

ANÁLISIS QUÍMICO DE LA NUEVA DIETA MERÍDICA PARA *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (FERRARI) (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE), CON NOTAS BIOLÓGICAS DE SU DESARROLLO EN ESTE SUBSTRATO

BLANCA CIREROL^{1,2}, FRANCISCO INFANTE¹ Y ALFREDO CASTILLO¹

¹ El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Carretera Antiguo Aeropuerto km 2.5. Tapachula, 30700 Chiapas, México.

² Centro de Investigación de Paludismo. Calle 19 Poniente Esq. Con 4 Norte. Tapachula, 30700 Chiapas, México.

Cirerol, B., F. Infante y A. Castillo. 2002. Análisis químico de la nueva dieta meridica para *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), con notas biológicas de su desarrollo en este sustrato. *Folia Entomol. Mex.*, 41(2): 185-193.

RESUMEN. Se realizó un análisis químico de la nueva dieta meridica habilitada para la cría de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), el cual reveló que la dieta recién elaborada contiene 81.3% de humedad y tiene un pH de 6.5. Tomando en consideración sólo el peso seco de la dieta, los mayores componentes fueron los carbohidratos totales y las proteínas con 69.2% y 23.6%, respectivamente. Se determinó que la dieta contiene nueve de los diez aminoácidos considerados como esenciales para el crecimiento de los insectos. Bajo condiciones de laboratorio a temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, HR de 60-80% y oscuridad total, las primeras oviposiciones de *H. hampei* se presentaron a los 8 días después de la inoculación de la dieta con hembras adultas. Los adultos de la primera generación se comenzaron a detectar desde los 28 días. Los datos obtenidos muestran que un tubo con 5ml de dieta puede soportar más de 100 individuos y pueden obtenerse hasta tres generaciones de brocas en 91-97 días. Los adultos e inmaduros producidos a partir de esta dieta meridica han sido usados exitosamente en la cría de tres especies de parasitoides africanos introducidos a México. Este hecho podría eventualmente conducir a la cría a gran escala de enemigos naturales, para ser usados en programas de control biológico por aumento contra *H. hampei*.
PALABRAS CLAVE: Broca del Café, *Hypothenemus*, Scolytidae, Dietas, México.

Cirerol, B., F. Infante and A. Castillo. 2002. Chemical analysis of a new meridic diet for *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), with biological notes on its development on this substratum. *Folia Entomol. Mex.*, 41(2): 185-193.

ABSTRACT. A chemical analysis of a new meridic diet developed to rear the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) was performed. The fresh diet contains 81.3% water and a pH of 6.5. Taking into account only the dry weight of the diet, total carbohydrates and proteins were the major components, with 69.2% and 23.6%, respectively. The meridic diet contents nine out of ten amino acids considered essential for insect growth. Under laboratory conditions of $26 \pm 2^\circ\text{C}$, 60-80% RH and total darkness, egg-laying started 8 days after the diet was inoculated with adult insects. Adults of the first generation were detected from 28 days onwards. The data shows that a single vial with 5ml of diet is able to support more than 100 individuals, and up to three continuous generations can be obtained in 91-97 days. The production of adults and immature stages of the coffee berry borer from diet has been successfully used to rear three species of African parasitoids introduced into Mexico. This fact could eventually lead to mass rearing natural enemies in order to use them in augmentative biological control programs against *H. hampei*.

KEY WORDS: Coffee Berry Borer, *Hypothenemus*, Scolytidae, Meridic diets, Mexico.

Villacorta (1985) elaboró por primera vez una dieta meridica para la crianza de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleopte-

ra: Scolytidae). En los últimos años se han hecho modificaciones a esa dieta original, con el fin de reducir costos y desarrollar una dieta más

comercial (Villacorta y Barrera, 1993; Brun *et al.*, 1993). Los resultados han sido exitosos, y ahora se cuenta con una "nueva dieta meridica" en donde la broca ha sido criada por varias generaciones sucesivas (Villacorta y Barrera, 1993). Estos avances son de gran importancia ya que *H. hampei* es considerada la principal plaga del café en el mundo (Le Pelley, 1968; Murphy y Moore, 1990). Su cría en masa significaría entonces, la posibilidad de poder criar también en forma masiva a sus enemigos naturales con fines de control biológico. De lograr lo anterior, ya no se dependería del uso de frutos de café infestados por la plaga, que es la metodología tradicionalmente utilizada para la cría de parasitoides de la broca (Barrera *et al.*, 1989; Abraham *et al.*, 1990).

