> durante o desenvolvimento do fruto de café.....	48
2.3.5. Identificação molecular da <i>Beauveria bassiana</i>	52
2.4. Discussão.....	54
2.5. Conclusões.....	57
2.6. Referências bibliográficas	58
3. Capítulo III.....	64
Captura em massa da broca-do-café, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) na ilha de São Tomé	64
Resumo.....	64
Mass trapping control the coffee berry borer, <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari, 1867) in Sao Tome Island	65
Abstract	65
3.1. Introdução.....	66
3.2. Material e Métodos.....	67
3.2.1. Armadilhas	67
3.2.2. Atraentes	68

3.2.3. Delineamento experimental	68
3.2.4. Determinações analíticas.....	69
3.2.5. Análise estatística.....	69
3.3. Resultados	70
3.3.1. Atraente em armadilhas caseiras iscada para a captura em massa de <i>Hypothenemus hampei</i>	70
3.4. Discussão.....	73
3.5. Conclusões.....	75
3.6. Referências bibliográficas	76
4 Capítulo IV.....	81
4.1. Conclusões finais.....	81
4.2. Apêndices	82

Índice de figuras

Figura 1: Tipos de armadilhas para a broca-do-café: 1. <i>Brocap</i> ; 2. <i>ECOIAPAR</i> ; 3. <i>Fiesta</i> . Adaptado de (Barrera et al., 2006).....	Erro! Marcador não definido.
Figura 2: Armadilha ECOIABAR para a broca-do-café. Adaptado de (Barrera et al., 2006).....	17
Figura 3: Característica das parcelas de café selecionadas para estudo de Bioecologia da Broca-do-café. Mapa elaborado por Fernandes (2019).	38
Figura 4: Broca-do-café na posição AB (E) e broca-do-café na posição CD com suas descendências (F). Fotos tiradas por (Aristizábal et al., 2017).	39
Figure 5. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de Bem-Posta entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.	465
Figure 6. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de Novo Destino entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	465
Figure 7. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de São Carlos entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.	465
Figure 8. Média de frutos por ramos, nível de infestação e e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de CIAT/STP-BECI entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	46
Figure 9. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de Brigroma entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.	47
Figure 10. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de Poiso Alto entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.	47
Figure 11. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de São Nicolau entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	47
Figura 12: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em Bem-Posta entre anos de 2018 e 2019.....	49

Figura 13: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em Novo Destino entre anos de 2018 e 2019.	49
Figura 14: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em São Carlos entre anos de 2018 e 2019.....	50
Figura 15: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente no CIAT/STP-BECI entre anos de 2018 e 2019.....	508
Figura 16: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em Brigroma entre anos de 2018 e 2019.....	50
Figura 17: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em Poiso Alto entre anos de 2018 e 2019.....	50
Figura 18: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em São Nicolau entre anos de 2018 e 2019.....	50
Figura 19. Relações filogenéticas de <i>Beauveria bassiana</i> isolados de frutos de café infestados com base no alinhamento das sequências (550 bp) da região ITS.....	52
Figura 20: Tipos de armadilhas caseiras para capturar adultos de broca do café. D1 = armadilha transparente com duas aberturas laterais retangulares; D2 = armadilha vermelha com uma abertura lateral retangular. Fotos tiradas pelo autor.....	67
Figura 21: Número de adultos CBB capturados por tratamento por semana, armadilha transparente iscada com etanol + 40 g de café Robusta maduro (D1A1), armadilha transparente iscada com proporção 3:1 de metanol e etanol (D1A2), armadilha transparente iscada com etanol + 10 g de café Arábica torrado moído (D1A3), armadilha vermelha iscada com etanol + 40 g de café Robusta maduro (D2A1), armadilha vermelha iscada com proporção 3:1 metanol e etanol (D2A2) e armadilha vermelha isca com etanol + 10 g de café Arábica torrado moído (D2A3) durante 12 meses consecutivos em Bem-Posta, Novo Destino e Poiso Alto (Ilha de São Tomé) entre Agosto de 2018 e Julho de 2019. A média seguida da mesma letra na coluna não é significativamente diferente pelo teste Tukey HSD ($p < 0,05$).....	69
Figura 22: Captura mensal de adultos CBB (<i>Hypothenemus hampei</i>) em "Bem-Posta", "Novo Destino" e "Poiso Alto" durante (Agosto 2018 a Julho 2019) por armadilha transparente (D1) e vermelha (D2) isca com etanol + 40 g de café Robusta maduro (A1); proporção 3:1 de metanol e etanol (A2) e etanol + 10 g de café Arábica torrado moído (A3).....	70

Índice de tabelas

Tabela 1. Características agroclimática anual das parcelas de café selecionadas.	36
Tabela 2. Características das parcelas de café selecionadas para estudo da Bioecologia.....	37
Tabela 3. Detalhes dos isolados de <i>Beauveria bassiana</i> obtidos neste estudo () e das estirpes que representam espécies de <i>Beauveria</i> recuperadas do GenBank e utilizadas em análises filogenéticas.....	42
Tabela 4. Nível de infestação da broca-do-café (CBB), posição de CBB (AB-CD) e mortalidade da CBB com evidência de fungo entomopatogénico (EF), em Bem-Posta, Novo Destino, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos, São Nicolau, and Poiso Alto, na ilha de São Tomé entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.	44
Tabela 5. Número médio de estados imaturos (ovos, larvas e pupas) e adultos da broca-do-café observados em 20 frutos de café em Bem-Posta, Novo Destino, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos, São Nicolau, and Poiso Alto, na ilha de São Tomé entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	47
Tabela 6. Características das parcelas de café selecionadas para instalação de armadilha.....	66
Tabela 7. Detalhes de experimento e tratamentos	68
Tabela 8. Média total e média de adultos da broca-do-café capturados mensalmente, em função de armadilhas (D1 e D2) e atraentes (A1, A2 e A3) durante 12 meses consecutivos em Bem-Posta, Novo Destino e Poiso Alto, São Tomé entre Agosto 2018 á Julho de 2019.....	71
Tabela 9. Correlação de Pearson entre números capturados e nível de infestação da broca-do-café em Bem-Posta.....	71

Índice de apêndices

Tabela A1.1.: Médias de dados climáticos mensais de temperatura nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante anos de 2018 a 2019.....	79
Tabela A1.2.: Médias de dados climáticos mensais precipitação nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante anos de 2018 a 2019.....	79
Tabela A1.3.: Médias de dados climáticos mensais de humidade relativa do ar nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante anos de 2018 a 2019.....	80
Tabela A2.1.: Presença de floração nas parcelas experimental durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.	80
Tabela A2.2.: Números de frutos contabilizados por um ramo representativo em 15 árvores que contenha 30-100 frutos em desenvolvimento mensalmente nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.	81
Tabela A2.3.: Ficha de registro de levantamento mensal da broca-do-café por localidade.	82
Tabela A2.4.: Níveis de infestação mensais da broca-do-café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	83
Tabela A2.5.: Percentagem da broca-do-café na posição (AB) nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	84
Tabela A2.6.: Percentagem da broca-do-café na posição (CD) nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	85
Tabela A2.7.: Resumo da análise de variância para percentagem frutos verdes infestados com evidencia de fungo entomonopatogénico nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	86

Tabela A2.8.: Números médios de ovos da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	87
Tabela A2.9.: Números médios de larvas da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	88
Tabela A2.10.: Números médios de pupas da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	89
Tabela A2.11.: Números médios de adultos da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	90
Tabela A3.1.: Resumo da análise de variância para percentagem de adultos de broca-do-café no posicionamento AB.....	91
Tabela A3.2.: Resumo da análise de variância para percentagem de adultos de broca-do-café no posicionamento CD.....	91
Tabela A3.3.: Resumo da análise de variância para percentagem da mortalidade da broca-do-café associado com o fungo entomonopatogénico	91
Tabela A3.4.: Resumo da análise de variância para nível de infestação da broca-do-café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	92
Tabela A3.5.: Resumo da análise de variância para nível de infestação da broca-do-café em função de altitudes durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	92
Tabela A3.6.: Resumo da análise de variância para números de ovos da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	92
Tabela A3.7.: Resumo da análise de variância para números de larvas da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	93
Tabela A3.8.: Resumo da análise de variância para números de pupas da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto,	

CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	93
Tabela A3.9.: Resumo da análise de variância para números de adultos da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.....	93
Tabela A3.10.: Resumo da análise de variância para número de adultos de broca-do-café capturado.....	94
Tabela A3.11.: Resumo da análise de variância para número de adultos de broca-do-café capturado por parcela com diferente armadilha.....	95
Tabela A3.12.: Resumo da análise de variância para número de adultos de broca-do-café capturado por parcela com diferentes atraentes.....	95

1. Capítulo I

1.1. Introdução

O café continua a ser a cultura de exportação mais importante para muitos países, tanto em termos de rendimentos como do seu impacto na vida socioeconómica do povo rural envolvido na sua produção. Muitos países produtores africanos dependem quase inteiramente das receitas cambiais das exportações de café, bem como a população rural envolvida na produção, transformação e comercialização de café para exportações (Kucel et al., 2009). A agricultura é o sector económico mais importante da ilha de São Tomé e Príncipe da África Ocidental, localizada na linha do Equador, no Golfo da Guiné. Aqui, o café é a sexta cultura de exportação mais importante depois do óleo de palma, cacau, copra, óleo de copra e pimenta, florescendo nos solos vulcânicos e no clima equatorial (INE, 2020). Nos últimos anos, tem-se notado uma diminuição significativa na produção da cultura do café devido a problemas fitossanitários (Espírito Santo, 2008), especialmente decorrentes dos estragos diretos e indiretos provocados por diferentes pragas. Entre as principais pragas da cultura no mundo, está a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) (Bustillo-Pardey, 2006; Messing, 2012; Vega e Hofstetter, 2015), com prejuízos superiores a 500 milhões de dólares anuais (Infante, 2018). Esta praga é originária da África Central (Waterhouse, 1998; Vega et al., 2009; Gauthier, 2010) e foi descoberta pela primeira vez em São Tomé e Príncipe em 1929 (Kaden, 1930), mas atribuindo-lhe reduzida importância económica (Carvalho, 1968).

Os prejuízos causados pela broca-do-café são determinados pelo ataque aos frutos de todas as espécies do género *Coffea*, em todos os estádios de maturação. Os estragos diretos resultam da queda de frutos no início da sua formação, da destruição total ou parcial das sementes e da depreciação no valor da bebida (Carvalho, 1968; Waterhouse, 1998). O controlo desta praga é efetuado de forma diferenciada dependendo do sistema de cultivo (Bustillo-Pardey, 2006). Em São Tomé e Príncipe, a plantação de café orgânico é predominante e a Cooperativa de Exportação de Café Biológico (CECAFEB) tem mostrado um enorme crescimento através da expansão do mercado interno. Na CECAFEB, o *Coffea arabica* L. e *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta), são cultivados em cerca de 556 hectares, 552 agricultores produziram cerca de 86.300 kg de cerejas avaliadas em 48.328 mil euros na colheita

de 2018/2019. Apesar do contexto económico favorável, o CECAFEB apresenta algumas dificuldades, especialmente no controlo biológico.

Apesar do contexto económico favorável, a CECAFEB apresenta algumas dificuldades, especialmente no manejo fitossanitário da cultura, incluindo o controlo da broca-do-café. A inexistência de técnicas eficientes de manejo e compatíveis com o modo de produção biológico tem sido uma séria limitação à cultura. De acordo com Silva (1958), o combate a este coleóptero é particularmente difícil nas regiões em que há sempre frutos de café maduros em condições de ser parasitada, como é o caso de São Tomé e Príncipe. Segundo Van Der Vossen (2005), o mercado consumidor torna-se cada vez mais exigente por produtos livres de resíduos químicos. Além disso, é essencial a conservação do meio ambiente e a minimização dos estragos causados pela broca-do-café.

A adoção de técnicas alternativas para o manejo integrado da broca-do-café, como o uso de feromonas visando uma melhor monitorização dos adultos e um possível controlo através da captura em massa seria bastante oportuno, além de vantajoso do ponto de vista ambiental. No entanto, para o manejo da broca-do-café, há necessidade de se conhecer a bioecologia do inseto e também de seus inimigos naturais, com informações específicas para cada país produtor do café (Ferreira et al., 2003).

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho consiste em avaliar, nas condições da ilha de São Tomé, a bioecologia da broca-do-café, índice de infestação, identificação de inimigos naturais, bem como melhorar a eficiência de armadilhas para captura em massa dos adultos dessa praga.

1.2.2. Objetivos específicos

1. Avaliar a bioecologia da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) na ilha de São Tomé;
2. Avaliar o efeito de captura em massa dos adultos da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae); na ilha de São Tomé

1.3. Principais hipóteses do trabalho

Hipótese A- Não há interação entre o modelo, cor de armadilha e tipos de atraentes na captura em massa de adultos da broca-do-café.

Hipótese B- A variedade do café não afeta a dinâmica populacional da broca-do-café.

Hipótese C- Fatores ambientais não afetam a dinâmica populacional de fungos entomopatogénicos.

1.4. Revisão bibliográfica

1.4.1. Importância económica da *Hypothenemus hampei*

A broca-do-café, *H. hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), por causar estragos aos frutos que são a parte economicamente mais importante da cultura do café, é considerada a principal praga da cultura, sendo encontrada em quase todos os países produtores (Bustillo-Pardey, 2006; Vega et al., 2012). O inseto alimenta-se das sementes do café, causando prejuízos quantitativos, como a queda prematura de frutos e perda de peso dos grãos, e qualitativos, como a perda do valor comercial do produto devido aos grãos perfurados (Teixeira et al., 2006; Burbano et al., 2011). O ataque aos frutos ocorre em qualquer estágio de maturação, desde verdes até maduros ou secos (Bustillo e Benavides, 1994; Bustillo, 2016).

Os prejuízos causados pela broca-do-café variam de um país para outro e de região para região (Wegbe et al., 2003). Dependendo do nível de infestação as perdas podem chegar a 90% de frutos perfurados (Jaramillo et al., 2006), podendo mesmo chegar a 100% de frutos infestado, como sucede na região da África Oriental (Rhodes e Mansingh, 1986; Mugo e Kimemia, 2011). Além disso, devido ao orifício de entrada da broca-do-café no fruto, ocorre a entrada de diversos microrganismos (Vijayalakshmi et al., 2013), incluindo fungos produtores de toxina que depreciam a qualidade da semente e podem afetar a saúde humana (Vega et al., 1999; Pérez et al., 2003; Gama et al., 2006; Taniwaki, 2007; Silva et al., 2020).

1.4.2. Taxonomia

A broca-do-café, *H. hampei* (Ferrari, 1987), pertence à ordem Coleoptera, família Curculionidae, subfamília de Scolytinae, género *Hypothenemus* e espécie *H. hampei* (Barrera, 2002; Vijayalakshmi et al., 2013). Esta família também inclui outras espécies famosas, como: *Hypothenemus obscurus* (Fabricius), *H. areccae* (Hornung), *H. birmanus* (Eichhoff), *H. concolor*, *H. distinctus*, *H. eruditus*; *H. interstitialis* (Hopkins), *H. javanus* (Eggers), *H. dissimilis* (Zinnernann), *H. grandis* Schedl, *H. liberiensis* Hopkins, *H. opacus* (Eichhoff), *H. seriatus* (Eichhoff), *H. plumeriae* (Nordlinger) e *H. crudiae* (Panzer) (Wood, 2007; Vega e Hofstetter, 2015). Existem mais de 200 espécies do género *Hypothenemus* ainda por identificar corretamente (Wood, 2007).

1.4.3. Origem e distribuição

O género *Hypothenemus* foi descrito pela primeira vez por Ferrari em 1867 a partir de espécimes obtidos em café comercial, mas a espécie foi inicialmente colocada no género *Stephanoderes* (Waterhouse, 1998; Vega e Hofstetter, 2015). Parece não haver registro do país de origem do material, mas em 1867, os grãos infestados só poderiam ter vindo da África ou da Arábia Saudita, visto que a *H. hampei* ainda não havia sido relatada em outros continentes (Waterhouse, 1998). A referência inicial da espécie sendo reconhecida como praga na África aconteceu em 1901 no Gabão (Campos-Almengor, 2015), mas atualmente é encontrada em todas as regiões produtora de café, nomeadamente nos continentes africano, americano, asiático e Oceânia (Burbano et al., 2011; Bustillo, 2016).

1.4.4. Aspetos morfológicos e biológicos

A broca-do-café sofre metamorfose completa (holometabolia) passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto (Cárdenas et al., 2007). É considerada uma praga monófoba do café (Bustillo-Pardey, 2006), mas já foi registrada alimentando-se em outras plantas como Castanha-do-Pará, *Bertholletia excelsa* e macadâmia (Gumier-Costa, 2009; Constantino et al., 2011^a; Castro et al., 2017). Entretanto, um estudo realizado em Porto Rico mostra que a broca-do-café pode ocasionalmente utilizar frutos de outras plantas como abrigo, mas não há evidências de que sejam utilizados hospedeiros alternativos como fonte de alimento ou local de reprodução (Vega et al., 2020). Essa espécie possui hábito endofitito, permanecendo a maior parte do seu ciclo de vida no interior do fruto de café. Além disso, o ciclo desse inseto é multivoltino com sobreposição de gerações, o que resulta na presença de indivíduos de diferentes idades e estádios de desenvolvimento dentro do mesmo fruto (Waterhouse, 1998; Vega e Hofstetter, 2015). Durante todo o período de desenvolvimento de frutos, no estado de São Paulo, podem ocorrer dez gerações da broca-do-café dependendo das condições ambientais (Giraldo-jaramillo et al., 2018). Jaramillo (2016) também constatou 4,6 a 9,3 gerações anuais da broca-do-café em São Paulo.

1.4.4.1. Adulto

O inseto, na sua forma adulta, é um pequeno besouro de coloração escura e brilhante, tendo o corpo cilíndrico, robusto, recurvado para a região posterior, com o primeiro seguimento

do tórax bem desenvolvido e recobrimdo a cabeça. O corpo é revestido de escamas e cerdas, com os élitros sulcados longitudinalmente (López-Guillén et al., 2011; Vega e Hofstetter, 2015). Há um par de espiráculos no mesotórax, localizados na membrana inter-segmental entre o protórax e o mesotórax; esses espiráculos contêm um grande número de cerdas em sua abertura, provavelmente envolvidas com a redução da perda de água (Vega et al., 2015).

As mandíbulas são estruturas fortemente esclerotizadas, situadas na região anterior da cabeça e possuem forma triangular. A antena é do tipo geniculo-capitada, apresentando flagelo composto por oito flagelômeros fundidos entre si. A tibia é recoberta por cerdas e possui na região anterior uma série de seis a sete espinhos; a presença de espinhos na tibia auxilia em atividades como a abertura das galerias nos frutos de café. Em posição ventral, é possível observar cinco esternitos bem diferenciados no abdômen (Constantino et al., 2011^a; Vega e Hofstetter, 2015).

O adulto recém-nascido apresenta uma coloração amarelo-palha e tem consistência muito frágil, permanecendo na câmara em que emergiu dentro do fruto ao lado da exúvia pupal por três ou quatro dias. Após esse período, o corpo já está esclerotizado e a cutícula completamente melanizada, e inicia-se a atividade sexual. As fêmeas são maiores do que os machos, apresentando comprimento médio de 1,65 mm e asas membranosas bem desenvolvidas e funcionais. Os machos são diminutos, apresentando comprimento médio de 1,18 mm e asas membranosas vestigiais, sendo incapazes de voar (Bustillo-Pardey, 2006; Bustillo, 2007; Vega, 2008). Os olhos compostos das fêmeas apresentam uma média de 115 a 127,5 omatídios (Constantino et al., 2011^a; Vega et al., 2014). Os machos, por sua vez, apresentam em média somente 19,1 omatídios (Vega et al., 2014). A longevidade dos machos pode variar de 50 a 75 dias, enquanto as fêmeas variam entre 100 a 150 dias (Bustillo, 2016).

1.4.4.2. Ovo

Os ovos apresentam forma elíptica ou ligeiramente ovoide, são branco-hialinos e brilhantes, com dimensão de 0,5 a 0,8 mm de comprimento e 0,25 a 0,35 mm de largura, respetivamente. Normalmente não há posturas em frutos secos, mas quando isso ocorre os ovos são mais compridos do que os normais, fazendo com que apresentem forma cilindroide, com cutícula leitosa e brilhante (Constantino et al., 2011^a).

1.4.4.3. Larva

As larvas apresentam coloração branco-creme, são do tipo curculioniforme, ápodas, possuem cerdas esparsas, não muito alongadas e dirigidas para posterior, além de mandíbulas bem desenvolvidas. As larvas recém-eclodidas apresentam cápsula cefálica pouco mais larga do que o resto do corpo, de coloração amarelo-palha e bem distinta do resto do corpo, com bordos ligeiramente recurvados; o corpo é mais largo na região do tórax, afinando-se para a extremidade posterior e possui comprimento médio de 0,79 mm e largura média da cápsula cefálica de 0,24 mm (Cárdenas et al., 2007; Vega e Hofstetter, 2015). Quando completamente desenvolvidas, as larvas atingem comprimento médio de 2,12 mm; nessa etapa, a larva prepara a câmara pupal, isolada do resto da galeria onde se desenvolveu, expele todo o conteúdo do tubo digestivo e se transforma em pré-pupa. As larvas das fêmeas passam por dois instares, enquanto os machos têm apenas um instar (Vega e Hofstetter, 2015). O primeiro instar tem cerca de 0,6-0,8 mm de comprimento, e uma larva feminina de segundo estágio totalmente desenvolvida tem cerca de 2,2 mm de comprimento. O período médio de desenvolvimento das larvas é de 15 dias a uma temperatura de 27°C (Cárdenas et al., 2007; Vega e Hofstetter, 2015).

1.4.4.4. Pupa

As pré-pupas apresentam cápsula cefálica semelhante às das larvas, coloração branco-leitosa e comprimento médio de 2,05 mm para as fêmeas e de 1,4 mm para os machos. O período de pré-pupa é curto, sendo de dois dias em temperatura ideal que varia de 22°C-27°C; e o período da pupa é de 4 dias (Vijayalakshmi et al., 2013; Vega e Hofstetter, 2015). As pupas são do tipo exarado e possuem coloração branca entre os três ou quatro primeiros dias, havendo uma mudança gradual de coloração após esse período; todos os apêndices, inclusive os olhos, tornam-se castanho-claros. Na cabeça, que é encoberta pelo pronoto, notam-se livres e distintas as antenas e as peças bucais. No tórax, na parte tergal, são vistos os élitros, com sua aparência sulcada. Na parte ventral, encontram-se as pernas do inseto bem arranjadas. No último segmento abdominal das pupas, tanto masculinas quanto femininas, notam-se dois cercos afilados, recurvados e pontiagudos, absolutamente ausentes nas larvas e nos adultos (Constantino et al., 2011^a). O comprimento das pupas é variável entre os sexos, sendo em média 1,84 mm para as fêmeas e 1,35 mm para os machos (Vijayalakshmi et al., 2013; Vega e Hofstetter, 2015).

1.4.4.5. Ciclo biológico

Diversos estudos foram efetuados por vários autores sobre o ciclo biológico da broca-do-café, expondo imensas variações entre os resultados (Damon, 2000; Cárdenas et al., 2007; Constantino et al., 2011^a). A duração do ciclo de vida da broca-do-café é influenciada principalmente pela temperatura. A faixa de tolerância térmica da broca-do-café situa-se entre 20 e 30°C, de modo que o ciclo (ovo a adulto) só se completa dentro desse intervalo. A duração média do ciclo do inseto varia de 23,3 a 53,7 dias, nas temperaturas médias de 20 e 30°C, respetivamente. A duração média do ciclo a temperatura média de 25°C é de 26,6 dias. O período de incubação dos ovos é de 5,3 dias; a duração das larvas de primeiro e segundo instar é de 2,8 e 5,8 dias, respetivamente, perfazendo 8,6 dias; as fases de pré-pupa e pupa têm duração de 6 e 6,3 dias, respetivamente. Esses valores médios são obtidos à temperatura média de 25°C (Jaramillo et al., 2009^a).

1.4.4.6. Reprodução

A broca-do-café é uma espécie que se reproduz sob condições de competição local por cópula. Os machos estão em menores números e apresentam asas atrofiadas, sendo obrigados a acasarem com suas irmãs (Borsa e Kjellberg, 1996; Costa, 2014). A broca é diploide, mas machos apresentam só um conjunto de cromossomos funcional, o obtido da mãe. Fêmeas apresentam os dois conjuntos funcionais (Borsa e Kjellberg, 1996; Jaramillo et al., 2006; Vega e Hofstetter, 2015), e desenvolvem-se a partir de ovos fertilizados, sendo que dos ovos não fertilizados não eclodem larvas (Constantino et al., 2011^a; Vega e Hofstetter, 2015). A proporção sexual é de 1 macho para cada 10 fêmeas (Vega, 2008).

Em geral, os machos são os primeiros indivíduos a emergir, e completam o seu desenvolvimento antes das fêmeas, as quais logo que se tornem sexualmente maduras, podem ser fecundadas. A única função do macho é fecundar um determinado número de fêmeas, podendo um único macho acasalar com cerca de 30 fêmeas, permanecendo durante toda a sua vida no interior do fruto de café em que nasceu (Le Pelley, 1973).

A atividade sexual da broca-do-café ocorre poucas horas após a emergência dos adultos. Assim as cópulas ocorrem em qualquer horário do dia. Cerca de 60% dos casais realizam a primeira cópula dentro das primeiras 24 horas. A maior atividade sexual é encontrada em casais mais maduros, entre dois e quatro dias de idade. Isso sugere que tanto os machos quanto as fêmeas levam menos de dois dias para atingir a maturidade sexual. Durante esse período, a

esclerotização dos órgãos sexuais ocorre em ambos os sexos (Rubio et al., 2008; Silva et al., 2012).

1.4.4.7. Oviposição

A fêmea de *H. hampei* (Ferrari, 1867) apenas faz postura no interior da semente do café (Vega, 2008). A mesma fêmea produz várias descendências consecutivas durante toda uma safra de café. Após oviposita na mesma semente, a fêmea suspende as posturas, e volta para a galeria anteriormente construída ficando com a parte posterior do corpo para fora do fruto. Permanece aí enquanto durar o desenvolvimento de seus descendentes. Depois deste período a fêmea abandona o fruto e reinicia postura em outro fruto (Waterhouse, 1998; Vega e Hofstetter, 2015). Nesse último caso, as fêmeas voam em busca de frutos de café, orientadas por semioquímicos produzidos pelos mesmos (Rainho, 2015). Cada fruto de café é normalmente colonizado por uma única fêmea, embora infestações múltiplas também possam ser observadas (Jaramillo et al., 2006).

Em geral, a oviposição começa quando os frutos atingem cerca de 16 semanas após a floração dependendo de condições ambientais. A postura é feita em frutos verdes com a semente formada, ou ainda em frutos maduros e mesmo frutos secos. Em frutos na fase inicial de crescimento, as fêmeas podem perfurá-los, mas podem abandoná-los sem realizar postura se o conteúdo interno destes estiver muito aquoso (Vega, 2008; Vega e Hofstetter, 2015). O tempo de penetração até que a fêmea atinja o endosperma da semente é variável de acordo com o estágio de desenvolvimento do fruto, mas dura cerca de oito horas em condições ótimas (Damon, 2000). Após encontrar um fruto em condições adequadas, a fêmea colonizadora abre um orifício preferencialmente na região da coroa do fruto, onde começa a construir uma galeria até atingir o endosperma de uma das sementes. No interior da semente, a fêmea abre uma galeria transformando-a em uma câmara, na qual realiza a oviposição (Heinrich, 1965; Cárdenas et al., 2007).

Em condições ótimas de temperatura e humidade, a fêmea é capaz de colocar dois a três ovos por dia, sendo a oviposição regular até 10 ou 12 dias após seu início, diminuindo de intensidade após esse período (Cárdenas et al., 2007). Uma fêmea é capaz de colocar entre 31 e 119 ovos ao longo de sua vida em um único fruto de café em estágio adequado de maturação (Damon, 2000), ou 75 ovos em média (Cárdenas et al., 2007). Entretanto já foram observados cerca de 300 ovos num único fruto de café (Jaramillo et al., 2009^b).

