

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISION DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA



**DETERMINACION DE LA FUENTE DE ATRACCION DE
Cephalonomia stephanoderis Betrem, PARASITOIDE DE
Hypothenemus hampei (Ferrari)**

POR:

JOSE MANUEL FELIPE SILVESTRE

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

Ingeniero Agrónomo Parasitólogo

Buenavista, Saltillo, Coahuila; México.

Octubre de 2004.

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

**DETERMINACION DE LA FUENTE DE ATRACCION DE
Cephalonomia stephanoderis Betrem, PARASITOIDE DE
Hypothenemus hampei (Ferrari).**

Presentada por:

JOSE MANUEL FELIPE SILVESTRE

TESIS

**Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el título de:**

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

APROBADA

Presidente del Jurado

Sinodal

Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez

M.C. Antonio Cárdenas Elizondo

Sinodal

Sinodal suplente

M.C. Mariano Flores Dávila

M.C. Jorge Corrales Reynaga

COORDINADOR DE LA DIVISION DE AGRONOMIA

M.C. Arnoldo Oyervides García

Buenavista, Saltillo, Coahuila; México. Octubre de 2004.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Sr. Ramiro Felipe Díaz

Sra. Estela Silvestre Camposeco

Por todo el apoyo que me han brindado, especialmente para mi madre que aunque nos separa una gran distancia siempre ha mantenido firme su confianza en mí.

A MI ABUELITA

Magdalena Díaz que siempre se ha preocupado por mí.

A MIS HERMANAS

Magdalith y Elizabeth, que han sabido soportar el tiempo y la distancia que nos separó durante todo este tiempo de estudio.

A TODOS MIS AMIGOS

Que han estado conmigo en todo momento, especialmente a Felipe Nucamendi.

ESPECIALMENTE

Para ti que me has llenado de felicidad y anhelos, que compartes conmigo momentos de soledad y alegría, te dedico este escalón más de mi vida; Gracias

Perla Cecilia

A mi bebé Gerardo Emmanuel quien me ha motivado a vencer cualquier obstáculo en la vida, y a tener grandes motivos de seguir adelante. Para ti **Gerardito**.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme salud y darme la oportunidad de culminar mis estudios y compartir con mis seres queridos este pedaleo más de mi vida.

A mi Alma Mater, Gracias por darme una formación profesional.

A El Colegio de la Frontera Sur, unidad Tapachula, Chis. por facilitarme sus laboratorios, en los cuales realicé mi investigación.

A la SEP-CONACyT por el apoyo económico brindado (proyecto No. 40338-Q, investigación básica, titulado “Localización del huésped por parasitoides de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera:Scolytidae)”.

A todos mis amigos que colaboran con el proyecto de Broca del café, en ECOSUR, Tapachula Chis. Gracias por la amistad que me han dado.

Al Ing. Giber González Gómez, Q.A. Enrique López Pascacio y T.A. Román Montes; por el apoyo técnico que me han dado y por la amistad incondicional que me han brindado.

Al estadístico Javier Valle Mora por su aportación en el análisis de mis resultados.

Al codirector de tesis Dr. Julio C. Rojas León, por toda su aportación en mi trabajo de investigación y sobre todo por la confianza que ha depositado en mi, muchas gracias.

Al coasesor M.C. Jaime Gómez Ruiz, por la colaboración que ha aportado en la realización de mi tesis, y sobre todo por su amistad tan especial, Gracias por todo su apoyo.

Al asesor principal Dr. Eugenio Rodríguez Guerrero por la confianza que ha depositado en mí y en mi trabajo de investigación y por toda su colaboración.

A los asesores M.C Antonio Cárdenas Elizondo, M.C. Mariano Flores Dávila y M.C. Jorge Corrales Reynaga, por sus aportación en la revisión del presente. Gracias.

