

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UNA DIETA ARTIFICIAL PARA LA CRÍA DE *Hypothenemus hampei*

Maribel Portilla-Reina*

RESUMEN

PORTILLA R., M. Desarrollo y evaluación de una nueva dieta artificial para criar *Hypothenemus hampei*. Cenicafé 50(1):24-38. 1999.

Se evaluó el potencial reproductivo y la tasa de crecimiento de *Hypothenemus hampei* utilizando la dieta artificial Cenibroca (C) (US \$1,5/L), desarrollada con base en la dieta 140 de Villacorta y Barrera. Cenibroca tiene pocos ingredientes, buenas características nutricionales y físicas para el insecto, excelente solidificación, baja contaminación y es de fácil preparación. Se comparó con la Dieta 140 (A) (\$ US 14/L); ECOBROVILL-160 (B) (US \$11/L) y con café pergamino (D) (US \$3,5/L), medio de cría natural de la broca. Se utilizaron tubos de vidrio de 50x10mm, un 1mm de preparado por tubo y una broca hembra recién emergida. Con el café pergamino y con la dieta artificial se hizo infestación individual. A los 40 días la dieta C presentó en promedio, producciones de $53,9 \pm 6,3$ individuos por tubo, seguida por las dietas A y B con producciones de $46,0 \pm 6,1$ y $40,1 \pm 8,9$ brocas por ml de dieta, respectivamente. Con café pergamino se obtuvieron $26,9 \pm SD=5$ individuos; la menos eficiente. A los 60 días, con Cenibroca se obtuvieron $254,5 \pm 80,0$ insectos (50% huevos) y mostró diferencias significativas ($p<0,05$) con relación a la dieta 140 con producción de $125,8 \pm 49,4$ individuos y $107,5 \pm 50,9$ para ECOBROVILL-160, respectivamente. Los máximos valores en tasa de reproducción (R_0) e intrínsecos de crecimiento (r_m) de *H. hampei* se encontraron en la dieta artificial Cenibroca.

Palabras claves: Dieta artificial, *Hypothenemus hampei*, Coleoptera, Scolytidae, cría masiva, parasitoides, parámetros demográficos, broca del café, Colombia.

ABSTRACT

A new artificial diet called Cenibroca (C) was developed for rearing coffee berry borer. Cenibroca contains few ingredients, has good nutritional and physical characteristics, keeps humidity longer, has low contamination and is easy to prepare. Reproductive potential and rate of increase were evaluated and compared with the following diets: Diet 140 (A), developed in Mexico in 1993; ECOBROVILL-160 (B), developed in Mexico in 1995 - a simplification of diet (A); and parchment coffee (D), the natural medium used for rearing coffee berry borer since 1989. Diets A, B, and C were poured into 50x10 mm glass tubes, each containing 1 ml of the diet and a newly emerged female. Parchment coffee was evaluated by individual infestation in the same way as artificial diets. On evaluation after 40 days, diet C had a mean production of $53.9 \pm SD=6.3$ insects per tube, followed by diets A and B with mean productions of $46.0 \pm SD=6.1$ and $40.1 \pm SD=8.9$ insects per cc of diet, respectively. The lowest production was for parchment coffee, with $26.9 \pm SD=5$ insects. After 60 days, $254.6 \pm SD=80.0$ stages (50% were eggs, probably third generation) were found on Cenibroca, showing significant differences ($p<0.05$) with diet 140, with a mean production of 125.8 ± 49.4 stages and ECOBROVILL, with a mean production of 107.5 ± 50.9 . The highest reproductive rate (R_0) and the minimum values of the intrinsic rate of increase (r_m) of CBB were found in artificial diet C.

Keywords: Artificial diet, control, *Hypothenemus hampei*, Coleoptera, Scolytidae, mass rearing, parasitoids, demographic parameters, coffee berry borer, Colombia.

* Asistente de Investigación. Entomología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

La cría de insectos se ha practicado al menos, durante 7.000 años (17). En China se han escrito muchos libros sobre sericultura, tecnología en seda y técnicas de manejo y cría de estos insectos. Existen otros insectos que han sido criados desde hace mucho tiempo; por ejemplo, la especie *Laccifer lacca* Kerr, multiplicada en la India y en China por varios miles de años. En 1908 Bogdanow realizó el primer intento para reproducir la especie *Calliflora vomitoria* utilizando dieta artificial; desde entonces, la cría en laboratorio de muchos insectos ha sido exitosa (17, 19). Sin embargo, únicamente hasta 1936 fue posible la producción masiva de insectos comercialmente, siendo los parasitoides los primeros criados a gran escala y que fueron incluidos dentro de programas de control biológico (17).

Vanderzant (18) afirma que la terminología usada para describir las dietas de insectos es extremadamente confusa; los términos “artificial”, “sintética” y “purificada”, son usados por diferentes investigadores para describir dietas que contienen sustancias con alta variedad en pureza. Por tanto, para algunos, la dieta sintética es una mezcla de nutrimentos como vitaminas, levadura o azúcar; mientras que para otros es la mezcla de químicos puros. Dieta purificada, es un término utilizado para dietas que contienen químicos puros y productos naturales tales como caseína, solventes para remover grasas, vitaminas, y otros oligoelementos. Dieta artificial es el término más general utilizado para referirse a cualquier dieta que no es el alimento natural del insecto.

También Vanderzant (18) manifiesta que los términos hológica describe las dietas compuestas de químicos puros y merídica describe las dietas que contienen, al menos una sustancia de estructura desconocida que podría ser una proteína. Sin embargo, estos términos no fueron aceptados ampliamente por investigadores sobre la cría de insectos. Vanderzant (18), Villacorta (19) y Bustillo (6) entregan una lista

de los elementos usados en la cría de insectos como: proteínas, caseína, albúmina, aminoácidos, carbohidratos, azúcar, almidón, sustancias lípidas, aceites vegetales, fosfolípidos, ácidos grasos, esteroides, mezcla de sales, mezcla de vitaminas, celulosa y agar. Vanderzant (18) sostiene que las dietas pueden necesitar extractos de la planta hospedante como estimulante de alimento; además, menciona que el azúcar es posiblemente uno de los estimulantes de alimento más importante para los insectos fitófagos, seguida de las proteínas y los aminoácidos.