No obstante que la nueva dieta meridica es funcional, y su composición química ha sido parcialmente determinada (Ruiz *et al.*, 1996), hacen falta estudios adicionales que contribuyan a definirla químicamente. Lo anterior es fundamental para conocer los requerimientos nutricio-

nales de *H. hampei*, mejorar su reproducción en laboratorio, y avanzar hacia la cría masiva de este insecto y sus enemigos naturales. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue realizar un análisis químico de la nueva dieta meridica y estudiar la reproducción y el desarrollo de *H. hampei* en este medio de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODO

La dieta fue elaborada siguiendo la metodología descrita por Villacorta y Barrera (1993). La lista de ingredientes usados es presentada en el Cuadro 1. Se prepararon dos lotes de dietas; uno se infestó con *H. hampei* y el otro no. El análisis químico se realizó sobre dietas recién preparadas y sin haber sido inoculadas con *H. hampei*, para que los insectos no alteraran la composición química de la misma. Este análisis se llevó a cabo de acuerdo a la metodología establecida por la AOAC (1984). Se hicieron las siguientes determinaciones: humedad, pH, azúcares reductores totales, fibra cruda, cenizas, lípidos, nitrógeno total y aminoácidos.

Cuadro 1

Ingredientes de la nueva dieta meridica para la crianza de la broca del café (Después de Villacorta y Barrera, 1993)

INGREDIENTES	CANTIDADES
Agua hervida	750 ml
Etanol	10 ml
Formaldehído al 37 %	2 ml
Café verde molido	100 g
Levadura de torula	20 g
Caseína	20 g
Agar	27 g
Azúcar refinado	14 g
Sales de Wesson	2 g
Nipagin	1 g
Benzoato de Sodio	0.8 g

El lote de dieta infestado con *H. hampei* consistió de 200 tubos de vidrio de 7.5 x 1.5 cm (longitud y diámetro) que contenían 5ml de dieta. Cada tubo fue inoculado con 5 hembras adultas y cerrado con un pedazo de algodón estéril. Antes de introducir los especímenes a la dieta, fueron sumergidos por 15 segundos en hipoclorito de sodio al 2%, más 15 segundos en formaldehído al 2% y lavados con agua destilada estéril, con el fin de reducir la contaminación en la dieta (Villacorta y Barrera 1993, 1996). Las hembras usadas fueron obtenidas de la cría de broca en dietas de los laboratorios del Colegio de la Frontera Sur. Los progenitores de esas brocas habían sido cultivados en dietas por tres generaciones, a partir de hembras colectadas en plantaciones de café del Municipio de Tapachula. El lote de dieta infestado se mantuvo en un laboratorio de cría a temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, HR de 60-80% y oscuridad total.

Una muestra de 5 tubos tomados al azar fue disectada semanalmente durante 14 semanas para observar el desarrollo de la broca y su crecimiento poblacional. Inmediatamente después de cada disección se tomó una muestra de la dieta

para determinar su humedad por peso seco.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis Químico. En la Cuadro 2 se presentan los resultados del análisis químico de la nueva dieta merídica. Se determinó que el pH de las dietas recién elaboradas es 6.5 y el principal constituyente es el agua con 81.3%, aunque este porcentaje disminuye gradualmente a medida que pasa el tiempo (Figura 1). Este descenso en la humedad es importante para la reproducción, ya que se ha observado que *H. hampei* no oviposita en dietas recién elaboradas, posiblemente debido al alto contenido de humedad. Se ha reportado que las primeras oviposiciones ocurren de 10 a 12 días después de la inoculación (Villacorta y Barrera, 1993; Brun *et al.*, 1993); es decir, cuando la humedad de la dieta es de alrededor del 75%. Un patrón similar se presenta en condiciones naturales, ya que cuando el contenido de materia seca en frutos de café es inferior al 20% la oviposición no ocurre y las brocas permanecen en la pulpa de los frutos, esperando las condiciones adecuadas para su colonización (Barrera, 1994).