INDICE GENERAL

	Pág.
INDICE DE CONTENIDO	i
INDICE DE CUADROS	iii
INDICE DE FIGURAS	vi
INTRODUCCION	1
REVISION DE LITERATURA	3
La Broca del Café <i>Hypothenemus hampei</i>	3
Ubicación taxonómica.....	3
El control biológico de la broca del café.....	4
<i>Cephalonomia stephanoderis</i>	6
Ciclo de vida.....	6
Ubicación taxonómica.....	7
Conducta de Localización de Huésped de Parasitoides	8
Semioquímicos.....	9
Componentes volátiles del fruto de café.....	10
Características del Metanol y Hexano	10
Metanol.....	10
Hexano.....	10
MATERIALES Y METODOS	12
Lugar de estudio	12
Material biológico	12
Frutos.....	12
Inmaduros de broca del café.....	12
Excretas.....	13
Extractos Hexánicos y Metanólicos	13
Cría de <i>Cephalonomia stephanoderis</i>	14
Infraestructura	15
Bioensayos	15

Olfatómetro Cónico.....	15
Diseño Experimental.....	16
Olfatómetro tipo “Y”.....	16
Diseño Experimental.....	18
Cajas Petri.....	18
Diseño Experimental.....	19
RESULTADOS Y DISCUSION.....	21
Efecto de la Atracción de la Madurez del Fruto de Café en <i>C. stephanoderis</i>.....	21
Efecto de la Atracción de Adultos, inmaduros y Excretas de Broca del Café en <i>C. stephanoderis</i>.....	25
Efecto de la Atracción de Extractos de Adultos, inmaduros y Excretas de Broca del Café en <i>C. stephanoderis</i>.....	30
CONCLUSIONES.....	33
BIBLIOGRAFIA.....	34
ANEXO.....	39

INDICE DE CUADROS

Cuadro No.	Pág.
1. Especies de parasitoides de la broca del café (Le Pelley, 1968; Murphy y Moore, 1990; La Salle, 1990; Pérez-Lachaud, 1998; Damon, 2000).....	5
2. Bioensayos realizados en los diferentes Olfatómetros y cajas Petri.....	20
3. Promedios del porcentaje de la respuesta de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a frutos de café evaluados en el olfatómetro cónico.....	21
4. Promedios del porcentaje de la respuesta de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a frutos de café con diversas condiciones, en pruebas de no elección evaluados en el olfatómetro tipo “Y”.....	23
5. Promedios del porcentaje de la respuesta de hembras de <i>Cephalonomia Stephanoderis</i> a adultos, inmaduros vivos y excretas de <i>Hypothenemus hampei</i> contra material lavado con metanol y hexano de los estados anteriores, en pruebas de no elección, evaluados en el olfatómetro tipo “Y”.....	26
6. Promedios en minutos de la respuesta de llegada y permanencia de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a inmaduros de <i>Hypothenemus hampei</i> , evaluados en cajas Petri.....	28
7. Promedios en minutos de la respuesta de llegada y permanencia de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a excretas de <i>Hypothenemus hampei</i> , evaluados en cajas Petri.....	29
8. Promedios en minutos de la permanencia de hembras <i>Cephalonomia stephanoderis</i> en extractos de excretas, inmaduros y adultos de <i>Hypothenemus hampei</i> evaluados en cajas petri.....	30
9. Respuesta en porcentaje de hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a frutos rojos, evaluados en el olfatómetro de cono.....	39
10. Respuesta en porcentaje de hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a frutos amarillos, evaluados en el olfatómetro de cono.....	39