Los conocimientos actuales sobre la nutrición de insectos reúnen información sobre una amplia variedad de insectos que pueden ser producidos en millones y usados en varios programas de control. Existen varias dietas artificiales para scolytídeos, pero muy pocas dietas para criar la broca del café. El primer intento para criar *H. hampei* fue hecho por Bautista y Martínez en 1982, pero sus resultados no fueron exitosos (20). En 1985, Villacorta desarrolló la primera dieta para la producción de la broca. Villacorta y Barrera modificaron esta dieta, produciendo la dieta Ecobrovill-160 (21). Brun *et al.* (5) reportaron otra dieta artificial para *H. hampei* en la cual fue posible reproducir este insecto por 15 generaciones. Todas estas dietas aparentemente han sido exitosas pero muy costosas y tienen numerosos ingredientes (Tabla 1).

Singh y Moore (17) manifiestan que las dietas para criar insectos deben ser económicas, fáciles de preparar utilizando ingredientes de mercados locales y que proporcionen todos los requerimientos nutricionales que necesitan los estados del insecto durante su ciclo de vida. En estas dietas el insecto debe tener un promedio de producción de al menos 75% de huevos viables. El tamaño de los insectos, al igual que su tasa de desarrollo, deben ser similares a los valores obtenidos en su medio. Los adultos deben copular, depositar huevos viables y con-

TABLA 1. Ingredientes en las dietas artificiales utilizadas para criar la broca del café *Hypothenemus hampei*

Ingredientes (unidades)	Dietas (Cantidades)							
	V		V y B1			V y B2		B
Agua	700 ml	750 ml	700 ml	700 ml	750 ml	700 ml	700 ml	1 L
Agar (g)	21	27	21	21	21	21	21	32
Gérmen de trigo								40 g
Caseína (g)							20	10
Sucrosa (g)								20
Café en polvo (g)		100	100	50	100	100	100	150
Methyl-p-hydroxy benzoate								1,75 g
Sodium propionate								1,2 g
Acido ascórbico (g)	2	2	2	2		2		2,5
Penicilina								350 mg
Streptomycina								350 mg
Vanderzant Vitamins	6 ml							1 g
Azúcar (g)		14	14	14	14	14	14	
Torula granulada (g)	7	20	20	10	20	20	20	
Semillas de algodón	20 g			20 g				
Wesson salt (g)	2	2			2			
Nipagin (g)	0,6	1	1	0,8	1	1	1	
Acido benzóico		0,8			0,6	0,6		
Formol (ml)	2	2	2	2	2	2	2	
Ethanol (ml)	10	10	10	19	10	10	10	
Aceite de maíz (ml)						10		
Colesterol (g)	0,6				0,6			
Proteína de soya (g)	21							
Polvo de raíz de algodón (g)	25							

V = Villacorta (1985); V y B1 = Villacorta y Barrera (21), V y B2 = (22); B = Brun *et al.* (5)

tinuar su reproducción sin perder vigor o fecundidad. El comportamiento de los insectos debe ser normal y reproducirse con una calidad aceptable (17, 18).

La cría masiva de la mayoría de los parasitoides requiere del hospedante para su reproducción (9). Además, las producciones a gran escala deben estar regidas bajo estadísticos demográficos, con el fin de alcanzar un balance óptimo en la producción tanto del hospedante como del parasitoide (8). Por tanto,

se hizo esta investigación con el fin de obtener una dieta artificial para criar la broca del café con las características previamente mencionadas y evaluar parámetros como fecundidad, fertilidad, supervivencia, tasas de crecimiento, tiempo generacional de cosecha y de desarte dentro de unas facilidades de producción. Los resultados obtenidos conducen a desarrollar una metodología para la producción de los parasitoides de la broca como *Cephalonomia stephanoderis*, *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Entomología de Cenicafé, en Colombia y en el Instituto Internacional de Control Biológico, IIBC en Inglaterra. Se condujo en un cuarto climatizado y en cámaras de temperatura controlada a $27^{\circ}\text{C}\pm 1$ y 85% de humedad relativa. Se controló la humedad relativa, utilizando 132,5g de cloruro de potasio en 500ml de agua en cajas plásticas completamente herméticas. Estos recipientes plásticos se mantuvieron por 60 días en total oscuridad.

Se usaron dos dietas artificiales comerciales y grano de café pergamino para comparar con la nueva dieta artificial. La Dieta 140 (A), desarrollada en México en 1993 (US \$15/L); la dieta ECOBROVILL-160 (B), desarrollada en México en 1995, simplificación de la dieta 140 (US \$11/L); la dieta Cenibroca (C), nueva dieta artificial (US \$1,50/L) y el grano de café pergamino (D) (US \$3,5/kg), medio natural de cría de la broca del café utilizado en la metodología de cría masiva de parasitoides desde 1989 (3).

La dieta artificial Cenibroca fue desarrollada tomando como base los ingredientes de la dieta 140 (A) (21). El nombre de 140 fue otorgado por ser el resultado de 140 recetas diferentes¹. Además su selección se hizo teniendo en cuenta que la producción de broca obtenida sobre esta dieta fue la mejor comparada con otras cuatro dietas artificiales (21) (Tabla 1).

Las sustancias utilizadas en dietas de insectos tales como el agar, colesterol y levadura son los ingredientes más costosos; por tanto, el alto costo de las dietas A y B se debe a estos ingredientes.

Para el desarrollo de la nueva dieta se consideró la sustitución del agar y la levadura por ingredientes locales y más económicos. Así, el agar fue sustituido por agar industrial, el cual es utilizado en Colombia en la industria de panadería y en la preparación de dietas artificiales para la cría masiva de hospedantes de *Trichogramma sp.* Este es considerablemente más económico que el de los proveedores microbiológicos². La levadura granulada se sustituyó por levadura en polvo; esta se seleccionó por costos y se comparó con otras levaduras en las que se evaluó el potencial reproductivo de la broca. En la nueva dieta se eliminaron ingredientes como colesterol y ácido benzoico y se incorporó el fungicida Benomil o Tiabendazol.

