

# NUEVAS TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN MASIVA AUTOMATIZADA DE *Hypothenemus hampei* SOBRE LA DIETA ARTIFICIAL CENIBROCA MODIFICADA

Maribel Portilla R.\*; Douglas Streett\*\*

---

## RESUMEN

**PORTILLA R., M.; STREETT D.** Nuevas técnicas de producción masiva automatizada de *Hypothenemus hampei* sobre la dieta artificial Cenibroca modificada. *Cenicafé* 57(1):37-50.2006

Un sistema automatizado para la cría masiva de la broca del café, CBB, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) fue desarrollado en el Laboratorio Nacional de Control Biológico, USDA-ARS-de los Estados Unidos. En este programa de cría se utilizó la dieta artificial Cenibroca modificada compuesta de café, agar, caseína, levadura, inhibidores, vitaminas y preservativos. Se desarrolló un nuevo diseño de celdas para la elaboración de bandejas de cría de 32 celdas las cuales fueron elaboradas con plástico calibre 20 por 30 x 14,6 x 1,1cm de ancho. La dieta se distribuyó en las bandejas de cría de 32 celdas con un dispensador automático adaptado para la dieta artificial Cenibroca modificada. Se estableció la colonia de broca y se mantuvo con este sistema de cría por 70 generaciones continuas sin afectar su actividad, fecundidad, peso y tamaño. En total se produjeron novecientas mil brocas machos y hembras utilizando 20 litros de dieta.

**Palabras claves:** USDA, BCPRU, Cenibroca, cría masiva, control biológico, dieta artificial, *Hypothenemus hampei*, broca del café, *Phymastichus coffea*, parasitoides.

---

## ABSTRACT

An automated system for the mass rearing of coffee berry borer (CBB), *Hypothenemus hampei* (Ferrari) was developed at the National Biological Control Laboratory, USDA-ARS in the United States. A modified Cenibroca artificial diet consisting of coffee, agar, casein, yeast, inhibitors, vitamins and preservatives was used in the CBB rearing program. A novel cell design was developed for the 32 cell trays that were made with 20.0 mil gauge and 30 x 14.6 x 1.1cm wide polyvinylchloride plastic. The 32 cell trays were filled with diet from an automated diet dispenser adapted to dispense the modified Cenibroca artificial diet. The CBB colony was established and maintained using this rearing system for 70 continuous generations without affecting its activity, fecundity, weight, and size. This rearing system was sufficient to produce nine hundred thousand males and females CBB in 20 liters of diet.

**Keywords:** USDA, BCPRU, Cenibroca, mass rearing, biological control, artificial diet, *Hypothenemus hampei*, coffee berry borer, *Phymastichus coffea*, parasitoids.

---

\* Research Associate II. Mississippi State University, Department of Entomology and Plant Pathology, USA. Investigador Científico I. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. mportilla@msa-msstate.ars.usda.gov

\*\* Research Leader, USDA, REE, ARS, MSA Biological Control and Mass Rearing Research Unit, Mississippi State, MS - USA

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) es considerada una plaga importante de carácter mundial y difícil de controlar mediante aspersiones de insecticidas debido a que gran parte de su ciclo de vida transcurre en el interior del fruto de café (3). El control biológico mediante el uso de los parasitoides de origen africano parecen ser la alternativa más viable ya que al menos en cada país una de las especies liberadas se ha establecido (8, 10, 13, 19).

La cría masiva de insectos entomófagos para el control biológico de plagas se ha convertido en una técnica comúnmente utilizada para establecimientos permanentes, colonizaciones periódicas o liberaciones inoculativas e inundativas de agentes controladores (18). Para el control biológico de la broca del café, la producción masiva de parasitoides ha sido escasa y los diferentes programas de control llevados a cabo en diferentes países no han sido exitosos. Esto, posiblemente debido a la falta de conocimiento y a la disponibilidad de un sistema de cría de la broca que se pueda adaptar fácilmente a las condiciones existentes en los países productores de café (3, 35). El único sistema de cría masiva de estos parasitoides conocido hasta este momento (26, 13) requiere de su hospedero natural (grano pergamino) lo que implica depender de la presencia de frutos de café durante todo el año. Esta característica la tiene Colombia, que por sus condiciones de clima ecuatorial el café tiene varias floraciones al año, razón por la cual ha sido el único país productor que ha tenido éxito con este sistema de cría tradicional (3). El desarrollo de dietas artificiales para la cría de la broca del café es un paso crucial para el desarrollo de una tecnología comercial y para mantener continuidad en los programas de cría y liberación de controladores biológicos.

Aunque son varias las dietas descritas para la cría de broca del café (7, 12, 27,

34, 35) ninguna de ellas está comercialmente disponible. Portilla (27), utilizó la dieta artificial Cenibroca para el desarrollo de la cría de la broca del café a mediana escala y del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis*, pero los costos de producción continúan siendo altos y la mano de obra intensa. Por tanto, esta investigación se llevó a cabo para desarrollar un sistema de cría automatizado de broca del café utilizando la dieta artificial Cenibroca modificada, la cual ha sostenido mayores niveles de producción que cualquier otra dieta de broca, proporcionándole al insecto los requerimientos nutritivos que necesita para desarrollarse de huevo a adulto, con tasas de crecimiento, peso y tamaño constantes a través de generaciones, además de ser económica y fácil de preparar.

En este artículo se presentan resultados de producción de broca a través de 15 generaciones. Se comparó la capacidad reproductiva, relación de sexos, peso y tamaño y fecundidad dependiendo de la actividad de la broca a partir de la generación  $F_{41}$  hasta la  $F_{55}$  y se describen cada una de las actividades de investigación que condujeron al desarrollo de este programa de cría masiva.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Establecimiento de la colonia de broca.** Esta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio Nacional de Control Biológico de Estados Unidos, USDA-ARS-BCPRU. Las colonias de *H. hampei* fueron proporcionadas por el Centro Nacional de Investigaciones de Café - Cenicafé, Colombia. Estos especímenes se recibieron en frutos de café colectados de predios colombianos infestados del insecto. El material se mantuvo en cámaras de cría (Percival RE-16) con temperaturas y humedades relativas controladas de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  y  $75 \pm 1\%$ , respectivamente y un fotoperíodo de 0: 24 LD durante 45 días hasta obtener la primera

emergencia de broca. Los adultos de broca emergidos se trasladaron inicialmente a la dieta Cenibroca y se criaron durante algunas generaciones utilizando la metodología descrita por Portilla (28). Posteriormente, la dieta y la metodología de producción se modificaron lográndose producciones masivas.