11. Respuesta en porcentaje de hembras de <i>C. stephanoderis</i> a frutos verdes, evaluados en el olfatómetro de cono.....	40
12. Análisis de varianza del porcentaje de respuesta a frutos rojos, en el olfatómetro de cono; transformados a la función arco seno \sqrt{x}	40
13. Análisis de varianza del porcentaje de respuesta a frutos amarillos, en el olfatómetro de cono; transformados a la función arco seno \sqrt{x}	40
14. Análisis de varianza del porcentaje de respuesta a frutos verdes en el olfatómetro de cono; transformados a la función arco seno \sqrt{x}	41
15. Análisis de varianza del porcentaje de respuesta de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a frutos infestados por color (rojos, amarillos y verdes) en el olfatómetro de cono; transformados a la función arco seno \sqrt{x}	41
16. Respuesta en porcentaje de hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a frutos de café comparados con un fruto artificial. Evaluados en el olfatómetro tipo “Y”.....	41
17. Respuesta en porcentaje de hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a adultos de broca, inmaduros y excretas; sin lavar, lavados con metanol y hexano. Evaluados en el olfatómetro tipo “Y”.....	43
18. Respuesta en minutos de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a inmaduros de broca; refrigerados, lavados con metanol y hexano. Evaluados en cajas petri.....	44
19. Respuesta en minutos de las hembras de <i>C. stephanoderis</i> a excretas sin lavar, lavado con Metanol y Hexano. Evaluados en cajas petri.....	45
20. Análisis de varianza del tiempo de llegada (minutos) a inmaduros de broca refrigerados, lavados con Metanol y Hexano. Evaluados en cajas petri.....	47
21. Prueba de Kruskal-Wallis de la permanencia de <i>C. stephanoderis</i> sobre inmaduros de broca; evaluados en cajas petri.....	47
22. Análisis de varianza del tiempo de llegada en minutos a excretas sin lavar, lavada con metanol y hexano. Transformados a raíz cuadrada de x ; y evaluados en cajas petri.....	47

23. Prueba de Kruskal-Wallis de la permanencia de <i>C. stephanoderis</i> sobre excretas; evaluados en cajas petri.....	47
24. Permanencia en minutos de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> en extractos metanólicos de adultos de broca, inmaduros y excretas; evaluados en cajas petri.....	48
25. Permanencia en minutos de las hembras de <i>C. stephanoderis</i> en extractos hexánicos de adultos de broca, inmaduros y excretas; evaluados en cajas petri.....	49
26. Análisis de varianza de la permanencia (minutos) en extractos metanólicos de brocas adultas, inmaduros y excretas; evaluados en cajas petri.....	50
27. Análisis de varianza de la permanencia (minutos) en extractos hexánicos de brocas adultas, inmaduros y excretas; evaluados en cajas petri.....	50

INDICE DE FIGURAS

Figura No.	Pág.
1. Posición de la hembras <i>Cephalonomia stephanoderis</i> y material tratado en cajas Petri.....	18
2. Posición de la hembras <i>Cephalonomia stephanoderis</i> y extractos en cajas Petri.....	19
3. Respuesta de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a frutos de diferente color evaluados en el olfatómetro de cono, y prueba de Tukey al 0.05. FA, fruto artificial; FS, fruto sano; FDM, fruto dañado mecánicamente; FI, fruto infestado.....	22
4. Respuesta de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a frutos infestados por <i>Hypothenemus hampei</i> , evaluados en el olfatómetro de cono; y prueba de Tukey al 0.05. FR, fruto rojo; FA, fruto amarillo; FV, fruto verde.....	23
5. Porcentaje de respuesta de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a frutos de <i>Coffea arabica</i> con diferente madurez; sanos, dañados mecánicamente e infestados por <i>Hypothenemus hampei</i> ; comparados con frutos artificiales; evaluados en el olfatómetro tipo “Y “. (NS = No significativo).....	24
6. Porcentaje de respuesta de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a brocas adultas, inmaduros y excretas de <i>Hypothenemus hampei</i> , sin lavar y lavados con metanol y hexano, en pruebas de no elección en el olfatómetro tipo “Y “. (NS = No significativo; * = Diferencia significativa).....	27
7. Respuesta en minutos de llegada y permanencia de hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> a inmaduros de <i>Hypothenemus hampei</i> (larvas, prepupas y pupas) evaluados en cajas Petri, y prueba de Tukey al 0.05.	28
8. Respuesta en minutos de llegada y permanencia de hembras de	