Cada ingrediente se redujo hasta alcanzar la cantidad mínima necesaria y toda nueva combinación se comparó con la obtenida inmediatamente anterior, y en aquellas en las que se evaluó la reproducción de *H. hampei*. Finalmente se obtuvo una nueva dieta artificial, que muestra resultados alentadores en cuanto a costos.

El café granulado esterilizado (2mm de tamaño de partícula), la levadura en polvo y el agar industrial proporcionaron a la dieta una textura ideal para la reproducción de la broca. Esta textura hizo que el insecto mantuviera su nivel de oviposición por largo tiempo y presentara baja mortalidad de los estados inmaduros.

Las dietas A y B se prepararon según los ingredientes y los tiempos registrados por los autores (21, 22).

PREPARACIÓN DE LAS DIETAS. Dieta

140. El agar y el agua (Grupo I) se esterilizaron por 20 minutos usando una autoclave a 120°C y 15lb de presión. El agar fundido se licuó con los ingredientes del grupo II (Tabla 2) durante unos 25 minutos hasta obtener una mezcla homogénea. Después de 15 minutos se adicionaron a esta mezcla los ingredientes del grupo III y se licuaron por 5 minutos más.

¹ Villacorta, 1995. Comunicación personal

² Segura, J. 1996. Laboratorios Palmira. Comunicación personal.

TABLA 2. Composición de la dieta artificial 140 desarrollada por Villacorta y Barrera (21).

Grupo	Ingredientes	Cantidad
I	Agua	750 ml
	Agar	27 g
II	Azúcar	14 g
	Caseína	20 g
III	Café en polvo	100 g
	Torula granulada	20 g
	Acido Benzoico	0,8 g
	Nipagin	1,0 g
	Formaldehydo	2,0 ml
	Ethanol	10 ml
	Colesterol	0,6 g
Wesson Salt	2,0 g	

Dieta artificial ECOBROVILL-160. Esta dieta fue enviada por ECOSUR, México y su presentación comercial consistió en dos paquetes (Tabla 3). Los pasos en la preparación de la dieta fueron los siguientes. Paso 1, se vertieron 100ml de agua caliente en una licuadora y se agregó el paquete B; luego se adicionaron 10ml de alcohol etílico y 2ml de formol al 37%. Esta mezcla se licuó durante 10 minutos. Paso 2, se agregó el paquete A en 600ml de agua en ebullición y se agitó la mezcla hasta que el contenido se disolvió e inició una nueva ebullición (30 a 40 minutos aproximadamente). Paso 3, se vertió el producto del paso 2, aún caliente, en la licuadora (paso 1) y se licuó durante 10 a 15 minutos hasta homogeneizar la mezcla.

TABLA 3. Composición de la dieta ECOBROVILL-160 desarrollada por Villacorta y Barrera (22).

Paquete	Ingredientes	Cantidad
A	Café en polvo	100 g
	Agar	21 g
	Azúcar	14 g
	Caseína	20 g
B	Torula granulada	20 g
	Nipagin	1 g
Added	Agua	700 ml
	Formaldehydo	2,0 ml
	Ethyl alcohol	10 ml

Dieta artificial Cenibroca. Se molieron almendras de café del 12% de humedad (2mm de tamaño de partícula) utilizando el molino Provat Emmerich. El café granulado, al igual que la mezcla de agar y agua (Grupo I) (Tabla 4) se esterilizaron en autoclave durante 20min a 120°C y 15lb de presión.

Los ingredientes del grupo II se combinaron y se mezclaron parcialmente antes de licuarlos. A esta mezcla se le agregaron los ingredientes del grupo I y se licuaron durante 10min hasta alcanzar una completa homeogeneidad. La mezcla se dejó durante 10min antes de agregar los ingredientes del grupo III, con el fin de que la temperatura de la mezcla no fuera mayor de 50°C y evitar la desnaturalización de los componentes de este grupo que corresponden a inhibidores y antibióticos.

Después de la mezcla final las dietas se vertieron en tubos de vidrio con fondo plano (10x50mm) (1ml de dieta por tubo). Los recipientes con la dieta 140 y Cenibroca se llevaron a secado en una estufa a 50°C durante 24 horas y los recipientes con la dieta ECOBROVILL-160 se llevaron a secado por 36 horas a la misma temperatura, hasta obtener una consistencia

TABLA 4. Composición de la dieta artificial Cenibroca, nueva dieta para criar la broca del café.

Grupo	Ingredientes	Cantidad
I	Agua	850 ml
	Agar industrial	10 g
II	Azúcar	8 g
	Caseína	15 g
	Café granulado (2-mm tamaño de partícula)	120 g
	CNC levadura en polvo	15 g
III	Nipagin	1 g
	Benomil o Tiabendazol	2,0 g
	Alcohol 75%	10 ml
	Wesson Salt	0,8 ml

óptima para la reproducción de la broca (55 % de humedad). Un grano de café pergamino seco pesa aproximadamente 0,8g en promedio, por tanto, se consideró un peso similar para las dietas y 1ml de dieta equivale a 0,85g después de haberse secado.

Infestación de las dietas. El proceso de cría se inició infestando las dietas con brocas adultas recién emergidas. Estos adultos se colectaron de cerezas infestadas naturalmente en el campo, que se mantuvieron por algunas semanas en el laboratorio hasta que los estados inmaduros de la broca fueron adultos. La broca, antes de la infestación, se seleccionó teniendo en cuenta aquellas con mayor actividad, las cuales fueron sometidas a un proceso de desinfección asperjándolas durante 30 segundos con hipoclorito de sodio al 2,55%, por 3 veces. Luego se enjuagaron con agua destilada estéril después de cada atomización. Las brocas desinfectadas y con mayor actividad se colocaron individualmente en cada tubo que contenía una dieta.