1.4.5. Fatores que influenciam a infestação da *Hypothenemus hampei*

1.4.5.1. Precipitação

O volume das precipitações é considerado fator preponderante para que adultos da broca-do-café deixem os frutos em que se abrigaram na entressafra e colonizem os frutos na nova safra, visto que a humidade relativa abaixo de 90% inibe a saída dos adultos da broca-do-café dos frutos (Baker et al., 1992). Por outro lado, a humidade relativa entre 90 e 93% propicia maior fecundidade e reduzem a taxa de mortalidade de fêmeas da praga (Baker et al., 1994). Nos climas de estação seca do inverno bem definida, a maturação dos frutos de café é concentrada, enquanto em climas sem estação seca, como em São Tomé e Príncipe, há duas florações por ano (Silva, 1958). Por conseguinte, a maturação dos frutos de café é escalonada favorecendo assim a permanência da broca-do-café durante todo ano. Além disto, invernos com baixa precipitação são desfavoráveis para a broca-do-café. Por isso, a colocação de armadilhas para captura de adultos no campo deve considerar o fato de que a precipitação estimula a saída de adultos da broca-do-café dos frutos em que se abriga (Fanton, 2001).

1.4.5.2. Temperatura

A temperatura é a variável climática que exerce maior influência na duração do ciclo da broca-do-café. Temperaturas elevadas causam redução do ciclo de vida do inseto (Jaramillo et al., 2009^a), e, conseqüentemente, aumentam o número de gerações, o número de emergência da broca-do-café, nos frutos infestado no solo, levando a maiores níveis de infestação e prejuízos mais avultado para a cultura do café (Constantino et al., 2011^b).

Segundo Jaramillo et al. (2009^a), a temperatura influencia significativamente os níveis de desenvolvimento de diferentes instares da broca-do-café. O registo da variação da temperatura pode ser um indicador bastante importante no momento de instalação das armadilhas para captura de adultos, visto ser este um dos fatores que estimulam a saída de adultos dos frutos (Fanton, 2001).

1.4.5.3. Sombreamento

A influência do microclima produzido pelo sombreamento das árvores é um tema bastante controverso. Bosselmann et al. (2009) e Mariño et al. (2016) constataram um aumento significativo de infestação por broca-do-café em cafezais cultivados sob sombra do que

cultivados ao sol. Contudo, Baker et al. (1989) mostraram que o nível de sombreamento não afeta significativamente os prejuízos provocado pela broca-do-café. Segundo Ruiz-Cárdenas e Baker (2010) e Jaramillo et al. (2011) os efeitos negativos das mudanças climáticas são notórios, podendo levar a futuro aumento da dinâmica populacional da broca-do-café. A melhor maneira de se adaptar a um aumento das temperaturas nas plantações de café poderia ser através da introdução de árvores de sombra em plantações cultivadas ao sol.

1.4.5.4. Altitude

A altitude faz variar a temperatura, motivo pelo qual altitudes elevadas paralisam a atividade do inseto e diminui as taxas de infestações (Bosselmann et al., 2009). Por outro lado, os adultos apresentam uma longevidade menor. A taxa de multiplicação do inseto varia em razão inversa da altitude, enquanto o ciclo vital se alonga (Cuellar, 2010). Baker et al. (1989) constataram que a altitude afeta significativamente a distribuição da broca-do-café.

1.4.5.5. Colheita

O rigor na colheita do café influencia diretamente na infestação da broca-do-café da safra seguinte (Mendes, 1949; Johnson et al., 2019; Dufour et al., 2019). Em alguns países, os cafezais permanecem sem frutos durante alguns meses do ano após a colheita e a broca-do-café sobrevive nos frutos que caem no solo podendo causar uma infestação inicial alta, assim como uma alta taxa de incremento da população na colheita seguinte. Uma boa colheita consiste em não deixar frutos na planta e no chão, o que impede a sobrevivência da broca-do-café (Benavides et al., 2003; Ruiz-Cárdenas e Baker, 2010; Constantino et al., 2017).

1.4.6. Inimigos naturais

Muitos inimigos naturais da broca-do-café já foram descritos, incluindo parasitoides, predadores, nemátodos e fungos entomopatogênicos (Escobar-Ramírez et al., 2019).

1.4.6.1. Parasitoides

Os inimigos naturais mais importantes são as três vespas parasitas nativas da África, *Cefalonomia stephanoderis* Betrem, *Phymastichus coffea* LaSalle e *Prorops nasuta* Waterston (Waterhouse, 1998). O *C. stephanoderis* Betrem e *P. nasuta* Waterston foram encontrados

naturalmente parasitando a broca-do-café no estado de São Paulo, Brasil (Benassi, 2007). Os dois parasitoides da família Bethyridae, *C. stephanoderis* Betrem e *P. nasuta* provenientes de África, foram introduzidos na Índia e em muitos países latino-americanos nos anos 1980 e 1990 para o controlo da broca-do-café (Abraham et al., 1990; Reina e Pardey, 1995; Batchelor et al., 2005).

A fêmea de *P. nasuta* geralmente entra num fruto de café infestado através da perfuração feita por broca-do-café (Heinrich, 1965). Como o anfitrião, *P. nasuta* passa a maior parte do seu ciclo de vida no interior da broca-do-café (Infante et al., 2003; Chiu-Alvarado et al., 2009). Durante o período de pré-oviposição, que varia de 3 a 14 dias, o hospedeiro das fêmeas alimenta-se em todos os estádios de desenvolvimento da broca-do-café consumindo preferencialmente ovos, pequenas larvas e adultos (Heinrich, 1965; Infante et al., 2005). As fêmeas normalmente colocam ovos em larvas totalmente desenvolvidas e pré-pupas (Abraham et al., 1990). Cada fêmea do parasitoide geralmente hospeda em apenas um fruto de café infestado matando o adulto da broca-do-café e impedindo a entrada de outros organismos no fruto. O período médio de desenvolvimento (ovo a adulto) varia consoante o sexo do *P. nasuta*, sendo que os machos duram 28 dias e as fêmeas 30 dias, respetivamente (Infante et al., 2005).

C. stephanoderis Betrem (Hymenoptera: Bethyridae), é um dos inimigos naturais mais promissores para o controle biológico da broca-do-café. Este fato deve-se à sua comprovada adaptação em várias regiões de África e América, dado a sua especificidade e pela existência de metodologias apropriadas para sua criação (Reina e Pardey, 1995; Souza et al., 2014).

O adulto coloca os ovos no interior das larvas e pupas de *H. hampei*, que é seu hospedeiro específico (Pérez-Lachaud e Hardy, 2001; Gómez et al., 2012). As fêmeas deste parasitoide também se comportam exclusivamente como predadoras durante o período de pré-oviposição e continuam alimentando-se de seu hospedeiro mesmo depois de começar a fase de reprodução (Gómez et al., 2012). Embora fêmeas de *C. stephanoderis* também se comportem como predadoras, alimentando-se de formas imaturas da broca-do-café, a oviposição ocorre na fase de pré-pupa e pupa da broca-do-café possibilitando o desenvolvimento parasitário de sua prole sobre o hospedeiro (Lauzière et al., 1999). *C. hyalinipennis* também foi vista parasitando a broca-do-café no Brasil e na Colômbia (Rodríguez et al., 2017).

Phymastichus coffea LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) é um parasitoide incomum, porque ataca as fêmeas adultas da broca-do-café (Espinoza et al., 2009). A fêmea oviposita no abdômen (Infante et al., 2013), e normalmente injeta dois ovos no corpo da fêmea da broca-do-

café adulta onde se desenvolvem, um no abdome e o outro no tórax. O processo de colocação de ovos demora cerca de 2 minutos (Espinoza et al., 2009). *P. coffea* pode parasitar mais broca-do-café em mais de um fruto infestado com a broca-do-café. Poucos parasitoides atacam besouros adultos e, possivelmente, a broca-do-café é uma exceção, porque esta se encontra exposta e imobilizada no túnel de entrada ao grão de café durante os estágios iniciais de seu ataque no fruto (Jaramillo et al., 2002, 2005).

Heterospilus coffeicola Schmiedeknecht pertence a ordem Hymenoptera, família Braconidae. O adulto do parasitoide permanece nos frutos de café somente o tempo necessário para a postura. Em cada fruto atacado pela broca-do-café, coloca um único ovo. As larvas alimentam-se dos ovos, larvas e pupas da broca-do-café (Murphy e Moore, 1990).

1.4.6.2. Predadores

Diversos predadores desta praga foram estudados, dentre eles: pássaros, trips e formigas (Vega et al., 2009). Quanto a formigas, as espécies e gêneros registrados como predadores foram: *Azteca Instabilis*, *Crematogaster spp.*, *Pheidole synanthropica* Longino, *Pseudomyrmex simplex* Smith, *Pseudomyrmex ejectus* Kempf, *Solenopsis picea* Emery, *Tapinoma sp.*, e *Wasmannia auropunctata* Roger (Bustillo et al., 2002; Gonthier et al., 2013; Morris e Perfecto, 2016).

1.4.6.3. Nemátodos

Nemátodo do género *Psyllotylenchus* (Tylenchida: Sphaerularioidea) foi visto atacando a broca-do-café no México (Castillo et al., 2002). Outra espécie, *Metaparasitylenchus hypothenemi n. sp.* (Nematoda: Allantonematidae), também foi vista parasitando a broca-do-café (Poinar et al., 2004; Castillo et al., 2019).

1.4.6.4. Fungos entomopatogénicos

Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. e *Metarrizium anisopliae* (Metschnikoff) são dois inimigos naturais da broca-do-café (Barrera, 2002). De entre os fungos entomopatogénicos que podem ser utilizados no controlo desta praga, *B. bassiana* (Bals.) Vuill. é um dos mais promissores (Raj et al., 2011).

A principal vantagem do uso de fungos entomopatogénicos é a sua patogenicidade sobre a broca-do-café. Além disso, possui enorme capacidade de multiplicação e dispersão no ambiente, podendo ser produzido em grandes quantidades (Posada-Flórez, 2008).

Atualmente, a *B. bassiana* é considerada um importante agente de controlo natural desta praga (Neves e Hirose, 2005; Gallardo et al., 2010), porque é encontrado infestando o inseto em todos os países onde há ocorrência da broca-do-café (Benavides et al., 2012). De acordo com Posada-Flórez (2008), *B. bassiana* é responsável por mais de 92,5% de mortalidade de adultos quando estão atacando frutos jovens.

1.4.7. Métodos de manejo integrado contra a *Hypothenemus hampei*

1.4.7.1. Medidas fitossanitárias

O transporte de sementes contendo a broca-do-café tem sido a principal causa de sua disseminação em todo o mundo devendo-se respeitar as recomendações da biossegurança para se minimizar este problema. Hollingsworth et al. (2013) mostraram que o tratamento de frutos de café infestados a uma temperatura de -15°C por cerca de 48h proporcionou 100% de controlo de todos os estádios da vida da broca-do-café.

1.4.7.2. Controlo cultural

A redução do ataque da broca-do-café pode ser obtida fazendo-se uma colheita bem-feita e de forma minuciosa, para evitar a sobrevivência dessa praga e sua eventual passagem para os frutos novos da próxima colheita (1.4.5.5).

1.4.7.3. Controle biológico

Diversos tipos de controlo biológico da broca-do-café têm sido explorados a nível mundial nos últimos anos, incluindo o clássico (Damon, 2000; Gonthier et al., 2013; Aristizábal et al., 2017). Numerosos inimigos naturais da broca-do-café foram descritos até a presente data (1.4.6.). Os parasitoides (*C. stephanoderis*, *P. nasuta* e *P. coffea*) e o fungo entomopatogénico *B. bassiana* têm sido utilizados com maior frequência para controlar a broca-do-café (Bustillo-Pardey, 2005; Vera-Montoya et al., 2007), devido a capacidade de produção em grande escala para o comércio (Bustillo-Pardey, 2005).

1.4.7.4. Controle Biotécnico

Diversas armadilhas para a captura em massa da broca-do-café foram desenvolvidas por vários autores, desde Mendoza (1991) que avaliou as armadilhas “ESALQ-84” de Berti Filho e Flechtmann (1986) e o modelo de funil múltiplo de Lindgren (1983). O ESALQ-84 foi desenvolvido a partir da modificação do modelo de armadilha de Luiz de Queiroz na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, na Universidade de São Paulo, Brasil (Berti Filho e Flechtmann, 1986). Após a armadilha de Lindgren, Bourbon et al. (2000) desenvolveram na Costa Rica a armadilha com vários copos descartáveis (três copos descartáveis brancos), que em sua forma artesanal foi denominado de "armadilha para festas" porque os funis e o teto foram substituídos por copos descartáveis e uma placa plástica para festas, respectivamente (Figura 1). Além dessas experiências, e com exceção da armadilha de festas na Costa Rica, a armadilha de funil múltiplo não foi tão usada. O modelo do tipo ESALQ-84 despertou mais interesse, do qual modelos semelhantes foram surgindo; por exemplo, no México, Gutiérrez-Martínez et al. (1993) desenvolveram a armadilha “Hampei” e Velasco et al. (1997, 1999) a armadilha "Ecobroca".

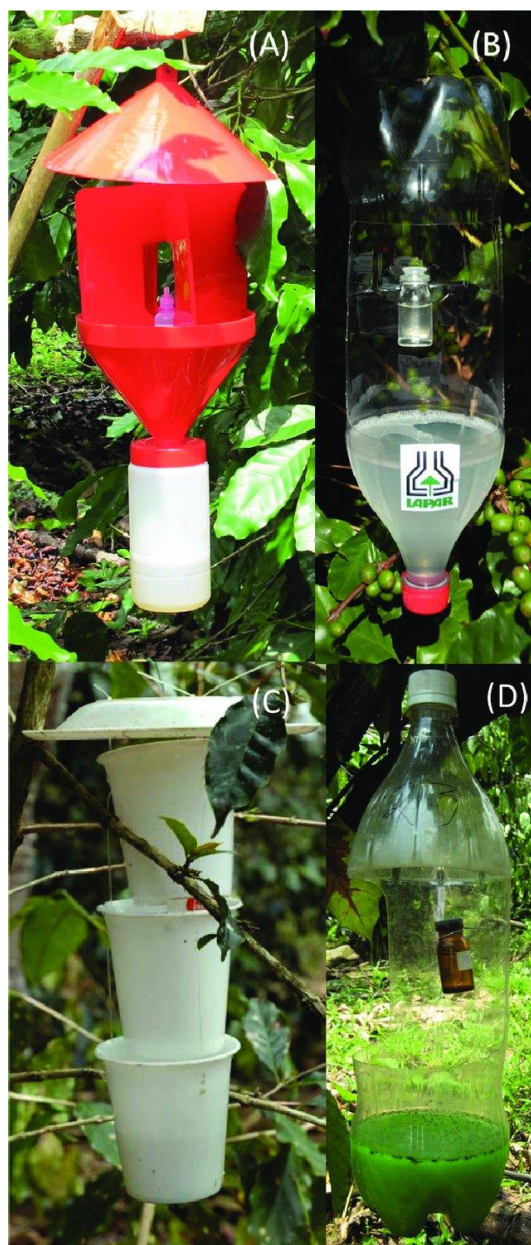


Figura 1. Armadilhas para brocas de café. (A) Armadilha BROCAP ®; (B) Armadilha IAPAR (Brasil); (C) Armadilha Fiesta (Costa Rica); e (D) Armadilha Brocap feita em casa (México). Fotos por: (A) Bernard Dufour (CIRAD); (B) E. F. da Silva (IAPAR); (C) Fernando E. Vega; (D) Jaime Go'mez (ECOSUR). Adaptado de (Vega & Hofstetter, 2015).

Na Colômbia, a armadilha artesanal foi desenvolvida por CENICAFÉ (Herrera, 1997). A PROCAFÉ localizado no Salvador e o CIRAD da França desenvolveram a armadilha “Brocap®” de cor vermelha (González e Dufour, 2000) (Figura 1). A armadilha Brocap foi validada em vários países da América Latina (Cárdenas, 2000; Dufour, 2002; Guzmán e Contreras, 2003; Barrera et al., 2004^a; García et al., 2004). Atualmente, devido a procura em vários países, essa armadilha é possivelmente a única patenteada comercializada sob uma marca

registrada para controlo de broca (Barreira et al., 2006). No entanto, nos últimos anos, destacam-se diferentes modelos de armadilhas artesanais feitas a partir de diferentes tipos de embalagens plásticas, principalmente garrafas de politereftalato de etila (PET) (Gutiérrez-Martínez et al., 1993; Barreira et al., 2006).

A armadilha “IAPAR” desenvolvida por pesquisadores do Instituto Agrônomo do Paraná, Brasil (Villacorta et al., 2001), definiu um dos conceitos mais interessantes da armadilha artesanal, combinando baixo custo (materiais recicláveis) e facilidade de fabricação e manuseio (acessível aos produtores) com eficácia de captura em massa. Levando em conta esse conceito, surgiu a armadilha “ECOIAPAR” (Figura 1), fruto da combinação de ECOSUR e IAPAR (Barreira et al., 2006). Os detalhes da armadilha ECOIAPAR encontra-se na (Figura 2).

1. Arame galvanizado.
2. Garrafa de PET.
3. Abertura de 11 por 20 cm para permitir entrada da broca-do-café.
4. Água pura e limpa para permitir a captura da broca.
5. Número de identificação da armadilha.
6. Frasco de vidro contendo atraente.
7. Perfuração na garrafa para permitir a drenagem da água e reter a broca capturada.



Figura 2: Armadilha ECOIABAR para a broca-do-café. Adaptado de (Barrera et al., 2006).

1.4.7.5. Controle químico

O controle químico é o mais utilizado contra esta praga (Brun et al., 1989; Souza et al., 2013). No entanto, podem ocorrer a médio e longo prazo efeitos negativos no meio ambiente, na saúde humana, resistência do inseto a esses produtos, tendo como consequência o desequilíbrio ecológico (Brun et al., 1989; Gingerich e Suckling, 1996).

Diversos inseticidas de origem vegetal foram testados com algum sucesso no controle da broca-do-café (Zorzetti et al., 2012; Blaco-Metzler e Pacheco-Alvarado, 2015; Celestino et al., 2016), como os obtidos a partir de extrato de sementes e folhas de Neem, óleo de canola, óleo de girassol, óleo de milho, soja e óleo de mamona. Entretanto, deve-se utilizar produtos homologados pela entidade competente de cada país.

1.5. Referências bibliográficas

- Abraham, Y. J., Moore, D., & Godwin-Keene, G. (1990). Rearing and aspects of biology of *Cephalonomia stephanoderis* and *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae) parasitoids of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Bulletin of entomological research*, 80(2), 121–128.
- Aristizábal, L. F., Bustillo, A. E., & Arthurs, S. P. (2016). Integrated pest management of coffee berry borer: Strategies from latin america that could be useful for coffee farmers in Hawaii. *Insects*, 7(1), 11–14.
- Aristizábal, L. F., Johnson, M., Shriner, S., Hollingsworth, R., Manoukis, N. C., Myers, R., ... Arthurs, S. P. (2017). Integrated pest management of coffee berry borer in Hawaii and Puerto Rico: Current status and prospects. *Insects*, 8(4), 1–16.
- Baker, P. S., Barrera, J. F., & Valenzuela, J. E. (1989). The distribution of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Southern Mexico : A survey for a biocontrol project. *Tropical Pest Management*, 35(2), 163–168.
- Baker, P. S., Ley, C., Balbuena, R., & Barrera, J. F. (1992). Factors affecting the emergence of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) from coffee berries. *Bulletin of Entomological Researc*, 82, 145–150.
- Baker, P. S., Rivas, A., Balbuena, R., Ley, C., & Barrera, J. F. (1994). Abiotic mortality factors of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). *Entomol. exp. appl.*, 71, 201–209.
- Barrera, J. (2002). La Broca del café: Una plaga que llegó para quedarse. *El Colegio de la Frontera Sur*. Acesso em 28/12/2017. Obtido de http://www2.tap-ecosur.edu.mx/mip/Publicaciones/pdf/09_Capitulo04c.pdf
- Barrera, J. F., Herrera, J., Villacorta, A., Garcia, H., & Cruz, L. (2006). Trampas de Metanol-Etanol para Detección, Monitoreo y Control de la Broca del Café *Hypothenemus hampei*. *Sociedad Mexicana de Entomología*. Acesso em 29/12/2017. Obtido de <https://www.researchgate.net/publication/237360341> trampas de metanol etanol_para_deteccion_monitoreo_y_control_de_la_broca_del_cafe_*Hypothenemus hampei* methanol ethanol_traps_for_detection_monitoring_and_control_of_the_coffee_borer_*Hypothenemus hampei*
- Barrera, J. F., Villacorta, A., & Herrera, J. (2004). Fluctuación estacional de las capturas de la «broca del café» (*Hypothenemus hampei*) con trampas de etanol-metanol e implicaciones

- sobre el número de trampas. *Entomología Mexicana*, 3, 540–544.
- Barrera, J. F., A. Villacorta, J. Herrera, H. García & L. Cruz. (2004^a). Aplicación de trampas para el muestreo de la broca del café en México. En: Workshop Internacional sobre o Manejo da Broca-do-Café. 28 de noviembre a 2 de diciembre de 2004. Londrina, Paraná, Brasil.
- Batchelor, T. P., Hardy, I. C. W., Barrera, J. F., & Pérez-Lachaud, G. (2005). Insect gladiators II: Competitive interactions within and between bethylid parasitoid species of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Biological Control*, 33(2), 194–202.
- Benavides, P., Bustillo, A. E., C., E., R., M., M., R. C., & M., C. G. M. (2002). Participación del control cultural, químico y biológico en el manejo de la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología*, 28(2), 161–165.
- Benassi, V. L. R. M. (2007). Biología em diferentes temperaturas e ocorrência de *Prorops nasuta* wat. E *Cephalonomia Stephanoderis* betr. (Hymenoptera: Bethyridae) parasitando *Hypothenemus hampei* (ferr.) (coleoptera: scolytidae). Ph.D. Thesis. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – São Paulo – Brasil.
- Benavides, P., Bustillo, A. E., Cárdenas-Murillo, R., & Montoya-restrepo, E. C. (2003). Análisis biológico y económico del manejo integrado de la broca del café en Colombia. *Cenicafé*, 54(1), 5–23.
- Benavides, P., Góngora, C., & Bustillo, A. (2012). IPM Program to Control Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei*, with Emphasis on Highly Pathogenic Mixed Strains of *Beauveria bassiana*, to Overcome Insecticide Resistance in Colombia. *InTechOpen*. Acceso em 27/12/2017. Obtido de <https://www.intechopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/ipm-program-to-control-coffee-berry-borer-hypothenemus-hampeii-with-emphasis-on-highly-pathogenic-mix>
- Berti F., E., and C.A.H. Flechtmann. (1986). A model of ethanol trap to collect Scolytidae and Platypodidae (Insecta, Coleoptera). *IPEF* 34: 53- 56.
- Blaco-Metzler, H., & Pacheco-Alvarado, H. (2015). Efectividad del insecticida botánico Capsoil 9.82 EC en el control de la broca (*Hypothenemus hampei* Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae) en el cultivo del café (*Coffea arabica*). *Entomología Mexicana*, 2, 468–473.

- Borsa, P., & Kjellberg, F. (1996). Experimental evidence for pseudo- arrhenotoky in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Scolytidae). *Heredity* 7, 76, 130–135.
- Borbón M., O., O. Mora A., A.C. Oehlschlager y L.M. González. (2000). Proyecto trampas, atrayentes y repelentes para el control de la broca del fruto de cafeto, *Hypothenemus hampei* F. (Coleoptera: Scolytidae). En: XIX Simposio Latinoamericano de Caficultura. 2 al 6 de octubre de 2000, San José, Costa Rica, p. 331-348.
- Bosselmann, A. S., Dons, K., Oberthur, T., Olsen, C. S., Reabild, A., & Usma, H. (2009). The influence of shade trees on coffee quality in small holder coffee agroforestry systems in Southern Colombia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 129, 253–260.
- Brun, L. O., Marcillaud, C., Gaudichon, V., & Suckling, D. M. (1989). Endosulfan Resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. *Journal of Economic Entomology*, 82(5), 1311–1316.
- Burbano, E., Wright, M., Bright, D. E., & Vega, F. E. (2011). New record for the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Hawaii. *J Insect Sci*, 11(117), 1–3.
- Bustillo-Pardey, A. E. (2005). Bustillo , P . A . E . El papel del control biológico *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera : Curculionidae : Scolytinae). *Rev . Acad . Col ... Manejo integrado de la broca del café, Hypothenemus hampei* (Ferrari) (coleoptera : Curculionidae : *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 29, 29(110), 55–68.
- Bustillo-Pardey, A. E. (2006). Una revision sobre la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 32(2), 1–38.
- Bustillo-pardey, Á. E. (2007). *El Manejo De Cafetales Y Su Relación Con El Control De La Broca Del Café En Colombia*. Chinchiná-Caldas-Colombia: Cenicafé.
- Bustillo, A. E. (2016). Damage caused by Arthropods to coffee cultivars. *Cenicafé*. Acceso em 15/01/2018. Obtido de https://www.researchgate.net/profile/Alex_Bustillo/publication/276294743_Damage_caused_by_Arthropods_to_coffee_cultivars/links/55566f7008ae6fd2d8236392/Damage-caused-by-Arthropods-to-coffee-cultivars.pdf
- Bustillo, A. E., & Benavides, P. (1994). Recomendaciones para el manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. *Cenicafé*. Acceso em 28/12/2017. Obtido de https://www.researchgate.net/publication/298431657_Manejo_integrado_de_la_broca_d

el_cafe_*Hypothenemus hampei*_Ferrari_en_Colombia

- Bustillo, A. E., Cárdenas, R., & Posada, F. J. (2002). Natural Enemies and Competitors of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in Colombia. *Neotropical Entomology*, 31(4), 635–639.
- Caicedo, D. R., Cure, J. R., & Cantor R., F. (2009). Empleo de trampas con atrayente para el control de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari coleoptera: curculionidae: scolytinae): Diseños, criterios de uso en campo y efectividad Use of traps for the control of coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). *Facultad de ciencias Básicas*, 5(1), 12–21.
- Camilo, J. E., Olivares, F. F., & Jiménez, H. A. (2003). Fenología y reproducción de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari) durante el desarrollo. *Agronomía Mesoamericana*, 14(1), 59–63.
- Campos-Almengor, O. G. (2015). Boletín técnico Cedicafé noviembre. Manejo integrado de la Broca (MIB). *Anacafé*. Acceso em 20/10/2017. Obtido de <http://anacafe.org/glifos/images/1/1b/Boletin-Broca-noviembre2015.pdf>
- Cárdenas, M. del C., Brito, R. V. M., Giraldo, H., & Aquino, A. (2007). Biología de la broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae) bajo condiciones de campo, en el estado Táchira, Venezuela. María. *Entomotropica*, 22(2), 49–55.
- Carvalho, J. P. de. (1968). *Notas sobre a Reunião de Entomologistas Realizada em São Tomé e Príncipe de 8 a 22 de agosto de 1967. Instituto de Investigação Agronómica de Angola* (Vol. 1). Luanda.
- Castillo, A., Infante, F., Barrera, J. F., Carta, L., & Vega, F. E. (2002). First field report of a nematode (Tylenchida: Sphaerularioidea) attacking the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in the Americas. *Journal of Invertebrate Pathology*, 79(3), 199–202.
- Castillo, A., Martínez, F., Gómez, J., Cisneros, J., & Vega, F. E. (2019). Sterility of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), caused by the nematode *Metaparasitylenchus hypothenemi* (Tylenchidae: Allantonematidae). *Biocontrol Science and Technology*, 29(8), 786–795.
- Castro, A. M., Tapias, J., Ortiz, A., Benavides, P., & Góngora, C. E. (2017). Identification of attractant and repellent plants to coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 164(2), 120–130.
- Celestino, F. N., Pratisoli, D., Machado, L. C., Junior, H. J. G. dos S., Queiroz, V. T. de, &