	<i>Cephalonomia stephanoderis</i> a excretas de <i>Hypothenemus hampei</i> , evaluados en cajas Petri, y prueba de Tukey al 0.05.....	29
9.	Tiempo de permanencia en minutos de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> en extractos metanólicos y hexánicos de <i>Hypothenemus hampei</i> comparados con un testigo, evaluados en cajas Petri. (* = Diferencia estadística; Testigo = Sin solución).....	31
10.	Tiempo de permanencia en minutos de las hembras de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> en extractos metanólicos y hexánicos de excretas, inmaduros y adultos de <i>Hypothenemus hampei</i> , evaluados en cajas petri; y prueba de Tukey al 0.05.....	32

INTRODUCCION

El café es un producto agrícola de importancia económica, política, social, cultural y ambiental en México. Entre las bondades más relevantes de este producto están la generación de divisas y empleos, el desarrollo de regiones productoras de café y los servicios ambientales asociados al cultivo bajo sombra (Nestel, 1995; Zamarripa y Escamilla, 2002). Existen aproximadamente 760,000 hectáreas sembradas con este cultivo en el país (Regalado, 1996) y México es el cuarto exportador en el ámbito mundial, después de Brasil, Colombia e Indonesia (FAO, 1995). Al igual que otros cultivos, el café es atacado por un gran número de plagas, más de 850 especies de insectos han sido reportadas presentes en este cultivo (Le Pelley, 1973). El insecto plaga más importante de este cultivo a nivel mundial, es la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) (Le Pelley, 1968). Este insecto está presente en casi todas las zonas cafetaleras de México, y anualmente causa pérdidas millonarias; estas pérdidas económicas se deben a la reducción en los rendimientos y en la calidad del grano.

Es posible que la respuesta al problema no sea una sola alternativa sino un conjunto de opciones, pero una que a sorteado períodos difíciles en el mercado internacional en los últimos años es la producción de cafés orgánicos, sistema al cual esta íntimamente ligado el control biológico (Moguel y Toledo, 1996). El uso del control biológico ha sido explorado en este cultivo; al final de la década de los 80s fueron importados a México los betílidos *Cephalonomia stephanoderis* Betrem y *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera: Bethylidae) (Barrera *et al.*, 1990), los cuales han sido liberados en cafetales de la región del Soconusco, Chiapas. Sin embargo, únicamente se ha detectado el establecimiento de *C. stephanoderis* en los cafetales de Chiapas (Barrera, 1994).

Barrera (1994), afirma que teóricamente *C. stephanoderis* tiene alta capacidad de búsqueda, sin embargo, esta actividad poco ha sido estudiada¹.

¹ Comunicación personal de Gómez Ruiz Jaime (2004).

Durante los últimos 10 años, la investigación sobre la localización del huésped por parasitoides ha sido enfocada para conocer el papel de las plantas, la experiencia y el aprendizaje en este proceso de localización (Vinson *et al.*, 1998).

En el presente trabajo se estudiará el sistema tritrófico: café, broca del café y del parasitoide *C. stephanoderis*. Específicamente se estudiará su comportamiento respecto al factor químico en la búsqueda de su huésped.

Particularmente se indagará el papel del estímulo químico proveniente del café, broca y la interacción de ambos, tratando de dilucidar si hay compuestos inducidos por los herbívoros ya sea en forma directa o indirecta. Y en que grado estos compuestos contribuyen al encuentro parasitoide-broca del café. Con esto se plantea aportar información de cómo los parasitoides del café solucionan el problema de confiabilidad-detectibilidad durante el proceso de localización del huésped.

Aunque poco se conoce sobre la interacción que pueda haber entre los compuestos volátiles del café y la interacción parasitoide-huésped, se plantea la hipótesis de que, al perforar y/o alimentarse la broca se liberan compuestos volátiles que pueden atraer y retener en largo y/o corto tiempo y distancia al parasitoide.

Por lo anterior se plantea los siguientes objetivos:

- Determinar la fuente de atracción química que contribuye al encuentro del huésped de *C. stephanoderis*, parasitoide de la broca del café; y
- Conocer el efecto de esta fuente de olor a corto y largo tiempo y distancia.