Las colonias de café pergamino se establecieron colocando una hembra adulta de broca recién emergida (obtenida del material de campo) por grano pergamino, utilizando el mismo tipo de recipiente que en el proceso de cría de broca con dietas artificiales. Los recipientes con los 4 tratamientos (Dieta 140 (A), ECOBROVILL-160 (B), Cenibroca (C) y café pergamino (D)) se colocaron en cajas plásticas herméticamente selladas que contenían en el fondo una solución saturada de Cloruro de Potasio (KCl) con el cual se logró una humedad relativa constante del 85%. Para obtener este porcentaje de humedad se adicionó 26,5 g de KCl a 100 ml de H₂O (23). Las cajas con los respectivos recipientes y dietas se llevaron al cuarto climatizado y se mantuvieron bajo total oscuridad durante 60 días.

El desarrollo de la broca sobre los medios se evaluó colocando 150 tubos por tratamiento. Se

evaluaron 5 tubos por tratamiento cada día durante 15 días para analizar el período de preoviposición y para observar el comportamiento de oviposición sobre la dieta y el café pergamino. Para evaluar los parámetros demográficos de la broca se tomaron cada 10 días durante 60 días, 10 tubos por tratamiento que mostraban progenie; estos se disecaron y se identificó y registró cada estado de la broca (huevos, primero y segundo ínstar larval, prepupas, pupas y adultos). Se tomaron 5 tubos de dieta por tratamiento cada 10 días y durante 60 días para analizar el porcentaje del contenido de humedad de la dieta. Para esto se utilizó el analizador de humedad HG53 Mettler-Toledo.

Análisis de datos. El potencial reproductivo y las tasas de crecimiento de la broca se analizaron utilizando un diseño aleatorio. Las tablas estadísticas del ciclo biológico del insecto tales como supervivencia y fecundidad, representada como l_x (probabilidad de un individuo para alcanzar una edad x) ($l_x = 1.00$) y m_x (número promedio de estados de una progenie producida por una hembra a una edad, x) (10, 19), respectivamente. Los valores m_x se determinaron multiplicando el número promedio de huevos producidos por hembra a una edad x , por la proporción de hembras en la progenie de una hembra a una edad, x . Estos parámetros se estimaron asumiendo un radio de 10 brocas hembras por 1 macho. El número de huevos registrado por hembra se calculó a partir del número de huevos obtenidos por muestra. Del número de huevos registrados en la segunda muestra se sustrajo el número de huevos registrados en la muestra anterior, la diferencia se asumió como m_x .

La función neta de maternidad, (f_x), se calculó multiplicando la fecundidad y supervivencia a la edad x .

$$l_x m_x$$

«1»

La sumatoria de f_x sobre todas las edades se define como la tasa neta reproductiva, R_0 (8).

$$R_0 = \sum_{x=\alpha}^{\beta} l_x m_x \quad \langle\langle 2 \rangle\rangle$$

Además se calcularon parámetros tales como tasa intrínseca de crecimiento, r_m .

$$\sum_{x=\alpha}^{\beta} e^{-r(x+0.5)} l_x m_x = 1 \quad \langle\langle 3 \rangle\rangle$$

Tasa finita de crecimiento, λ .

$$e^{r_m} \quad \langle\langle 4 \rangle\rangle$$

Tiempo promedio de generación, T

$$T = \frac{\sum_{x=\alpha}^{\beta} l_x m_x}{\sum_{x=\alpha}^{\beta} x l_x m_x} \quad \langle\langle 5 \rangle\rangle$$

Y tiempo doble de generación DT (8, 15).

$$(\text{Log}_e 2) / r_m \quad \langle\langle 6 \rangle\rangle$$

Se consideró la mortalidad de estados inmaduros y el tiempo de desarrollo, evaluados y descritos en Portilla (13), y se incorporaron en los resultados con el fin de obtener valores más exactos en la biología del insecto. Para calcular los parámetros de población se consideraron únicamente los datos obtenidos hasta el día 40 después de la infestación; esto debido a que la

población de broca que se alcanzó en el día 60 era probablemente el producto de una nueva progenie, que podría afectar los resultados.

Para analizar las diferencias en el número promedio de estados de una progenie producida por hembra a una edad x de 10, 20, 30, 40 y 60 días, se utilizó el modelo general lineal (GLM) del procedimiento SAS. La comparación de promedios del potencial reproductivo de la broca sobre las dietas y el tiempo de desarrollo de los estados se evaluaron utilizando la prueba de Tukey y el análisis de varianza (ANOVA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de oviposición de la broca del café sobre el medio. La alimentación ocurrió generalmente en las primeras horas después de que la hembra fue inoculada sobre el medio. En la mayoría de los tubos de las dietas A y C la oviposición comenzó dentro de los 8 primeros días, mientras que en la dieta B la oviposición comenzó dentro de la segunda semana. En el grano pergamino la presencia de huevecillos se observó entre el segundo y quinto día después de la infestación. La textura de la dieta influyó en el tiempo de preoviposición (Tabla 5). Los tiempos más largos de preoviposición se observaron en la dieta B, esto debido a que la broca esperó hasta que la dieta alcanzara una consistencia dura, mientras que en las dietas A y C los ingredientes utilizados en la preparación hicieron que su textura fuera óptima para que la preoviposición se efectuara más temprano.

La oviposición de las hembras fue externa en las dietas B y C, mientras que en la dieta A, la broca perforó y colocó sus huevecillos al final del túnel. Una vez los huevos ecllosionaron, las larvas comieron de la dieta haciendo peque-

TABLA 5. Período de preoviposición de la broca del café desarrollada en dietas artificiales y en grano pergamino.

Tratamiento	Textura	Contenido de Humedad (%)	Período de preoviposición
Dieta 140 (A)	Consistencia dura-maleable	55	5-10 días
ECOBROVILL-160 (B)	Consistencia suave	55	6-14 días
Cenibroca (C)	Consistencia dura-maleable	55	3-10 días
Café pergamino (D)	Consistencia dura-compacta no maleable	45	2-5 días

ñas galerías desde el túnel principal hecho por la broca fundadora. Este comportamiento de alimentación también se observó en café pergamino. Sin embargo, en el café pergamino se observó la presencia de un color verdoso, el cual no se encontró en ninguna de las dietas artificiales.

Los huevos en la dieta C se encontraron en uno o dos grupos sobre la superficie de la dieta y las larvas fabricaron un túnel muy superficial, una vez que la dieta alcanzó una textura dura. En la mayoría de los casos en la dieta B los huevos se encontraron separados unos de otros sobre la superficie de la dieta y por los sitios donde la broca se había alimentado.