- Mardgan, L. (2016). Control of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) with botanical insecticides and mineral oils. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 38(1), 1–8.
- Chiu-Alvarado, P., Barrera, J. F., & Rojas, J. C. (2009). Attraction of *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae), a Parasitoid of the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Curculionidae), to Host-Associated Olfactory Cues. *Annals of the Entomological Society of America*, 102(1), 166–171.
- Constantino, L., Gil, Z. N., Jaramillo, A., Benavides, M. P., & Bustillo, A. E. (2011^b). Efecto del cambio y la variabilidad climática en la dinámica de infestación de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en la zona central cafetera de Colombia. *Sociedad Colombiana de Entomología*. Acceso em 28/12/2017. Obtido de https://www.researchgate.net/profile/Luis_Constantino3/publication/272622333_Efecto_del_cambio_y_la_variabilidad_climatica_en_la_dinamica_de_infestacion_de_la_broca_del_cafe_Hypothenemus_hampe_i_en_la_zona_central_cafetera_de_Colombi_a/links/54ea4d6b0cf27a6
- Constantino, L. M., Gil, Z. N., Benavides, P., & Souza, F. F. D. E. (2015). Some Aspects of the Ecology of *Hypothenemus Hampei* Related to Climate Variability Scenarios : Dispersal , Colonization and Population Dynamics. *Conference: 25 th International Conference on Coffee Science -ASIC Armenia (Colombia), 8 th –13 th September*. Acceso em 27/12/2017. Obtido de https://www.researchgate.net/publication/280624748_Some_Aspects_of_the_Ecology_of_Hypothenemus_hampe_i_Related_to_Climate_Variability_Scenarios_Dispersal_Colonization_and_Population_Dynamics
- Constantino, L. M., Navarro, L., Berrio, A., Acevedo, F. E., Rubio, D., & Benavides, P. (2011^a). Aspectos biológicos, morfológicos y genéticos de *Hypothenemus obscurus* e *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Revista Colombiana de Entomología*, 37(2), 173–182.
- Constantino, L. M., Oliveros, C., Alberto, C., Giraldo, S., Augusto, C., & Gómez, R. (2017). Dispositivo recolector de frutos de café del suelo para el manejo integrado de la broca. *Cenicafé*, 68(1), 22–37.
- Costa, C. M. (2014). *Ocorrência de poliandria na broca-do-café, Hypothenemus hampei (Coleoptera : Curculionidae : Scolytinae)*. Dissertation. Escola Superior de Agricultura «

- Luiz de Queiroz ». Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Costa, J. N. M., Teixeira, C. A. D., Ribeiro, P. D. A., Silva, R. B., & Silva, D. A. (2002). *Flutuação de Infestação da Broca-do-café (Hypothenemus Hampei, Ferrari) em Rondônia (Porto Velh)*. Embrapa.
- Cuellar, H. F. C. (2010). *Caracterización e impacto del contexto paisajístico y su posible influencia sobre los niveles de Broca Hypothenemus hampei (Ferrari), en la Provincia de Cartago , Costa Rica*. Dissertation. Facultad de Ciencias Básicas- Programa de biología. Universidad del Tolima Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (Catie)., Ibagué, Tolima.
- Damon, A. (2000). A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Bulletin of Entomological Research*, 90, 453–465.
- Dufour, B. (2002). Validación de la trampa Brocap ® para el control de la broca del café. *Boletín de Promecafé*, 93: 14-20.
- Dufour, B. P., Kerana, W., & Ribeyre, F. (2019). Effect of coffee tree pruning on berry production and coffee berry borer infestation in the Toba Highlands (North Sumatra). *Crop Protection*, 122, 151–158.
- Escobar-Ramírez, S., Grass, I., Armbrecht, I., & Tschardtke, T. (2019). Biological control of the coffee berry borer: Main natural enemies, control success, and landscape influence. *Biological Control*. Elsevier Inc. Acesso em 05/02/2020. Obtido de <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.05.011>
- Espinoza, J. C., Infante, F., Castillo, A., Pérez, J., Nieto, G., Pinson, E. P., & Vega, F. E. (2009). The Biology of *Phymastichus coffea* LaSalle (Hymenoptera : Eulophidae) under Field Conditions. *Biological Control*, 49, 227–233.
- Espírito Santo, S. N. (2008). *Programas de ajustamento estrutural, produção agrícola Segurança alimentar na África sub-sahariana: caso específico de S.Tomé e Príncipe*. Ph.D. Thesis. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- Fanton, C. J. (2001). *Ecologia da broca-do-café Hypothenemus hampei (Ferrari, 1867) (coleoptera: scolytidae) na zona da mata de Minas Gerais*. Ph.D. Thesis. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais-Brasil.
- Fernandes, F. L., Picanço, M. C., Campos, S. O., Bastos, C. S., Chediak, M., Guedes, R. N. C., & Da Silva, R. S. (2011). Economic Injury Level for the Coffee Berry Borer (Coleoptera:

- Curculionidae: Scolytinae) Using Attractive Traps in Brazilian Coffee Fields. *Journal of Economic Entomology*, 104(6), 1909–1917.
- Fernandes, F. L., Picanço, M. C., da Silva, R. S., da Silva, Í. W., de Sena Fernandes, M. E., & Ribeiro, L. H. (2014). Controle massal da broca-do-café com armadilhas de garrafa Pet vermelha em cafeeiro. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 49(8), 587–594.
- Fernández, S., & Cordero, J. (2005). Evaluación de atrayentes alcohólicos en trampas artesanales para el monitoreo y control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). *Bioagro*, 17(3), 143–148.
- Ferreira, A. J., Miranda, J. C., Paes Bueno, V. H., Ecolé, C. C., & Carvalho, G. A. (2003). Bioecology of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) in a Cerrado agrossystem of Cerrado in Minas Gerais State. *Ciencia E Agrotecnologia*, 27(2), 422–431.
- Gallardo, F., Hernandez, E., & Pagan, J. (2010). Presencia Natural Del Hongo Beauveria Bassiana (Bals.) Will. En Labroca del Café *Hypothenemus Hampei* (Ferrari) En Puerto Rico. *J. Agric. Univ. RR*, 94(1–2), 195–198.
- Gama, F. D. C., Teixeira, C. A. D., Garcia, A., Costa, J. N. M., & Lima, D. K. S. (2006). Diversidade de fungos filamentosos associados a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) e suas galerias em frutos de *Coffea canephora* (Pierre). *Neotropical Entomology*, 35(5), 573–578.
- Gauthier, N., (2010). Multiple cryptic genetic units in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytinae): evidence from microsatellite and mitochondrial DNA sequence data. *Biol. J. Linn. Soc.* 101, 113–129.
- García-Verdugo, H., J.F. Barrera, E. Pinson, F.J. Valle & J. Herrera. (2004). Comparación de tres tipos de trampas para la captura de la broca del café. En: Resúmenes del I Congreso Internacional sobre Desarrollo de Zonas Cafetaleras. 6-8 de Octubre de 2004, Tapachula, Chiapas, México, p. 45
- Gingerich, D. P., Borsa, P., Suckling, D. M., & Brun, L.-O. (1996). Inbreeding in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) estimated from endosulfan resistance phenotype frequencies. *Biocontrol of Entomofogical Research*, 86, 667–674.
- Giordanengo, P. (1992). *Biologie, éco-éthologie et dynamique des populations du scolyte des grains de café, Hypothenemus hampei ferr. (coleoptera, scolytidae), en Nouvelle-Calédoni*. PhD Thesis. Université de Rennes I., France.

- Giraldo-jaramillo, M., Garcia, A. G., & Parra, J. R. (2018). Biology , Thermal Requirements , and Estimation of the Number of Generations of *Hypothenemus hampei* (Ferrari , 1867) (Coleoptera: Curculionidae) in the State of São Paulo, Brasil. *Journal of Economic Entomology*, 20(20), 1–9.
- Gómez, H. M., Patiño, M. T. G., & Z, O. J. (2004). Avances en el manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* ferr., en colombia. Colombia: Grupo Tran.
- Gómez, J., Barrera, J. F., Liedo, P., & Valle, J. (2012). Influence of age and diet on the performance of *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera, Bethyridae) a parasitoid of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera, Curculionidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 56(1), 95–100.
- Gonthier, D. J., Ennis, K. K., Philpott, S. M., Vandermeer, J., & Perfecto, I. (2013). Ants defend coffee from berry borer colonization. *BioControl*, 58(6), 815–820.
- González, M. O. & B. P. Dufour. (2000). Diseño, desarrollo y evaluación del trampeo en el manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferr. en El Salvador. En: XIX Simposio Latinoamericano de Caficultura, Costa Rica, p. 381-396.
- Gumier-Costa, F. (2009). Primeiro registro da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), em Castanhado-Pará, *Bertholletia excelsa* (Lecythidaceae). *Neotropical Entomology*, 38(3), 430–431.
- Gutiérrez-Martínez, A., S. Hernández R. & A. Virgen S. (1993). Trampeo en campo de la broca del fruto de café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae) con los semioquímicos volátiles del fruto de café robusta (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner). En: Resúmenes del XVI Simposio de Caficultura Latinoamericana. Managua, Nicaragua, p. 51-52.
- Guzmán, R.E. & T. Contreras. (2003). Validación trampa Brocap® para la captura de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en San Cristóbal. En: Café, resultados de investigación. IDIAF. *CODOCAFÉ*. República Dominicana, p. 35-40.
- Heinrich, W. O. (1965). Aspectos do cambate biológico ás pragas do café. *O Biológico*. Acesso em 2018-03-08. Obtido de <http://www.fcfar.unesp.br/arquivos/480969.pdf>
- Herrera C., H.A. (1997). *Búsqueda de sustancias atrayentes para la broca del café Hypothenemus hampei (Ferrari 1867)*. Tesis. Universidad de Caldas. Manizales, Caldas, Colombia.
- Hollingsworth, R. G., Jang, E. B., Follett, P. A., Hollingsworth, R. G., & Jang, E. B. (2013).

- Freezing as a Treatment to Prevent the Spread of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Curculionidae), in Coffee Freezing as a Treatment to Prevent the Spread of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Curculionidae), in Coffee. *Journal of Economic Entomology*, 106(2), 653–660.
- INE (2021). Estadísticas do comércio externo 2020. Principais Produtos de Exportação nos anos de 2014-2019.
- Infante, F. (2018). Pest management strategies against the coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66(21), 5275–5280.
- Infante, F., Castillo, A., Pérez, J., & Vega, F. E. (2013). Field-cage evaluation of the parasitoid *Phymastichus coffea* as a natural enemy of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Biological Control*, 67(3), 446–450.
- Infante, F., Mumford, J., & Baker, P. (2005). Life history studies of *Prorops nasuta* , a parasitoid of the coffee berry borer. *BioControl*, 50, 259–270.
- Infante, F., Mumford, J., & García-Ballinas, A. (2003). Predation By Native Arthropods on the African Parasitoid *Prorops Nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae) in Coffee Plantations of Mexico. *Florida Entomologist*, 86(1), 86–88.
- Jaramillo-Robledo, A., & Guzmán-Martínez, O. (1984). Relationship between temperature and growth in *Coffea arabica* L. var. Caturra. *Cenicafé*, 35(3), 57–65.
- Jaramillo, J., Borgemeister, C., & Baker, P. (2006). Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae): searching for sustainable control strategies. *Bulletin of Entomological Research*, 96(3), 223–233.
- Jaramillo, J., Bustillo, A. E., Montoya, E. C., & Borgemeister, C. (2005). Biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) by *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) in Colombia. *Bulletin of Entomological Research*, 95(5), 467–472.
- Jaramillo, J., Chabi-olaye, A., & Borgemeister, C. (2010). Temperature-Dependent Development and Emergence Pattern of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Curculionidae : Scolytinae) from Coffee Berries. *J. Econ. Entomol.*, 103(4), 1159–1165.
- Jaramillo, J., Chabi-Olaye, A., Kamonjo, C., Jaramillo, A., Vega, F. E., Poehling, H. M., & Borgemeister, C. (2009^a). Thermal tolerance of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*: Predictions of climate change impact on a tropical insect pest. *PLoS ONE*, 4(8),

1–11.

- Jaramillo, J., Chabi-Olaye, A., Poehling, H. M., Kamonjo, C., & Borgemeister, C. (2009^b). Development of an improved laboratory production technique for the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*, using fresh coffee berries. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 130(3), 275–281.
- Jaramillo, J., Muchugu, E., Vega, F. E., Davis, A., Borgemeister, C., & Chabi-Olaye, A. (2011). Some like it hot: The influence and implications of climate change on coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) and coffee production in East Africa. *PLoS ONE*, 6(9), 1–13.
- Jaramillo, M. G. (2016). Zoneamento de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) e *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842), pragas do cafeeiro no Brasil e na Colômbia, com base nas exigências térmicas. *Ph.D. Thesis*. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo Escola, Brasil.
- Johnson, M. A., Fortna, S., Hollingsworth, R. G., & Manoukis, N. C. (2019). Postharvest Population Reservoirs of Coffee Berry Borer (Coleoptera: Curculionidae) on Hawai’i Island. *Journal of economic entomology*, 112(6), 2833–2841.
- Kaden, O., (1930). Relatório Anual de 1929, Seccão de Fitopatologia, Direcção dos Serviços de Agricultura. Imprensa Nacional, São Tomé e Príncipe, 56 pp.
- Kucel, P., Kangire, A., & Egonyu, J. P. (2009). Status and Current Research Strategies for Management of the Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*) in Africa. *NaCRRI*. Acesso em 13/03/2018. Obtido de http://www.ico.org/event_pdfs/cbb/presentations/Kangire%20NaCRRI.pdf
- Lauzière, I., Pérez-Lachaud, G., & Brodeur, J. (1999). Influence of host density on the reproductive strategy of *Cephalonomia stephanoderis*, a parasitoid of the coffee berry borer. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 92, 21–28.
- Le Pelley, R. H. (1973). *Las plagas del café*. Barcelona: Labor.
- Lindgren, B. S. (1983). A multiple funnel trap for scolytid beetles (Coleoptera). *Can. Entomol*, 115: 299- 302.
- López-Guillén, G., Carrasco, J. V., Cruz-López, L., Barrera, J. F., Malo, E. A., & Rojas, J. C. (2011). Morphology and Structural Changes in Flight Muscles of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) Females. *Environmental Entomology*, 40(2), 441–448.
- Mariño, Y. A., Pérez, M. E., Gallardo, F., Trifilio, M., Cruz, M., & Bayman, P. (2016). Sun vs. shade affects infestation, total population and sex ratio of the coffee berry borer

- (*Hypothenemus hampei*) in Puerto Rico. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 222, 258–266.
- Mathieu, F. (1995). *Mecanismos de la colonisation de l'hôte chez le scolyte du café Hypothenemus hampei (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae)*. PhD Thesis. Université de Paris VII, France.
- Mendes, L. O. T. (1949). Determinação do potencial biótico da «Broca-do-café»-*Hypothenemus Hampei* (Ferr.)-E considerações sobre o crescimento de sua população. *Bragantia*, 10, 204–214.
- Mendoza M., J.R. (1991). *Resposta da broca-do-café, Hypothenemus hampei, a estímulos visuais e semioquímicos*. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- Messing, R. H. (2012). The coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) invades hawaii: Preliminary investigations on trap response and alternate hosts. *Insects*, 3(3), 640–652.
- Moreno, D. R., Alvarez Nuñez, A., Vasquez Moreno, L. L., & Simonetti, J. A. (2010). Evaluación de atrayentes para la captura de hembras adultas de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) con trampas artesanales. *Fitosanidad*, 14(3), 177–180.
- Morris, J. R., & Perfecto, I. (2016). Testing the potential for ant predation of immature coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) life stages. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 233, 224–228.
- Mugo, H. M., & Kimemia, J. K. (2011). The Coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae) in Eastern Africa region: the extent of spread, damage and management systems. *Researchgate*. Acesso em 13/03/2018. Obtido de https://www.researchgate.net/publication/267200990_The_Coffee_berry_borer_Hypothenemus_hampeii_Ferrari_Coleoptera_Scolytidae_in_Eastern_Africa_region_the_extent_of_spread_damage_and_management_systems
- Murphy, S. T., & Moore, D. (1990). Biological Control of Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae): Previous Programmes and Possibilities for the Future. *Biocontrol News and Information*, 11(2), 107–117.
- Neves, P., & Hirose, E. (2005). Seleção de Isolados de *Beauveria bassiana* Para o Controle Biológico da Broca-do-Café , *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera : Scolytidae). *Neotropical Entomology*, 34(1), 77–82.
- Pérez-Lachaud, G., & Hardy, I. C. W. (2001). Alternative Hosts for Bethyloid Parasitoids of the

- Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Scolytidae). *Biological Control*, 22, 265–277.
- Pérez, J., Infante, F., Vega, F. E., Holguín, F., Macías, J., Valle, J., O'Donnell, K. (2003). Mycobiota associated with the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Mexico. *Mycological Research*, 107(7), 879–887.
- Poinar, Jr., G., Vega, F. E., Castillo, A., Chavez, I. E., & Infante, F. (2004). *Metaparasitylenchus hypothenemi* n. sp. (Nematoda: Allantonematidae), a parasite of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Curculionidae: Scolytinae). *Journal of Parasitology*, 90(5), 1106–1110.
- Posada-Flórez, F. J. (2008). Production of *Beauveria bassiana* Fungal Spores on Rice to Control the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. *Journal of insect science*, 8(41), 1–13.
- Rainho, H. L. (2015). *Resposta comportamental da broca-do-café hypothenemus hampei (Ferrari, 1867) (coleoptera: curculionidae: scolytinae) a voláteis de frutos de café*. Dissertação. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Raj, G. A., Janarthanan, S., Samuel, S. D., Baskar, K., & Vincent, S. (2011). Compatibility of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolated from Pulney hills , Western Ghats of Tamil Nadu with insecticides and fungicides. *Elixir Agriculture*, 40, 5563–5567.
- Reina, M. P., & Pardey, A. B. (1995). Nuevas investigaciones en la cría masiva de *Hypothenemus hampei* y de sus parasitoides *Cephalonomia Stephanoderis* y *Prorops nasuta*. *Revista Colombiana de Entomologia*, 21(1), 25–33.
- Rhodes, L. F., & Mansingh, A. (1986). Distribution of the Coffee Berry Borer *Hypothenemus-Hampeii* Ferr in Jamaica, and an Assessment of the Chemical Control Program (1979-1982). *Insect Science and Its Application*, 7(4), 505–510.
- Rodríguez, D., Cure, J. R., Gutierrez, A. P., & Cotes, J. M. (2017). A coffee agroecosystem model: III. Parasitoids of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). *Ecological Modelling*, 363, 96–110.
- Rosalía, Q.-C., Manuel, L.-M., Félix, M.-M., Rolando, G., Cristóbal, R., Fernando, A., & Celia, F. (2015). Trampas artesanales con atrayentes alcohólicos en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867) en la Colonia Bolinda, Caranavi. *Journal of*

the Selva Andina Biosphere, 3(1), 2–14.

- Rubio, J. D., Bustillo, A. E., Vallejo E., L. F., Acuña Z., J. R., & Benavides M., P. (2008). Systematics, morphology and physiology Alimentary Canal and Reproductive Tract of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera : Curculionidae , Scolytinae). *Neotropical Entomology*, 37(2), 143–151.
- Ruiz-Cárdenas, R., & Baker, P. (2010). Life table of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) in relation to coffee berry phenology under Colombian field conditions. *Scientia Agricola*, 67(6), 658–668.
- Sánchez González, E. (2011). *Efecto de la sombra y del manejo del café sobre la dinámica poblacional de (Hypothenemus hampei Ferrari) en frutos nuevos y remanentes en Turrialba, Costa Rica*. Dissertation. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza Escuela de posgrado, Turrialba, Costa Rica.
- Silva, H. L. (1958). *São Tomé e Príncipe e a Cultura do café. Memórias da junta de investigações do ultramar* (1.^a ed.). Lisboa.
- Silva, W. D., Mascarin, G. M., Romagnoli, E. M., & Bento, J. M. simões. (2012). Mating Behavior of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera : Curculionidae : Scolytinae). *J Insect Behav*, 25, 408–417.
- Silva, F. C. da, Ventura, M. U., & Morales, L. (2006). Capture of *Hypothenemus hampei* Ferrari (coleoptera, scolytidae) in response to trap characteristics. *Scientia Agricola*, 63(6), 567–571.
- Silva, S. A., Fonseca Alvarenga Pereira, R. G., de Azevedo Lira, N., Micotti da Glória, E., Chalfoun, S. M., & Batista, L. R. (2020). Fungi associated to beans infested with coffee berry borer and the risk of ochratoxin A. *Food Control*, 113, 107–204.
- Souza, J. C. ., Reis, P. R. ., Silva, R. A. ., Carvalho, T. A. F. ., & Pereira, A. B. (2013). Controle Químico Da Broca-Do-Café Com Cyantraniliprole Chemical Control of the Coffee Berry Borer With Cyantraniliprole. *Coffee Science*, 8(4), 404–4010.
- Souza, M. S., Silva, A. A. e, Teixeira, C. A. D., & Costa, J. N. M. (2014). Parasitismo na população da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), pelo parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethylidae). *EntomoBrasilis*, 7(3), 178–182.
- Taniwaki, M. . (2007). Danos causados pela broca-do-café: Entrada para fungos e toxinas. Em *Workshop internacional sobre manejo da broca-do-café, 2007, Londrina. Proceedings...*

Londrina: IAPAR (pp. 77–82).

- Teixeira, C. A. D., De Souza, O., & Costa, J. N. M. (2006). Frutos de café «Conilon» brocados por *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae): Qual a importância de sua queda no decorrer da fase de fufificação? *Neotropical Entomology*, 35(3), 390–394.
- Van Der Vossen, H. A. M. (2005). A critical analysis of the agronomic and economic sustainability of organic coffee production. *Experimental Agriculture*, 41, 449–473.
- Vega, F. E. (2008). Alimentary canal and reproductive tract of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *Neotropical Entomology*, 37(2), 143–151.
- Vega, F. E., & Hofstetter, R. (2015). *Bark Beetles Biology and Ecology of Native and Invasive Species*. London and USA: Press, Academic.
- Vega, F. E., Davis, A. P., & Jaramillo, J. (2012). From forest to plantation? Obscure articles reveal alternative host plants for the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 107(1), 86–94.
- Vega, F. E., & Hofstetter, R. (2015). *Bark Beetles Biology and Ecology of Native and Invasive Species*. London and USA: Press, Academic.
- Vega, F. E., Simpkins, A., Bauchan, G., Infante, F., Kramer, M., & Land, M. F. (2014). On the eyes of male coffee berry borers as rudimentary organs. *PLoS ONE*, 9(1), 1–7.
- Vega, F., Jaramillo, J., Castillo, A., & Infante, F. (2009). The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 2(2), 129–147.
- Vega, F., Mercadier, G., & Dowd, P. (1999). Fungi associated with the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari)(Coleoptera: Scolytidae). Em ... *Proceedings of the 18th International Scientific Colloquium on Coffee, Helsinki, August 1999. Association Scientifique Internationale du Café (ASIC)*. (pp. 229–238).
- Vega, V. J., Mariño, Y. A., Deynes, D., Greco, E. B., Bright, D. E., & Bayman, P. (2020). A beetle in a haystack: Are There Alternate Hosts of the Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*) in Puerto Rico? *Agronomy*, 10(228), 2–12.
- Vera-Montoya, L., Gil-Palacio, Z. N., & Benavides-Machado, P. (2007). *Hypothenemus hampei* en la zona cafetera. *Cenicafé*, 58(3), 185–195.
- Velasco P., H., J.M. Llaven G. & A.F. Velázquez V. (1997). Respuesta a extractos de cerezas de café utilizados como atrayente para hembras inter cosecha de la broca del fruto *Hypothenemus hampei* Ferr. En: Memorias del XVIII Simposio Latinoamericano de

- Caficultura, San José, Costa Rica, p. 349-352.
- Velasco P., H., B. Beristain R. & S. Díaz Cárdenas. (1999). Integración de métodos para el control de la broca *Hypothenemus hampei* Ferr. del fruto del cafeto en la zona Córdoba-Huatusco, Veracruz, México (Informe final). Universidad Autónoma Chapingo, Centro Regional Universitario Oriente. Huatusco, Veracruz, México.
- Vijayalakshmi, C. K., Tintumol, K., & Saibu, U. (2013). Coffee Berry Borer, *Hypothenemus Hampei* (Ferrari): A Review. *Ijird*, 2(13), 358–361.
- Villacorta, A., A.F. Possagnolo, R.Z. Silva & P.S. Rodrigues. (2001). Um modelo de armadilha com semioquímicos para o manejo integrado da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) no Paraná. En: II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Vitória, ES, p. 2093-2098.
- Waterhouse, D. F. (1998). *Biological Control of Insect Pests : Southeast Asian Prospects*. Aciar Monograph Series. Australian Centre for International Agricultural Research., Australian.
- Wegbe, K., Cilas, C., Decazy, B., Alauzet, C., & Dufour, B. (2003). Estimation of production losses caused by the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) and calculation of an economic damage threshold in Togolese coffee plots. *Journal of economic entomology*, 96(5), 1473–1478.
- Wood, S. L. (2007). *Bark and Ambrosia beetles of South America (Coleoptera, Scolytidae)*. (M. L. B. L. S. Museum, Ed.). Provo, Utah USA.
- Zorzetti, J., Neves, P. M. O. J., Constanski, K. C., Santoro, P. H., & Fonseca, I. C. B. (2012). Extratos vegetais sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) e *Beauveria bassiana*. *Semina: Ciências Agrárias*, 33(1), 2849–2862.

2. Capítulo II

Bioecologia da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), na ilha de São Tomé

Resumo

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, é uma séria limitação na produção de café biológico na ilha de São Tomé, no Golfo da Guiné, devido a informação limitada sobre a fenologia sazonal desta espécie nas ilhas limita a implementação do controlo biológico. No presente estudo, sete plantações de café foram monitorizadas durante dois anos para descrever padrões de infestação, percentagens de penetração em broca-do-café em frutos em desenvolvimento e mortalidade da broca por fungo entomopatogénico em duas espécies de *coffea* (*C. arabica* L. e *C. canephora* Pierre ex A. Froehner), de acordo com uma amostragem de 30 árvores segundo o "método CENICAFÉ". Os resultados revelaram que a posição da broca dentro dos frutos em desenvolvimento, infestação, e frutos verdes com fungo entomopatogénico foram significativamente afetadas pela variedade de café. A média da infestação nos sete locais foi ($11,5 \pm 3,5\%$; média \pm erro padrão (SE)), com dois locais mostrando uma infestação média $<5\%$. A análise molecular indicou quatro estirpes de *Beauveria bassiana* (B-Bug; VKBb03 18S; bbR1f e LPSC 1226) presentes na Ilha de São Tomé. As percentagens mais elevadas de infestação e *Beauveria bassiana* por ramo foram observadas em *C. arabica* L. (Red Caturra, Bourbon e Red Catuaí), em comparação com *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta), nos meses de menor pluviosidade. Foram encontradas fases imaturas da broca (ovos, larvas e pupas) e adultos durante todo o período de amostragem. Não foi observado nenhum predador CBB e parasitoides no estudo. De acordo com os índices populacionais registrados em todas as fases de seu ciclo biológico, nas áreas estudadas, conclui-se que a broca-do-café encontra ambiente favorável para sua multiplicação em São Tomé, requerendo, portanto, medidas para o seu controlo.

Palavra chaves: Biocontrolo; *Beauveria Bassiana*; *Coffea arabica*; *Coffea canephora*; índice de infestação;

Bioecology of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in Sao Tome island

Abstract

The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, is a serious limitation in organic coffee production in Sao Tome Island in the Gulf of Guinea. There is limited information regarding this species seasonal phenology on the islands limits the implementation of biological control. In the present study, seven coffee plantations were monitored over two years to describe infestation patterns, penetration rates into coffee berries, and mortality by the entomopathogenic fungus in two *coffea* species (*C. arabica* L. and *C. canephora* Pierre ex A. Froehner), according to 30-tree sampling of fruits following the "CENICAFÉ method". The results revealed that the borer position within the berries, infestation, and green berries with entomopathogenic fungus were significantly affected by coffee variety. The infestation mean across all seven sites was $(11.5 \pm 3.5\%)$; mean \pm standard error (SE)), with two sites showing mean infestation $<5\%$. Molecular analyse indicated four *Beauveria bassiana* strains (B-Bug; VKBb03 18S; bbR1f and LPSC 1226) present in São Tomé Island. The highest infestation and *Beauveria bassiana* rates per branch monthly were observed in *C. arabica* L. (Red Caturra, Bourbon and Red Catuaí), compared with *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta) in the months of lower rainfall. Borer immature stages (eggs, larvae and pupae) and adults were found throughout the sampling period. No CBB predator and parasitoids were observed in the survey. The population level and developmental rate indicated that the coffee borer met favourable environmental conditions in the studied areas and control measures are required for reducing damage.

Keywords: Biocontrol; *Beauveria bassiana*; *Coffea arabica*; *Coffea canephora*; infestation level;

2.1. Introdução

A broca-do-café, *H. hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytidae), é considerada a principal praga da cultura do café no mundo (Fernández e Cordero, 2007; Noriega et al., 2019, Blassioli-Moraes et al., 2019), e é um dos fatores que contribuem direta e indiretamente para redução da produtividade da cultura (Barrera, 2002; Camilo et al., 2003; Ferrão et al., 2019). Isto acontece devido aos ataques aos frutos do café em todos os estádios de maturação (Barrera, 2002).