REVISION DE LITERATURA

La Broca del Café *Hypothenemus hampei*

La broca de café es la mayor plaga del café en el mundo. Esta plaga es endémica de Africa central fue introducida en Brasil desde el continente africano antes de 1925 y de ahí pasó a Guatemala en 1971 (Baker *et al.*, 1989). Fue descubierta por primera vez en México en 1978. En México la broca se distribuye en Chiapas, Oaxaca, Veracruz, Guerrero y Puebla (Barrera, 1998).

La hembra adulta se posa sobre el fruto de café para iniciar su perforación. En la mayoría de los casos, el sitio elegido es la corona del fruto, de donde se mueve hasta llegar a la semilla a través de una pequeña cavidad, lugar donde inicia la oviposición (Bergamin, 1943).

Los huevecillos tienen una medida de 0.45 mm a 0.83 mm de largo, color blanco translúcido, el período de incubación es en promedio de 7.6 días; la larva dura 13.5 días en promedio, y se alimenta de la semilla hasta lograr su crecimiento; el estado de prepupa se alcanza entre los 2 a 6 días y después de 6.4 días como promedio se forma la pupa (Hernández y Sánchez, 1972).

El ciclo de vida completo desde huevecillo a adulto es de 27.5 días en promedio (Bergamin, 1943; Hernández y Sánchez, 1972).

El daño causado por el adulto en la pulpa y por las larvas en la semilla es la reducción de la calidad del grano y algunas veces también abscisión del fruto (Vega *et al.*, 1999; Moore, 1990).

Ubicación taxonómica

La clasificación taxonómica de la broca del café de acuerdo a Borror *et al.* (1981) y Wood (1982), se presenta a continuación:

Phyllum:	Arthropoda
Subphyllum:	Urinamia
Clase:	Hexapoda (insecta)
Orden:	Coleoptera
Suborden:	Polyphaga
Superfamilia:	Curculionoidea
Familia:	Scolytidae
Subfamilia:	Scolytinae
Tribu:	Cryphalini
Género:	<i>Hypothenemus</i>
Especie:	<i>hampei</i>

El control biológico de la broca del café

El primer reporte que existe sobre el control biológico de la broca en América fue pocos años después del descubrimiento de ésta en Brasil en 1929, donde el Instituto Biológico de Sao Paulo realizó la introducción del parasitoide *P. nasuta*. Este fue reproducido y multiplicado en laboratorio para ser liberado masivamente en zonas cafetaleras infestadas por la broca y después de una larga fase de adaptación, se logró recuperar el parasitoide en fincas, donde con anterioridad se habían realizado liberaciones de campo (De la Rosa, 1993).

Para la broca del café se tienen registrados ocho parasitoides (Cuadro 1).

Cuadro 1. Especies de parasitoides de la broca del café (Le Pelley, 1968; Murphy y Moore, 1990; La Salle, 1990; Pérez-Lachaud, 1998; Damon, 2000).

Familia	Enemigo natural
Bethylidae	<i>Prorops nasuta</i> Waterson <i>Cephalonomia stephanoderis</i> Betrem <i>Sclerodermus cadavericus</i> Benoit <i>Cephalonomia hyalinipennis</i>
Braconidae	<i>Heterospilus coffeicola</i> Schmiedeknecht
Exyntidae	<i>Cryptoxilos</i> sp.
Eulophidae	<i>Phymastichus coffea</i> LaSalle
Ceraphronidae	<i>Aphanogmus dictynna</i>

En cuanto a depredadores, Klein-Koch *et al.* (1988) reportan en Brasil la incidencia del pirrocórido *Dinymus rubiginosus* (Fabricius) alimentándose del adulto de la broca, así como a la hormiga *Crematogaster curvispinosus* Mayr., la cual se alimenta de formas inmaduras que se encuentran en el interior del fruto de café. Además Damon (2000) menciona otros insectos, enemigos naturales de la broca, como son el coleóptero *Cathartus quadricularis* (Guerin-Meneville), el himenóptero *Crematogaster* sp. y el lepidóptero *Auximobasis coffeaella* (Busck).