**Preparación de la dieta.** La Tabla 1 muestra el nombre de los proveedores y la composición de la dieta Cenibroca modificada con las cantidades de los ingredientes utilizados en la preparación de 20L de dieta. Se mezcló el agar y el café molido (molino Bunn-o-Matic) del 12% de contenido de humedad en 15L de agua. Esta mezcla que equivale al 78% del peso total de los ingredientes en polvo o al 16% del peso total de la dieta, se esterilizó en autoclave durante 15min a 120°C y 15lb de presión. Luego de sometida al autoclave la mezcla se llevó a una olla vaporizadora OM-TDB/7 de 20L de capacidad, acoplada a un mezclador automático Stir Pak Mixer Head 50002-02 y se le agregaron los ingredientes: azúcar, caseína, levadura, ácido benzoico, Benomil, vitaminas de Vanderzan, sales de Wesson, formaldehído y alcohol. La

mezcla y los ingredientes se homogeneizaron durante 15min a una temperatura constante de 65 °C.

La mezcla final se dosificó en 350 contenedores plásticos de 32 celdas. La elaboración de estos recipientes se basó en el diseño de un molde propio, con medidas y forma específica para la cría de la broca del café. Este molde se adaptó a la máquina formadora-selladora Modelo 655-BBS-9 (33). Los recipientes se elaboraron con plástico polivinilo calibre 20,0 con dimensiones 14,6cm x 30cm x 1,1cm con base perfectamente redondeada (American Mirrex Corp., Newcastle, DE). Para dosificar la dieta en las bandejas plásticas de 32 celdas se utilizó un dosificador automático adaptado para la dieta Cenibroca modificada, el cual fue elaborado por personal técnico de la USDA-ARS-BCPRU. La máquina requirió de un operario y constaba de una bomba dosificadora FILAMATIC-260-NATIONAL INSTRUMENTAL-LLC, una unidad dispensadora de 32 boquillas (Modificada para productos viscosos), un control automático de tiempo de llenado que se fijó en 2 (mínimo) hasta 10 (máximo)

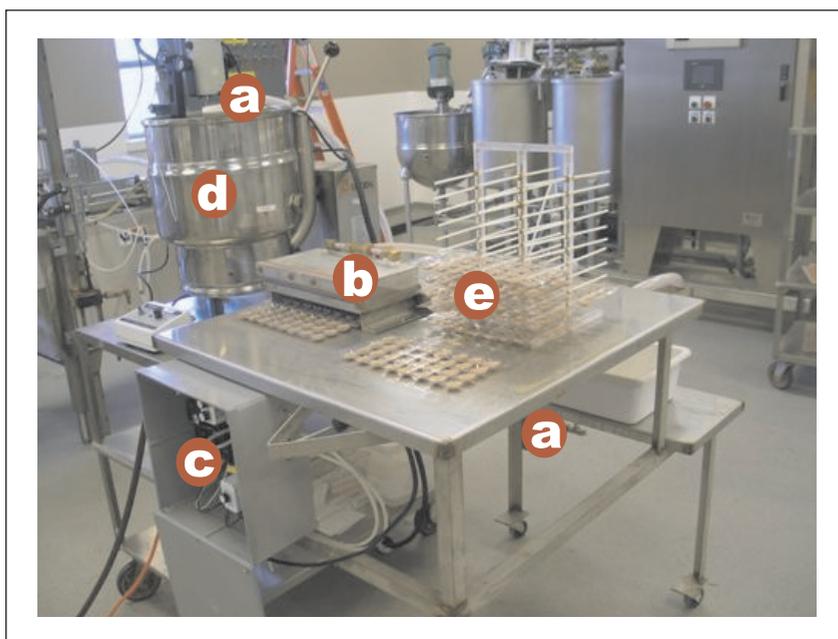
**Tabla 1.** Composición y nombre de los proveedores e ingredientes para la preparación de 20 litros de dieta Cenibroca.

Ingredientes	Cantidad	Proveedor
Agar	200 g	FMC Corporación
Caseína	300 g	Sigma
Levadura – Candida Utilis	300 g	ICN
Azúcar	200 g	Supermercado
Café molido 12% de humedad	3000 g	Supermercado
Ácido Benzoico	20 g	Sigma
Benomil	30 g	
Vitaminas Vanderzan	10 g	Sigma
Sales de Wesson	16 g	Sigma
Formaldehído	20 ml	Fisher Scientific
Alcohol 75 a 90%	200 ml	Supermercado

segundos entre bandeja y bandeja de 32 celdas, válvulas de control automático de requerimiento de llenado constante, cuya dosificación se fijó desde 0,8 (mínimo) hasta 2,0 (máximo) gramos de dieta/celda, mangueras de alta presión conectadas a la olla vaporizadora OM-TDB/7 (Figura 1). El índice de producción de esta máquina dosificadora establecida en 4seg de control automático de tiempo y 1,4g de control automático constante de llenado fue de 15 bandejas de 32 celdas/minuto. Las bandejas que contenían la dieta se almacenaron hasta por 15 días en un cuarto frío ( $15 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

**Infestación de la dieta.** Las bandejas con la dieta (contenido de humedad 60 – 65% tomado con el Analizador de humedad IR-50 P/N 901569-1 REV-A, Denver Instrument Company) almacenadas en el cuarto frío, se

trasladaron a un cuarto con temperatura de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . La dieta se infestó uniformemente con hembras de broca en cámaras de flujo laminar y utilizando dispensadores de broca. Las hembras se desinfestaron previamente con cloruro de benzalconio en concentraciones del 0,5% y enjuagues con agua estéril. Antes de la inoculación, las brocas se llevaron a un cuarto frío ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) durante unos 20min con el fin de disminuir la actividad del insecto y facilitar la infestación. Se colocaron dos o tres hembras por cada celda. Los dispensadores de broca son tubos plásticos (4 x 7cm de diámetro) con tapa perforada y cubierta con malla metálica # 25. Un total de 20L de dieta (350 bandejas plásticas de 32 celdas) se infestaron con 28.000 brocas (cuatro dispensadores de 7.000 brocas cada uno). Las bandejas de dieta infestadas se sellaron con papel adhesivo transparente



**Figura 1.** Máquina dosificadora automática adaptada para dispensar la dieta Cenibroca modificada en bandejas plásticas de 32 celdas, A, Bomba dosificadora FILAMATIC-260-NATIONAL INSTRUMENTAL-LLC; B, Unidad dispensadora de 32 boquillas (Modificada para productos viscosos); C, Control automático de tiempo de llenado (2 a 10 segundos/bandeja de 32 celdas) y válvulas de control automático de requerimiento de llenado (0,8 a 2,0 g de dieta/celda); D, Mangueras de alta presión conectadas a la olla vaporizadora OM-TDB/7; E, Bandejas de cría de 32 celdas.

perforado (American Mirrex Corp., Newcastle, DE) y se llevaron a cámaras o cuartos climatizados en donde se mantuvieron bajo total oscuridad durante 35 días a  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  y  $75 \pm 1\%$  de temperatura y humedad relativa, respectivamente.