As condições ambientais, especialmente a temperatura e a humidade relativa, influenciam o desenvolvimento do fruto (Jaramillo-Robledo et al., 1984; Camilo et al., 2003) e da broca-do-café (Baker et al., 1992; Jaramillo et al., 2010; Constantino et al., 2015). O período do amadurecimento do fruto ou a duração do ciclo de vida da broca-do-café e suas interações dependerão das variações de temperatura de cada região (Camilo et al., 2003). Geralmente, os frutos do café começam a ser suscetíveis ao ataque da broca-do-café quando seu peso seco é igual ou maior de 27%, o que ocorre quando o fruto atinge mais de 150 dias de desenvolvimento, o que depende da latitude e altitude (Bustillo-pardey, 2007).

O controlo biológico é a melhor opção do controlo desta praga, devido a sua eficiência económica e ecológica, porém deve-se ter em consideração todos os fatores que constituem o ecossistema do café e suas múltiplas interações. É essencial conhecer a fenologia da cultura nas diferentes zonas, especialmente o que está relacionado aos períodos de floração e, portanto, a idade dos frutos potencialmente suscetíveis á broca-do-café (Bustillo e Benavides, 1994; Benavides et al., 2002; Bustillo-pardey, 2007; Campos-Almengor, 2015). Ao mesmo tempo, é necessário conhecer a biologia e os hábitos de reprodução da broca-do-café, a fim de determinar os momentos de maior suscetibilidade da praga em relação às práticas de controlo existentes, mantendo-a assim ao baixo do nível económico de ataque (Camilo et al., 2003; Campos-Almengor, 2015).

No presente estudo, procurou-se descrever a dinâmica da população da broca-do-café em sete plantações de café que se estendem entre 68-1051 m acima do nível do mar (m altitud) na ilha de São Tomé. Recolheram-se dado sobre a bioecologia da broca-do-café, nomeadamente a presença de estados imaturos e adultos da broca-do-café durante o desenvolvimento do fruto do café, e quantificaram-se os níveis populacionais, níveis de infestação, grau de penetração da broca-do-café e frutos verdes com evidência de fungos entomopatogénicos.

2.2. Material e Métodos

2.2.1. Clima

A ilha de São Tomé está situada na latitude 0° e longitude 6° 30' Este com uma área de cerca de 900 km² e é dominada por uma montanha vulcânica, que culmina a 2.024 acima do nível do mar. O clima de São Tomé é sub-equatorial com precipitações muito elevadas. A precipitação média anual varia de 1,5 mm a 1000 mm na zona baixa (norte e nordeste) a mais de 1,5 mm a 6.000 mm na zona alta (sul e sudoeste). Os meses mais secos são junho, julho e agosto e os meses mais húmidos são março, abril e maio. A humidade atmosférica anual é 80% e a temperatura média anual ao nível do mar é de 25,4 °C (Afonso, 1969; World bank, 2017).

Os experimentos foram realizados entre os meses de fevereiro a dezembro de 2018 e de janeiro a dezembro de 2019 em seis localidades pertencente a CECAFEB, sendo: S. Carlos, S. Nicolau, Bem-Posta, Novo Destino, Brigroma, Poiso Alto e uma parcela do Centro de Investigação Agronómico e Tecnológico de São Tomé e Príncipe na base experimental de cultura industrial (CIAT/STP-BECI).

Os dados meteorológicos foram registados nas Estações Meteorológicas do Instituto Nacional de Meteorologia de São Tomé e Príncipe. A temperatura, humidade relativa do ar e a precipitação foram registadas diariamente durante o período que decorreu o trabalho experimental. As características agroclimáticas anuais e características das parcelas encontram-se nas (Tabelas 1). Os valores médios mensais para temperatura do ar, precipitação e humidade relativa do ar apresentam-se na (Tabela A1.1., Tabela A1.2. e Tabela A1.3.) nos apêndices.

Tabela 1. Características agroclimática anual das parcelas de café selecionadas.

Parcelas	Precipitação (mm)	Temperatura (°C)		Humidade relativa (%)	Altitude (m)	Coordenadas geográficas (UTM)	
		Min	Max				
S. Carlos	1257,3	17,3	28,8	85,5	1051	233887,0	36244,0
S. Nicolau	1257,3	17,3	28,8	85,5	914	218844,0	29163,0
Bem Posta	1514,9	13,6	32,4	85,3	744	235805,0	35496,0
Novo Destino	1514,9	13,6	32,4	85,3	647	235301,0	34253,0
Brigoma	2472,0	19,1	28,9	82,0	68	235736,0	31005,0
CIAT/STP-BECI	1514,9	13,6	32,4	85,3	324	235181,0	33164,0
Poiso Alto	1257,3	17,3	28,8	85,5	562	238518,0	37273,3

2.2.2. Caracterização das localidades

Em cada local uma das parcelas de café, foram registradas: as características dessas parcelas Tabela 2, as práticas culturais nessas parcelas são: capina, poda e colheita profilática, sem uso de pesticida.

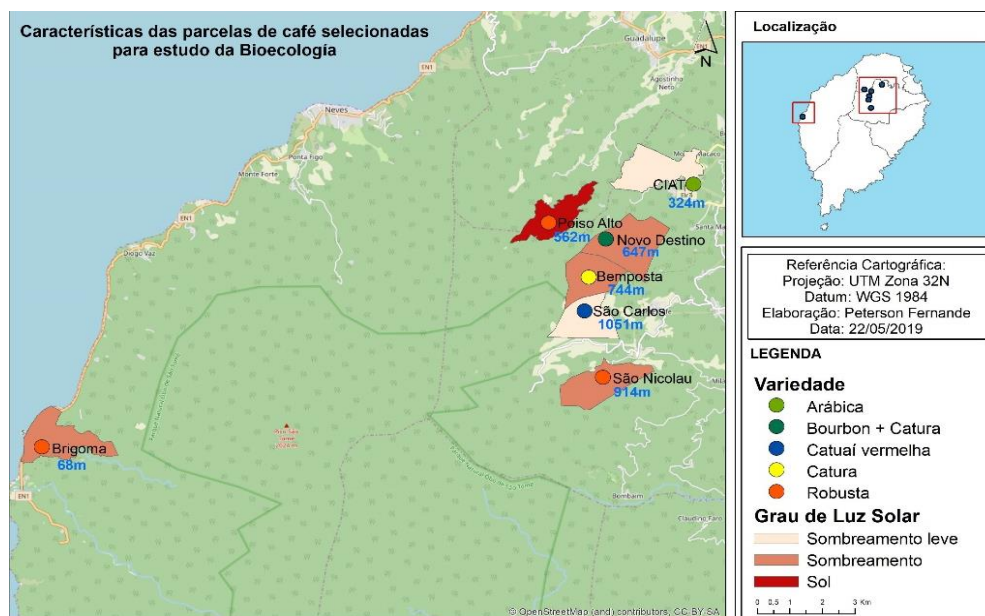


Figura 3: Característica das parcelas de café selecionadas para estudo de Bioecologia da Broca-do-café. Mapa elaborado por Fernandes (2019).

Tabela 2. Características das parcelas de café selecionadas para estudo da Bioecologia.

Localidades	Idade da Plantação (anos)	Distância entre planta (m)	Topografia	Área (ha)	Grau de Luz solar	Variedade
S. Carlos	40	2,0 x 2,0	Inclinado	0,5	Sombra ligeiro	Catuaí vermelha
S. Nicolau	40	3,0 x 3,0	Inclinado	0,5	Sombreamento	Robusta
Bem Posta	4	2,0 x 2,0	Inclinado	0,5	Sombreamento	Caturra
Novo Destino	4	1,0 x 2,0	Inclinado	0,5	Sombreamento	Bourbon + Caturra
Brigoma	15	3,5 x 5,0	Ondulado	0,5	Sombreamento	Robusta
CIAT/STP-BECI	11	3,0 x 3,0	Sentada	0,5	Sombra ligeiro	Arábica
Poiso Alto	2	2,0 x 2,0	Sentada	0,5	Ao sol	Robusta

São Nicolau e Brigoma: nessas parcelas predominam o sistema de cultivo agroflorestal, a espécie Robusta associadas à *Erythrina*, enquanto em **Poiso Alto** a espécie de café Robusta são plantadas num sistema de cultivo intensivo sob plena luz solar.

São Carlos, CIAT/STP-BECI, Novo Destino e Bem-Posta: nessas predominam o sistema agroflorestal de café (*Coffea arabica* L.) consórcios com *Erythrina*, alguns vegetais, e

inclusão de árvores a distâncias variáveis. O espaçamento para a *Erythrina* foi de 12 m x 12 m. Mais detalhes da plantação experimental de café são mostrados nas (Tabelas 1 e 2).

2.2.3. Determinações analíticas

Foram avaliadas as populações iniciais da broca-do-café, grau de penetração, nível de infestação, inimigos naturais e número de estados imaturos e adultos da broca-do-café.

2.2.3.1. Amostragem de população da *Hypothenemus hampei*

No presente estudo utilizou-se o procedimento de amostragem de trinta árvores conhecido como "método Cenicafe" na Colômbia (Bustillo et al., 1998). Este método consiste em: (1) dividir a parcela de café em lotes independentes de acordo com a idade da plantação; (2) selecionar aleatoriamente 30 árvores de café por lote (0,5-1,5 ha); (3) selecionar um ramo representativo no meio de cada árvore que contenha 30-100 frutos em desenvolvimento; (4) examinar todos os frutos verdes com orifício de entrada da broca-do-café; (5) registrar o número de frutos verdes, frutos verdes infestados e aqueles com evidência de fungos entomopatogênicos (EF); A percentagem de frutos atacados com fungos entomopatogênicos foi determinado por (equação 1),

$$\text{Percentagem de fungos entomopatogênicos} = \frac{\text{Total de frutos verde com EF}}{\text{Total de frutos contados}} * 100\% \quad (1)$$

(6) repetir o processo movendo-se em um padrão zig-zag dentro de cada lote (Aristizábal et al., 2016; Aristizábal et al., 2017). (7) Calcular o nível de infestação da broca para cada lote (equação 2).

$$\text{Nível de infestação} = \frac{\text{Total de frutos infestado com broca-do-café}}{\text{Total de frutos contados}} * 100\% \quad (2)$$

2.2.3.2. Grau de penetração da *Hypothenemus hampei*

Determinou-se a posição da fêmea da broca-do-café nos frutos infestados (equação 3).

$$\text{Grau de penetração} = \frac{\text{Total de frutos nas posições (AB ou CD)}}{\text{Total de frutos contados}} * 100\% \quad (3)$$

Para a determinação do grau de penetração da broca-do-café, foram recolhidas de 3 frutos verdes infestados por ramo em 30 árvores por hectare e dissecadas para avaliar a posição da broca no interior (Aristizábal et al., 2015; Aristizábal et al., 2016; Johnson et al., 2018). Os frutos infestados foram categorizados como AB e CD, dependendo do grau da penetração (Figura 4).



Figura 4: Broca-do-café na posição AB (E) e broca-do-café na posição CD com suas descendências (F). Fotos tiradas por (Aristizábal et al., 2017).

2.2.3.3. Número de estados imaturos e adultos da *Hypothenemus hampei*

Para determinar a fase de desenvolvimento da broca e a presença de parasitoides ou predadores, foram colhidos 100 frutos infestados em pré e pós-colheita por local/amostragem, dos quais 20 foram abertos e examinados com uma ampliação de 20x utilizando um estereoscópio para rastreamento e contagem das fases do ciclo biológico da broca (Aristizábal et al., 2016; Johnson et al., 2018). Os outros frutos infestados foram colocados em gaiolas de plástico para observar o aparecimento de parasitoides. As amostras foram colhidas mensalmente durante os dois anos de ensaio de campo.

2.2.3.4. Recolha de insetos

Um total de 100 frutos verdes infestados com evidência de fungos entomopatogênicos foram colhidos aleatoriamente em cada uma das sete plantações de café, situadas em altitudes diferentes: Brigroma (68 m altitude), CIAT/STP-BECI (324 m altitude), Poiso Alto (562 m

altitude), Novo Destino (647 m altitude), Bem-Posta (744 m altitude), São Nicolau (914 m altitude) e São Carlos (1051 m altitude) (Ilha de São Tomé). Os frutos verdes infestados com evidência de fungos entomopatogénicos foram colocadas em sacos esterilizados, e as amostras foram imediatamente levadas para o laboratório onde foram armazenadas a frio a 6°C.

2.2.3.4.1. Isolamento de fungos de adultos da *Hypothenemus hampei*

No laboratório, os frutos verdes infestados foram ainda examinados para contabilizar a presença de adultos da broca-do-café mortos com evidências de fungos entomopatogénicos, os frutos foram cortados suavemente para expor os adultos que se encontravam na posição AB. Os adultos mortos, com evidência de fungo entomopatogénico, foram desinfetadas externamente seguindo este procedimento: 1 minuto em álcool 70%; 5 minutos em hipoclorito sódio 5%; 1 minuto em álcool 70%; 3x 1 minuto em água esterilizada. Depois da desinfetação, os adultos mortos foram secos em papel absorvente esterilizado e grupo de cinco adultos mortos foram colocadas á superfície de meio de cultura potato-dextrose-agar (PDA) adicionado de antibióticos streptomycin (60 mg); penicillin G potassium (60 mg). As placas foram colocadas a incubar a 25°C no escuro durante duas semanas até se observar o crescimento de fungo. O fungo obtido a partir de cada adulto morto foi repicado para nova placa de PDA e colocada a 25°C na no escuro. Este procedimento foi repetido o nº de vezes necessárias até obtenção de culturas puras e observação de produção de esporos. Os isolados puros, foram repicados para tubos com Agar Dextrose de Batata (PDA) inclinado, para manutenção de coleção de trabalho (5°C), e a -80°C para preservação a longo prazo. As culturas puras de cada isolado foram depositadas na coleção de culturas do Instituto Politécnico de Bragança (Escola Superior de Agricultura).

2.2.3.4.2. Extração de ADN fúngico

Os isolados fúngicos foram inoculados em meio PDA e mantidos a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ no escuro durante 1-2 semanas. A morfologia da colónia, tamanho e forma dos esporos foram utilizados para a primeira identificação e para agrupar estirpes (Benham & Miranda 1953; Kovač et al., 2020). Os conídios de cada isolado foram recolhidos e utilizados para análises moleculares. O DNA genómico foi extraído utilizando o DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemanha), seguindo as instruções do fabricante. O micélio fresco foi perturbado por vórtice com

aproximadamente 200 μL de esferas de vidro (450-600 μm de diâmetro) adicionadas ao tampão de extração. O DNA foi armazenado a -20°C até à sua utilização.

2.2.3.4.3. Amplificação e sequenciação PCR

Reações em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas para amplificar uma região de DNA - o espaçador interno transcrito do DNA ribossômico (ITS) com os iniciadores universais ITS5/ITS4 (White et al. 1990). Todas as reações PCR foram realizadas utilizando a Master Mix PCR DreamTaq (2x) (Thermo Scientific, Vilnius, Lituânia) num termociclador Biometra TGradient (Biometra, Göttingen, Alemanha). Cada reacção foi realizada num volume de reacção final de 50 μL contendo 1 μL (50-150 ng) de ADN modelo, 0,4 μM de cada primário e 1x tampão PCR Master Mix, que incluía 1,5 mM MgCl_2 e 0,2 mM de cada dNTP. As condições de ciclo térmico foram as seguintes: desnaturação inicial a 94°C durante 3 min, seguida de 35 ciclos consistindo em desnaturação a 94°C durante 30 s, recozimento a 55°C durante 30 s e extensão a 72°C durante 1 min, e uma extensão final de 72°C durante 10 min. Os produtos PCR foram resolvidos por electroforese a 5 V.cm⁻¹ em gel de agarose (1,5%) contendo 0,5 $\mu\text{g/mL}$ de brometo de etídio e 0,5x Tris-borate-EDTA (TBE) tampão de funcionamento. As amplificações foram visualizadas usando o Sistema de Imagem VersaDoc (Laboratórios BioRad, Hercules, CA, EUA) e as reações que amplificaram um único produto PCR foram seleccionadas para purificação usando o kit DNA Clean and Concentrator (Zymo Research Corp, Irvine, CA, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Os fragmentos purificados foram sequenciados no STABVida Sequencing Laboratory (Portugal) num analisador de DNA ABI PRISM 3730xl (Applied Biosystems) em ambas as direcções utilizando os mesmos primários que os utilizados para as reações de amplificação. As sequências recentemente obtidas foram editadas utilizando o programa BioEdit versão 7.2.6 (Hall, 1999), e foram feitas sequências de consenso a partir das sequências para a frente e para trás.

2.2.3.4.4. Análises filogenéticas

As sequências foram comparadas com as disponíveis na base de dados GenBank (NCBI-National Centre for Biotechnology Information) utilizando a pesquisa BLASTn que foi conduzida contra a base de dados não redundante (nr) nucleotide para recuperar as sequências mais semelhantes para inferência filogenética. Sequências adicionais correspondentes às principais espécies dentro dos géneros *Beauveria* foram seleccionadas e incorporadas nas

análises filogenéticas (Tabela 3). Duas sequências da região ITS de *Isaria fumosorosea* (número de adesão AY624182) e de *Cordyceps militaris* (número de adesão AB070374) foram escolhidas como táxis de grupos externos de acordo com os resultados de análises publicadas anteriormente. As relações filogenéticas foram estimadas usando MEGA X v10.1 (Kumar et al., 2018) e o método de máxima probabilidade (ML) no Tamura 3-parâmetros com modelo de distribuição Gamma. A robustez da árvore ML foi inferida utilizando 1000 réplicas de bootstrap.

Tabela 3. Detalhes dos isolados de *Beauveria bassiana* obtidos neste estudo (♣) e das estirpes que representam espécies de *Beauveria* recuperadas do GenBank e utilizadas em análises filogenéticas.

Espécies	País	GenBank Adesão nrs
<i>Beauveria bassiana</i> ♣	S. Tomé Island	NA
<i>Beauveria bassiana</i> ♣	S. Tomé Island	NA
<i>Beauveria bassiana</i> ♣	S. Tomé Island	NA
<i>Beauveria bassiana</i> ♣	S. Tomé Island	NA
<i>Beauveria bassiana</i>	Palestine	MK862359
<i>Beauveria bassiana</i>	Colombia	MH233292
<i>Beauveria bassiana</i>	Índia	MK050627
<i>Beauveria bassiana</i>	Argentina	MG712624
<i>Beauveria bassiana</i>	Thailand	MN401664
<i>Beauveria bassiana</i>	Brazil	KF958305
<i>Beauveria bassiana</i>	Ethiopia	MW077114
<i>Beauveriabassiana</i>	Antarctica	KU954338
<i>Beauveria bassiana</i>	Spain	MT000957
<i>Beauveria bassiana</i>	Korea	MG952537
<i>Beauveria asiatica</i>	South Korea	HQ880787
<i>Beauveria australis</i>	Australia	HQ880789
<i>Beauveria caledonica</i>	UK	HQ880817
<i>Beauveria caledonica</i>	UK	MH873831
<i>Beauveria kipukae</i>	USA	HQ880803
<i>Beauveria malawiensis</i>	Malawi	HQ880825
<i>Beauveria malawiensis</i>	Malawi	DQ376247
<i>Beauveria_lii</i>	China	JN689372
<i>Beauveria pseudobassiana</i>	Portugal	HQ880791
<i>Beauveria medogensis</i>	China	KU994837
<i>Beauveria sungii</i>	Japan	HQ880809
<i>Beauveria varroae</i>	France	HQ880800
<i>Beauveria vermiconia</i>	Chile	HQ880822

2.2.4. Análise estatística

A análise de dados foi realizada com a IBM SPSS Statistics, versão 23. As análises de variância (ANOVA) foram realizadas com a variedade, altitude e precipitação como variável independente e as médias de tratamento foram submetidos ao teste HSD de Tukey ($p < 0,05$), sempre que apropriado. A análise de correlação (Pearson's; r) foi realizada entre frutos verdes

infestados, posição AB e frutos verdes com evidência de fungo entomopatogénico para avaliar se a presença de fungo entomopatogénico está associada à incidência de pragas ajudando no seu controlo e, assim, auxiliando no eventual processo de tomada de decisão sobre o controlo da broca.

2.3. Resultados

2.3.1. Níveis de infestação de campo de *Hypothenemus hampei*

Foram observados frutos verdes infestados com a broca-do-café em todos os meses de amostragem, embora as proporções de frutos verdes infestados fossem globalmente mais elevadas em São Carlos (1051 m altitude) em comparação com as plantações de café em Brigroma (68 m altitude) ($p < 0,001$). Os níveis de infestações mais elevadas foram registrados em São Carlos ($20,0 \pm 3,9\%$; média \pm erro padrão (SE)) (1051 m altitude), e CIAT/STP-BECI ($19,2 \pm 4,2\%$) (324 m altitude), mas sem diferenças significativas ($p = 1,00$). Não houve diferenças significativas ($p = 0,70$) entre Brigroma ($2,3 \pm 0,6\%$) (68 m altitude), São Nicolau ($7,1 \pm 1,6\%$) (914 m altitude), e Poiso Alto ($3,7 \pm 0,8\%$) (562 m altitude). Não foram observadas diferenças significativas ($p = 0,99$) entre Bem-Posta ($13,2 \pm 3,7\%$) (744 m altitude) e Novo Destino ($14,6 \pm 3,5\%$) (647 m altitude). Foram observadas diferenças significativas ($p = 0,01$) entre Bem-Posta ($13,2 \pm 3,7\%$) (744 m altitude) e Brigroma ($2,3 \pm 0,6\%$) (68 m altitude). A diferença entre Brigroma ($2,3 \pm 0,6\%$) (68 m altitude) e Novo Destino ($14,6 \pm 3,5\%$) (647 m altitude) foi significativa ($p = 0,002$) (Tabela 4). A variedade de café e a localidade (altitude/microclima/manejo) afetou significativamente os níveis de infestação ($F = 15,74$; $df = 160$; $p < 0,001$) (Tabela A3.4. nos apêndices). Os níveis de infestações mais elevadas foram registrados no *Coffea arabica*. L. Foi registrada uma correlação positiva entre o nível de infestação da broca-do-café e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico no campo ($t = 15,06$; $r = 0,59$; $p = 0,001$) (Tabela 4).

Tabela 4. Nível de infestação da broca-do-café (CBB), posição de CBB (AB-CD) e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico (EF), em Bem-Posta, Novo Destino, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos, São Nicolau, and Poiso Alto, na ilha de São Tomé entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Localidade	Variedade	Altitude	CBB	AB	CD	EF
			Média \pm erro padrão (SE)			
Brigroma	Robusta	Baixa	$2,3 \pm 0,6^b$	$0,5 \pm 0,1^c$	$0,5 \pm 0,1^d$	$0,1 \pm 0,0^b$
Novo Destino	Bourbon + Caturra	Alta	$14,6 \pm 3,5^{ab}$	$1,8 \pm 0,4^{ab}$	$1,7 \pm 0,3^{ab}$	$1,4 \pm 0,6^b$
CIAT/STP-BECI	Arábica	Média	$19,2 \pm 4,2^a$	$1,7 \pm 0,3^{ab}$	$1,6 \pm 0,3^b$	$4,5 \pm 1,4^a$
Poiso Alto	Robusta	Alta	$3,7 \pm 0,8^b$	$1,0 \pm 0,2^{bc}$	$0,6 \pm 0,2^d$	$0,2 \pm 0,1^b$
Bem-Posta	Red Catura	Alta	$13,2 \pm 3,7^{ab}$	$2,0 \pm 0,5^a$	$1,4 \pm 0,3^c$	$2,1 \pm 1,4^{ab}$
São Nicolau	Robusta	Alta	$7,1 \pm 1,6^b$	$1,6 \pm 0,2^b$	$0,8 \pm 0,1^{cd}$	$1,0 \pm 0,5^b$
São Carlos	Red Catuaí	Alta	$20,0 \pm 3,9^a$	$1,9 \pm 0,3^{ab}$	$2,3 \pm 0,3^a$	$2,0 \pm 0,6^{ab}$
Média total	$11,5 \pm 3,5$	$1,5 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,9$
Correlação			**	**		**

Notas: CBB = % de infestação de broca-do-café, AB e CD = % de penetração de CBB dentro do fruto (posições AB e CD), EF = % de frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico. Correlação ** (positivo). Zona baixa (68 m altitude), zona média (324 m altitude) e zona alta (>562 m altitude).

†Médias seguidas da mesma letra na coluna não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Observaram-se maiores níveis de infestação mensal por ramo em *C. arabica* L. (Caturra Vermelha, Bourbon e Catuaí Vermelha) (Figuras 5, 6, 7 e 8) em comparação com *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta) (Figuras 9, 10 e 11).

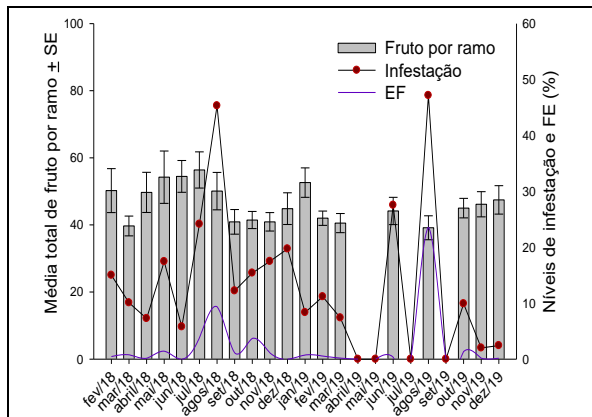


Figure 5. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de Bem-Posta entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

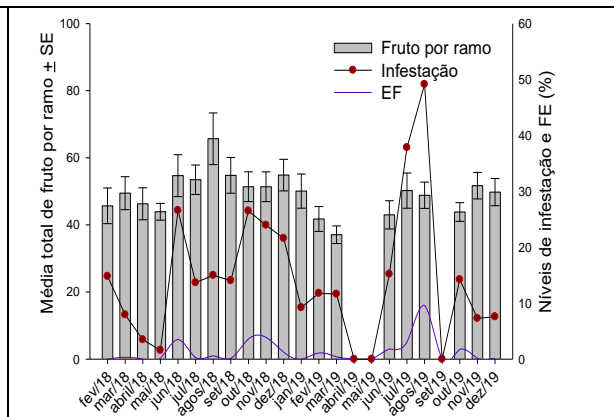


Figure 6. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de Novo Destino entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

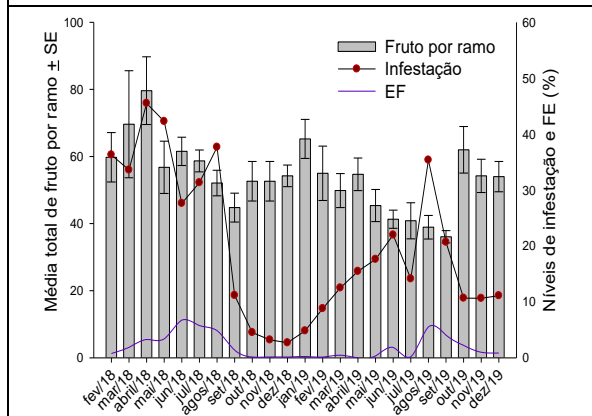


Figure 7. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de São Carlos entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

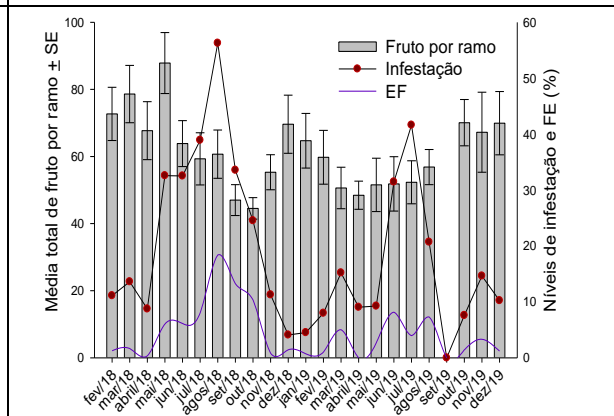


Figure 8. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por mês na localidade de CIAT/STP-BECI entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Notas: Nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico (EF) em *C. arabica* L.