Con la llegada de los plaguicidas, el control biológico en el Caribe, al igual que en otras áreas, fue prácticamente olvidado. Sin embargo, los diversos efectos adversos de los plaguicidas y el fracaso en el control de muchas plagas, han provocado que se que tenga que volver a las viejas prácticas de control. Actualmente, el control biológico se reconoce como una de las áreas principales de investigación y es un componente importante en las iniciativas de agricultura sostenible de varias instituciones y organizaciones (Cruz, 1994).

El control biológico de la broca en México se inició a finales de 1980, con la introducción del parasitoide *C. stephanoderis* y posteriormente se introdujo *P. nasuta*.

En México, el primero de estos parasitoides ha alcanzado niveles de parasitismo de 4% a 23% a los 9 y 13 meses después de la liberación en campo abierto respectivamente, mientras que del segundo, no se ha logrado su establecimiento en campo (Barrera *et al.*, 1990).

Posteriormente se utilizó el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Con esta especie, De la Rosa (1993) evaluó varias cepas sobre la broca en Chiapas; sin embargo, los resultados de laboratorio distaron mucho de los de campo. Actualmente, ambos agentes de control biológico son usadas contra la broca (Barrera, 1998). *P. coffea* es el tercero y último parasitoide que se ha intentado introducir a México. En la década pasada, los intentos de introducirlo resultaron infructuosos (Infante *et al.*, 1994).

Cephalonomia stephanoderis

Lauzière *et al.* (2000) describen la secuencia de comportamiento y actividades diarias de preoviposición y oviposición de hembras de *C. stephanoderis* (encuentro-examen del huésped, piquete-prueba del huésped, alimentación, oviposición, caminar y descansar), un ectoparasitoide de la broca del café, encontrando notables diferencias de comportamiento entre la preoviposición y la oviposición de hembras al examinar el hospedero. La hembra de *C. stephanoderis* se alimenta primeramente de los huevecillos y pupas de su hospedero y posteriormente oviposita.

Ciclo de vida

La hembra de *C. stephanoderis* entra a un fruto de café y oviposita sus huevecillos, uno por huésped sobre la parte ventral de las larvas del último estadio (Ticheler, 1961), prepupas y pupas de *H. hampei* (Koch, 1973). La larva al eclosionar hunde su cabeza dentro de su hospedero y succiona su interior quedando solo la cutícula, posteriormente teje un capullo de seda que elabora algunas veces en el

interior de la galería, o más frecuentemente en el espacio entre la semilla y el pergamino (Ticheler, 1961).

Los machos pueden penetrar a los cocones donde se encuentran las hembras para aparearse, de esa manera, las hembras al salir de los frutos ya están fecundadas. La nueva progenie emerge del fruto entre los 21 y los 32 días después de ser colocados en recipientes de cría (Koch, 1973). La relación encontrada en campo por Ticheler (1961) fue de 1:5 machos:hembras y de 1:3 por Koch (1973).

Su ciclo biológico ha sido estudiado por Koch, (1973) quien afirma que este parasitoide es sinovigénico, es decir, requiere alimentarse para producir huevecillos. El período de preoviposición es de 2 días, durante el cual se alimenta de 2 huevecillos, 2 pupas y 2 adultos por día; también menciona que en condiciones in vitro, *C. stephanoderis* tiene partenogénesis del tipo arrenotoquia. En 10 días las hembras vírgenes ovipositan 3.2 huevecillos en promedio y las fecundadas 5.9; así mismo, se observa que la vida de un parasitoide con una pupa de alimento será de 26.6 días, y cuando tiene 8 pupas vivirá 40.3 días.

Ubicación taxonómica

Según Borror *et al.* (1981) y Evans (1964), la clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino:	Animal
Phyllum:	Arthropoda
Subphyllum:	Urinamia
Clase:	insecta
Orden:	Hymenoptera
Suborden:	Apocrita
Superfamilia:	Bethyloidea
Familia:	Bethylidae
Subfamilia:	Epyrinae
Tribu:	Cephalonomiini

Género: *Cephalonomia*
Especie: *stephanoderis*

Conducta de Localización de Huésped por Parasitoides

El desempeño de los parasitoides puede ser predicho a través de estudios ecológicos, evaluando sus características conductuales, mismas que determinan la eficacia de las especies como agentes de control biológico (Mattiacci *et al.*, 1999). La conducta de localización del huésped es comúnmente dividida en localización del hábitat y aceptación del huésped (Vinson, 1985).