**Cosecha de adultos.** Las bandejas de dieta de 35 días de infestadas, mantenidas a una temperatura de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  se trasladaron a cámaras climatizadas y se mantuvieron bajo condiciones de total oscuridad durante 10 días a una temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y  $75 \pm 1\%$  de humedad relativa. Posteriormente, a estas bandejas se les removió el papel adhesivo y la dieta infestada se llevó a agitadores eléctricos WS LYTER RX-812 compuestos de cernidores metálicos con mallas #s 20, 25 y 30 de 45cm x 15cm de diámetro. La dieta se colocó en el cernidor con malla # 20 y se agitó durante unos 15 minutos. Los adultos colectados en el cernido # 30 se trasladaron a un cernidor metálico pequeño (15cm x 7cm de diámetro) con malla # 40 el cual se agitó manualmente con el fin de remover pequeños residuos de dieta, machos y huevecillos de broca presentes que pasaron a través de las mallas #s 20 y 25. Las hembras de broca colectadas en el cernidor # 40 se desinfestaron utilizando la metodología descrita anteriormente (ver infestación de la dieta) y se utilizaron para mantener la colonia de insectos.

### Control de calidad.

**Parámetros poblacionales de la broca dependiendo de la actividad.** Las hembras cosechadas y desinfestadas se colocaron en una caja plástica transparente 10cm x 10cm x 5cm la cual se colocó en la base de una caja plástica transparente de mayores dimensiones (30cm x 30cm x 20cm). Las hembras más activas que fueron capaces de migrar del recipiente pequeño al grande (brocas que

vuelan o caminan) se seleccionaron para mantener la colonia principal. Para evaluar fecundidad se utilizaron 350 brocas hembras por tratamiento (voladoras, caminadoras e inactivas). Se inocularon individualmente en la dieta en bandejas plásticas de 32 celdas. Se examinaron 50 trozos de dieta (aproximadamente 1,4g/trozo de dieta) por tratamiento cada 7 días durante 10 semanas. La fecundidad se determinó con base en la cantidad de progenies obtenida en las muestras de dieta en cada tiempo de evaluación. Para evaluar los parámetros poblacionales se utilizaron 5 grupos (unidad experimental) de 50 brocas/tratamiento (brocas que volaban, caminaban e inactivas). Las brocas se utilizaron para infestar individualmente trozos de dieta en bandejas de 32 celdas. Se tomaron 10 trozos de dieta infestada (1 broca/trozo de dieta)/tratamiento cada siete días y se llevó el registro del número de individuos encontrados en cada muestra por tiempo de evacuación.

Se calcularon las variables huevos/broca/día, fecundidad bruta [ $M_x$ ], fecundidad neta [ $m_x$ ], tasa intrínseca de crecimiento [ $r_m$ ] y tasa finita de crecimiento [ $\lambda$ ] (Carey, 14), con los promedios de producción obtenidos durante las primeras cinco semanas después de la infestación.

### Monitoreo a través de generaciones

**Fecundidad de la broca.** Se seleccionaron al azar de la colonia principal por cada generación un número determinado de bandejas de 32 celdas para su análisis con el fin de evaluar fecundidad, a partir de la séptima semana después de infestada la dieta y se determinó mediante el número de estados de broca presentes en cada bandeja, evaluando 20 bandejas por generación (640 trozos de dieta por generación).

**Relación de sexos.** Se llevó el registro de la producción total de adultos machos y hembras de broca encontrados en dieta de siete semanas después de infestada y se determinó la relación de sexos. Se evaluaron 20 bandejas de 32 celdas por generación.

**Peso y tamaño de la broca.** El peso y tamaño se determinó mediante la selección de 100 hembras y 100 machos por generación. Para el peso de las hembras se utilizó una microbalanza de precisión Sartorium ISO 9001 y los machos y hembras se midieron individualmente con el software Image Pro-Plus para Windows.

**Producción de broca y porcentaje de actividad.** La producción de adultos se evaluó mediante el registro de recolección del peso machos y hembras producidas en 20L de dieta, 8 semanas después de la infestación (350 bandejas por generación). Se determinó además, el porcentaje de broca activa mediante la diferencia de peso de la cosecha general de broca y el peso de la broca voladora y caminadora obtenida en 20L de dieta por cada generación.

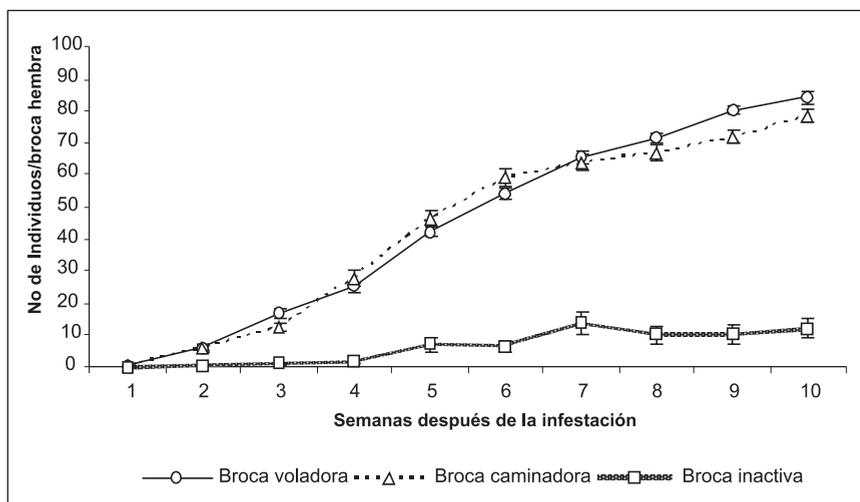
**Análisis estadístico.** Para todos los casos, los datos se analizaron mediante el procedimiento del modelo general lineal SAS (SAS Institute 2000). Los parámetros poblacionales de broca dependiendo de la actividad, fecundidad, relación de sexos, peso y tamaño de la broca a través de generaciones se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y se utilizó la prueba de Tukey ( $p = 0,05$ ) para discriminar diferencias significativas entre promedios.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Control de calidad

**Parámetros poblacionales de la broca dependiendo de la actividad.** El análisis GLM no mostró diferencias significativas en la capacidad reproductiva de la broca voladora, caminadora e inactiva en la primera semana de evaluación ( $p = 0,05$ ) ( $F = 5,49$ ;  $df = 2, 147$ ;  $P = 0,0052$ ). Sin embargo se observó diferencia significativa en la fecundidad del insecto a partir de la segunda semana hasta la décima semana después de la infestación ( $p =$

**Figura 2.** Fecundidad bruta acumulada de la broca del café dependiendo de su actividad (vuela, camina o inactiva) durante 10 semanas después de infestación, ( $n = 150$  individuos por cada tiempo de evaluación).