A los 30 días el total de la dieta consumida por la broca fue aproximadamente del 15%. Después del día 30 la cantidad de dieta consumida se aumentó debido a que la nueva generación se alimentó y se reprodujo en la misma.

Potencial reproductivo de la broca del café.

La Tabla 6 muestra el promedio de progenies producida por la hembra, en diferentes tiempos después de la infestación (fecundidad bruta, m_x). El análisis GLM mostró diferencias significativas en la población encontrada a los 10 días después de la infestación. En el grano pergamino se obtuvo $17,0 \pm 4,26$ individuos por hembra, el cual fue altamente significativo en relación con $10,4 \pm 5,87$; $9,7 \pm 3,65$ y $6,7 \pm 2,16$

TABLA 6. Promedios de producción por hembra por mililitro de dieta artificial y grano pergamino durante 60 días.

Días	Tratamientos (n = 10)			
	Dieta 140 (A) X ± SD n=10	ECOBROVILL-160 (B) X ± SD n=10	Cenibroca (C) X ± SD n=10	Café pergamino (D) X ± SD n=10
10	10,4 b ± 5,87	6,7 b ± 2,16	9,7 b ± 3,65	17,0 a* ± 4,26
20	28,2 b ± 6,20	21,1 c ± 6,19	35,2 a ± 4,96	28,4 b ± 4,81
30	34,0 b ± 9,96	26,4 b ± 4,76	44,5 a ± 6,88	34,7 b ± 7,36
40	46,0 a b ± 6,07	40,1 b ± 8,93	53,9 a* ± 6,33	26,9 c ± 5,89
60	125,8 b ± 49,38	107,5 b ± 50,85	254,6 a* ± 80,03	1,70 c ± 2,06

* Promedios seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p < 0,05 Tukey).
SD= Desviación estándar.

individuos por broca por mililitro, para las dietas A, C y B, respectivamente. Sin embargo los promedios de producción encontrados a los 20 y 30 días en la dieta C mostraron una diferencia altamente significativa con relación a los otros medios ($p < 0,05$).

Los promedios de producción a los 40 días fueron C= 53,9 (SD = 6,33), A = 46,0 (SD = 6,07), B = 40,1 (SD = 8,93) y D = 26,9 (SD = 5,89) individuos por hembra por mililitro de dieta. El tratamiento C fue significativamente diferente ($p < 0,05$) con respecto a los otros tratamientos. La evaluación de C a los 60 días fue de 254,6 (SD = 80,3), significativamente diferente de los otros tratamientos.

Estructura de la población de broca dentro de las facilidades de producción. La Tabla 7 muestra el porcentaje total de la estructura poblacional de broca representada en sus estados de desarrollo. Aunque el tamaño de la colonia obtenida en la dieta C fue la más grande, las 3 dietas mostraron resultados similares con relación a la estructura de estados y al número de individuos producidos. Los huevos representan un porcentaje extremadamente alto

(>50%) en el número total del proceso de producción. Así, las dietas C, B y A obtuvieron 64,53%, 57,21% y 45,07%, respectivamente, el cual probablemente representa a una tercera generación.

A los 60 días se encontraron sobre el café pergamino muy pocos adultos vivos, debido a que la humedad (10%) no permitió que la broca se reprodujera (Figura 3). La Tabla 7 entrega la estructura de los estados de broca cuyos valores se obtuvieron a los 40 días después de la infestación.

El efecto del contenido de humedad sobre la producción de broca se muestra en la Figura 1. En todos los casos la relación entre el contenido de humedad (no menor al 40%) y la textura de la dieta fue un factor básico para mantener la oviposición de la broca sobre la media.

Otro aspecto importante de comentar es que la distribución de la población cosechada representada en porcentaje y obtenida durante las primeras cuatro evaluaciones mostró resultados similares entre las tres dietas artificiales y el café pergamino, pero fue diferente en la

TABLA 7. Porcentaje de la estructura poblacional de estados de broca obtenida en dieta artificial durante 60 días y 40 días para café pergamino.

Estados de broca	Población total de la colonia (%)			
	Café pergamino	Dieta 140	ECOBROVILL-160	Cenibroca
Progenie total. Estados				
totales por muestra	269	1258	1075	2546
Huevos (%)	4,09	45,07	57,21	64,53
Larvas de primer ínstar (%)	5,95	3,97	5,11	5,11
Larvas de segundo ínstar (%)	13,01	2,62	3,16	1,92
Prepupas (%)	11,15	1,83	2,79	1,73
Pupas (%)	4,83	6,12	5,67	2,3
Adultos (%)	60,97	40,38	26,06	23,69

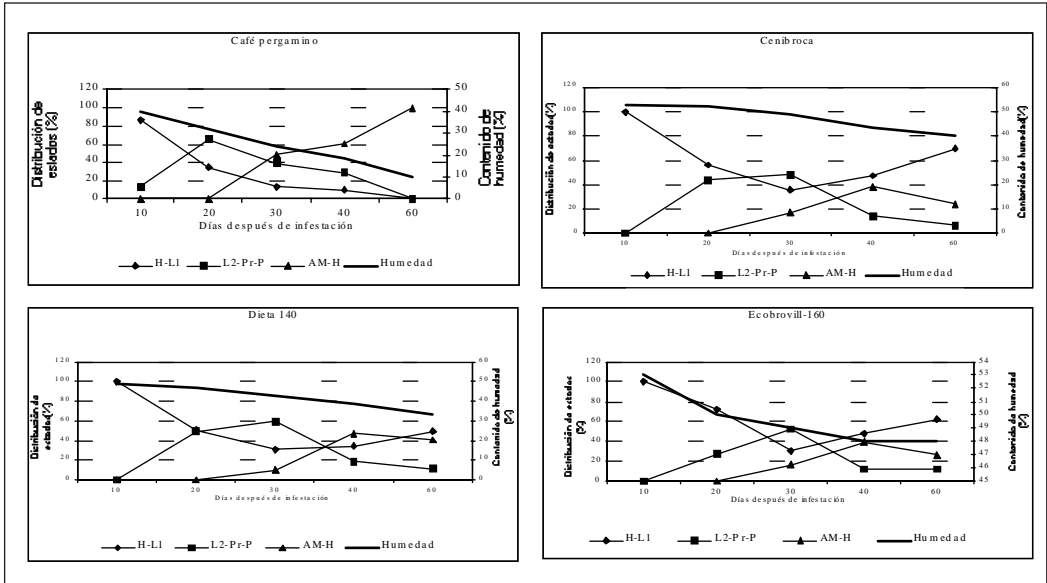


Figura 1. Porcentaje de la estructura poblacional de estados de broca en tres dietas artificiales y café pergamino durante 60 días con relación a los contenidos de humedad. H-L1= Estados juveniles de broca; L2-Pr-P= Preadultos de broca; AMH= Adultos machos y hembras de broca.