A floração de *C. arabica* L. foi observada em março, maio, julho, agosto, setembro, novembro e dezembro, enquanto a frutificação foi observada durante todo o período de amostragem em São Carlos, mas não foi observada em abril, maio, julho e setembro em Bem-Posta, em abril, maio e setembro em Novo Destino, e em setembro em CIAT/STP-BECI

(Figuras 5, 6, 7 e 8 e Tabelas A2.1., A2.2. nos apêndices). A floração de *Coffea canefora* Pierre ex A. Froehner (Robusta) foi observada de fevereiro a dezembro, enquanto a frutificação foi observada durante todo o período de amostragem em Brigroma e São Nicolau, mas não foi observada em julho e agosto de 2019 em Poiso Alto (Figura 9, 10 e 11 e Tabelas A2.1., A2.2. nos apêndices).

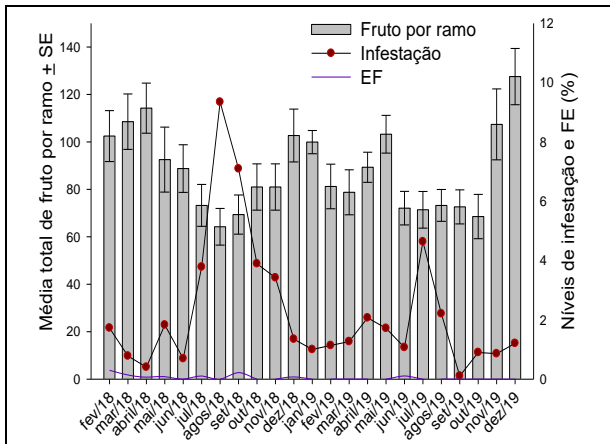


Figure 9. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogênico por mês na localidade de Brigroma entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

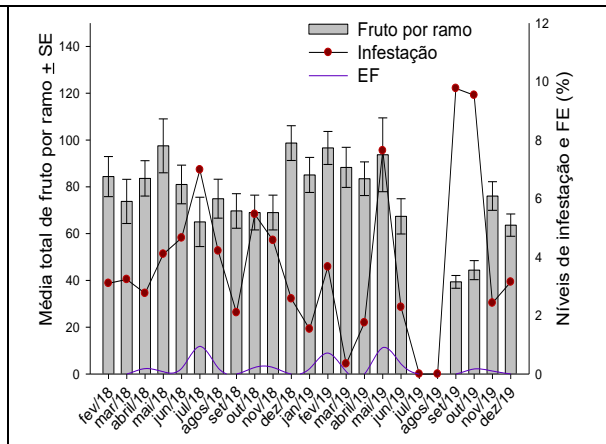


Figure 10. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogênico por mês na localidade de Poiso Alto entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

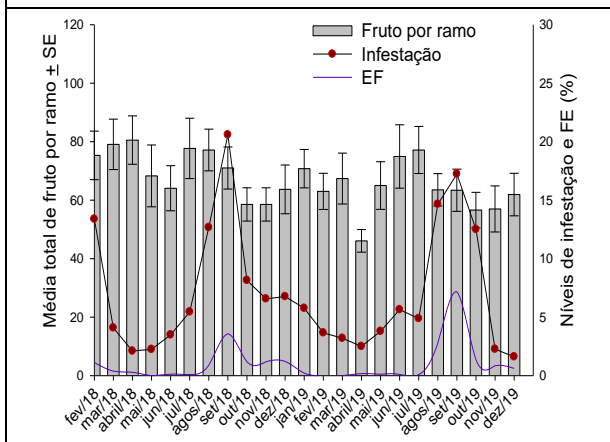


Figure 11. Média de frutos por ramos, nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogênico por mês na localidade de São Nicolau entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Notas: Nível de infestação e frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogênico (EF) em *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta).

2.3.2. Penetração dos frutos por *Hypothenemus hampei*

As percentagens mais elevadas da broca-do-café na posição AB foram observadas em Bem-Posta ($2,0 \pm 0,5\%$) (744 m altitude) em comparação com Brigroma ($0,5 \pm 0,1\%$) (68 m

altitude). Não foram observadas diferenças significativas entre as percentagens da broca (posição AB) no Novo Destino ($1,8\pm 0,4\%$) (647 m altitude) ($p=1,00$), São Carlos ($1,9\pm 0,3\%$) (1051 m altitude) ($p=0,99$), e CIAT/STP-BECI ($1,7\pm 0,3\%$) (324 m altitude) ($p=0,99$). Na posição CD, São Carlos ($2,3\pm 0,3\%$) (1051 m altitude) apresentou as percentagens mais altas e Brigroma ($0,5\pm 0,1\%$) (68 m altitude) as mais baixas. Não houve diferença significativa ($p=0,99$) entre as percentagens da broca (posição CD) em Brigroma ($0,5\pm 0,1\%$) (68 m altitude) e Poiso Alto ($0,6\pm 0,2\%$) (562 m altitude) (Tabela 3). A variedade de café e a localidade (altitude/microclima/manejo) afetaram significativamente as percentagens da broca-do-café na posição (AB-CD) ($F=6,51$; $df=160$; $p<0,001$) (Tabela A3.1 e A3.2. nos apêndices). As percentagens mais elevadas da broca-do-café em posição (AB-CD) foram registadas em *Coffea arabica*. L. (Tabela 3). Os dados mensais das percentagens da broca-do-café em posição (AB-CD) durante o período do ensaio encontrassem (Tabelas A2.5. e A2.6. nos apêndices).

2.3.3. Estados imaturos e adultos da *Hypothenemus hampei* durante o desenvolvimento do fruto de café

Foram encontradas fases imaturas (ovos, larvas e pupas) e adultos de CBB durante todo o período de amostragem. Observou-se maior número de ovos da broca-do-café por mês na localidade de Poiso Alto (562 m altitude) e menor em Bem-Posta (744 m altitude). Registaram-se na localidade de Brigroma (68 m altitude) maiores números médios de larvas, pupas e adultos por mês. Verificou-se no Novo Destino (647 m altitude) menores números médios de larvas, pupas e adultos por mês (Tabela 5). Não houve diferenças entre as localidades no número médio de ovos ($F=0,74$; $df=160$; $p=0,62$) (Tabela A3.6. nos apêndices), larvas ($F=1,42$; $df=160$; $p=0,21$) (Tabela A3.7. nos apêndices) e pupas ($F=1,48$; $df=160$; $p=0,19$) (Tabela A3.8. nos apêndices) presentes em frutos verdes, em maturação e maduras, mas houve diferenças significativas ($F=3,42$; $df=160$; $p=0,003$) no número médio de adultos CBB (Tabela A3.9. nos apêndices).

Tabela 5. Número médio de estados imaturos (ovos, larvas e pupas) e adultos da broca-do-café observados em 20 frutos de café em Bem-Posta, Novo Destino, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos, São Nicolau, and Poiso Alto, na ilha de São Tomé entre fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Localidade	Variedade	Altitude	Ovo	Larva	Pupa	Adulto
			Média ± SE			
Brigroma	Robusta	Baixa	21,5±4,2 ^a	43,1±11,0 ^a	12,0±3,7 ^a	25,6±5,9 ^a
Novo Destino	Bourbon + Caturra	Alta	20,6±6,5 ^a	20,3±7,4 ^a	3,7±1,5 ^a	13,7±1,4 ^b
CIAT/STP-BECI	Arábica	Média	20,8±4,9 ^a	28,1±9,9 ^a	10,4±3,9 ^a	23,2±4,2 ^{ab}
Poiso Alto	Robusta	Alta	27,6±7,6 ^a	38,5±10,5 ^a	8,0±3,0 ^a	22,5±3,0 ^{ab}
Bem-Posta	Red Catura	Alta	17,3±4,5 ^a	30,3±10,7 ^a	8,5±3,9 ^a	17,0±2,6 ^{ab}
São Nicolau	Robusta	Alta	21,9±5,1 ^a	26,1±6,8 ^a	5,9±2,7 ^a	14,7±3,1 ^{ab}
São Carlos	Red Catuaí	Alta	27,2±8,0 ^a	40,1±10,7 ^a	11,4±4,4 ^a	15,6±2,9 ^{ab}

†Médias seguidas da mesma letra na coluna não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($\alpha=0,05$). Baixa (68 m altitude), Médio (324 m altitude) and Alta (>562 m altitude).

A oviposição foi observada em todos os meses do ano 2018 em Bem-Posta (Figura 12), São Carlos (1051 m altitude) (Figura 14), no CIAT/STP-BECI (324 m altitude) (Figura 15), mas não se registou oviposição no mês de outubro em Novo Destino (647 m altitude) (Figura 13). Já em 2019 não se observou oviposição nos meses de setembro e dezembro no CIAT/STP-BECI (324 m altitude) (Figura 15), nos meses de junho, julho, agosto e dezembro em Bem-Posta (744 m altitude) (Figura 12), no mês de junho em Novo Destino (647 m altitude) (Figura 13) e no mês setembro em São Carlos (1051 m altitude) (Figura 14).

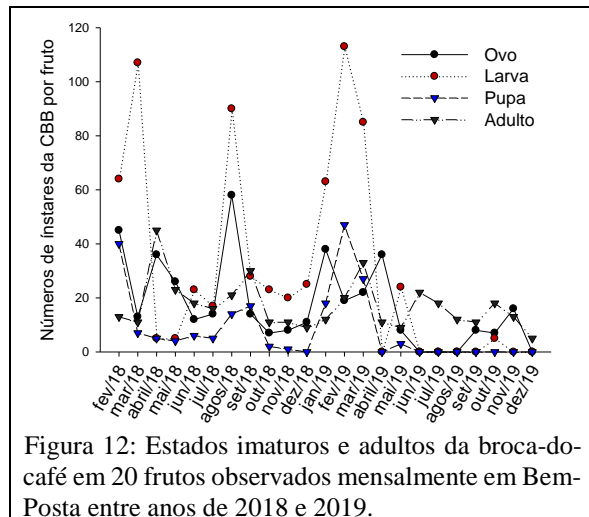


Figura 12: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em Bem-Posta entre anos de 2018 e 2019.

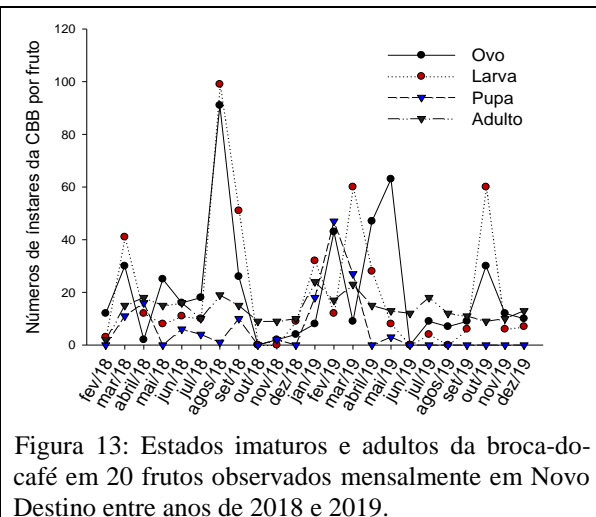


Figura 13: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em Novo Destino entre anos de 2018 e 2019.

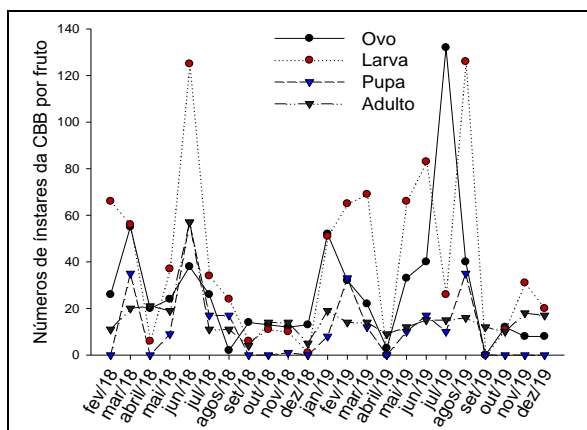


Figura 14: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em São Carlos entre anos de 2018 e 2019.

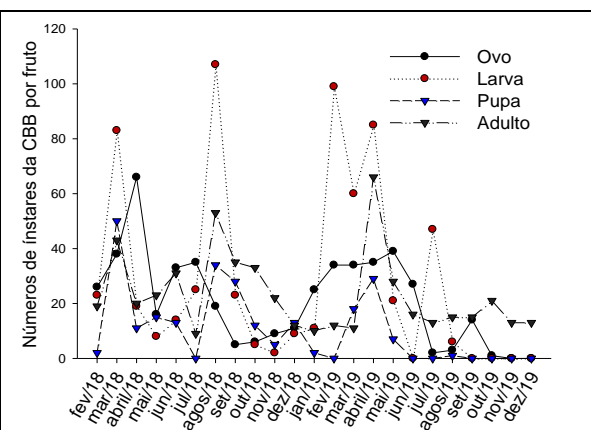


Figura 15: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente no CIAT/STP-BECI entre anos de 2018 e 2019.

Notas: estados imaturos (ovo, larva e pupa) e adultos do *Hypothenemus hampei* em *C. arabica* L.

Verificou-se a presença de larvas em todos os meses do ano 2018 em Bem-Posta (744 m altitude) (Figura 12) e São Carlos (1051 m altitude) (Figura 14), mas não se registou nos meses de outubro e novembro em Novo Destino (647 m altitude) (Figura 13) e no mês dezembro no CIAT/STP-BECI (324 m altitude) (Figura 15). Já em 2019 não se registou larvas nos meses de abril a dezembro em Bem-Posta (744 m altitude) (Figura 12), nos meses de junho e agosto em Novo Destino (647 m altitude) (Figura 13), nos meses de abril e setembro em São Carlos (1051 m altitude) (Figura 14) e nos meses de outubro a dezembro no CIAT/STP-BECI (324 m altitude) (Figura 15).

Registou-se o maior número de pupas no mês de fevereiro de ambos os anos Bem-Posta (744 m altitude) (Figura 12), nos meses de março e abril de 2018 e nos meses de fevereiro e março do ano 2019 em Novo Destino (647 m altitude) (Figura 13), mas não se registou pupas no mês de dezembro do ano de 2018 e nos meses de abril a dezembro em 2019 em Bem-Posta (744 m altitude) (Figura 12), nos meses de fevereiro, maio, outubro e dezembro do ano de 2018 e nos meses de abril a dezembro de 2019 em Novo Destino (647 m altitude) (Figura 13), nos meses de fevereiro, abril, setembro, outubro e dezembro do ano de 2018 e 2019 em São Carlos (1051 m altitude) (Figura 14). Não se registou pupas no mês de julho do ano de 2018 e nos meses de fevereiro, junho, julho, setembro, outubro, novembro e dezembro de 2019 em CIAT/STP-BECI (324 m altitude) (Figura 15). Adultos foram observados todos os meses durante o ensaio. Os dados médios de estados imaturos (ovo, larva e pupa) e adultos da broca-do-café encontrasse nas (Tabelas A2.8, A2.9, A2.10 e A2.11 nos apêndices).

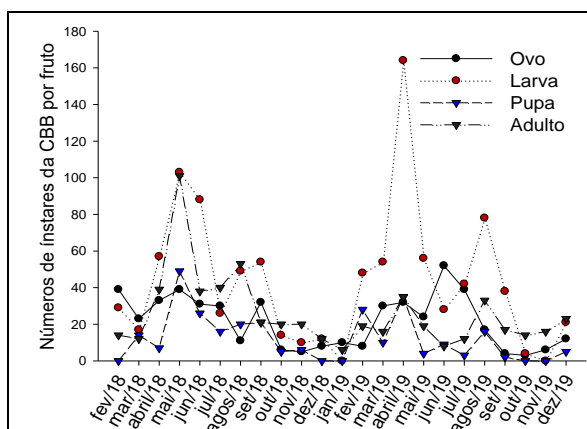


Figura 16: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em Brigroma entre anos de 2018 e 2019.

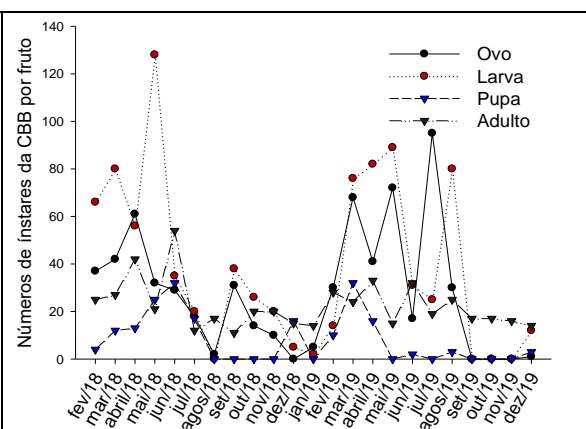


Figura 17: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em Poiso Alto entre anos de 2018 e 2019.

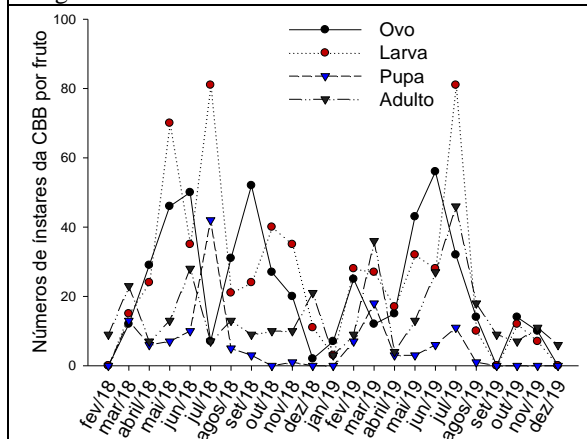


Figura 18: Estados imaturos e adultos da broca-do-café em 20 frutos observados mensalmente em São Nicolau entre anos de 2018 e 2019.

Notas: estados imaturos (ovo, larva e pupa) e adultos do *Hypothenemus hampei* em *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta).

Não se verificou oviposição na localidade de Poiso Alto (562 m altitude) no mês dezembro do ano 2018 e nos meses setembro, outubro e novembro de 2019 (Figura 17), em São Nicolau (914 m altitude) no mês de fevereiro de 2018 e nos meses de setembro e dezembro do ano de 2019 (Figura 18). Verificou-se oviposição em Brigroma (68 m altitude) em todos os meses de ambos os anos (Figura 16).

Não se verificou a presença de larvas em Poiso Alto (562 m altitude) no mês de agosto do ano 2018 e nos meses de setembro, outubro e novembro do ano de 2019 (Figura 7), em São Nicolau (914 m altitude) no mês de fevereiro do ano 2018 e nos meses de setembro e dezembro

do ano de 2019 (Figura 18). Já em Brigroma (68 m altitude) verificou-se a presença de larvas em todos os meses do ano 2018, mas não se registou nos meses de janeiro e dezembro do ano de 2019 (Figura 16).

Observou-se o maior número de pupas no mês de maio de 2018 e em abril do ano 2019. Não se registou pupas nos meses de fevereiro e dezembro do ano de 2018 e nos meses de janeiro, outubro e novembro em 2019 no Brigroma (68 m altitude) (Figura 16). Registou-se o maior número de pupas nos meses de maio e junho de 2018 e no mês março do ano 2019. Não se registou pupas nos meses de agosto, setembro, outubro e novembro do ano de 2018 e nos meses de fevereiro, maio, junho, julho, setembro, outubro e novembro de 2019 em Poiso Alto (562 m altitude) (Figura 17), mas não se registou nos meses de fevereiro, outubro e dezembro do ano de 2018 e nos meses de janeiro, setembro, outubro, novembro e dezembro de 2019 em São Nicolau (914 m altitude) (Figura 18). Adultos foram observados em todos os meses durante o ensaio. Os dados médios de estados imaturos (ovo, larva e pupa) e adultos da broca-do-café encontrasse nas (Tabelas A2.8, A2.9, A2.10 e A2.11 nos apêndices).

2.3.5. Identificação molecular da *Beauveria bassiana*

Para determinar a posição filogenética dos isolados de *B. bassiana*, foram realizadas análises filogenéticas com base nos dados da sequência ITS. A amplificação por PCR das regiões ITS do rDNA dos fungos entomopatogénicos isolados gerou um único produto para todos os isolados de aproximadamente 550 bp. Os resultados de BLAST mostraram que as sequências ITS eram 99-100% idênticas (e-value 0,0, Query Cover 99%) aos isolados de *B. bassiana*. Na árvore filogenética, observámos que todas as sequências de *B. bassiana* obtidas do B-Bug; VKBb03 18S; bbR1f e LPSC 1226 isolados da Ilha de São Tomé agrupados com cepas fúngicas de *B. bassiana* de outras regiões geográficas (Figura 19).

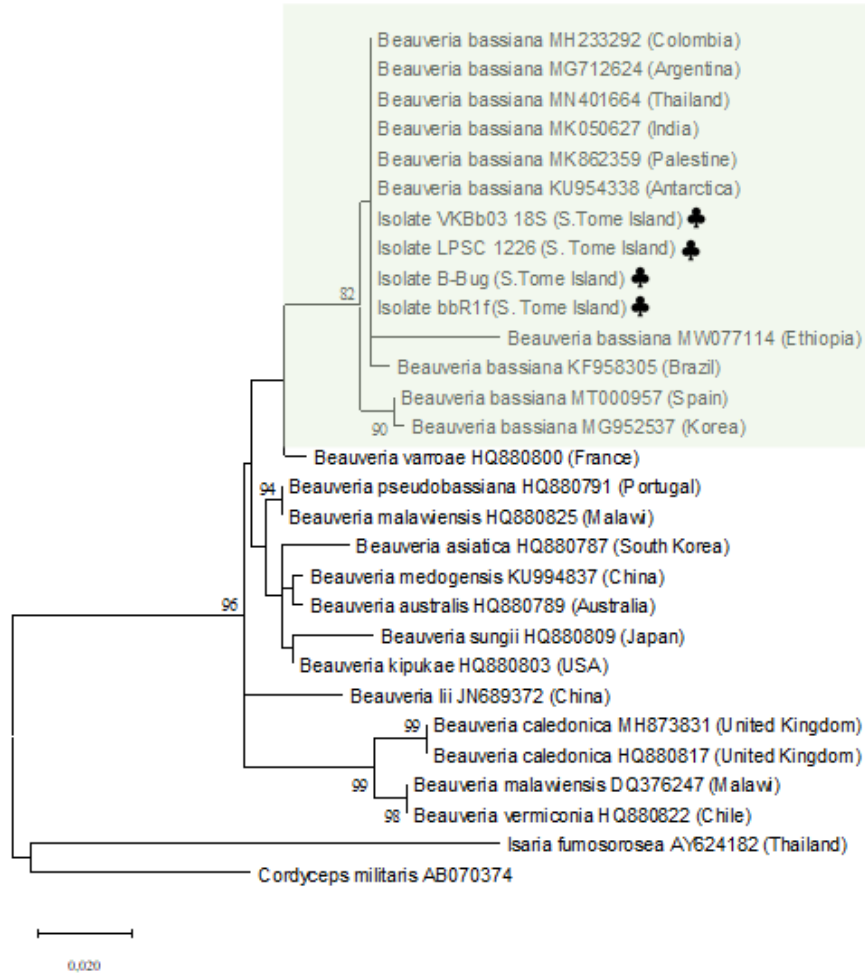


Figura 19. Relações filogenéticas de *Beauveria bassiana* isolados de frutos de café infestados com base no alinhamento das sequências (550 bp) da região ITS.

Árvore filogenética resultante de análises de máxima probabilidade da região ITS para espécies de *Beauveria bassiana*. Os valores de Bootstrap acima de 50 são indicados nos nós. As novas sequências (♣) e sequências de *B. bassiana* incluídas neste estudo são indicadas a cores. Foram realizadas análises evolutivas em MEGA X.

2.4. Discussão

Investigou-se a dinâmica populacional e os níveis de infestação da broca do café na ilha de São Tomé, mas devido à floração irregular, não conseguimos determinar o número de gerações sazonais da broca, mas encontramos frutos verdes infestados em todos os meses amostrados, e particularmente no final de maio a outubro durante as semanas que se seguiram à época da principal de colheita e a formação de novos frutos. A média de infestação nos sete locais foi de $(11,5 \pm 3,5\%)$, com dois locais mostrando infestação $<5\%$, um valor abaixo do nível de dano económico de 5% que foi estimado por vários autores (Costa et al., 2001; Fernandes et al., 2011; Aristizábal, 2019^a). Neste contexto, a praga parece ter sido um fator limitante da produção de café orgânico na ilha de São Tomé durante o período do estudo. Vários fatores podem influenciar a dinâmica da população da broca-do-café, entre eles: a precipitação, temperatura, sombreamento, altitude e colheita (Fanton, 2001). Por outro lado, as combinações de fatores ambientais e práticas culturais tais como índice pluviométrico diário, variedade de café, idade de plantação e quantidade da broca-do-café, também influenciam o nível de infestação (Wegbe et al., 2007). Neste ensaio, os níveis de infestação diferiram entre as localidades talvez devido a uma combinação de altitude/microclima/manejo e variedade. *Coffea arabica* L. é mais tolerante a broca-do-café do que *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta), mas alguns estudos mostraram maior tolerância da robusta a broca (Clarke e Macrae, 1988; Souza et al., 2004; Sera et al., 2010). *Coffea arabica* L. (var. Caturra) é mais suscetível a broca (Romero e Cortina, 2007), mas neste ensaio *C. arabica* L. (var. Catuaí vermelha) foi mais suscetível. O nível de infestação da broca-do-café entre 7% e 52% foi registado em plantações de café sombreado (Carvalho et al., 1961; Mariño et al., 2016). Níveis de infestação da broca-do-café entre 4% e 26% foram registados em plantações de café à plena luz solar em Porto Rico (Mariño et al., 2016). Resultado semelhante (4%) foi registado em Poiso Alto (plena luz do sol).

Encontrou-se o maior número médio de ovos em Poiso Alto (562 m altitude), e larvas, pupas, e adultos da broca-do-café em Brigroma (68 m altitude). Talvez devido a uma combinação de altitude/microclima existente nestas localidades. Constataram-se maior reprodução e dispersão da broca em zonas baixas no Hawaii (Aristizábal et al., 2016). Menor ocorrência da broca foi observada na zona alta no sul da Colômbia (Bosselmann et al., 2009). Por outro lado, foi observada uma diminuição da população da broca em altitudes superiores a (800 m altitude) na Costa Rica (Cuellar, 2010). Registou-se maior desenvolvimento da broca

em localidades com 1.200 m altitude, com temperaturas médias superiores a 21°C e menor desenvolvimento em locais com altitude superior a (1.600 m altitude), com temperaturas médias abaixo de 19°C na Colômbia (Constantino, 2010). Uma maior prevalência da broca foi registrada em plantações de café localizadas em baixa altitude no sudoeste da Etiópia (Asfaw et al., 2019).

A incidência de fungos entomopatogénicos foi bastante baixa na Ilha de São Tomé. Em condições naturais, os fungos *Beauveria bassiana* ocorrem parasitando uma baixa percentagem de CBB (Nilton, 2020). As percentagens de fungos *Beauveria bassiana* parasitando CBB variaram de 0,23% a 0,47% em Rondônia, portanto mais baixas do que noutras regiões do Brasil (Nilton et al., 2002). Registou-se o dobro da percentagem de frutos verdes infestados com *Beauveria bassiana* em Ka'u quando comparada com Kona no Hawaii (Aristizábal et al., 2017), porém os níveis de infestação nestas áreas eram mais elevados do que o registado neste estudo. O nível de infestação e os frutos verdes infestados com evidência de fungo entomopatogénico por ramo de café foram diretamente proporcionais. Isto foi evidenciado pela correlação positiva observada. As maiores infestações e atividade de fungo entomopatogénico foram registadas nos meses de menor precipitação na ilha de São Tomé, particularmente de finais de maio a outubro durante e nas semanas que se seguiram à principal época de colheita formação de novos frutos. As maiores quantidades de frutos verdes infestados com *B. bassiana* ocorreram em setembro-outubro no Hawaii e Porto Rico (Aristizábal et al., 2017). Os fungos entomopatogénicos são afetados por vários fatores que influenciam a sua abundância, diversidade, viabilidade e eficiência de infeção num dado ecossistema, particularmente fatores abióticos: como a temperatura, humidade relativa e radiação solar (Inglis et al., 2001; Vidal e Fargues, 2007).