**Tabla 2.** Tasas de reproducción de la broca del café dependiendo de la actividad (voladora-caminadora-inactiva) obtenidas en dieta artificial Cenibroca, 5 semanas después de infestación.

Tratamientos (Actividad-broca)	Tasas Reproductivas n = 150 (1 hembra / trozo de dieta)				
	Huevos/broca	$\overline{M}_x \pm EE$	$m_x$	$\lambda$	$r_m$
Voladora	3,18±0,02a	49,06±5,43 a	34,76±3,64 a	1,07±0,0008a	0,067±0,0004 a
Caminadora	3,00±0,17a	41,44±8,65a	29,65±7,81a	1,07±0,0012a	0,065±0,001a
Inactiva	0,36±0,04b	7,84±4,40b	5,5±1,40b	1,02±0,0040b	0,037±0,002b

Promedios seguidos de la misma letra en columnas no son significativamente diferentes ( $p = 0,05$  Tukey) E = Error Estándar,  $M^x$  = Fecundidad bruta,  $m^x$  = Fecundidad neta,  $\lambda$  = Tasa finita de crecimiento,  $r^m$  = Tasa Intrínseca de crecimiento

0,05)  $\{ (F = 16,55; df = 2, 147; P = 0,0001), (F = 57,41; df = 2, 147; P = 0,0001), (F = 79,17; df = 2, 147; P = 0,0001), (F = 117,19; df = 2, 147; P = 0,0001), (F = 167,92; df = 2, 147; P = 0,0001), (F = 110,08; df = 2, 147; P = 0,0001), (F = 215,32; df = 2, 147; P = 0,0001), (F = 302,31; df = 2, 147; P = 0,0001) (F = 266,89; df = 2, 147; P = 0,0001) \}$  respectivamente. La Figura 2 muestra los promedios de fecundidad acumulada durante 10 semanas después de infestación, observando producciones de  $78,5 \pm EE 2,19$  para la broca voladora,  $84,2 \pm EE 2,01$  para la broca caminadora y  $11,9 \pm EE 3,05$  individuos por hembra para la broca inactiva.

El análisis de varianza para los parámetros poblacionales mostró diferencias significativas para las variables huevos broca/día ( $F = 219,92; df = 2, 12; P = 0,0001$ ), fecundidad bruta [ $M_x$ ] ( $F = 261,20; df = 2, 12; P = 0,0001$ ), fecundidad neta [ $m_x$ ] ( $F = 239,39; df = 2, 12; P = 0,0001$ ), tasa intrínseca de crecimiento [ $r_m$ ] ( $F = 236,98; df = 2, 12; P = 0,0001$ ) y tasa finita de crecimiento [ $\lambda$ ] ( $F = 101,40; df = 2, 12; P = 0,0001$ ). La Tabla 2 muestra que los parámetros

poblacionales para las brocas voladoras y caminadoras no presentaron diferencia significativas entre ellas; sin embargo, si fueron estadísticamente diferentes comparadas con la broca inactiva.

Son varios los factores que influyen en la producción homogénea de insectos de alta calidad, entre los mas críticos están irritabilidad, actividad, respuestas marginales, y potencial reproductivo (17). King y Leppla (23) mencionan además otros factores que se pueden ver afectados como las funciones metabólicas, tolerancia a factores físicos y químicos, cambios en aspectos biológicos como comportamiento de cópula, selección de hospederos y producción de feromonas entre otros. La fertilidad, fecundidad, longevidad y tiempos de desarrollo del insecto están directamente relacionados con su actividad, y este factor a su vez puede sufrir deterioro a través de generaciones debido a los factores físicos y químicos a los cuales los insectos se deben someter en producciones continuas sobre dietas artificiales. Portilla *et al*, (29) encontraron que la actividad y tiempo de vuelo de la broca disminuye a través de generaciones; sin embargo, en esta

investigación se pudo determinar que este factor no afecta las tasas de crecimiento del insecto, por tanto, para la cría masiva de la broca del café no sería necesario incluir el vuelo como un factor individual dentro de las medidas de control de calidad. Sin embargo, la selección de broca activa (broca que camina y/o vuela) es crítica y se debe considerar como una medida para garantizar la calidad de las colonias.

### Monitoreo a través de generaciones

**Fecundidad de la broca.** El análisis estadístico (GLM) de la variable fecundidad (progenie total) no presentó diferencias significativas a través de generaciones ( $p = 0,05$ ) ( $F = 1,50$ ;  $df = 14, 285$ ;  $P = 0,1091$ ). El análisis GLM para la estructura poblacional de los estados tardíos (prepupa y pupa) presentó diferencias significativas ( $p = 0,05$ ) ( $F = 2,89$ ;  $df = 14, 285$ ;  $P = 0,0004$ ), observando promedios de  $523,05 \pm 39,02$  y  $518,90 \pm 39,48$  ( $\bar{x} \pm EE$ ) individuos por bandeja para la segunda y cuarta generación respectivamente, comparada con poblaciones de  $372,25 \pm 88,61$  y  $371,95 \pm 91,59$  ( $\bar{x} \pm EE$ ) individuos para la octava y sexta generación. Las variables adultos (machos y hembras) y estados tempranos (huevos y larvas) no presentaron diferencias significativas entre generaciones (GLM) ( $p = 0,05$ ) ( $F = 1,48$ ;  $0,35$ ;  $df = 14, 285$ ;  $P = 0,1180$ ;  $0,9870$ ), respectivamente.