última evaluación. Así, a los 10 días se observa la mayor presencia de huevecillos y larvas de primer instar para las dietas A, B, C y D (10 días) la que va decreciendo gradualmente hasta el día 40. Esta misma curva incrementa su producción para el día 60 pero únicamente para las dietas A, B, and C con 49, 62 y 70%, respectivamente, mientras que la producción para la dieta D fue de 0.

Los porcentajes más altos de producción en estados preadultos (segundo instar larval, prepupa y pupa) se encontraron en el día 30 para las tres dietas artificiales (A, B y C) con 60, 53 y 50%, respectivamente; y sobre el día 20 se encontró 65% para el grano pergamino. Finalmente, los porcentajes más altos de población de adultos se encontraron a los 40 días en las dietas A, B y C, mientras que para la dieta D se obtuvo a los 30 días.

Las Figuras 2 y 3 muestran los promedios de producción de broca por mililitro de dieta arti-

ficial (A, B y C) y café pergamino (D). Aunque los tratamientos son similares en la distribución de estados (Figura 1), existe una diferencia entre ellos con respecto a los promedios totales de producción (Figuras 2 y 3).

La Figura 2 muestra los promedios de producción de H, L1 and L2 por hembra a los 10, 20, 30, 40 y 60 días después de la infestación. El análisis estadístico mostró que a los 10 días no presentó diferencias significativas en la población ($p = 0,05$) así se encontraron $11,5 \pm 3,0$ huevos para café pergamino y $10,4 \pm 5,9$; $9,7 \pm 3,7$ y $6,7 \pm 2,2$ huevos para las dietas A, C, B, respectivamente. La población de larvas de primer instar en café pergamino ($3,3 \pm 2,0$) fue altamente significativa ($p < 0,01$) con relación a las otras medias que no presentaron poblaciones. La presencia del segundo instar larval en café pergamino también fue significativamente diferente de los otros tratamientos, los que mostraron poblaciones bajas de estos estados.

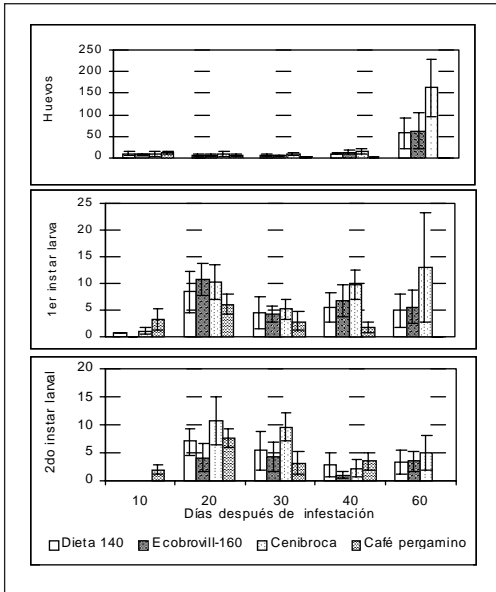


Figura 2. Número promedio de huevos, larvas de primero y segundo ínstar producidos por broca hembra por ml de dieta artificial y café pergamino durante 60 días.

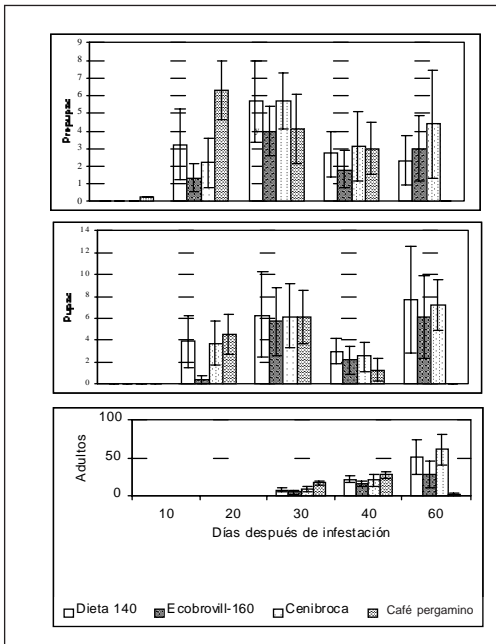


Figura 3. Número promedio de prepupas, pupas y adultos machos y hembras producidos por broca hembra por cc de dieta artificial y grano pergamino seco

Las evaluaciones a los 20 y 30 días mostraron promedios de huevos, larvas de broca de primer y segundo ínstar, sin diferencias significativas entre tratamientos. A los 40 días las variables huevos y larva 1 para el café pergamino mostraron promedios bajos de producción y resultaron significativamente diferentes entre tratamientos, mientras que la variable larva 2 no presentó diferencias significativas entre ellos. La dieta C a los 60 días presentó los promedios más altos en las variables huevos ($164,3 \pm 66,6$) y larva 1 ($13 \pm 10,25$). Estos promedios fueron significativamente diferente ($p < 0,05$) con relación a las dietas A y B y altamente significativos ($p < 0,01$) con respecto a la dieta D, en la cual no hubo desarrollo de la población.