Cuadro 2

Composición química de la nueva dieta merídica para la crianza de la broca del café. El análisis se realizó el mismo día en que la dieta fue elaborada

DETERMINACIONES	CANTIDADES (%)
Humedad	81.3
Carbohidratos totales	69.2
Fibra cruda	15.5
Azúcares reductores totales	23.1
Proteínas	23.6
Grasa cruda	2.3
Cenizas	5.0
pH	6.5
Acidez titulable	0.3

Tomando en cuenta sólo la base seca de la dieta, los carbohidratos totales son los que se encuentran en mayores cantidades con 69.2%, de los cuales un 23.1% están presentes como azúcares reductores totales y 15.5% como fibra cruda; el resto del total está presente como gomas solubles principalmente. De acuerdo con Chippendale (1978), las larvas de insectos difieren grandemente en las cantidades de carbohidratos requeridos, e inclusive algunas especies no requieren de carbohidratos, debido a que pueden sustituirlos a partir de proteínas o lípidos. Las larvas que requieren altas concentraciones de carbohidratos son aquellas que normalmente se alimentan de granos almacenados, como *Sitophilus* spp (Curculionidae), cuyas larvas requieren hasta 70%. Aún y cuando *H.*

hampei no se alimenta de granos almacenados, los resultados del presente trabajo muestran que tanto larvas como adultos prosperan bien en una dieta rica en carbohidratos.

Las proteínas son el segundo mayor componente del peso seco de la dieta con 23.6%. En el Cuadro 3 se presentan los aminoácidos contenidos en la nueva dieta meridica. Se puede observar que en ella están presentes nueve de los diez aminoácidos señalados como esenciales para el crecimiento de los insectos. Ellos son: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, valina y treonina (Wigglesworth, 1972). El único aminoácido esencial no registrado fue el triptofano. No obstante, es posible que sí esté presente en la dieta, pero que haya sido destruido durante la hidrólisis ácida en el análisis.

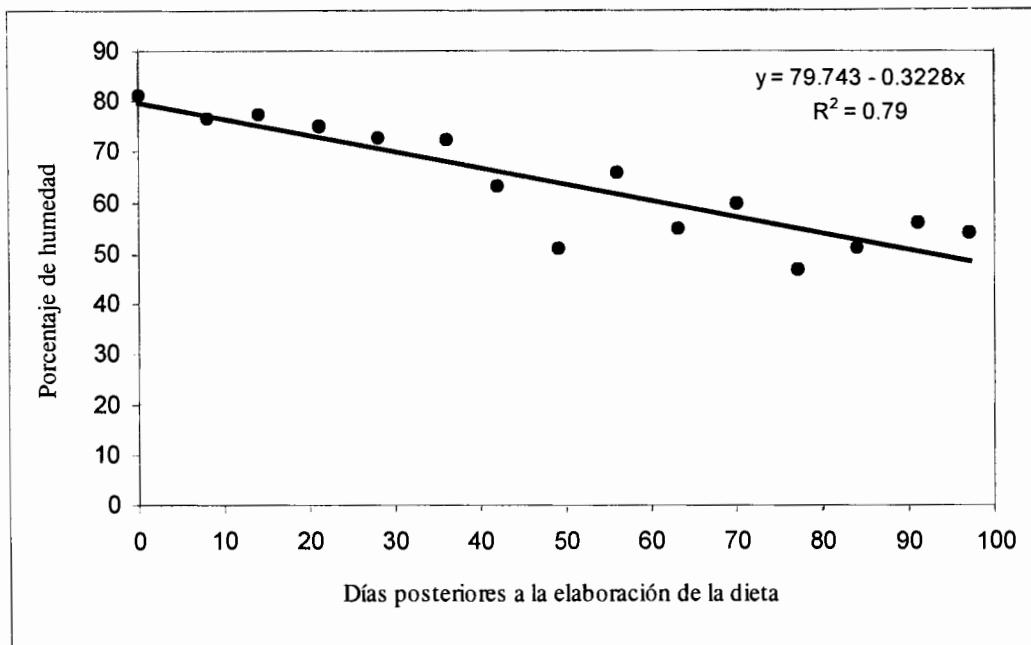


Figura 1. Cambios en el contenido de humedad de la nueva dieta meridica, durante el desarrollo de la broca del café.

sis químico.