Singh y Moore (32) manifiestan que una dieta aceptable es aquella que le proporcione al insecto los requerimientos nutritivos necesarios para su reproducción. Los promedios de producción en estas dietas no deben ser menores del 75% de huevos viables y sus tasas de reproducción deben ser similares a las obtenidas en su medio. La broca

del café a nivel de campo tiene una tasa intrínseca de crecimiento de 0,065 y una tasa finita de crecimiento de 1.065, valores equivalentes a 1,02 hembras/hembras/día (3, 30). Si comparamos estos valores con los obtenidos en esta investigación podemos observar que las tasas de crecimiento son un tanto mayores a las reportadas en el campo. El promedio total de  $2.500,20 \pm EE 28,51$  individuos / bandeja de 32 celdas y los valores en la Tabla 2 ( $r_m = 0,067$  y  $0,065$  y  $\lambda = 1,07$  para brocas voladoras y caminadoras, respectivamente) equivalen, utilizando este programa de cría, a una tasa diaria de crecimiento de la broca de 1,07 hembras/hembra y su población se duplicó en 9,5 días. Estos valores demuestran la viabilidad de la dieta Cenibroca modificada utilizada en esta investigación. Portilla y Streett<sup>1</sup> describen la composición de los aminoácidos de las proteínas utilizadas en la dieta Cenibroca modificada. Afirman que más de la mitad de los aminoácidos esenciales se encuentran en la caseína. Tanto la caseína como la levadura representan aproximadamente el 20 y 11% respectivamente de la proteína presente en el grano de café.

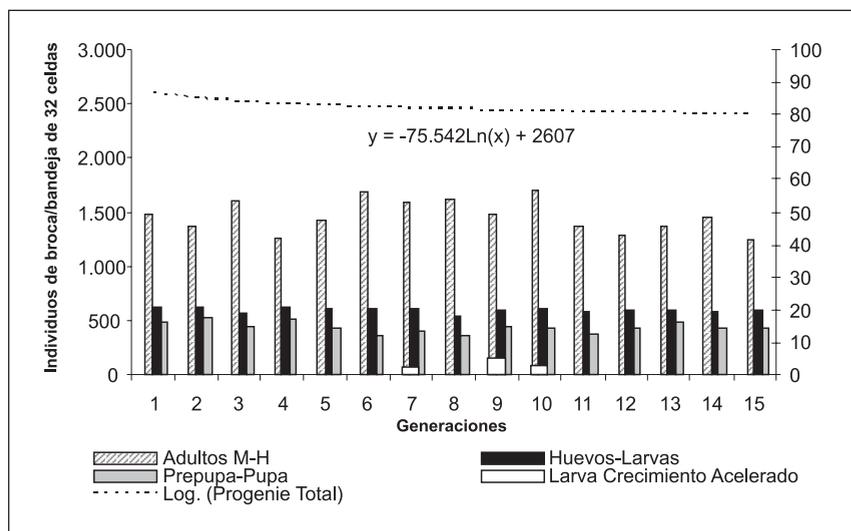
La capacidad reproductiva de las colonias de insectos se puede afectar a través de crías continuas debido a riesgos genéticos (2) los cuales pueden variar dependiendo de su comportamiento reproductivo (25). Singh y Moore (32) manifiestan que las colonias de insectos hapodiploides pueden sufrir menos mutaciones que las colonias de insectos diploides, puesto que los cambios genéticos son mas rápidos en machos haploides y estos pueden ser removidos de la población. Brun *et al.* (11) determinaron que la broca del café es un insecto “funcionalmente” hapodiploide. Este se reproduce sexualmente tanto en dieta artificial como en grano pergamino<sup>1</sup>. Por lo

<sup>1</sup> PORTILLA Y STREETT. Comunicación personal. Año?

tanto, el mecanismo de selección utilizado en este programa (cosecha de hembras y selección de broca activa) ha sido un factor fundamental para mantener la colonia de broca por más de 70 generaciones sin presentar deterioros en fecundidad y estructura poblacional (Registros de producción de broca 1999-2006 NBCL). La Figura 3 muestra la fecundidad de la broca a través de 15 generaciones ( $F_{41}$ - $F_{55}$ ).

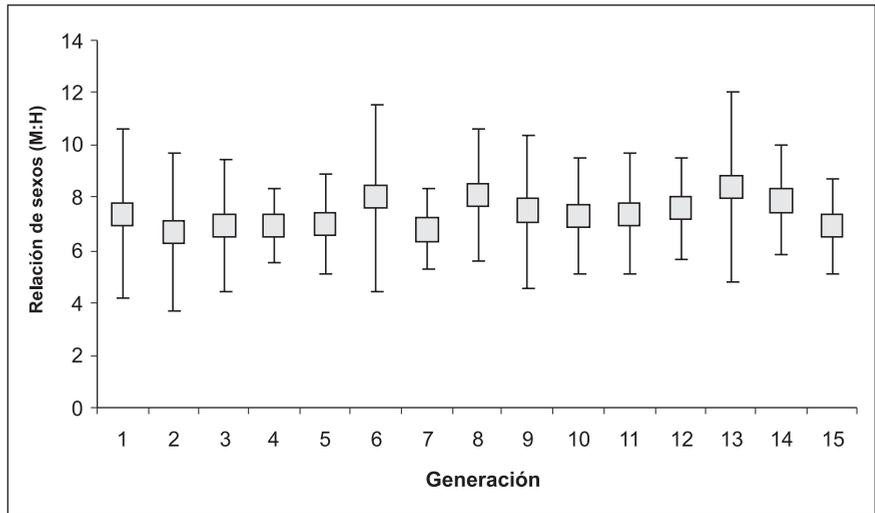
**Relación de sexos.** La selección de las especies por vigor, actividad y tamaño no solamente ayuda a mantener la calidad de los insectos sino que crea los cambios genéticos favorables para su reproducción, causando una mejor adaptación bajo condiciones de laboratorio (22, 32). Entre algunas de las variaciones genéticas que influyen en la reproducción de insectos se pueden mencionar el incremento en fecundidad, la reducción de esterilidad, tolerancia a temperaturas (bajas o altas), resistencia a insecticidas (factor favorable principalmente para parasitoides) (32). Simmonds (31) menciona que la variación de sexos es otro cambio genético crucial que influye en el incremento o reducción

de la población de insectos. La biología de la broca del café ha sido altamente estudiada en diferentes partes del mundo utilizando su hospedero natural (4, 5, 6, 9, 15, 16, 20, 21, 24, 26) y los resultados de tiempo de desarrollo varían en la mayoría de los estudios, debido posiblemente a que cada estudio se llevó a cabo bajo diferente condiciones, particularmente temperatura. Sin embargo, la mayoría de los estudios coinciden en la relación de sexos, 10 hembras por 1 macho aproximadamente. Existen además estudios de biología de la broca del café sobre dieta artificial (7, 12, 27, 34, 35). Portilla (27), reporta una relación de sexos de 6,8 hembras por 1 macho la cual se mantuvo durante 5 generaciones. Resultados similares se encontraron en este estudio donde se obtuvo una relación de  $7,4 \pm EE 2,45$  hembras por 1 macho a través de 15 generaciones ( $F_{41}$ - $F_{55}$ ) (Figura 4). Si la broca se reproduce sexualmente a nivel de laboratorio tanto en dieta artificial como grano pergamino<sup>1</sup>, esta variación de sexos podría considerarse como un cambio genético favorable para la producción masiva de este insecto puesto que tendría mas probabilidades de cópula. El análisis de varianza ( $F =$



**Figura 3.** Estructura poblacional de la broca del café criada sobre la dieta artificial Cenibroca en bandejas de 32 celdas 7 semanas después de la infestación a través de 15 generaciones ( $F_{41}$ - $F_{55}$ ), ( $n = 20$  bandejas de 32 celdas/generación) ( $p = 0,05$ ).