A temperatura é um dos principais fatores que afetam a germinação de entomopatógenos, crescimento, esporulação e sobrevivência. A influência da temperatura é também notada durante as interações hospedeiro-patógeno (Blanford e Thomas, 2000). As temperaturas ideais de germinação e crescimento dos entomopatógenos variam de 23°C a 28°C, diminuindo com temperaturas superiores a 30°C, e inibidos em temperaturas superiores a 34°C. A humidade relativa é outro fator abiótico conhecido por influenciar fortemente o fungo entomopatogénico (Jaronski, 2010). De facto, a humidade relativa pode ser considerada o fator decisivo para o aparecimento de surtos epizoóticos, sendo necessária para a germinação, infeção e esporulação de espécies de fungos entomopatogénicos (Hesketh et al., 2010). A maioria das espécies fúngicas requer pelo menos 90% de humidade relativa para germinação (Inglis et al., 2001). Wraight et al. (2018) observaram a atividade de fungos entomopatogénicos (*Beauveria*

bassiana) apenas quando reduziram o limiar de humidade para 85%. Encontramos atividade elevada de fungos entomopatogénicos a (324 m altitude), provavelmente devido a uma combinação de altitude/microclima.

Quatro estirpes de *Beauveria bassiana* (B-Bug; VKBb03 18S; bbR1f e LPSC 1226) foram identificadas na Ilha de São Tomé. A estirpe *Beauveria bassiana* LPSC 1226 também foi encontrada infestando naturalmente o *Schistocerca cancellata* (Orthoptera: Acrididae) na Argentina (Pelizza et al., 2020). Na Argentina, a estirpe *Beauveria bassiana* LPSC 1226 controlou 100% de *Bufoenacris claraziana* (Orthoptera: Tristiridae) em condições laboratoriais (Mariottinia et al., 2019). A estirpe *Beauveria bassiana* VKBb03 18S foi testada como biopesticida para controlo de mosquitos no Sul da Índia (Vivekanandhan et al., 2020). Em geral, as estirpes *Beauveria bassiana* foram utilizadas como componente principal dos programas de gestão de pragas para a CBB a nível mundial (Alvaro et al., 2002; Cárdenas et al., 2007; Silva, 2010; Jaramillo González, 2012). Os nossos dados sugerem que este entomopatógeno pode ser utilizado como parte dos programas de MIP para a CBB na Ilha de São Tomé, se uma investigação mais aprofundada esclarecer quais as estirpes mais virulentas, quais as estirpes predominantes em cada área e se são igualmente eficazes nas diferentes condições climáticas.

2.5. Conclusões

Dos resultados obtidos, a ocorrência de adultos da broca-do-café é um processo contínuo ao longo do período de maturação dos frutos, havendo um fluxo constante de novos adultos infestando frutos. A dinâmica populacional da broca e o nível de infestação mostram que existem períodos mais adequados para a adoção de práticas destinadas a reduzir a população da broca na ilha de São Tomé. *Coffea arabica* L. era mais suscetível ao ataque da broca-do-café do que *C. canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta).

Quatro estirpes de *Beauveria bassiana* foram isoladas e encontradas a infetar naturalmente a CBB. Esta é a primeira descoberta desta magnitude na Ilha de São Tomé. Este é um primeiro passo, mas a presença de um fungo entomopatogénico capaz de controlar biologicamente este insecto praga em São Tomé pode permitir um método alternativo contra a CBB.

2.6. Referências bibliográficas

- Afonso, Manuel. (1969). S. Tomé. Esboço da carta dos climas, 1:164.000, 1969, jpg 260 KB
Obtido de: http://atlas.saotomeprincipe.eu/1969_alonso_climas.jpg 1969 (acessado em 2 de Dezembro de 2019).
- Alvaro, G., Valderrama, A. M., Gabriel, S., Patricia, V., & Alex, B. (2002). Genetic variability of *Beauveria bassiana* associated with the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* and other insects. *Mycological Research*, 106(11), 1307–1314
- Aristizábal, L. F., Jiménez, M., Bustillo, A. E., Trujillo, H. I., & P., S. (2015). Monitoring coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), populations with alcohol- baited funnel traps in coffee farms in Colombia. *Florida Entomologist*, 98(1), 381–383.
- Aristizábal, L. F., Bustillo, A. E., & Arthurs, S. P. (2016). Integrated pest management of coffee berry borer: Strategies from latin america that could be useful for coffee farmers in Hawaii. *Insects*, 7(1), 11–14.
- Aristizábal, L. F., Johnson, M., Shriner, S., Hollingsworth, R., Manoukis, N. C., Myers, R., ... Arthurs, S. P. (2017). Integrated pest management of coffee berry borer in Hawaii and Puerto Rico: Current status and prospects. *Insects*, 8(4), 1–16.
- Aristizábal, L. F. (2019^a). CBB Notes. Early Coffee Season, time for Control CBB. Kailua-Kona, Hawaií. Acesso 28/02/20. Disponível em <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22557.87523>
- Asfaw, E., Mendesil, E., & Mohammed, A. (2019). Altitude and coffee production systems influence extent of infestation and bean damage by the coffee berry borer. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 52(1–2), 170–183.
- Baker, P. S., Ley, C., Balbuena, R., & Barrera, J. F. (1992). Factors affecting the emergence of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) from coffee berries. *Bulletin of Entomological Researc*, 82, 145–150.
- Barrera, J. (2002). La Broca del café: Una plaga que llegó para quedarse. *El Colegio de la Frontera Sur*. Acesso em 28/12/2017. Obtido de http://www2.tap-ecosur.edu.mx/mip/Publicaciones/pdf/09_Capitulo04c.pdf
- Benavides, P., Bustillo, A. E., C., E., R., M., M., R. C., & M., C. G. M. (2002). Participación del control cultural, químico y biológico en el manejo de la broca del café. *Revista Colombiana de Entomología*, 28(2), 161–165.

- Benham, R. W., & Miranda, J. L. (1953). The Genus *Beauveria*, Morphological and Taxonomical Studies of Several Species and of two Strains Isolated from Wharf-Piling Borers. *Mycologia*, 45(5), 727–746.
- Blanford S, Thomas M. (2000). Thermal behaviour of two acridid species: Effects of habitat and season on body temperature and the potential impact on biocontrol with pathogens. *Environ. Entomol.* 29, 1060-1069.
- Blassioli-Moraes, M. C., Michereff, M. F. F., Magalhães, D. M., Morais, S. D., Hassemer, M. J., Laumann, R. A., Borges, M. (2019). Influence of constitutive and induced volatiles from mature green coffee berries on the foraging behaviour of female coffee berry borers, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Arthropod-Plant Interactions*, 13(3), 349–358.
- Bosselmann, A. S., Dons, K., Oberthur, T., Olsen, C. S., Reabild, A., & Usma, H. (2009). The influence of shade trees on coffee quality in small holder coffee agroforestry systems in Southern Colombia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 129, 253–260.
- Bustillo-pardey, Á. E. (2007). *El Manejo De Cafetales Y Su Relación Con El Control De La Broca Del Café En Colombia*. Chinchiná-Caldas-Colombia: Cenicafé.
- Bustillo, A. E., & Benavides, P. (1994). Recomendaciones para el manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. *Cenicafé*. Acesso em 28/12/2017. Obtido de https://www.researchgate.net/publication/298431657_Manejo_integrado_de_la_broca_d_el_cafe_Hypothenemus_hampe_i_Ferrari_en_Colombia
- Bustillo, A.E.; Cárdenas, R.; Villalba, D.; Benavides, P.; Orozco, J.; Posada, F. (1998). Manejo Integrado de la Broca del Café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia, 1st ed.; Cenicafé: Chinchiná, Colombia, p. 134.
- Camilo, J. E., Olivares, F. F., & Jiménez, H. A. (2003). Fenología y reproducción de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari) durante el desarrollo. *Agronomía Mesoamericana*, 14(1), 59–63.
- Campos-Almengor, O. G. (2015). Boletín técnico Cedicafé novembro. Manejo integrado de la Broca (MIB). *Anacafé*. Acesso em 20/10/2017. Obtido de <http://anacafe.org/glifos/images/1/1b/Boletin-Broca-noviembre2015.pdf>
- Carvalho, A., Krug, C. A., Mendes, J. E. T., Antunes Filho, H., Junqueira, A. R., Aloisio Sobrinho, J., ... Moraes, M. V. (1961). Melhoramento do Cafeeiro: XXI - Comportamento

- regional de variedades. Linhagens e progênies de café ao sol e à sombra. *Bragantia*, 20(46), 1045–1142.
- Cárdenas, Á. B., Villalba, D. A., Pardey, A. E., Montoya, E. C. y, & Góngora, C. E. (2007). Eficacia de mezclas de cepas del hongo *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. *Cenicafé* 58(4), 293–303.
- Clarke, R. J., & Macrae, R. (1988). *Coffee*. (Elsevier, Ed.) (4.^a ed.). London and New York
- Constantino, L. M. (2010). La broca del café ... un insecto que se desarrolla de acuerdo con la temperatura y la altitud. *Cenicafé*. Acceso em 26/06/2019. Obtido de <https://www.cenicafe.org/es/publications/brc039.pdf>
- Constantino, L. M., Gil, Z. N., Benavides, P., & Souza, F. F. D. E. (2015). Some Aspects of the Ecology of *Hypothenemus Hampei* Related to Climate Variability Scenarios : Dispersal , Colonization and Population Dynamics. *Conference: 25 th International Conference on Coffee Science -ASIC Armenia (Colombia), 8 th –13 th September, (25)42-45*.
- Costa, J. N. M., Teixeira, C. A. D., Ribeiro, P. D. A., Silva, R. B., & Silva, D. A. (2001). Flutuação de Infestação da Broca-do-café (*Hypothenemus Hampei*, Ferrari) em Rondônia. Acesso em 26/06/2019. Obtido de <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/1028>
- Cuellar, H. F. C. (2010). *Caracterización e impacto del contexto paisajístico y su posible influencia sobre los niveles de Broca Hypothenemus hampei (Ferrari), en la Provincia de Cartago , Costa Rica*. Dissertation. Facultad de Ciencias Básicas-Programa de biología. Universidad del Tolima Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (Catie)., Ibagué, Tolima.
- Fanton, C. J. (2001). *Ecologia da broca-do-café Hypothenemus hampei (Ferrari, 1867) (coleoptera: scolytidae) na zona da mata de Minas Gerais*. Ph.D. Thesis. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais-Brasil.
- Fernandes, F. L., Picanço, M. C., Campos, S. O., Bastos, C. S., Chediak, M., Guedes, R. N. C., & Da Silva, R. S. (2011). Economic Injury Level for the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) Using Attractive Traps in Brazilian Coffee Fields. *Journal of Economic Entomology*, 104(6), 1909–1917.
- Fernández, S., & Cordero, J. (2007). Biología de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en condiciones de laboratorio. *Bioagro*, 19(1), 35–40.

- Ferrão, R. G., Fonseca, A. F. A., Ferrão, M. A. G., & Muner, L. H. (2019). Conilon Coffee. (Incaper, Ed.) (3.a ed.). Vitória, ES.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* (41), 95–98.
- Hesketh H, Roy H, Eilenberg J, Pell J, Hails R. (2010). Challenges in modelling complexity of fungal entomopathogens in semi-natural populations of insects. *BioControl*, 55, 55-73.
- Inglis G, Goettel M, Butt T, Strasser H. (2001). Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt T, Jackson C, Magan N (Eds) *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*. pp. 27-69. CABI Wallingford.
- Jaramillo-Robledo, A., & Guzmán-Martínez, O. (1984). Relationship between temperature and growth in *Coffea arab/ca* L. var. Caturra. *Cenicafé*, 35(3), 57–65.
- Jaramillo, J., Chabi-olaye, A., & Borgemeister, C. (2010). Temperature-Dependent Development and Emergence Pattern of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Curculionidae : Scolytinae) from Coffee Berries. *J. Econ. Entomol.*, 103(4), 1159–1165.
- Jaramillo González, J. L. (2012). Evaluación y validación de mezclas de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin para el control de la Broca del café en frutos infestados caídos al suelo. Universidad Nacional de Colombia Facultad, Medellin, Colombia.
- Jaronski S. (2010). Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. *BioControl*, 55, 159-185.
- Johnson, M.A., Hollingsworth, R., Fortna, S., Aristizábal, L.F., Manoukis, N.C.(2018). The Hawaii Protocol for Scientific Monitoring of Coffee Berry Borer: a Model for Coffee Agroecosystems Worldwide. *J. Vis. Exp.* (133), e57204, doi:10.3791/57204.
- Kovač, M., Gorczak, M., Wrzosek, M., Tkaczuk, C., & Pernek, M. (2020). Identification of Entomopathogenic Fungi as Naturally Occurring Enemies of the Invasive Oak Lace Bug, *Corythucha arcuata* (Say) (Hemiptera: Tingidae). *Insects*, 11(679), 2–12.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X. (2018). Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evol.* Jun 1;35(6), 1547-1549. doi: 10.1093/molbev/msy096. PMID: 29722887; PMCID: PMC5967553.
- Mariño, Y. A., Pérez, M. E., Gallardo, F., Trifilio, M., Cruz, M., & Bayman, P. (2016). Sun vs. shade affects infestation, total population and sex ratio of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Puerto Rico. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 222,

258–266.

- Mariottinia, Y., Pelizza, S., & Lange, C. E. (2019). Susceptibility of *Bufoenacris claraziana* (Orthoptera : Tristiridae) to *Beauveria bassiana* (Ascomycota : Hypocreales) under controlled conditions. *Biocontrol science and technology*, 29(8), 817–821.
- Nilton, J., Costa, M. (2020). *Beauveria bassiana*, fungo para combater a broca-do-café. Available online: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/214284/1/cpafro-18427-folder.pdf> (accessed on 1 December 2020).
- Nilton, J., Costa, M., Barbosa, R., Ribeiro, P. D. A., & Garcia, A. (2002). Ocorrência de *Beauveria bassiana* (BALS .) VUILL . em b r o c a - d o - c a f é (*Hypothenemus hampei* , FERRARI) NO. *ACTA AMAZÔNICA*, 32,3, 517–519.
- Noriega, D. D., Arias, P. L., Barbosa, H. R., Arraes, F. B. M., Ossa, G. A., Villegas, B., ... Valencia-Jiménez, A. (2019). Transcriptome and gene expression analysis of three developmental stages of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Scientific Reports*, 9(1), 1–13.
- Pelizza, S. A., Medina, H., Ferreri, N. A., Eliádes, L. A., Pocco, M. E., Stenglein, S. A., & Lange, C. E. (2020). Journal of King Saud University – Science Virulence and enzymatic activity of three new isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota : Hypocreales) from the South American locust *Schistocerca cancellata* (Orthoptera : Acrididae). *Journal of King Saud University - Science* 32(1), 44–47.
- Romero, J. V., & Cortina G., H. A. (2007). Tablas de vida de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Curculionidae : Scolytinae) sobre tres introducciones de café. *Revista Colombiana de Entomología*, 33(1), 10–16.
- Sera, G. H., Sera, T., Ito, D. S., Filho, C. R., Villacorta, A., Kanayama, F. S., ... Del Grossi, L. (2010). Coffee berry borer resistance in coffee genotypes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53(2), 261–268.
- Souza, F. de F., Santos, J. C. F., Costa, J. N. M., & Santos, M. M. (2004). Características das principais variedades de café cultivadas em Rondônia. (*Embrapa Rondônia, Ed.*), 93. Porto Velho.
- Vidal C, Fargues J. (2007). Climatic constraints for fungal biopesticides, in: Ekesi S, Maniania N (Eds) Use of entomopathogenic fungi in biological pest management. pp. 3955, Kerala, India: Research Signpost.
- Vivekanandhan, P., Bedini, S., & Shivakumar, M. S. (2020). Isolation and identification of

entomopathogenic fungus from Eastern Ghats of South Indian forest soil and their efficacy as biopesticide for mosquito control. *Parasitology International*, 76(june), 102099. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102099>

Wegbe, K., Cilas, C., Alauzet, C., & B., D. (2007). Impact des facteurs environnementaux sur les populations de scolytes (*Hypothenemus hampei* Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Em *In: 21st International Conference on Coffee Science*. (pp. 1349–1353). 11 September 2006/15 September 2006, Montpellier, France.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. (MA Innis, DH Gelfand, JJ Sninsky, e T. J. White, eds.) Academic Press, San Diego, pp. 315-322.

World bank (2017). Plano multi-setorial de investimentos para integrar a resiliência às alterações climáticas e o risco de desastres na gestão da zona costeira de São Tomé e Príncipe. Available online: <http://documents1.worldbank.org/curated/pt/465151520904870329/pdf/124204-portuguese-wp-public-pmsi-stp-final.pdf> (accessed on 2 November 2020).

Wraight, S. P., Galaini-Wraight, S., Howes, R. L., Castrillo, L. A., Carruthers, R. I., Smith, R. H., ... Keith, L. M. (2018). Prevalence of naturally-occurring strains of *Beauveria bassiana* in populations of coffee berry borer *Hypothenemus hampei* on Hawai'i Island, with observations on coffee plant-H. hampei-B. bassiana interactions. *Journal of Invertebrate Pathology*, 156 (156), 54–72.

3. Capítulo III

Captura em massa da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) na ilha de São Tomé

Resumo

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), é uma séria limitação na plantação de café orgânico na ilha de São Tomé. Até à data, a informação limitada sobre a fenologia sazonal desta espécie de praga nas ilhas limita a implementação de programas de manejo integrado de pragas. Como parte de um programa de formação de cafeicultores, avaliou-se três atraentes em armadilhas vermelhas vs. transparentes para avaliar o olfato e estímulos visuais da broca-do-café. A experiência foi delineada em (“split block”) com três tipos de atraentes: etanol comercial (E) + 40 g de café Robusta maduro (A1), proporção 3:1 de metanol e etanol (A2), e etanol comercial + 10 g de café Arábica torrado moído (A3); e duas armadilhas caseiras transparentes (D1) e vermelhas (D2). Os resultados mostraram que não houve uma interação significativa entre a armadilha e o atraente, mas houve uma interação significativa entre a armadilha e a localidade (altitude/microclima/variedade) na captura da broca-do-café. O tratamento D1A2 mostrou o melhor resultado com uma média de $47,4 \pm 19,2$ adultos capturados por armadilha por semana. A armadilha transparente iscada capturou maior quantidade de broca-do-café em Novo Destino e Bem-Posta, enquanto armadilha vermelha iscada capturou mais broca-do-café em Poiso Alto. Uma maior captura de CBB foi registada no final de maio até outubro. Em suma, as armadilhas caseiras por si só não são eficazes para controlar a broca do café, mas são úteis na monitorização desta espécie.

Palavra chaves: Café; atraentes; gestão integrada de pragas (IPM); nível de infestação;

Mass trapping control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) in Sao Tome Island

Abstract

Coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), is a serious insect pest of organic coffee plantation in São Tomé Island. To date, there is limited information available regarding the seasonal phenology of this pest species on the islands limits the implementation of integrated pest management programmes. As part of a coffee farmer training programme, three attractants were evaluated in red vs. transparent traps to assess olfactory and visual stimuli. The experiment was delineated in a split-block design with three types of attractants: commercial ethanol + 40 g of ripe Robusta coffee (A1), proportion 3:1 methanol and ethanol (A2), and commercial ethanol + 10 g of ground roasted Arabica coffee (A3); and two home-made transparent (D1) and red (D2) traps. The results showed that there was no significant interaction between the trap and the attractant, but there was a significant interaction between trap and locality (elevation/microclimate/variety) for CBB capture. D1A2 treatment exhibited the best result with an average of 47.4 ± 19.2 adults/trap/week. Transparent baited trap captured more borer at Novo Destino and Bem-Posta, while red baited trap provided the best result in Poiso Alto. A greater capture of CBB was recorded late May through October.

In short, home-made traps alone are not effective for controlling the coffee berry borer, but they are useful in monitoring this species.

Keywords: coffee, attractants, integrated pest management (IPM), infestation level;

3.1. Introdução

H. hampei (Ferrari, 1867) é o fator limitante na produção de café orgânico na ilha de São Tomé e o seu controlo tem sido muito difícil para o CECAFEB. Inicialmente, o CECAFEB utilizou óleo de Neem para o controlo da CBB sem impacto significativo na população de espécies de pragas (CECAFEB 2014). O óleo de Neem foi substituído pelo uso de *Bacillus thuringiensis* (Dipel), que se revelou eficaz no controlo da broca, mas foi proibido na produção de café orgânico (COLEACP, 2020). Atualmente, o CECAFEB está a utilizar armadilhas transparentes caseiras com duas aberturas com atraente contendo etanol para a captura em massa de CBB (CECAFEB 2020).

Os sinais visuais desempenham um papel importante na preferência da CBB por frutos maduros (vermelhos) versus frutos imaturos (verdes) (Giordanengo, 1992; Mathieu, 1995; Mathieu et al., 1997; Mathieu et al., 2001; Rainho, 2015). Os besouros mostraram preferência pelo preto e vermelho (Ticheler, 1963; Mathieu et al., 2001). A fêmea da CBB têm olhos maiores e responde ao movimento, enquanto os machos tem olhos rudimentares e visão deficiente (Mandelsham e Wood, 2007; Vega et al., 2014). As fêmeas são também atraídas por semioquímicos libertados pelo fruto em desenvolvimento (Mathieu et al., 2001; Mendasil et al., 2009; Cruz e Malo, 2013). Os semioquímicos dos frutos do café são compostos por diferentes álcoois (Ortiz et al., 2004). Os atraentes visuais para CBB são utilizadas para melhorar a monitorização através da utilização de iscas. Logo, o uso de armadilhas com semioquímicos para monitoramento e uma possível captura em massa de adultos da broca-do-café é uma alternativa eficiente e barata (Moreno et al., 2010; Fernandes et al., 2011). Ao longo dos anos, foram realizados vários estudos utilizando armadilhas contendo uma mistura de álcoois, tais como etanol e metanol, para a monitorização de adultos CBB (Mathieu *et al.*, 1997; Dufour e Frérot, 2008; Rostaman e Prakoso, 2020). Atraente composto por uma mistura de etanol (99,9% de pureza) e metanol (100% de pureza), na proporção de 1:3 é bastante eficiente na captura em massa de adulto da CBB (Barrera et al., 2004, 2006; Dufour e Frérot, 2008; Pereira et al., 2012).

No presente estudo, avaliou-se três atraentes em armadilhas vermelhas vs. transparentes para avaliar a possível captura em massa da broca-do-café.

3.2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados entre os meses de agosto a dezembro de 2018 e de janeiro a julho de 2019 em 3 localidades pertencentes a CECAFEB, sendo: Bem-Posta, Novo Destino e Poiso Alto.

Foi selecionado uma parcela de café; as características dessas parcelas estão referidas na (Tabela 6). As práticas culturais nessas parcelas são: capina, poda e colheita profilática, sem uso de pesticida.

Tabela 6. Características das parcelas de café selecionadas para instalação de armadilha.

Localidade	Bem-Posta	Novo Destino	Poiso Alto
Distrito	Mé-Zochi	Mé-Zochi	Lobata
Coordenadas geográficas (UTM)	235805,0 35496,0	235301,0 34253,0	238518,0 37273,3
Altitude (m altitude)	744	647	562
Temperatura média anual (°C)	23	23	23,1
Precipitação média (mm)	1514,9	1514,9	1257,3
Humidade relativa do ar	85,5	85,5	85,5
Distância entre plantas (m)	2 x 2	1 x 2	2,5 x 2,5
Idade de plantação (anos)	4	4	3
Topografia	Inclinado	Inclinado	Inclinado
Área (ha)	1,0	1,0	0,7
Armadilha (n°)	30	30	20
Variedade	Caturra	Caturra	Robusta

3.2.1. Armadilhas

As armadilhas utilizadas foram do desenho “ECOIAPAR”: utilizou-se 2 tipos de armadilhas: a transparente feita com garrafas de “PET” de 0,5 L, com duas aberturas laterais retangular (3 x 11 cm); e vermelha feita com garrafas de “PET” de 1,5 L, com uma abertura lateral retangular (10 x 15 cm) e pintadas com tinta a óleo vermelha RGB (128,0,0) (Figura 20). Essa cor foi usada por ser a mais atraente aos adultos da broca-do-café (Mathieu et al., 1997, 1999; Barrera et al., 2006; Dufour e Frérot, 2008). As garrafas foram presas às plantas a 1,5 metros de altura do solo Barrera et al. (2004) e Aristizábal et al. (2016) com arame galvanizado. No fundo da armadilha, foram adicionados 120 ml de água com 5% de detergente neutro (Barrera et al., 2004; Dufour e Frérot, 2008).

Distribuiu-se 30 armadilhas por hectare de forma a cobrir toda a área Fernandes et al. (2014) e monitorizada mensalmente. A distância entre armadilhas foi de 10 m de acordo com (Pan-uk, 2014), colocadas no mês de agosto de 2018 e terminando em julho de 2019.



Figura 20: Tipos de armadilhas caseiras para capturar adultos de broca do café. D1 = armadilha transparente com duas aberturas laterais retangulares; D2 = armadilha vermelha com uma abertura lateral retangular. Fotos tiradas pelo autor.

3.2.2. Atraentes

No interior da armadilha foi fixado frasco de vidro de 10 ml (0.7 cm diâmetro x 4.3 cm comprimento) contendo o atraente (Pereira et al., 2012; Aristizábal et al., 2015, 2016). Foram utilizados três tipos de atraentes (Tabela 6). O atraente A1 foi composto por etanol comercial (96,0% de pureza) mais café robusta maduro. O procedimento dessa mistura consistiu em colocar 40 gramas sementes de café robusta bem maduro em 1 litro de etanol comercial (96,0% de pureza) durante 4 dias, a fim de libertar todas substâncias contida na polpa do fruto para o etanol. A taxa de libertação dessa mistura foi 0,67 ml/dia. O atraente A2 foi composto por uma mistura de etanol (96,0% de pureza) e metanol (100% de pureza), na proporção de 1:3 (Moreno et al., 2010; Rosalía et al., 2015). A taxa de libertação dessa mistura foi 1,3 ml/dia. Por fim, o atraente A3 foi composto por uma mistura de etanol comercial (96,0% de pureza) mais 10 gramas de café arábica torrado moído por litro de solvente como uma taxa de libertação dessa mistura foi 0,67 ml/dia. O fluido no interior das armadilhas foi mudado e o atraente foi repostado em cada avaliação. Mais detalhes da experiência são mostrados na (Tabela 7).

3.2.3. Delineamento experimental

O ensaio foi delineado em talhões subdivididos (“split block”) em que os talhões principais ou grandes talhões são as dos tipos de armadilhas e os pequenos talhões (sub talhões)

os diferentes tipos de atraentes (Tabela 7). Foram efetuadas cinco repetições por cada tratamento. A dimensão de cada sub talhão foi de 33 x 50 m.

Tabela 7. Detalhes de experimento e tratamentos

Fatores	Tratamentos
A1=etanol comercial (96,0%) + 40 g de café maduro	D1A1
A2=proporção 3:1 metanol (100%) e etanol (96,0%)	D1A2
A3=etanol comercial (96,0%) + 10 g de café torrado moído	D1A3
D1=armadilha transparente	D2A1
D2=armadilha vermelha	D2A2
	D2A3

3.2.4. Determinações analíticas

Foi avaliada a captura mensal de broca-do-café por: tipo de atraente, e tipo e cor de armadilha.

3.2.4.1 Adultos da *Hypothenemus hampei* capturado

Cada armadilha foi verificada mensalmente e o seu conteúdo filtrado através de uma peneira de malha fina. O conteúdo da armadilha filtrada foi colocado em sacos de plástico com 70% de etanol. Os adultos CBB foram contados com uma ampliação inferior a 20x utilizando um estereoscópio e outros insetos/besouros encontrados nas armadilhas foram separadas (Moreno et al., 2010; Fernandes et al., 2011; Johnson et al., 2018).

3.2.5. Análise estatística

A análise de dados foi realizada com a IBM SPSS Statistics 23. Análises de variância (ANOVA) foram realizadas com tipo de armadilha e atraente como variáveis independentes e as médias de tratamento foram submetidos ao teste HSD de Tukey ($p < 0,05$), sempre que apropriado. A análise de correlação (Pearson's; r) foi realizada entre números de brocas capturadas e nível de infestação em Bem-Posta.

3.3. Resultados

3.3.1. Atraente em armadilhas caseiras iscada para a captura em massa de *Hypothenemus hampei*

O tratamento D1A2 apresentou o maior número de adulto capturado por semana ($47,4 \pm 19,2$) e o tratamento D2A1 apresentou o menor número de adulto capturado ($7,5 \pm 4,9$). Observaram-se diferenças significativas ($p < 0,001$) entre D1A2 e os restantes tratamentos, mas não entre D1A1 ($15,9 \pm 4,0$) e D2A3 ($14,1 \pm 7,1$). Não há diferenças significativas ($p = 0,99$) entre esses dois tratamentos, bem como entre os tratamentos D2A2 ($30,0 \pm 17,6$) e D1A3 ($23,0 \pm 8,1$) ($p = 0,69$) (Figura 21).