Agosin (1978) remarcó la importancia nutricional que tienen las proteínas en los insectos al afirmar que son los compuestos químicos más complejos y que están presentes en todas las células. Son compuestos que en la forma de nucleoproteínas son esenciales para los procesos de división celular y, como enzimas u hormonas, controlan muchas reacciones químicas en el metabolismo de las células. Por ello, en las dietas para insectos debe existir un balance en los constituyentes protéicos y/o aminoácidos. El buen desarrollo mostrado por *H. hampei* en la dieta merídica es un indicativo de que los aminoácidos están favorablemente balanceados.

El resto de los componentes estuvo constituido

por 2.3% de grasas y 5% de cenizas. La inclusión de ácidos grasos en la nueva dieta merídica a través de ingredientes como el café molido y la caseína, proveen una rica fuente de energía metabólica para *H. hampei*. Está demostrado que en varias especies de insectos la ausencia, o escasa cantidad de ácidos grasos en la dieta, puede ocasionar malformaciones en los diferentes estados biológicos del insecto (Wigglesworth, 1972). No obstante haber reproducido a la broca del café en los laboratorios de ECO-SUR por decenas de generaciones en esta dieta, nunca se han observado alteraciones morfológicas ni fisiológicas que pudieran indicar una deficiencia en ácidos grasos (Datos no Publicados).

Cuadro 3

Aminoácidos presentes en la nueva dieta merídica desarrollada para la crianza de la broca del café

AMINOÁCIDOS	CONTENIDO (mg/100g de muestra)
Ac. Glutámico	2609
Ac. Aspártico	1294
Alanina	556
Arginina	450
Cistina	118
Fenilalanina	600
Glicina	498
Histidina	223
Isoleucina	555
Leucina	1167
Lisina	686
Metionina	180
Prolina	1083
Serina	584
Tirosina	423
Treonina	491
Valina	752