La Figura 3 presenta los promedios de producción de prepupas, pupas y adultos machos y hembras los cuales se encontraron a los 60 días después de la infestación. Se registró presencia de prepupas y pupas 20 días después de infestar el café pergamino. Los promedios más bajos de producción se obtuvieron en la dieta B 20, días después de la infestación y resultaron significativamente diferentes ($p < 0,05$) de los otros tratamientos. Sin embargo, esta no presentó diferencias significativas a los 30, 40 y 60 días después de la infestación. El café pergamino no presentó poblaciones de prepupas y pupas en ninguno de estos tiempos. Se encontraron adultos de broca a los 30 días después de realizar la infestación de las dietas y el grano pergamino y los promedios de producción obtenidos a los 30 y 40 días no fueron significativamente diferentes entre tratamientos. Sin embargo, el promedio más alto de producción se obtuvo en la dieta C.

Parámetros demográficos. La Tabla 8 presenta los valores de 7 parámetros demográficos de 3 dietas artificiales y el grano de café pergamino. La tasa más alta de crecimiento por generación para *H. hampei* se obtuvo en la dieta Cenibroca con 29,2 hembras por broca hembra en un tiempo promedio de 48,4 días, seguida

TABLA 8. Estadísticos demográficos para la broca del café sobre dieta artificial y grano pergamino.

Parámetros	Tratamientos			
	Café pergamino (D)	Dieta 140 (A)	ECOBROVILL-160 (B)	Cenibroca (C)
Fecundidad Bruta (Mx) Total huevos machos y hembras /hembra	34,7	46	40,1	53,9
Fecundidad (mx) Total huevos hembras/hembra	31,23	41,4	36,09	48,51
Tasa neta reproductiva (Ro) Hijas hembras/hembra/generación	18,83	24,96	21,76	29,25
Tiempo promedio de generación (T) Días	41,91	49,21	51,48	48,41
Tiempo doble de generación (DT)	9,49	9,90	10,8	9,36
Tasa intrínseca de crecimiento (rm) Hijas/hembra/día	0,073	0,070	0,064	0,074
Tasa finita de crecimiento (λ)	1,075	1,072	1,066	1,076

por las dietas A, B y D con 24,9; 21,7 y 18,8 hembras por broca hembra, respectivamente, que se obtuvieron en un tiempo promedio de 49,2; 51,4 y 42,0 días, respectivamente. La tasa de crecimiento diario para las dietas C y D fue de 1,08 mientras que para A de 1,07. La tasa más baja de crecimiento diario se obtuvo en la dieta B con 1,06 hijas hembras por broca hembra fundadora.

Debido a que los valores más altos de R_0 y r_m para la broca fueron obtenidos en la dieta Cenibroca, esta fue considerada como la más promisoría para la propagación de *H. hampei*.

Los ingredientes utilizados para el desarrollo de la dieta artificial Cenibroca ofrecieron las condiciones físicas óptimas para la preparación de la dieta la cual es compatible con una mínima presencia de contaminantes microbiales, fácil de preparar, durabilidad una vez preparada y bajo costo (US \$1,50/L). Actualmente, las tres dietas artificiales existentes desarrolladas para la cría de la broca son altamente costosas

para ser incluidas como un componente en la tecnología de cría masiva de este insecto (5, 20, 21, 22).

Brun *et al.* (5) encontró que la broca se alimentó dentro de las primeras horas después de la infestación de la dieta. La mayor oviposición se encontró en la segunda semana de infestada la dieta, pero algunos huevos se observaron también dentro de los primeros días después de la infestación. En el presente trabajo la hembra de la broca no perforó ninguna de las tres dietas, sin embargo, un bajo porcentaje de ellas lo hicieron fabricando pequeñas galerías y colocando sus huevecillos al final del tunel. Este comportamiento fue muy similar al que se encontró en café pergamino. Le Pelley (11) describe un comportamiento similar de alimentación en frutos de café infestados en campo. Villacorta (19) encontró la presencia del hongo *Trichoderma* en dietas artificiales infestadas con broca. Bajo las condiciones de esta investigación los únicos hongos contaminantes fueron aparentemente *Aspergillus* y *Penicillium*

para todos los tratamientos, pero los túneles que la broca hizo en el café pergamino mostraron la presencia de un color verde-azul; sin embargo, no fue posible hacer el aislamiento para identificar su causa.

La textura de la dieta influyó en el tiempo de preoviposición (Tabla 5). El período más largo de preoviposición de la broca sobre la dieta B (ECOBROVILL-160) ocurrió porque el insecto tuvo que esperar hasta que la dieta perdiera humedad, mientras que para las dietas A (140-Diet) y C (Cenibroca) este período fue más corto debido a que los ingredientes de estas dietas hicieron que estas tuviesen una textura óptima para la oviposición del insecto. La textura fue más dura que para la dieta B. El período de preoviposición de la broca en el grano pergamino se realizó entre el 2 y 5 días después de la infestación. La mayoría de los aspectos de comportamiento de oviposición descritos en estos experimentos han sido encontrados en otros trabajos de investigación. Ruíz (16) encontró en experimentos sobre Tablas de vida de *H. hampei*, con relación a la maduración fisiológica del café, que el período de preoviposición depende de la consistencia del endospermo del fruto de café. Gaviria *et al.* (10) encontraron que los períodos más largos de oviposición en cerezas inmaduras de color verde que tenían el endospermo suave. Resultados similares registraron Le Pelley (11), Benavides y Cárdenas (2), Alonzo (1) y Portilla (13) quienes dicen que la broca que copuló, pospone la oviposición hasta que el endospermo tenga la humedad que ella requiere para poner sus huevecillos.

Los resultados de este trabajo muestran que el contenido de humedad y la textura de la dieta son variables importantes que permiten un período corto de preoviposición y un período más largo, los cuales influyen en la capacidad reproductiva del insecto (Tabla 5). Perez *et al.* (12) registran para el insecto una fecundidad bruta de 60 individuos por hembra fundadora,

los cuales fueron obtenidos en 0,8g de dieta 140. Benavides y Portilla (3), Portilla y Bustillo (14) y Bustillo *et al.* (7) registraron para café pergamino con 45 % de contenido de humedad una producción de 25 a 30 individuos por broca hembra, 30 días después de la infestación. En este estudio se encontraron producciones para la dieta ECOBROVILL-160 diferentes a las encontradas por Villacorta y Barrera (21, 22). Así, mientras los promedios de producción de 36 a 43 individuos por broca por mililitro de dieta se obtuvieron a los 80 días, en este estudio se encontró la misma población a los 40 días después de la infestación.