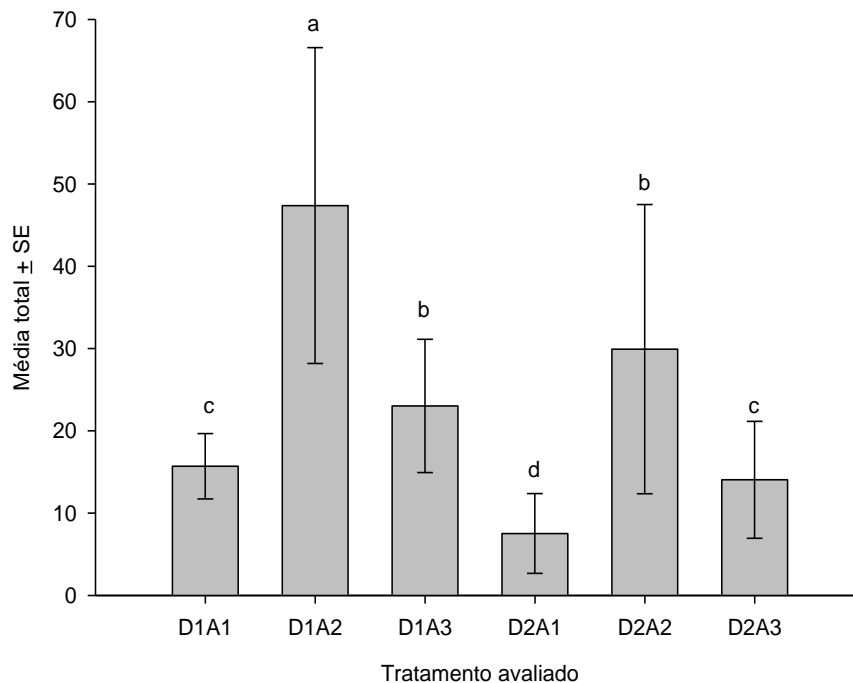


Figura 21: Número de adultos CBB capturados por tratamento por semana, armadilha transparente iscada com etanol + 40 g de café Robusta maduro (D1A1), armadilha transparente iscada com proporção 3:1 de metanol e etanol (D1A2), armadilha transparente iscada com etanol + 10 g de café Arábica torrado moído (D1A3), armadilha vermelha iscada com etanol + 40 g de café Robusta maduro (D2A1), armadilha vermelha iscada com proporção 3:1 metanol e etanol (D2A2) e armadilha vermelha isca com etanol + 10 g de café Arábica torrado moído (D2A3) durante 12 meses consecutivos em Bem-Posta, Novo Destino e Poiso Alto (Ilha de São Tomé) entre Agosto de 2018 e Julho de 2019. Barra seguida da mesma letra não é significativamente diferente pelo teste Tukey HSD ($p < 0,05$).

O tratamento D1A2 capturou uma média de $215,9 \pm 46,6$ adultos/armadilha em agosto, setembro $412,5 \pm 70,6$, em outubro $260,7 \pm 56,4$, maio $345,2 \pm 105,4$, junho $310,3 \pm 53,2$, e julho $375,5 \pm 82,8$. Em contraste, D2A1 capturou uma média de $30,4 \pm 16,3$ adultos/armadilha em agosto, fevereiro $54,8 \pm 24,7$, maio $38,1 \pm 95,9$, e junho $35,9 \pm 159,1$. Foram encontradas

diferenças altamente significativas ($F = 33.734$; $df=1059$; $p < 0.000$) na captura mensal de adultos com as diferentes armadilhas (Figura 22). A armadilha D2 também capturou outros insetos/besouros, enquanto a armadilha D1 capturou *Ceratitis capitata*.

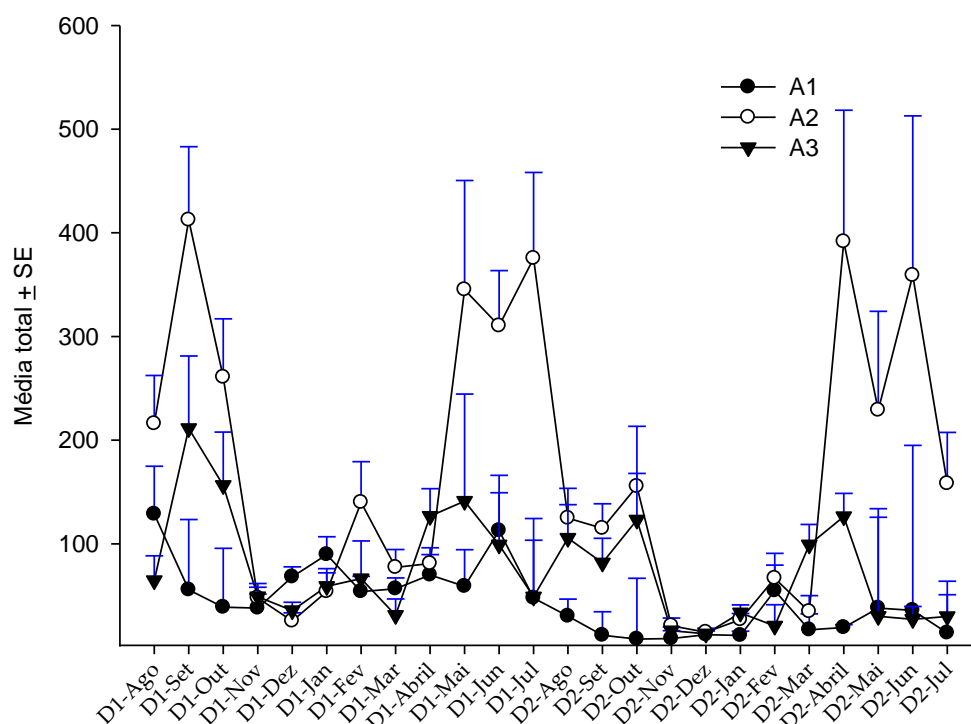


Figura 22: Captura mensal de adultos CBB (*Hypothenemus hampei*) em "Bem-Posta", "Novo Destino" e "Poiso Alto" durante (Agosto 2018 a Julho 2019) por armadilha transparente (D1) e vermelha (D2) isca com etanol + 40 g de café Robusta maduro (A1); proporção 3:1 de metanol e etanol (A2) e etanol + 10 g de café Arábica torrado moído (A3).

A maior captura de adulto de CBB registrada com armadilha D1 foi em Novo Destino, com uma média de $133,4 \pm 60,8$ adultos capturados por armadilha por mês, $118,0 \pm 47,9$ em Bem-Posta e com armadilha D2 foi registrada em Poiso Alto $145,3 \pm 99,9$. A menor captura foi obtida com D2 $32,0 \pm 15,0$ adultos capturados por armadilha por mês em Bem-Posta. Houve diferenças significativas ($p < 0,001$) entre as armadilhas D1 e D2. A mistura de etanol e metanol (A2) teve a maior captura mensal, enquanto o álcool misturado com café Robusta maduro (A1) capturou menor. Foram encontradas diferenças altamente significativas ($p < 0,001$) na captura mensal de adultos nos diferentes tratamentos. Não foram encontradas diferenças significativas ($p = 0,11$) entre os tratamentos A1 e A3 (Tabela 8). Verificou-se uma interação significativa ($p = 0,000$) entre armadilha e localidade (altitude/microclima/variedade), mas não há interação significativa ($p = 0,22$) entre modelo de armadilha e atraente na captura do CBB (Tabela 8, Tabela A3.10. nos

apêndices). As maiores capturas mensais foram registadas no Poiso Alto $112,3 \pm 75,6$ adultos por armadilha por mês e com diferenças significativas ($p=0,03$) para o Novo Destino que capturou $93,7 \pm 47,0$ e Bem-Posta que tinha $75,0 \pm 37,6$ (Tabela 8). O total de CBB capturado foi de 97218 fêmeas.

Tabela 8. Média total e media de adultos da broca-do-café capturados mensalmente, em função de armadilhas (D1 e D2) e atraentes (A1, A2 e A3) durante 12 meses consecutivos em Bem-Posta, Novo Destino e Poiso Alto, São Tomé entre Agosto 2018 á Julho de 2019.

Localidades	Média de adultos capturados mensalmente					
	Média total Capturado	Armadilha		Atraentes		
		D1	D2	A1	A2	A3
Bem-Posta	$75,0 \pm 37,6^b$	$118,0 \pm 47,9^a$	$32,0 \pm 15,0^c$	$33,2 \pm 12,2^c$	$125,2 \pm 57,3^a$	$66,5 \pm 21,5^b$
Novo Destino	$93,7 \pm 47,0^{ab}$	$133,4 \pm 60,8^a$	$54,0 \pm 21,4^c$	$48,2 \pm 18,1^c$	$150,2 \pm 69,0^a$	$82,7 \pm 33,1^b$
Poiso Alto	$112,3 \pm 75,6^a$	$79,3 \pm 36,3^b$	$145,3 \pm 99,9^a$	$64,1 \pm 23,4^b$	$194,4 \pm 117,2^a$	$72,7 \pm 38,8^b$

†ANOVA (localidades: $F=3.410$; $df=1059$; $p < 0,033$; armadilha: $F=14.872$; $df=1059$; $p < 0,000$; armadilha*localidade: $F=16.177$; $df=1059$; $p < 0,000$; atraente: $F=33.734$; $df=1059$; $p < 0,000$ e armadilha*atraente: $F=1.533$; $df=1059$; $p < 0,216$).

† Médias seguidas da mesma letra na coluna não são significativamente diferentes pelo teste Tukey HSD ($p < 0,05$).

Não houve correlação positiva entre o número de CBB capturados e o nível de infestação ($r = 0,10$, $df=155$, $P = 0,56$).

3.4. Discussão

Investigamos a eficácia de três atraentes em armadilhas vermelhos vs. transparentes para avaliar a captura em massa da broca-do-café. Embora, o número de gerações sazonais de CBB não seja claro na ilha de São Tomé, capturou-se CBB em todos os meses, sendo a maior parte capturada no final de maio a outubro durante as semanas que se seguiram à época da principal de colheita e a formação de novos frutos. O período predominante de atividade de voo da CBB ocorreu na estação seca com baixa precipitação observada na Ilha de São Tomé. No Brasil, ocorrem normalmente dois picos (em julho e outubro) de captura de CBB, com o pico mais alto em julho (Oliveira et al., 2017). Nesse ensaio o maior pico de captura da broca foi registrado no mês de setembro. O número mais elevado de adultos de broca capturado foi registrado entre janeiro e março na Colômbia (Aristizábal et al., 2015). Foram observadas infestações elevadas (>250 adultos por armadilha por semana) durante o desenvolvimento do fruto, em maio e junho (Kona) e em junho e julho (Kau) (Aristizábal et al., 2017). Foram capturados números mais elevados de CBB, atingindo um pico em janeiro e fevereiro com uma média de 1.650 a 6.120 adultos por armadilha por semana em Colômbia (Aristizábal et al., 2015).

Não foi observada neste estudo interação significativa entre o modelo de armadilha e o atraente. Foi observada anteriormente uma interação significativa entre a cor da armadilha e o atraente (Mathieu et al., 1997; Silva et al., 2006^a). Diversos fatores estão envolvidos na determinação da eficiência das armadilhas. Fatores intrínsecos, tais como cores, atraentes, taxas de libertação, altura e local de fixação (planta ou estaca), contraste com a paisagem, interação entre si e devem interagir com características do ambiente, por exemplo, o sistema de produção de café (densamente plantado, semi-densamente plantado e convencional), sombreado ou não, variedade, microclima e relevo (Silva et al., 2006^b). Armadilhas transparentes com duas aberturas capturaram mais brocas durante o ensaio de campo (Figura 20), mas em baixa quantidade quando comparadas com outro estudo (Leiva-Espinoza et al., 2019), que capturaram um máximo de 4.000 adultos por armadilha por semana com armadilha vermelha (caseiras) com cinco aberturas no Perú. Estes resultados podem ser explicados pelo facto de que a armadilha transparente tinha duas aberturas e a vermelha uma. A armadilha de múltiplos funis obteve melhores resultados na captura em massa CBB (Mendoza, 1991). O mesmo padrão foi observada na Colômbia com uma armadilha de cinco funis (Cárdenas, 2000). As armadilhas transparentes são eficientes para atrair e capturar a CBB (Silva et al., 2006^a). Os resultados são

semelhantes aos obtidos neste ensaio. Em contraste, muitos autores salientam que as armadilhas vermelhas são mais eficientes do que as armadilhas transparentes na captura em massa de adultos CBB (Mathieu et al., 1997; Barrera et al., 2006; Dufour & Frérot, 2008). Por outro lado, a armadilha vermelha com álcool como atraente sem essência de café é mais eficiente na captura em massa de CBB (Leiva-Espinoza et al., 2019). Foi observada uma interação significativa entre tipo armadilha e localidade (altitude/microclima/variedade) neste estudo. Silva et al. (2006^b) mencionaram a importância de se estudar as interações dos vários fatores intrínsecos das armadilhas e destes fatores com o ambiente no qual a armadilha será instalada.

Os nossos dados sugerem que as armadilhas caseiras podem ser utilizadas para monitorizar a CBB, mas não para a captura em massa da CBB, que requer níveis de captura muito mais elevados. No entanto, a falta de correlação entre a infestação de campo da CBB e a captura por armadilhas convida a estudos em maior escala em diferentes áreas para validar a utilização de tais armadilhas a partir da amostragem da CBB em São Tomé e Príncipe. Outros autores sugeriram que as armadilhas iscadas com metanol e etanol poderiam ser utilizadas para monitorizar a atividade de voo, de modo a melhorar o tempo de pulverização de pesticidas (Aristizábal et al., 2016). De facto, muitos artigos salientam que as armadilhas não devem ser utilizadas sozinhas para o controlo da CBB; pelo contrário, devem ser um componente de programas multifacetados de manejo integrado a serem implementados (Infante, 2018).

3.5. Conclusões

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que as armadilhas capturaram mais broca em finais de maio a outubro, porque foram mais eficientes quando a humidade é mais baixa na Ilha de São Tomé e Príncipe. Todos os atraentes poderiam ser utilizados como instrumento de monitorização e uma possível captura em massa da broca-do-café na Ilha de São Tomé devido a baixo custo e disponibilidade local.

3.6. Referências bibliográficas

- Aristizábal, L. F., Bustillo, A. E., & Arthurs, S. P. (2016). Integrated pest management of coffee berry borer: Strategies from latin america that could be useful for coffee farmers in Hawaii. *Insects*, 7(1), 11–14.
- Aristizábal, L. F., Jiménez, M., Bustillo, A. E., Trujillo, H. I., & P., S. (2015). Monitoring coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), populations with alcohol- baited funnel traps in coffee farms in Colombia. *Florida Entomologist*, 98(1), 381–383.
- ARISTIZÁBAL, L.F., SHRINER, S., HOLLINGSWORTH, R., ARTHURS, S. & SITES, F. (2017). Field and forage crops flight activity and field infestation relationships for coffee berry borer in commercial coffee plantations in Kona and Kau Districts, Hawaii Material and Methods. *Journal of Economic Entomology* 110: 2421–2427.
- Barrera, J. (2002). Tres plagas del café en Chiapas. *Tapachula, Chiapas, México: El Colegio de la Frontera Sur*, ISBN: 9709355104 p. 17-20
- BARRERA, J.F., VILLACORTA A., HERRERA, J., GARCÍA, H. & CRUZ, L. 2004a. Aplicación de trampas para el muestreo de la broca del café en México. En: Workshop Internacional sobre o Manejo da Broca-do-Café. 28 de noviembre a 2 de diciembre de 2004. Londrina, Paraná, Brasil.
- Barrera, J. F., Herrera, J., Villacorta, A., Garcia, H., & Cruz, L. (2006). Trampas de Metanol-Etanol para Detección, Monitoreo y Control de la Broca del Café *Hypothenemus hampei*. *Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur Manzanillo, Colima, México*, p.71-83. Obtido de : https://www.academia.edu/6007736/Methanol_ethanol_traps_for_detection_monitoring_and_control_of_the_coffee_berry_borer_Hypothenemus_hampei
- Barrera, J. F., Villacorta, A., & Herrera, J. (2004). Fluctuación estacional de las capturas de la «broca del café» (*Hypothenemus hampei*) con trampas de etanol-metanol e implicaciones sobre el número de trampas. *Entomología Mexicana*, 3, 540–544.
- Caicedo, D. R., Cure, J. R., & Cantor R., F. (2009). Empleo de trampas con atrayente para el control de la broca del cafe (*Hypothenemus hampei* Ferrari coleoptera: curculionidae: scolytinae): Diseños, criterios de uso en campo y efectividad. *Facultad de ciencias Básicas*, 5(1), 12–21.
- Cárdenas, M. R. (2000). Trampas y atrayentes para monitoreo de poblaciones de broca del café

- Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col., Scolytidae). En: XIX Simposio Latinoamericano de Caficultura, Costa Rica, p. 369-379.
- CECAFEB. 2014. Relatório anual do ano de 2013.
- CECAFEB. 2020. Relatório anual do ano 2019.
- COLEACP. [International association of companies and experts committed to sustainable agriculture]. 2020. Important update on the expiry of EU PPP approvals in 2019–2022. Available online: <https://eservices.coleacp.org/en/actu/important-update-on-the-expiry-of-eu-ppp-approvals-in-2019-2022> (accessed on 2 de July 2020).
- Cruz, R.E.N.; Malo, E.A. (2013). Chemical analysis of coffee berry borer volatiles that elicit an antennal response from the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. *J. Mexican Chem. Soc.* (57), 321–327.
- DUFOUR, B. 2002. Validación de la trampa Brocap® para el control de la broca del café. *Boletín de Promecafé* 93: 14–20.
- Dufour, B. . P., & Frérot, B. (2008). Optimization of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Col. Scolytidae), mass trapping with an attractant mixture. *J. Appl. Entomol.*, 132, 591–600.
- Fernandes, F. L., Picanço, M. C., Campos, S. O., Bastos, C. S., Chediak, M., Guedes, R. N. C., & Da Silva, R. S. (2011). Economic Injury Level for the Coffee Berry Borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) Using Attractive Traps in Brazilian Coffee Fields. *Journal of Economic Entomology*, 104(6), 1909–1917.
- Fernandes, F. L., Picanço, M. C., da Silva, R. S., da Silva, Í. W., de Sena Fernandes, M. E., & Ribeiro, L. H. (2014). Controle massal da broca-do-café com armadilhas de garrafa Pet vermelha em cafeeiro. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 49(8), 587–594.
- Fernández, S., & Cordero, J. (2005). Evaluación de atrayentes alcohólicos en trampas artesanales para el monitoreo y control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). *Bioagro*, 17(3), 143–148.
- Giordanengo, P. (1992). *Biologie, éco-éthologie et dynamique des populations du scolyte des grains de café, Hypothenemus hampei ferr. (coleoptera, scolytidae), en Nouvelle-Calédoni*. PhD Thesis. Universite de Rennes I., France.
- JOHNSON, M.A., HOLLINGSWORTH, R., FORTNA, S., ARISTIZÁBAL, L.F. & MANOUKIS, N.C. 2018. The Hawaii protocol for scientific monitoring of coffee berry

- borer: a model for coffee agroecosystems worldwide. *Journal of Visualized Experiments* 133: e57204. DOI: 10.3791/57204.
- LEIVA-SSPINOZA, S., OLIVA-CRUZ, M., RUBIO-ROJAS, K., MAICELO-QUINTANA, J. & MILLA-PINO, M. 2019. Uso de trampas de colores y atrayentes alcohólicos para la captura de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) en plantaciones de café altamente infestadas. *Revista Colombiana de Entomología* 45(2): 2–7.
- Mandelsham, M.Y.; Wood, S.L. (2007). Bark and ambrosia beetles of South America (Coleoptera: Scolytidae), Brigham Young University, Provo., p. 900. Obtido de: http://www.maik.ru/abstract/enteng/9/enteng0245_abstract.pdf (acessado em 3 de julho de 2018).
- Mathieu, F. (1995). *Mecanismos de la colonisation de l'hôte chez le scolyte du cafe Hypothenemus hampei (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae)*. PhD Thesis. Universite de Paris VII, France.
- Mathieu, F., Brun, L. O., Marchillaud, C., & Frérot, B. (1997). Trapping of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* Ferr. (Col., Scolytidae) within a mesh-enclosed environment: interaction of olfactory and visual stimuli. *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, 121, 181–186.
- Mathieu, F., Brun, L. O., Frerot, B., Suckling, D. M., & Frampton, C. (1999). Progression in field infestation is linked with trapping of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Col., Scolytidae). *J. Appl. Ent.*, 123, 535–540.
- Mathieu, F., Gaudichon, V., Brun, L. O., & Frérot, B. (2001). Effect of physiological status on olfactory and visual responses of female *Hypothenemus hampei* during host plant colonization. *Physiological Entomology*, 26(3), 189–193.
- MENDOZA, M., J.R. 1991. Resposta da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, a estímulos visuais e semioquímicos. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- Mendesil, E.; Bruce, T.J.A.; Woodcock, C.M.; Caulfield, J.C.; Seyoum, E.; Pickett, J.A. (2009). Semiochemicals used in host location by the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. *J. Chem. Ecol.* (35), 944–950.
- Moreno, D. R., Alvarez Nuñez, A., Vasquez Moreno, L. L., & Simonetti, J. A. (2010). Evaluación de atrayentes para la captura de hembras adultas de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) con trampas artesanales. *Fitosanidad*, 14(3), 177–180.

- Oliveira, C. M., Santos, M. J., Amabile, R. F., Frizzas, M. R., & Bartholo, G. F. (2017). Coffee berry borer in conilon coffee in the Brazilian Cerrado: an ancient pest in a new environment. *Bulletin of Entomological Research*, 180(1) 101-107.
- Ortiz, A.; Vega, F.E.; Posada, F.J. (2004). Volatile composition of coffee berries at different stages of ripeness, and their possible attraction to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Agric. Food Chem.* (52), 5914–5918.
- Pesticide Action Network UK [Pan-UK]. (2014). Coffee-Without-Endosulfan-Experiences-using-Traps-with-Attractant. Obtido de <https://www.pan-uk.org/site/wp-content/uploads/Coffee-Without-Endosulfan-Detailed-Case-Studies.pdf> (acessado em 2 de julho de 2020).
- Pereira, A. E., Vilela, E. F., Tinoco, R. S., de Lima, J. O. G., Fantine, A. K., Morais, E. G. F., & França, C. F. M. (2012). Correlation between numbers captured and infestation levels of the coffee berry-borer, *Hypothenemus hampei*: A preliminary basis for an action threshold using baited traps. *International Journal of Pest Management*, 58(2), 183–190.
- Rosalía, Q.-C., Manuel, L.-M., Félix, M.-M., Rolando, G., Cristóbal, R., Fernando, A., & Celia, F. (2015). Trampas artesanales con atrayentes alcohólicos en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867) en la Colonia Bolinda, Caranavi. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 3(1), 2–14.
- Rostaman, & Prakoso, B. (2020). Response of Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*) to Alcohol-Based Attractants on Coffee Crops in Banjarnegara, Indonesia. *Advances in Biological Sciences Research*, 8, 25–28.
- Silva, F. C. da, Ventura, M. U., & Morales, L. (2006^a). Capture of *Hypothenemus hampei* Ferrari (coleoptera, scolytidae) in response to trap characteristics. *Scientia Agricola*, 63(6), 567–571.
- Silva, F. C. da, Ventura, M. U., & Morales, L. (2006^b). The role of semiochemical traps in the management of coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. *Ciências Agrárias, Londrina*, 27(3), 399–406.
- Ticheler, J.H.G. (1963). Estudio analítico de la epidemiología del escolítido de los granos de café, *Stephanoderis hampei* Ferr., en Costa de Marfil. *Rev. Cenicafé*, 14, 223–294.
- Vega, F.E.; Simpkins, A.; Bauchan, G.; Infante, F.; Kramer, M.; Land, M.F. (2014). On the eyes of male coffee berry borers as rudimentary organs. *PLoS ONE*, 9, e85860.

4 Capítulo IV

4.1. Conclusões finais

As informações disponíveis sobre a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), e as observações do presente trabalho, permitem concluir que:

1. A dinâmica populacional da broca-do-café e o nível de infestação mostram que existem períodos mais adequados para adoção de práticas que visem à redução da população dessa praga em São Tomé.
2. A espécie de *Coffea arabica* L. demonstrou ser mais suscetível ao ataque da broca-do-café em relação ao *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (Robusta).
3. A atividade de fungo entomopatogénico, *B. bassiana* foi mais notável entre finais de maio a outubro. A sua presença vem abrir novas perspectivas para a luta biológica contra esta importante praga do cafezal.
4. A broca-do-café encontra condições favoráveis nas áreas estudadas e, provavelmente, nas demais parcelas do São Tomé.
5. A maior captura de CBB ocorreu entre finais de maio e outubro. No geral, estas descobertas expandem a compreensão da utilização das armadilhas como uma estratégia útil para a gestão integrada de pragas (MIP) da broca.

4.2. Apêndices

Apêndices.1. (Condições climáticas)

Tabela A1.1.: Médias de dados climáticos mensais de temperatura nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante anos de 2018 a 2019.

Meses	Bem-Posta T (°C)	Novo Destino T (°C)	Poiso Alto T (°C)	Brigroma T (°C)	CIAT/STP-BECI T (°C)	S° Carlos T (°C)	S° Nicolau T (°C)
Jan	22,2	22,2	22,8	24,7	22,2	22,8	22,8
Fev	22,7	22,7	22,5	24,9	22,7	22,5	22,5
Mar	22,7	22,7	21,9	25,2	22,7	21,9	21,9
Abr	22,4	22,4	22,0	25,1	22,4	22,0	22,0
Mai	22,1	22,1	21,9	24,7	22,1	21,9	21,9
Jun	21,9	21,9	21,0	23,6	21,9	21,0	21,0
Jul	21,4	21,4	20,8	22,6	21,4	20,8	20,8
Agos	21,2	21,2	22,0	22,9	21,2	22,0	22,0
Set	21,7	21,7	23,0	23,8	21,7	23,0	23,0
Out	21,5	21,5	23,0	24,0	21,5	23,0	23,0
Nov	22,0	22,0	22,8	24,2	22,0	22,8	22,8
Dez	22,4	22,4	22,8	24,5	22,4	22,8	22,8

Tabela A1.2.: Médias de dados climáticos mensais precipitação nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante anos de 2018 a 2019.

Meses	Bem-Posta P (mm)	Novo Destino P (mm)	Poiso Alto P (mm)	Brigroma P (mm)	CIAT/STP-BECI P (mm)	S° Carlos P (mm)	S° Nicolau P (mm)
Jan	24,0	24,0	38,4	205,0	24,0	38,4	38,4
Fev	218,0	218,0	107,5	177,0	218,0	107,5	107,5
Mar	106,1	106,1	110,0	258,0	106,1	110,0	110,0
Abr	273,5	273,5	115,5	280,0	273,5	115,5	115,5
Mai	149,5	149,5	175,6	253,0	149,5	175,6	175,6
Jun	42,1	42,1	10,0	59,0	42,1	10,0	10,0
Jul	2,9	2,9	3,0	4,0	2,9	3,0	3,0
Agos	1,5	1,5	2,5	39,0	1,5	2,5	2,5
Set	46,8	46,8	88,7	166,0	46,8	88,7	88,7
Out	219,5	219,5	120,3	446,0	219,5	120,3	120,3
Nov	262,5	262,5	140,4	358,0	262,5	140,4	140,4
Dez	168,5	168,5	170,8	227,0	168,5	170,8	170,8

Tabela A1.3.: Médias de dados climáticos mensais de umidade relativa do ar nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante anos de 2018 a 2019.