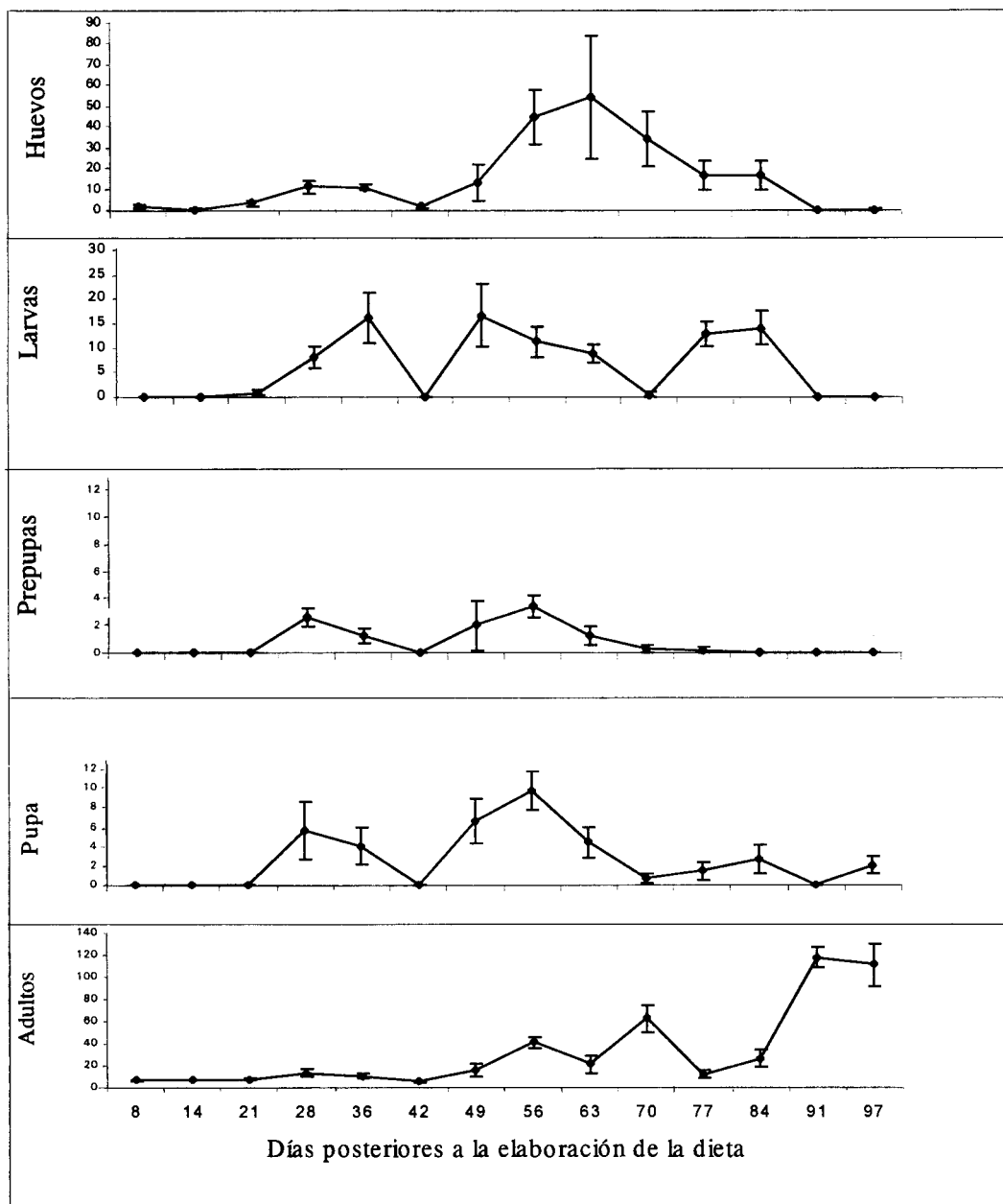


Figura 2. Presencia de estados biológicos de la broca del café por tubo de dieta (media \pm EE), a diferentes fechas después de su infestación.

Las determinaciones del presente estudio variaron ligeramente con respecto a las encontradas por Ruiz *et al.* (1996), quienes reportaron valores de 5.3, 78%, 4.7%, 5.7%, 19.4% y 15.6% para pH, humedad, cenizas, grasas, proteínas y fibras, respectivamente. La sustitución de un ingrediente (ácido benzoico en lugar de benzoato de sodio) hecha por esos autores con respecto a la receta original, pudo ocasionar las diferencias en el pH. Mientras que la calidad de los ingredientes (*i.e.* café molido) y la metodología utilizada, podrían explicar el resto de las ligeras variaciones.

Reproducción y Desarrollo de *H. hampei* en Dietas. En la Figura 2 se presenta el desarrollo biológico de la broca del café en la nueva dieta meridica. Las primeras oviposiciones se detectaron a los 8 días después de la inoculación. El número máximo de huevos fue alcanzado a los

63 días, en donde se encontraron 54 ± 29 (media \pm EE) huevos por tubo. Una producción de tal magnitud sólo pudo ser posible debido a la reproducción no sólo de las hembras fundatrices, sino también de hembras de primera y segunda generación. Las larvas fueron detectadas en la revisión de los 21 días, y las pupas y adultos de primera generación a los 28 días después de la inoculación. Estos resultados son similares a los mencionados por Brun *et al.*, (1993), donde reportan para *H. hampei* un ciclo de huevo a adulto de 4 a 5 semanas en dietas, bajo condiciones de 25°C y 85% de HR. Después de 84 días, los huevos, larvas y pupas disminuyeron drásticamente. Esto posiblemente sea debido a una combinación de factores tales como el desecamiento de la dieta, la falta de espacio y a la competencia intraespecífica de hembras adultas (Moore *et al.*, 1990).