**Figura 4.**  
Relación de sexos de la broca del café reproducida en la dieta artificial Cenibroca modificada obtenida a través de 15 generaciones ( $F_{41}$ - $F_{55}$ ), ( $n = 20$  bandejas de 32 celdas/generación) ( $p = 0,05$ ).



0,83;  $df = 14, 285$ ;  $P = 0,6363$ ) no mostró diferencias significativas con respecto a la variable relación de sexos a través de 15 generaciones (Figura 4). Portilla y Streett (Datos sin publicar) utilizaron brocas hembras provenientes de generaciones  $F_{48}$  a la  $F_{64}$  criada sobre la dieta artificial Cenibroca para establecer colonias en grano pergamino, la relación de sexos fue  $6,7 \pm EE 1,87$  hembras por 1 macho, demostrando que la broca criada en dieta artificial conserva esa variación de sexos aun si se reproduce en su propio hospedero.

**Peso y tamaño.** Los registros de estados inmaduros de broca mostraron presencia de larvas de segundo estadio con crecimiento acelerado, 2,5 mm aproximadamente. Portilla y Streett<sup>1</sup> reportan tamaños de  $1.7312 \pm EE 0.094$  y  $1.7459 \pm EE 0,0937$ mm para larvas de segundo estadio producidas en dieta artificial y grano pergamino, respectivamente. Esta variación de crecimiento la cual se puede considerar como una mutación se manifestó únicamente en la generación 7 ( $F_{47}$ ), 9 ( $F_{49}$ ), y 10( $F_{50}$ ) con números de 2, 5 y 3 larvas, respectivamente. En vista que la población

de este tipo de larvas fue relativamente pequeña con respecto a la población total (0,12; 0,33 y 0,17%, respectivamente) (Figura 3) y además por que ninguna larva pudo completar su desarrollo hasta adulto, no se ejecutó ningún tipo de análisis estadístico para esta variable.

La broca del café es un coleóptero pequeño, cuyo tamaño varía de 1,5 a 2,0 mm y el macho es más pequeño que la hembra (1). No existe ninguna investigación que reporte el tamaño del macho o el peso de la hembra. En este estudio se registró  $1,661 \pm EE 0,079$ mm para el tamaño de la hembra ( $n = 100$ /generación) y  $1,039 \pm EE 0,072$ mm ( $n = 100$  / generación) para el macho. La hembra obtuvo un peso de  $0,034 \pm EE 0,019$ mg. Sus valores de tamaño y peso se mantuvieron constantes a través de las 15 generaciones ( $F_{41}$ - $F_{55}$ ) (Figura 5). El análisis GLM no fue estadísticamente diferente para ninguna de las variables peso hembra ( $F = 1,03$ ;  $df = 14, 1485$ ;  $P = 0,4310$ ), tamaño macho ( $F = 2,06$ ;  $df = 14, 1485$ ;  $P = 0,7389$ ) o tamaño hembra ( $F = 1,93$ ;  $df = 14, 1485$ ;  $P = 0,5370$ ).

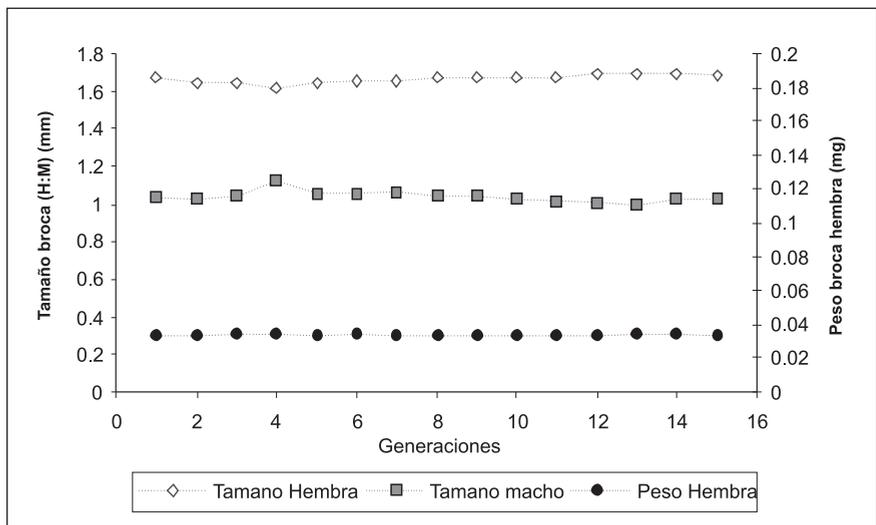
**Producción y Porcentaje de actividad.** La producción de la broca fue constante ( $664.654 \pm EE 33.347$  hembras por 20L de dieta) y el porcentaje de broca activa no varió a través de generaciones ( $F_{41}-F_{55}$ ) ( $92,8 \pm EE 3,58\%$ ) (Figura 6). El grupo de broca hembra inactiva que se descartó resultó equivalente a broca mutilada y broca en estado teneral (hembras jóvenes de coloración carmelita que no han cumplido el proceso de esclerotización y melanización).