Meses	Bem-Posta	Novo Destino	Poiso Alto	Brigroma	CIAT/STP-BECI	S° Carlos	S° Nicolau
	Hr (%)	Hr (%)	Hr (%)	Hr (%)	Hr (%)	Hr (%)	Hr (%)
Jan	81	81	80	79	81	80	80
Fev	82	82	82	80	82	82	82
Mar	81	81	83	86	81	83	83
Abr	82	82	83	82	82	83	83
Mai	87	87	86	80	87	86	86
Jun	86	86	88	80	86	88	88
Jul	90	90	90	80	90	90	90
Agos	88	88	88	77	88	88	88
Set	85	85	85	85	85	85	85
Out	86	86	85	86	86	85	85
Nov	87	87	87	87	87	87	87
Dez	88	88	89	82	89	89	89

Apêndices.2. (Tabela resumos de atividades do campo)

Tabela A2.1.: Presença de floração nas parcelas experimental durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Parcelas	Floração de 2018											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dec
Bem-Posta	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Sim
Novo destino	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Brigroma	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Não
CIAT/STP-BECI	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não
S° Carlos	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim
S° Nicolau	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
Poiso Alto	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
Parcelas	Floração de 2019											
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dec
Bem-Posta	Não	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não
Novo destino	Não	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não
Brigroma	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
CIAT/STP-BECI	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
S° Carlos	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
S° Nicolau	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Poiso Alto	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

Tabela A2.2.: Números de frutos contabilizados por um ramo representativo em 15 árvores que contenha 30-100 frutos em desenvolvimento mensalmente nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Meses	Bem-Posta (N°)	Novo Destino (N°)	Poiso Alto (N°)	Brigroma (N°)	CIAT/STP-BECI (N°)	S° Carlos (N°)	S° Nicolau (N°)
Fev	653	594	1097	1332	945	777	979
Mar	516	643	959	1411	1022	905	1028
Abr	646	602	1087	1485	880	1035	1047
Mai	705	571	1268	1203	1142	738	888
Jun	708	711	1053	1154	830	800	833
Jul	733	695	845	952	771	763	1010
Agos	651	854	974	835	789	677	1003
Set	532	712	906	902	611	582	923
Out	539	660	893	1047	579	688	759
Nov	532	668	897	1053	719	684	761
Dez	583	713	1283	1335	905	705	828
Ano 2019							
Jan	684	651	1106	1299	841	848	920
Fev	546	543	1256	1056	777	715	819
Mar	527	482	1148	1024	658	648	876
Abr	0	0	1085	1161	630	711	599
Mai	0	0	1218	1342	670	590	845
Jun	574	559	876	937	674	537	974
Jul	0	653	0	928	680	531	1003
Agos	509	635	0	952	739	506	826
Set	0	0	512	944	0	469	824
Out	585	570	577	891	911	806	736
Nov	600	672	989	1396	874	705	706
Dez	617	647	827	1658	909	702	805

Tabela A2.3.: Ficha de registro de levantamento mensal da broca-do-café por localidade.

		CENTRO DE INVESTIGAÇÃO AGRONÓMICO E TECNOLÓGICO DE SÃO TOMÉ E PRÍNCIPE-CIAT/STP MONITORAMENTO DA BROCA-DO-CAFÉ NO CAMPO AMOSTRAGEM DE FRUTOS: VISUAL E COLETA						
		Local: <u>CIAT/STP-BEJI</u> Talhão: <u>9A</u> Tamanho: <u>0,5 ha</u> Floração: <u>Sim</u> Data: <u>3/05/2018</u>						
Planta (nº)	Amostra de números de frutos observados em diversos ramos por ponto de amostragem							
	Número de frutos por ramo (NFR), número de frutos infestados por broca-do-café (NFBC), posição de CBB (AB-CD), infecção por <i>B. bassiana</i> (Bb), mortalidade de CBB e frutos sã.							
	NFR	NIBC	AB	CD	Bb	Insetos mortos	Fruto sã	
1	66	38	3	0	4	0	28	
2	65	52	3	0	18	0	13	
3	124	25	2	1	1	0	99	
4	127	4	3	0	0	0	123	
5	83	57	2	1	17	0	26	
6	150	95	3	0	28	0	55	
7	116	83	3	0	1	0	33	
8	33	0	0	0	0	0	33	
9	87	11	0	0	0	0	76	
10	64	7	2	1	0	0	57	
11	66	0	0	0	0	0	66	
12	91	0	0	0	0	0	91	
13	70	0	0	0	0	0	70	
14	50	0	0	0	0	0	50	
15	30	0	0	0	0	0	30	
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								
30								

Tabela A2.4.: Níveis de infestação mensais da broca-do-café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Meses	Bem-Posta (%)	Novo Destino (%)	Poiso Alto (%)	Brigroma (%)	CIAT/STP-BECI (%)	S° Carlos (%)	S° Nicolau (%)
Fev	15,0	14,8	3,1	1,7	11,1	36,3	13,4
Mar	10,1	7,9	3,2	0,8	13,6	33,6	4,1
Abr	7,3	3,5	2,8	0,4	8,8	45,5	2,1
Mai	17,4	1,6	4,1	1,9	32,6	42,3	2,3
Jun	5,8	26,6	4,7	0,7	32,5	27,6	3,5
Jul	24,1	13,7	7,0	3,8	38,9	31,3	5,4
Agos	45,3	15,0	4,2	9,3	56,3	37,7	12,7
Set	12,2	14,0	2,1	7,1	33,6	11,2	20,6
Out	15,4	26,5	5,5	3,9	24,5	4,5	8,1
Nov	17,5	24,0	4,5	3,4	11,2	3,2	6,5
Dez	19,7	21,6	2,6	1,3	4,1	2,7	6,8
Ano 2019							
Jan	8,3	9,2	1,5	1,1	4,5	4,8	5,8
Fev	11,2	11,8	3,7	1,1	8,0	8,8	3,7
Mar	7,4	11,6	0,3	1,3	15,2	12,5	3,2
Abr	0,0	0,0	1,8	2,1	9,1	15,5	2,5
Mai	0,0	0,0	7,6	1,7	9,3	17,6	3,8
Jun	27,5	15,2	2,3	1,1	31,5	22,0	5,6
Jul	0,0	37,8	0,0	4,6	41,6	14,1	4,9
Agos	47,1	49,1	0,0	2,2	20,7	35,4	14,6
Set	0,0	0,0	9,8	0,1	0,0	20,7	17,2
Out	9,9	14,2	9,5	0,9	7,6	10,7	12,5
Nov	2,0	7,3	2,4	0,9	14,6	10,6	2,3
Dez	2,4	7,6	3,1	1,2	10,2	11,1	1,6

Tabela A2.5.: Percentagem da broca-do-café na posição (AB) nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Meses	Bem-Posta (%)	Novo Destino (%)	Poiso Alto (%)	Brigroma (%)	CIAT/STP-BECI (%)	S° Carlos (%)	S° Nicolau (%)
Fev	1,4	1,0	1,4	0,4	0,6	1,3	1,4
Mar	1,6	2,0	0,6	0,1	0,8	1,2	1,2
Abr	1,7	1,2	0,2	0,1	0,6	1,0	1,0
Mai	3,7	0,4	0,9	0,2	1,8	2,4	0,0
Jun	1,4	3,4	1,2	0,3	2,7	3,2	1,4
Jul	3,4	3,0	1,5	0,8	3,2	3,0	1,7
Agos	2,6	1,4	1,6	1,1	2,7	3,1	2,7
Set	4,5	3,4	1,0	1,3	3,6	2,9	3,0
Out	3,0	3,1	1,7	0,9	2,2	1,8	1,8
Nov	3,9	3,1	1,7	0,9	1,5	1,8	1,8
Dez	0,0	1,8	1,2	1,0	1,0	0,8	2,5
Ano 2019							
Jan	1,6	1,4	0,6	0,4	1,3	1,2	1,7
Fev	1,8	1,7	0,6	0,2	1,2	1,5	1,2
Mar	1,5	0,6	0,4	0,6	1,4	0,5	1,4
Abr	0,0	0,0	0,6	0,4	2,2	1,1	1,3
Mai	0,0	0,0	1,0	0,3	3,3	2,0	1,7
Jun	3,5	1,8	1,4	0,3	4,0	2,4	1,3
Jul	0,0	4,0	0,0	0,3	1,6	3,6	1,1
Agos	5,9	3,5	0,0	0,2	0,7	3,0	1,6
Set	0,0	0,0	2,5	0,1	0,0	2,6	3,2
Out	1,2	1,2	1,9	0,7	1,1	1,5	1,9
Nov	1,2	1,9	1,0	0,1	1,7	0,9	0,7
Dez	1,1	2,2	0,6	0,1	0,9	0,7	0,6

Tabela A2.6.: Percentagem da broca-do-café na posição (CD) nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Meses	Bem-Posta (%)	Novo Destino (%)	Poiso Alto (%)	Brigroma (%)	CIAT/STP-BECI (%)	S° Carlos (%)	S° Nicolau (%)
Fev	3,7	2,5	0,3	0,2	1,5	3,7	0,9
Mar	3,1	2,5	1,1	0,2	1,7	3,1	0,4
Abr	1,5	0,5	0,9	0,3	1,6	2,7	0,4
Mai	1,3	1,1	1,3	0,4	0,5	2,6	1,3
Jun	1,1	1,5	1,0	0,4	1,6	1,3	0,7
Jul	1,5	1,2	0,4	0,7	1,3	1,6	1,2
Agos	2,6	2,3	0,4	1,2	1,8	2,7	1,0
Set	0,7	0,8	0,2	0,9	1,5	2,2	0,8
Out	2,2	1,9	0,6	0,6	0,8	0,3	0,8
Nov	1,3	1,9	0,6	0,6	1,3	0,3	0,8
Dez	0,5	2,5	0,2	0,2	0,0	0,7	0,7
Ano 2019							
Jan	1,5	3,1	0,0	0,2	0,5	0,8	0,3
Fev	2,6	3,0	0,5	0,6	1,5	2,0	0,7
Mar	2,5	2,9	0,0	0,3	2,9	1,7	0,6
Abr	0,0	0,0	0,7	0,6	1,0	2,8	0,8
Mai	0,0	0,0	0,3	0,6	0,8	2,4	0,8
Jun	2,4	2,0	0,2	0,4	1,8	3,4	1,0
Jul	0,0	2,0	0,0	0,3	4,0	3,2	1,1
Agos	1,2	2,2	0,0	0,8	3,8	4,2	1,7
Set	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	3,6	0,8
Out	0,9	2,1	2,1	0,3	2,3	1,6	0,1
Nov	0,7	1,2	0,2	0,7	1,6	3,3	0,3
Dez	0,8	1,1	1,0	0,5	2,9	3,4	0,3

Tabela A2.7.: Percentagem da mortalidade da broca-do-café associado com o fungo entomonopatogénico nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Meses	Bem-Posta (%)	Novo Destino (%)	Poiso Alto (%)	Brigroma (%)	CIAT/STP-BECI (%)	S° Carlos (%)	S° Nicolau (%)
Fev	0,5	0,0	0,0	0,3	1,3	0,8	1,1
Mar	0,8	0,3	0,0	0,1	1,7	1,9	0,4
Abr	0,2	0,0	0,2	0,1	0,3	3,3	0,3
Mai	1,4	0,2	0,1	0,1	6,0	3,4	0,0
Jun	0,0	3,5	0,2	0,0	6,1	6,8	0,1
Jul	3,8	0,3	1,0	0,1	8,0	5,8	0,1
Agos	9,4	0,6	0,2	0,0	18,4	4,9	0,9
Set	1,1	0,1	0,0	0,2	13,3	1,4	3,6
Out	3,7	3,6	0,2	0,0	10,4	0,1	1,2
Nov	1,1	3,9	0,2	0,0	0,8	0,1	1,2
Dez	0,0	1,3	0,0	0,1	1,4	0,1	1,2
Ano 2019							
Jan	0,7	0,0	0,2	0,0	0,7	0,2	0,2
Fev	0,6	1,1	0,7	0,0	1,0	0,1	0,0
Mar	0,2	0,4	0,1	0,0	5,0	0,5	0,0
Abr	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
Mai	0,0	0,0	0,9	0,0	2,7	0,3	0,1
Jun	0,4	1,8	0,3	0,1	8,2	1,9	0,1
Jul	0,0	3,1	0,0	0,0	4,0	0,2	0,1
Agos	23,6	9,6	0,0	0,0	7,3	5,5	2,8
Set	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,1	7,2
Out	1,4	1,8	0,2	0,0	1,4	2,2	1,4
Nov	0,2	0,2	0,1	0,0	3,3	1,0	0,8
Dez	0,2	0,2	0,0	0,0	1,2	0,9	0,6

Tabela A2.8.: Números médios de ovos da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Meses	Bem-Posta (Nº)	Novo Destino (Nº)	Poiso Alto (Nº)	Brigroma (Nº)	CIAT/STP-BECI (Nº)	Sº Carlos (Nº)	Sº Nicolau (Nº)
Fev	2,3	0,6	1,9	2,0	1,3	1,3	0,0
Mar	0,7	1,5	2,1	1,2	1,9	2,8	0,6
Abr	1,8	0,1	3,1	1,7	3,3	1,0	1,5
Mai	1,3	1,3	1,6	2,0	0,8	1,2	2,3
Jun	0,6	0,8	1,5	1,6	1,7	1,9	2,5
Jul	0,7	0,9	0,9	1,5	1,8	1,3	0,4
Agos	2,9	4,6	0,1	0,6	1,0	0,1	1,6
Set	0,7	1,3	1,6	1,6	0,3	0,7	2,6
Out	0,4	0,0	0,7	0,3	0,3	0,7	1,4
Nov	0,4	0,1	0,5	0,3	0,5	0,6	1,0
Dez	0,6	0,2	0,0	0,4	0,6	0,7	0,1
Ano 2019							
Jan	1,9	0,4	0,3	0,5	1,3	2,6	0,4
Fev	1,0	2,2	1,5	0,4	1,7	1,6	1,3
Mar	1,1	0,5	3,4	1,5	1,7	1,1	0,6
Abr	1,8	2,4	2,1	1,6	1,8	0,2	0,8
Mai	0,4	3,2	3,6	1,2	2,0	1,7	2,2
Jun	0,0	0,0	0,9	2,6	1,4	2,0	2,8
Jul	0,0	0,5	4,8	2,0	0,1	6,6	1,6
Agos	0,0	0,4	1,5	0,9	0,2	2,0	0,7
Set	0,4	0,6	0,0	0,2	0,7	0,0	0,0
Out	0,4	1,5	0,0	0,2	0,1	0,6	0,7
Nov	0,8	0,6	0,0	0,3	0,0	0,4	0,5
Dez	0,0	0,5	0,1	0,6	0,0	0,4	0,0

Tabela A2.9.: Números médios de larvas da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, Brigroma, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Meses	Bem-Posta (Nº)	Novo Destino (Nº)	Poiso Alto (Nº)	Brigroma (Nº)	CIAT/STP-BECI (Nº)	Sº Carlos (Nº)	Sº Nicolau (Nº)
Fev	3,2	0,2	3,3	1,5	1,2	3,3	0,0
Mar	5,4	2,1	4,0	0,9	4,2	2,8	0,8
Abr	0,3	0,6	2,8	2,9	1,0	0,3	1,2
Mai	0,3	0,4	6,4	5,2	0,4	1,9	3,5
Jun	1,2	0,6	1,8	4,4	0,7	6,3	1,8
Jul	0,9	0,5	1,0	1,3	1,3	1,7	4,1
Agos	4,5	5,0	0,0	2,5	5,4	1,2	1,1
Set	1,4	2,6	1,9	2,7	1,2	0,3	1,2
Out	1,2	0,0	1,3	0,7	0,3	0,6	2,0
Nov	1,0	0,0	1,0	0,5	0,1	0,5	1,8
Dez	1,3	0,5	0,3	0,6	0,0	0,1	0,6
Ano 2019							
Jan	3,2	1,6	0,1	0,0	0,5	2,6	0,2
Fev	5,7	0,6	0,7	2,4	0,6	3,3	1,4
Mar	4,3	3,0	3,8	2,7	5,0	3,5	1,4
Abr	0,0	1,4	4,1	8,2	3,0	0,0	0,9
Mai	1,2	0,4	4,5	2,8	4,3	3,3	1,6
Jun	0,0	0,0	1,6	1,4	1,1	4,2	1,4
Jul	0,0	0,2	1,3	2,1	0,0	1,3	4,1
Agos	0,0	0,0	4,0	3,9	2,4	6,3	0,5
Set	0,0	0,3	0,0	1,9	0,3	0,0	0,0
Out	0,3	3,0	0,0	0,2	0,0	0,6	0,6
Nov	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	1,6	0,4
Dez	0,0	0,4	0,6	1,1	0,0	1,0	0,0

Tabela A2.10.: Números médios de pupas da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Meses	Bem-Posta (Nº)	Novo Destino (Nº)	Poiso Alto (Nº)	Brigroma (Nº)	CIAT/STP-BECI (Nº)	Sº Carlos (Nº)	Sº Nicolau (Nº)
Fev	2,0	0,0	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0
Mar	0,4	0,6	0,6	0,7	2,5	1,8	0,7
Abr	0,3	0,8	0,7	0,4	0,6	0,0	0,3
Mai	0,2	0,0	1,3	2,5	0,8	0,5	0,4
Jun	0,3	0,3	1,6	1,3	0,7	2,9	0,5
Jul	0,3	0,2	0,9	0,8	0,0	0,9	2,1
Agos	0,7	0,1	0,0	1,0	1,7	0,9	0,3
Set	0,9	0,5	0,0	1,1	1,4	0,0	0,2
Out	0,1	0,0	0,0	0,3	0,6	0,0	0,0
Nov	0,1	0,1	0,0	0,3	0,3	0,1	0,1
Dez	0,0	0,0	0,8	0,0	0,7	0,0	0,0
Ano 2019							
Jan	0,9	0,5	0,0	0,0	0,1	0,4	0,0
Fev	2,4	0,6	0,5	1,4	0,0	1,7	0,4
Mar	1,4	0,6	1,6	0,5	0,9	0,6	0,9
Abr	0,0	0,0	0,8	1,8	1,5	0,0	0,2
Mai	0,2	0,0	0,0	0,2	0,4	0,5	0,2
Jun	0,0	0,0	0,1	0,5	0,0	0,9	0,3
Jul	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,5	0,6
Agos	0,0	0,0	0,2	0,8	0,1	1,8	0,1
Set	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Out	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Nov	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Dez	0,0	0,0	0,2	0,3	0,0	0,0	0,0

Tabela A2.11.: Números médios de adultos da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Meses	Bem-Posta (N°)	Novo Destino (N°)	Poiso Alto (N°)	Brigroma (N°)	CIAT/STP-BECI (N°)	S° Carlos (N°)	S° Nicolau (N°)
Fev	0,7	0,1	1,3	0,7	1,0	0,6	0,5
Mar	0,6	0,8	1,4	0,6	2,2	1,0	1,2
Abr	2,3	0,9	2,1	2,0	1,0	1,1	0,4
Mai	1,2	0,8	1,1	5,1	1,2	1,0	0,7
Jun	0,9	0,8	2,7	1,9	1,6	2,9	1,4
Jul	0,8	0,5	0,6	2,0	0,5	0,6	0,4
Agos	1,1	1,0	0,9	2,7	2,7	0,6	0,7
Set	1,5	0,8	0,6	1,1	1,8	0,2	0,5
Out	0,6	0,5	1,0	1,0	1,7	0,7	0,5
Nov	0,6	0,5	1,0	1,0	1,1	0,7	0,5
Dez	0,5	0,5	0,8	0,6	0,6	0,3	1,1
Ano 2019							
Jan	0,6	1,2	0,7	0,3	0,5	1,0	0,2
Fev	1,0	0,9	1,4	1,0	0,6	0,7	0,5
Mar	1,7	1,2	1,2	0,8	0,6	0,7	1,8
Abr	0,6	0,8	1,7	1,8	3,3	0,5	0,2
Mai	0,5	0,7	0,8	1,0	1,4	0,6	0,7
Jun	1,1	0,6	1,6	0,4	0,8	0,8	1,4
Jul	0,9	0,9	1,0	0,6	0,7	0,8	2,3
Agos	0,6	0,6	1,3	1,7	0,8	0,8	0,9
Set	0,6	0,6	0,9	0,9	0,8	0,6	0,5
Out	0,9	0,5	0,9	0,7	1,1	0,5	0,4
Nov	0,7	0,5	0,8	0,8	0,7	0,9	0,6
Dez	0,3	0,7	0,7	1,2	0,7	0,9	0,3

Apêndices.3. (Resumo das análises de variância)

Tabela A3.1.: Resumo da análise de variância para percentagem de adultos de broca-do-café no posicionamento AB.

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	F	Sig.	Noncent. Parâmetro	Poder observado ^b
Modelo corrigido	40,857 ^a	6	6,809	6,506	0,000	39,037	0,999
Intercepto	357,764	1	357,764	341,829	0,000	341,829	1,000
Variedade	40,857	6	6,809	6,506	0,000	39,037	0,999
Erro	161,179	154	1,047				
Total	559,800	161					
Total corrigido	202,036	160					

a. R Quadrado=0,202 (R Quadrado Ajustado=0,171)

b. Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.2.: Resumo da análise de variância para percentagem de adultos de broca-do-café no posicionamento CD.

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	F	Sig.	Noncent. Parâmetro	Poder observado ^b
Modelo corrigido	62,504 ^a	6	10,417	14,677	0,000	88,061	1,000
Intercepto	257,219	1	257,219	362,390	0,000	362,390	1,000
variedade	62,504	6	10,417	14,677	0,000	88,061	1,000
Erro	109,307	154	0,710				
Total	429,030	161					
Total corrigido	171,811	160					

a. R Quadrado=0,364 (R Quadrado Ajustado=0,339)

b. Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.3.: Resumo da análise de variância para percentagem frutos verdes infestados com evidencia de fungo entomonopatogénico.

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	F	Sig.	Noncent. Parâmetro	Poder observado ^b
Modelo corrigido	306,533 ^a	6	51,089	5,879	0,000	35,271	0,998
Intercepto	414,724	1	414,724	47,720	0,000	47,720	1,000
variedade	306,533	6	51,089	5,879	0,000	35,271	0,998
Erro	1338,383	154	8,691				
Total	2059,640	161					
Total corrigido	1644,916	160					

a. R Quadrado=0,186 (R Quadrado Ajustado=0,155)

b. Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.4.: Resumo da análise de variância para nível de infestação da broca-do-café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECL, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Origem	Tipo III Soma dos		Quadrado			Noncent. Parâmetro	Poder observado ^b
	Quadrados	df	Médio	F	Sig.		
Modelo corrigido	7088,775 ^a	6	1181,463	10,967	0,000	65,803	1,000
Intercepto	21136,137	1	21136,137	196,201	0,000	196,201	1,000
variedade	7088,775	6	1181,463	10,967	0,000	65,803	1,000
Erro	16589,937	154	107,727				
Total	44814,850	161					
Total corrigido	23678,713	160					

a. R Quadrado=0,299 (R Quadrado Ajustado=0,272)

b. Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.5.: Resumo da análise de variância para nível de infestação da broca-do-café em função de altitudes durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Origem	Tipo III Soma dos		Quadrado			Noncent. Parâmetro	Poder observado ^b
	Quadrados	df	Médio	F	Sig.		
Modelo corrigido	1118,326 ^a	1	1118,326	7,882	0,006	7,882	0,797
Intercepto	19352,772	1	19352,772	136,394	0,000	136,394	1,000
Altitude	1118,326	1	1118,326	7,882	0,006	7,882	0,797
Erro	22560,387	159	141,889				
Total	44814,850	161					
Total corrigido	23678,713	160					

a. R Quadrado=0,047 (R Quadrado Ajustado=0,041)

b. Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.6.: Resumo da análise de variância para números de ovos da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECL, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Origem	Tipo III Soma dos		Quadrado			Noncent. Parâmetro	Poder observado ^b
	Quadrados	df	Médio	F	Sig.		
Modelo corrigido	1907,975 ^a	6	317,996	0,737	0,620	4,423	0,286
Intercepto	80810,242	1	80810,242	187,329	0,000	187,329	1,000
Localidade	1907,975	6	317,996	0,737	0,620	4,423	0,286
Erro	66432,783	154	431,382				
Total	149151,000	161					
Total corrigido	68340,758	160					

a. R Quadrado=0,028 (R Quadrado Ajustado=0,010)

b. Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.7.: Resumo da análise de variância para números de larvas da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECCI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	F	Sig.	Noncent. Parâmetro	Poder observado ^b
Modelo corrigido	9677,280 ^a	6	1612,880	1,423	0,209	8,539	0,543
Intercepto	168791,112	1	168791,112	148,932	0,000	148,932	1,000
Localidade	9677,280	6	1612,880	1,423	0,209	8,539	0,543
Erro	174534,609	154	1133,342				
Total	353003,000	161					
Total corrigido	184211,888	160					

a. R Quadrado=0,053 (R Quadrado Ajustado=0,016)

b. Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.8.: Resumo da análise de variância para números de pupas da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECCI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	F	Sig.	Noncent. Parâmetro	Poder observado ^b
Modelo corrigido	1253,081 ^a	6	208,847	1,488	0,186	8,927	0,565
Intercepto	11794,311	1	11794,311	84,024	0,000	84,024	1,000
Localidade	1253,081	6	208,847	1,488	0,186	8,927	0,565
Erro	21616,609	154	140,368				
Total	34664,000	161					
Total corrigido	22869,689	160					

a. R Quadrado=0,055 (R Quadrado Ajustado=0,018)

b. Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.9.: Resumo da análise de variância para números de adultos da broca-do-café observados em 20 frutos de café nas localidades de Bem-Posta, Novo Destino, Poiso Alto, CIAT/STP-BECCI, São Carlos e São Nicolau durante meses de fevereiro de 2018 a dezembro de 2019.

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	F	Sig.	Noncent. Parâmetro	Poder observado ^b
Modelo corrigido	3099,801 ^a	6	516,634	3,418	0,003	20,505	0,936
Intercepto	57514,590	1	57514,590	380,456	0,000	380,456	1,000
Localidade	3099,801	6	516,634	3,418	0,003	20,505	0,936
Erro	23280,609	154	151,173				
Total	83895,000	161					
Total corrigido	26380,410	160					

a. R Quadrado=0,118 (R Quadrado Ajustado=0,083)

b. Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.10.: Resumo da análise de variância para número de adultos de broca-do-café capturado.

Origem		Tipo III Soma dos		Quadrado		
		Quadrados	df	Médio	F	Sig.
Intercepto	Hipótese	9063927,225	1	9063927,225	79,449	0,012
	Erro	229876,148	2,015	114084,145 ^a		
Localidade	Hipótese	230510,469	2	115255,235	0,232	0,811
	Erro	992240,319	2	496120,159 ^b		
Armadilha	Hipótese	342220,142	1	342220,142	0,699	0,491
	Erro	981052,765	2,003	489676,109 ^c		
Armadilha*Localidade	Hipótese	992240,319	2	496120,159	16,177	0,000
	Erro	32201007,784	1050	30667,626 ^d		
Atraente	Hipótese	2087103,709	2	1043551,855	34,028	0,000
	Erro	32201007,784	1050	30667,626 ^d		
Armadilha*Atraente	Hipótese	94042,160	2	47021,080	1,533	0,216
	Erro	32201007,784	1050	30667,626 ^d		

a, 0,986 MS(Localidade) + 0,014 MS(Erro)

b, MS(Armadilha * Localidade)

c, 0,986 MS(Armadilha * Localidade) + 0,014 MS(Erro)

d, MS(Erro)

Tabela A3.11.: Resumo da análise de variância para número de adultos de broca-do-café capturado por parcela com diferente armadilha.

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados		Quadrado		F	Sig.	Noncent, Poder observado ^b	
	df	Médio	Parâmetro	Poder observado ^b				
Modelo corrigido	729432,739 ^a	3	243144,246	7,230	0,000	21,691	0,983	
Intercepto	9073147,168	1	9073147,168	269,810	0,000	269,810	1,000	
Localidade	229334,083	2	114667,041	3,410	0,033	6,820	0,642	
Armadilha	500098,657	1	500098,657	14,872	0,000	14,872	0,971	
Erro	35511129,219	1056	33627,963					
Total	45156920,000	1060						
Total corrigido	36240561,958	1059						

a, R Quadrado=0,020 (R Quadrado Ajustado=0,017)

b, Calculado usando alfa=0,05

Tabela A3.12.: Resumo da análise de variância para número de adultos de broca-do-café capturado por parcela com diferentes atraentes.

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados		Quadrado		F	Sig.	Noncent, Poder observado ^b	
	df	Médio	Parâmetro	Poder observado ^b				
Modelo corrigido	2393883,721 ^a	4	598470,930	18,654	0,000	74,617	1,000	
Intercepto	9014003,496	1	9014003,496	280,966	0,000	280,966	1,000	
Atraente	2164549,638	2	1082274,819	33,734	0,000	67,469	1,000	
Localidade	219646,769	2	109823,384	3,423	0,033	6,846	0,644	
Erro	33846678,237	1055	32082,159					
Total	45156920,000	1060						
Total corrigido	36240561,958	1059						

a, R Quadrado=0,066 (R Quadrado Ajustado=0,063)

b, Calculado usando alfa=0,05