La distribución de estados de la broca se utilizó como medida para proporcionar la información necesaria para determinar los períodos de cosecha y adecuar la capacidad máxima de población dentro de una unidad de producción (8, 9). En este caso el tiempo en el cual se obtuvo el promedio más alto de preadultos se consideró como período de cosecha, debido a que las producciones de L2, Pr y P se utilizarían en el proceso de producción de parasitoides. La Figura 3 muestra cuando las poblaciones de Pr y P alcanzan sus picos máximos y la Figura 1 cuando estos estados alcanzan sus mayores porcentajes. Por tanto, el período de cosecha debe ser entre los 25 a 30 días después de la infestación para cada dieta artificial y 20 a 25 días para el café pergamino. Sin embargo Brun *et al.* (5) en estudios realizados a 25°C, obtuvieron promedios de producción de P a los 70 días de infestación (34%), esto debido en gran parte al prolongado período de preoviposición. Portilla y Bustillo (14) encontraron en café pergamino un 73% de L2, Pr y P (23°C) 30 días después de la infestación (asperjando agua cada 5 días sobre el café pergamino).

Los valores de los parámetros demográficos obtenidos en esta investigación muestran que criar la broca bajo buenas condiciones de campo, el potencial reproductivo de esta puede ser

mucho más alto que los valores encontrados en el campo ($r_m = 0,065$) (4).

Los experimentos y análisis llevados a cabo en esta investigación fueron el primer paso para desarrollar una técnica de cría para el parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* sobre estados inmaduros de broca.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con el apoyo del Instituto Internacional de Control Biológico IIBC y CENICAFE como proyecto cooperativo "Colombia: Manejo Integrado de Plagas" financiado por el Departamento Internacional de Desarrollo de Inglaterra y la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Un especial agradecimiento a los supervisores John Mumford, Dave Moore y Peter Baker por sus comentarios y sugerencias. A todo el equipo de Cenicafé de la Disciplina de Entomología y muy especialmente a Jairo Henao y Uriel Posada, quienes colaboraron en las evaluaciones de laboratorio.

LITERATURA CITADA

- ALONZO, P. El problema de la broca y la caficultura. Aspectos relacionados con importancia, daño, identificación, biología, ecología y control. San José, IICA-PROMECAFE, 1984. 242 p.
- BENAVIDES G., M.; CARDENAS M., R. La broca del café (*Hypothenemus hampei*). Avances Técnicos Cenicafé. No 41: 1-4. 1975
- BENAVIDES G., M.; PORTILLA R., M. Uso del café pergamino para la cría de *Hypothenemus hampei* y de su parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* en Colombia. Cenicafé 41: 114-116. 1991
- BAKER, P.; BARRERA, J.; RIVAS, A. Life history studies of the Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*, Scolytidae) on coffee trees in southern Mexico. Journal of Applied Ecology 29:656-662. 1992.
- BRUN, L.O.; GAUDICHON, V.; WIGLEY P. J. An artificial diet for continuous rearing of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Insect Science Applic. 14(5/6): 586-587. 1993.
- BUSTILLO P., A. La nutrición en insectos. Medellín, Socolen, 1979. 43p. (Boletín de Divulgación No 2).
- BUSTILLO P., A. OROZCO H., J.; BENAVIDES M., P.; PORTILLA R., M. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café en Colombia. Cenicafé 47(4):215-230. 1996.
- CAREY, J.R. Applied demography for biologist with special emphasis on insects. New York. Oxford University Press, 1993. 205 p.
- CAREY, J.R.; VARGAS, R.I. Demographic analysis of insect mass rearing: a case study of three tephritids. Journal of Economic Entomology 78:523-527. 1985.
- GAVIRIA, A.; CARDENAS M., R.; MONTOYA R., E.; MADRIGAL, A. Incremento poblacional de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), relacionado con el desarrollo del fruto del cafeto. Revista Colombiana de Entomología 21(3): 145-151. 1995.
- LEPELLEY, R.H. Pest of Coffee. London, Longmans, 1968. 590 p.
- PEREZ, E.; BUSTILLO P., A.; GONZALES G., M.T.; POSADA F., F. Comparación de dos dietas merídicas para la cría de *Hypothenemus hampei*. Cenicafé 46(4): 189-195. 1995.
- PORTILLA R., M. Mass production of *Cephalonomia stephanoderis* on *Hypothenemus hampei* reared using artificial diet. Ascott Berkshire, University of London, 1999. 253 p. (Thesis: Doctor of Philosophy).
- PORTILLA R., M.; BUSTILLO P., A. Nuevas investigaciones en la cría masiva de *Hypothenemus hampei* y de sus parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*. Revista Colombiana de Entomología 21(1): 25-33. 1995.
- KREBS, C. J. Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance. 2 ed. New York, Harper and Row, 1972. 753 p.

16. RUIZ C., R. Efecto de la fenología del fruto de café sobre los parametros de la tabla de vida de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari). Manizales, Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1996. 78 p. (Tesis: Ingeniero Agrónomo).
17. SINGH, P.; MOORE, R.F. Handbook of insect rearing. Amsterdam, Elsevier. 1985. 2V.
18. VANDERZANT, E. Defined diets for phytophagous insect. *In*: SMITH, C.N. ed. Insect colonization and mass production. New York, Academic Press. 1966. p 73-303.
19. VILLACORTA, A. Aspectos nutricionales de la cría de la broca del café (Coleoptera: Scolytidae). *In*: Taller Regional de Broca, 3. Antigua Guatemala abril 3- 7. 1989.
20. VILLACORTA, A. Dieta merídica para criacao de sucessivas generacoes de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae). Anais da Sociedade Entomologica do Brasil 14(2): 315-319. 1989.
21. VILLACORTA, A.; BARRERA, J. Dieta Meridica para criacao de sucessivas geracoes de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). An. Soc. Entomol. 14 (2): 316-319. 1993.
22. 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). ECOSUR, Tapachula, ECOSUR. 1996. 7.p
23. WINSTON, P.; BATES, D. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. Ecology Notes and Comment 41(1): 232-237. 1960.