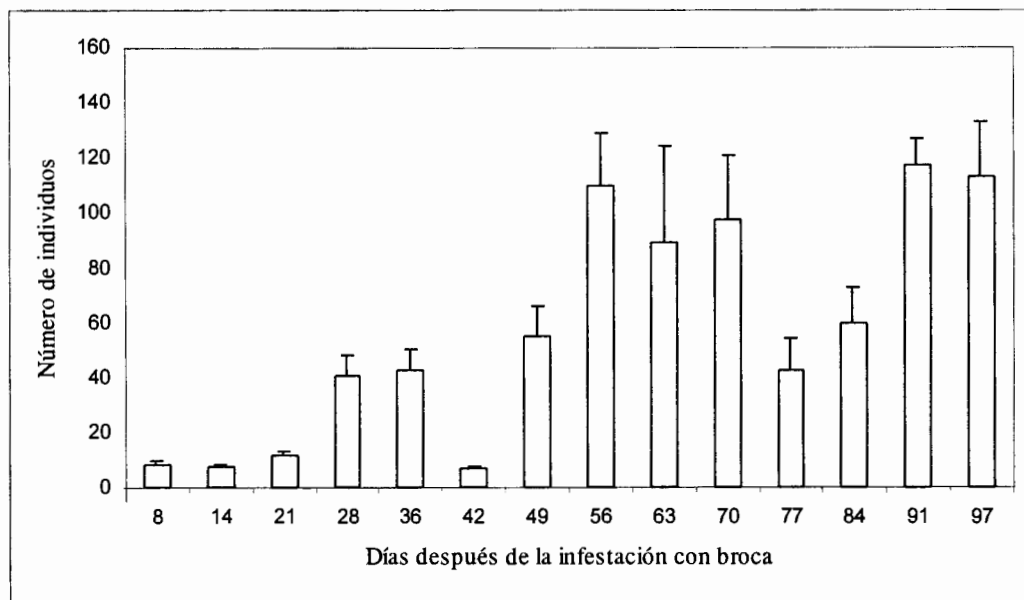


Figura 3. Población de broca (todos los estados de desarrollo) por tubo de dieta (media \pm EE) a diferentes fechas después de su infestación.

La población promedio de broca por tubo de dieta es presentada en la Figura 3. Los datos muestran que la dieta puede soportar más de 100 individuos por tubo y pueden obtenerse hasta tres generaciones en 91-97 días. La gran variabilidad en los valores obtenidos es común en la cría de la broca en este substrato (Gómez *et al.*, 1992; Pérez *et al.*, 1995; Garcés, 1997; Portilla, 1999). Lo anterior puede ser debido a que se ha reportado que existe una mortalidad de 15% en las hembras fundatrices; además no todas las brocas se reproducen satisfactoriamente en este substrato. Únicamente el 35% de las hembras inicialmente utilizadas son capaces de ovipositar (Garcés, 1997).

Las brocas desarrolladas a partir de dietas ya han sido utilizadas para la cría del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* (Bethyilidae) (Gómez *et al.*, 1992; Villacorta y Barrera, 1996). Igualmente, se ha logrado reproducir a los parasitoides *Prorops nasuta* (Bethyilidae) y *Phymastichus coffea* (Eulophidae) (Datos no Publicados). En lo que concierne a la cría de este último organismo, que parasita a los adultos de la broca del café, normalmente se utilizan dietas que tienen más de 90 días de haber sido infestadas. *P. coffea* fue introducido a nuestro país en marzo de 2000 y hasta ahora han sido producidos cerca de medio millón de individuos en el laboratorio, la mayoría de ellos sobre brocas provenientes de dietas (Chiu *et al.*, 2001). Lo anterior demuestra que las brocas criadas en la nueva dieta meridica son aceptadas por sus parasitoides en el laboratorio. Este hecho podría eventualmente conducir a la cría masiva de enemigos naturales, para ser usados en programas de control biológico por aumento contra la broca.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo financiero de la Comunidad Económica Europea a través del proyecto TS2A-0234-M(CD). Al Dr. Eduardo Barzana,

del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la UNAM por las facilidades brindadas.