La dieta Cenibroca modificada utilizada en este estudio, cumple con los requerimientos nutritivos de la broca para su reproducción. Los ingredientes son fáciles de adquirir en países productores y consumidores de café. El valor por litro de dieta es de aproximadamente \$ 2,00 dólares con base en la compra al por mayor en EEUU. Analizando los precios de los componentes de la dieta, la caseína es el ingrediente más costoso (\$ 0,08 dólares/g) equivalente al 58% (15g/L de dieta) del costo total de la dieta, mientras el café es el más económico (\$ 0,0011 dólares/g), (150g/L de dieta) aunque represente el 70% del peso total de los ingredientes (214,8 g/L de dieta)

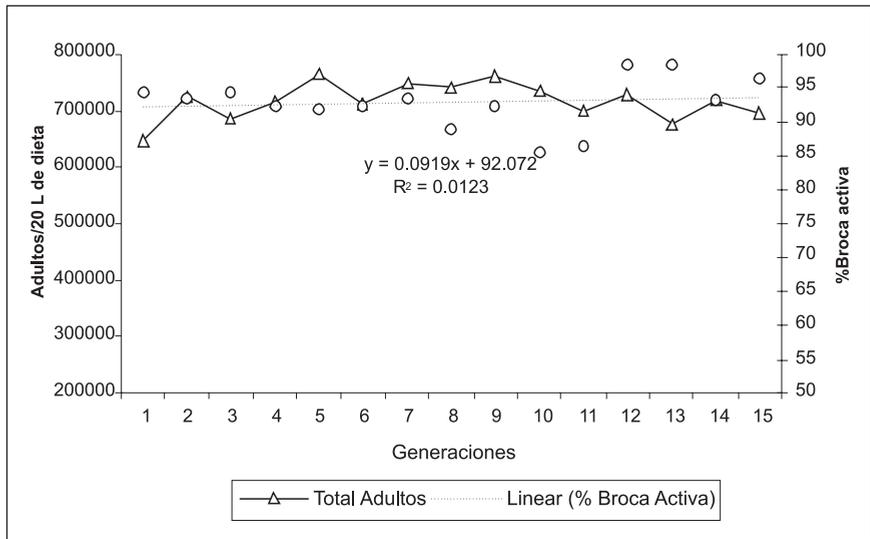
(Tabla 1). Teniendo en cuenta el precio actual del café, la dieta es significativamente económica tanto en países productores como consumidores del grano, y el valor variaría dependiendo del precio interno del producto. Sin embargo, se debe pensar que el precio del café podría mejorar y el costo de la dieta se incrementaría. Por tanto, reducir la cantidad del café o sustituirlo por otro ingrediente al igual que la caseína, son factores que requieren de más investigación. Portilla y Streett<sup>1</sup>, reportan las primeras dietas de broca donde reemplazan el café por germen de trigo y la caseína por huevo. Las producciones de broca en dieta con germen de trigo no fueron significativamente diferentes a las producciones encontradas en la dieta Cenibroca modificada, pero el precio del germen de trigo triplica el precio de la dieta (\$ 6,0 dólares/L). El costo de la dieta con huevo se redujo considerablemente (\$ 1,0 dólar/L); sin embargo, la producción de broca fue menor y ocurrió además una alta mortalidad de larvas de segundo estadio.

En general, el proceso de producción masiva utilizando la dieta artificial Cenibroca

**Figura 5.** Peso y tamaño de la broca del café obtenida en la dieta artificial Cenibroca modificada a través de 15 generaciones ( $F_{41}-F_{55}$ ), (n = 100 hembras y 100 machos por generación) (p = 0,05).



**Figura 6.**  
Producción total de brocas hembras obtenidas 8 semanas después de infestación en 20 litros de la dieta artificial Cenibroca modificada a través de 15 generaciones ( $F_{41}$ - $F_{55}$ ), (n = 350 bandejas de 32 celdas por generación) (P = 0,05).



modificada demostró que las hembras pueden ser cosechadas del sustrato de cría de manera relativamente fácil y en grandes cantidades. El mecanismo de selección y el control en la separación de machos durante el proceso de colección aseguran una colonia con un porcentaje bajo de individuos deformes.

El programa de cría masiva automatizado desarrollado en este estudio involucra la cría de la broca por más de 70 generaciones (registros de producción de broca 1999-2006 NBCL) produciendo insectos relativamente de alta calidad. El objetivo fue el desarrollo de un sistema automatizado efectivo para la cría masiva de *H. hampei* sin afectar sus tasas de crecimiento, fecundidad, estructura poblacional, peso, tamaño, producción total y actividad (efectividad). Mackauer (25) define la cría masiva de insectos como “la cría, por ciclo por generación, de un millón de veces el número promedio de la progenie por hembra”. Si tenemos en cuenta esta definición, el sistema de cría de broca requeriría una capacidad de producción de al menos 2'000.000 de individuos por día para clasificarla como un sistema de

cría masiva. Por tanto, si se dispone de la infraestructura y las máquinas procesadoras y dosificadoras de dieta (modificadas para la dieta Cenibroca) de los laboratorios de la USDA-ARS-BCPRU de EEUU, sólo se necesitaría la preparación de 50L de dieta diarios para obtener una producción de aproximadamente 2'500.000 de individuos (2'000.000 de hembras), lo cual equivale a una producción de un número similar del parasitoide *Phymastichus coffea* (machos y hembras), o 1'000.000 de machos y hembras de los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*.

La producción de la broca obtenida en este programa de cría automatizado sirvió para desarrollar sistemas de cría masiva de los parasitoides *P. nasuta*, *P. coffea* y *C. stephanoderis* (50, 40, 25 generaciones respectivamente) y métodos de liberación del parasitoide *P. coffea*, el cual se liberó en 9 países productores de café (Portilla y Street<sup>1</sup>). King y Leppla (23) manifiestan que en la producción de parasitoides, la dieta determina si el hospedero esta tomando los requerimientos nutritivos necesarios para su

desarrollo. Por tanto, el establecimiento del parasitoide *P. coffea* registrado en 5 países productores de café demuestran la alta calidad de la dieta Cenibroca utilizada en este programa automatizado de cría masiva de la broca del café.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su reconocimiento a Luis Carlos Jojoa, Investigador Asociado del Departamento de Entomología y Fitopatología de la Universidad de Mississippi, EEUU por sus aportes. Al Dr. Alex Bustillo Pardey y Fannie Williams (Oficial de Cuarentena, USDA, ARS, BCPRU) por contribuir con la importación a EEUU de la especie estudiada. A Dan Harsh (Ingeniero Técnico, USDA-ARS-CSRL-BCMRRU) por las modificaciones realizadas a los dosificadores de dieta y moldes de las bandejas de 32 celdas. A Los Drs. Carlos Blanco (USDA, ARS, SIMRU), Juan Morales (USDA, ARS, BCPRU), Carmenza Góngora D. (Cenicafé) y Pablo Benavides Machado (Cenicafé) por sus valiosos comentarios y revisión del manuscrito.

## LITERATURA CITADA

1. ABRAHAM. Y. J.; MOORE. D.; GODWIN. G. Rearing and aspects of biology of *Cephalonomia stephanoderis* and *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae) parasitoids of the coffee berry borer. *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Bulletin Entomological Research 80: 121 – 128. 1990.
2. ASHLEY. T. R.; GONZALES. D.G.; LEIGHT. T. F. Reduction in effectiveness of laboratory reared *Trichogramma*. Environmental Entomology 2: 1069-1073. 1973.
3. BAKER. P. La broca del café en Colombia: Informe final del proyecto MIP para el café DFID – Cenicafé - CABI Bioscience. Ascot. UK. 1999.
4. BAKER. P. The Biology, ecology and behavior of the coffee berry borer and its parasitoids. In: Intercontinental Conference on Coffee Berry Borer. Barrera. J., Guerra. J., Menn. J., Baker. P. (eds.). Tapachula. Mexico. 1998. p. 63 – 64.
5. BAKER. P.; RIVAS. A.; BALBUENA. R.; LEY. C.; BARRERA. J. Abiotic mortality factors of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) Entomologia Experimentalis et Applicata 71: 201-209. 1994.
6. BAKER. P. Some aspects of the behavior of the coffee berry borer in relation to its control in Southern Mexico (Coleoptera: Scolytidae). Folia Entomológica Mexicana 61: 9-24. 1984
7. BAUTISTA. M.; ATKINSON. M. Biología y respuesta a dietas semiartificiales de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae) bajo condiciones de laboratorio. Revista Chapingo 8: (60-61) 26-30. 1988
8. BENAVIDES. P.; BUSTILLO. A.; PORTILLA. M.; OROZCO. J. Classical Biological Control of Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in Colombia with African Parasitoids. In: 1<sup>st</sup> International Symposium on Biological Control of Arthropods. 2002. p. 430-434.
9. BERGAMIN. G. J. Contribucao para o conecimiento da biologia da broca do café *Hypothenemus hampei*. Archivos del Instituto de Biología Andina 14:197-208. 1943.
10. BORBON. O. Liberaciones, comportamiento y dispersión de los parasitoides de la broca del fruto del cafeto (*Hypothenemus hampei*. Ferrari. 1867) *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea*. CICAFAE-ICAFAE. Costa Rica. Informe 2004. 13 p.
11. BRUN, L.O.; STUART, J.J.; GAUDICHON, V.; ARONSTEIN, K.; FFRENCH C., R.H. Functional haplodiploidy: a mechanism for the spread of insecticide resistance in an important international insect pest. Proceedings of the National Academy of Sciences 92(21):9861-9865. 1995.
12. BRUN. L.O.; GAUDICHON. V.; WIGLEY P. J.; ORSTOM. B. An artificial diet for continuous rearing of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Insect Science and Application 14(5/6):586-587. 1993.
13. BUSTILLO. A.; OROZCO. J.; BENAVIDES. P.; PORTILLA. M. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café en Colombia. Cenicafé 47: 215-230. 1996.

14. CAREY. J. R. Applied demography for biologist with special emphasis on insects. New York. Oxford University Press. 1993. 205 p.
15. CORBETTT. G. H. Some preliminary observation on the coffee berry borer *Stephanoderis Hampei* Ferr. Malaya Agricultural Journal 21:8-22. 1933.
16. DECAZY. B. Descripción. biología. ecología y control de la broca del cafeto *H. hampei* (Ferr.) In: 50 años de Cenicafé 1938-1988. Conferencias conmemorativas. Cenicafé, Chinchiná, Caldas. 1990. p. 133-139.
17. CHAMBERS. D.L. Quality control in mass rearing. Annual Review of Entomology 22: 289-308. 1977.
18. ETZEL. K.; LEGNER. E. Culture and colonization. In: T.S. Bellows & T. W. Fosher (Eds.). Handbook of Biological Control. Academic Press. San Diego. 1999. p. 125-197.
19. GARCIA. E.; VECCO. D. Evaluación de la liberación inoculativa del parasitoide *Phymastichus coffea* La Salle en su establecimiento, dispersión y control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en tres predios cafetaleros del Bajo Mayo-San Martín. Perú. URKU Estudios Amazónicos. Perú. Informe No. 016. 2004. 27 p.
20. GAVIRIA. A.; CÁRDENAS. R.; MONTOYA. E.; MADRIGAL. A. Incremento poblacional de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), relacionado con el desarrollo del fruto del café. Revista Colombiana de Entomología 21(3):145-151. 1994.
21. HARGREAVES. H. *Stephanoderis hampei* Ferr. Coffee berry borer in Uganda. East African Agricultural 1: 218 – 224. 1935.
22. HOY. M. A. Genetic improvement of insects: fact or fantasy. Environmental Entomology 5: 833-839. 1976.
23. KING. E. G.; LEPLA. N.C. Advances and challenges in insect rearing. King and Leppla (Ed.). ARS-USDA. New Orleans. 1984. 306 p.
24. LE PELLE. R.H. Pest of Coffee. Longmans Edition. London. 1968. 590 p.
25. MACKAUER. M. Genetic aspects of insect production. Entomophaga 17: 27-48. 1972.
26. PORTILLA. M.; BUSTILLO. A. Nuevas investigaciones en la cría masiva de *Hypothenemus hampei* y de sus parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*. Revista Colombiana de Entomología 21: 25-33. 1995.
27. PORTILLA. M. Desarrollo y evaluación de una dieta artificial para la cría masiva de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Cenicafé 1: 24 – 38. 1999.
28. PORTILLA. M. Mass rearing technique for *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae) on *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) developed using Cenibroca artificial diet. Revista Colombiana de Entomología 25: 57-66. 1999.
29. PORTILLA. M.; MUMFORD. J.; BAKER. P. Reproductive potential response of continuous rearing of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) developed using Cenibroca artificial diet. Revista Colombiana de Entomología 26: 99-105. 2000.
30. RUIZ. C. R. Efectos de la fonología del fruto del café sobre los parámetros de la tabla de vida de la broca del café. *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Manizales (Colombia). Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 78 p. (Tesis Ingeniero Agrónomo). 1996.
31. SIMMONDS. F.J. Improvement of the sex ratio of a parasite by selection. Canadian Entomologist 79: 41-44. 1947.
32. SINGH. P.; MOORE. R.F. Hang book of insect rearing. Vol. I Elsevier. Amsterdam. 360 p. 1985.
33. TILLMAN. P. G.; MCKIBBEN. G.; MALONE. S. HARSH. D. Form-Fill-Seal machine for mass rearing noctuid species. Technical bulletin 213. 1997. 4 p.
34. VILLACORTA. A. Dieta meridica para criacao de successivas generacoes de *Hypothenemus hampei* (Ferrari. 1867) (Coleoptera: Scolytidae). Anais da Sociedade Entomologica do Brasil 14(2): 315-319. 1985.
35. VILLACORTA. A.; BARRERA. J. Mass rearing, using a meridic diet. of *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae), parasitoid of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) Technical Article. ECOSUR. Tapachula. México. 7 p. 1996