Nuestro reconocimiento especial para dos revisores anónimos quienes hicieron valiosas sugerencias al presente artículo. Finalmente agradecemos a Venancio de Jesús Molina y Giber González por su apoyo técnico.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1984. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Arlington, Virginia, USA. 1141 pp.
- ABRAHAM, Y. J., D. MOORE AND G. GODWIN. 1990. Rearing and aspects of biology of *Cephalonomia stephanoderis* and *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyilidae) parasitoids of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Bulletin of the Entomological Research* 80: 121-128.
- AGOSIN, M. 1978. Functional role of proteins In: *Biochemistry of insects*. M. Rockstein (Ed.). Academic Press, INC. New York. p. 93-143.
- BARRERA, J. F. 1994. Dynamique des populations du scolyte des fruits du caféier, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), et lutte biologique avec le parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae), au Chiapas, Mexique. *Ph. D. Dissertation*. Université Paul-Sabatier. Toulouse, Francia. 301 pp.
- BARRERA, J. F., J. GÓMEZ, F. INFANTE, A. CASTILLO ET W. DE LA ROSA. 1989. Biologie de *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyilidae) en laboratoire. I. Cycle biologique, capacité d'oviposition et émergence du fruit du caféier. *Café Cacao Thé*, 33: 101-108.
- BRUN, L. O., V. GAUDICHON AND P. J. WIGLEY. 1993. An artificial diet for continuous rearing of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Insect Science and its Application* 14: 585-587.
- CHIPPENDALE, G. M. 1978. The functions of carbohydrates in insect life processes. In: *Biochemistry of insects*. M. Rockstein (Ed.). Academic Press, INC. New York. p. 1-54.
- CHIU, P., F. INFANTE, J. F. BARRERA, A. CASTILLO Y J. GÓMEZ. 2001. Introducción de *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) a México para el control biológico de la broca del café. *Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Entomología, Querétaro, México*. p 120.
- GARCÉS, G. D. 1997. Biología de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) utilizando una dieta meridica como sustituto de la cereza del café. *Tesis de Licenciatura*. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Chiapas. 72 pp.

- GÓMEZ, J., J. F. BARRERA, F. INFANTE, A. CASTILLO Y W. DE LA ROSA. 1992. Reproducción de *Cephalonomia stephanoderis* sobre la broca del café *Hypothenemus hampei* criada en una dieta artificial. *Memorias del XV Congreso Nacional de Control Biológico. Cuautitlán Izcalli, Estado de México*. p 205-211.
- LE PELLEY, R. H. 1968. *Pests of coffee*. Longmans Green and Co. London. 590 pp.
- MOORE, D., Y. J. ABRAHAM AND N. J. MILLS. 1990. Effects of competition in the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col.: Scolytidae). *Journal of Applied Entomology*, 109: 64-70.
- MURPHY, S. T. AND D. MOORE. 1990. Biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae): previous programmes and possibilities for the future. *Biocontrol News and Information*, 11: 107-117.
- PÉREZ, L. E. J., A. E. BUSTILLO, M. T. GONZÁLEZ Y F. J. POSADA. 1995. Comparación de dos dietas meridicas para la cría de *Hypothenemus hampei*. *Cenicafé*, 46: 189-195.
- PORTILLA, R. M. 1999. Desarrollo y evaluación de una dieta artificial para la cría de *Hypothenemus hampei*. *Cenicafé*, 50: 24-38.
- RUIZ, S. L., A. E. BUSTILLO, F. J. POSADA Y M. T. GONZÁLEZ. 1996. Ciclo de vida de *Hypothenemus hampei* en dos dietas meridicas. *Cenicafé*, 47: 77-84.
- VILLACORTA, A. 1985. Dieta meridica para criação de sucessivas geracões de *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae). *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil*, 14: 315-319.
- VILLACORTA, A. E. J. F. BARRERA 1993. Nova dieta meridica para criação de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil*, 22: 405-409.
- VILLACORTA, A. AND J. F. BARRERA 1996. Techniques for mass rearing of the parasitoid *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae) on *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) using an artificial diet. *Vedalia* 3: 45-48.
- WIGGLESWORTH, V. B. 1972. *The principles of insect physiology*. 7th edition. London Chapman and Hall. 827 pp.

Recibido: 2 agosto 2001.

Aceptado: 4 diciembre 2001.