Los parasitoides pueden usar señales de corta y larga distancia, las cuales pueden incluir señales visuales, químicas, auditivas y táctiles (Godfray, 1994), generalmente el estímulo químico juega un papel preponderante durante el proceso de localización del huésped (Vet y Dicke, 1992). Sin embargo, es probable que el color sea el estímulo de largo alcance mas importante; se ha documentado que el color amarillo es el más preferido (Vargas *et al.*, 1991). Existen algunos casos de parasitoides que durante el proceso de localización usan sonidos emitidos por el huésped como un estímulo para localizarlo. El parasitoide *Sympiesis sericeicornis* altera su conducta de acuerdo a la vibración producida por el movimiento y agitación de su huésped, el minador *Phyllonorycter mallela* (Meyhofer *et al.*, 1997).

Howard *et al.* (1998) reportan algunas de las modalidades sensoriales que la hembra de *Cephalonomia tarsalis* usa para encontrar, organizar y aceptar a su huésped *Oryzaephilus surinamensis* y describe un etograma del comportamiento del parasitoide desde su búsqueda inicial hasta depositar sus huevecillos.

El valor de la información usada por los parasitoides depende de dos factores: 1) la confiabilidad del estímulo para indicar la presencia, accesibilidad y disponibilidad del herbívoro y 2) el grado de detectibilidad del estímulo (Vet y Dicke, 1992). El estilo de vida del huésped puede tener una gran influencia en el tipo de estímulos usados por los parasitoides durante la localización del huésped, es decir,

las señales usadas pueden diferir dependiendo si los parasitoides atacan huevecillos, larvas, pupas o huéspedes adultos (Vinson, 1998).

La conducta de localización del huésped solo ha sido estudiada en dos especies de Bethyidae, una familia que incluye 2000 especies. Howard y Flinn (1990) encontraron que compuestos químicos dejados por las larvas de *Cryptolestes ferrugineus* son usados como un estímulo por *Cephalonomia waterstoni* durante el proceso de localización del huésped.

En Eulophidae solo se ha investigado la conducta de localización del huésped en siete especies, de una familia que comprende 3400 especies. La mayoría de las especies investigadas usan los estímulos químicos como una señal de largo y corto alcance para localizar a su huésped y solo una especie usa la vibración de su huésped como señal de localización (Meyhofer *et al.*, 1997). El estímulo químico puede tener su origen en el huésped (Leonard *et al.*, 1987; Suiter *et al.*, 1996), en la planta (Murai *et al.*, 2000) o de la interacción de la planta con el herbívoro (Finidory *et al.*, 1996; Meiners *et al.*, 2000).

Semioquímicos

Son sustancias químicas usadas en la comunicación entre individuos de la misma especie o entre miembros de diferentes especies, se dividen en feromonas y aleloquímicos, las feromonas son sustancias secretadas por un organismo al exterior causando una reacción específica en otro organismo de la misma especie; es decir, es una relación intraespecífica (Nordlund y Lewis, 1976). Los aleloquímicos son sustancias producidas por un organismo, que inducen una respuesta en un individuo de diferente especie; es por tanto, una relación interespecífica (Whitaker, 1970a; 1970b) y se dividen en:

1. Alomonas: benefician al emisor y dañan al receptor (Nordlund Y Lewis, 1976).
2. Kairomonas: benefician al receptor dañan al emisor (Nordlund y Lewis, 1976).

3. Sinomonas: benefician al emisor y al receptor (Brown *et al.*, 1970).
4. Apneumonas: son sustancias químicas emitidas por un material sin vida que favorecen al receptor pero que son dañinas para otros organismos que se encuentran dentro o sobre este (Nordlund y Lewis, 1976).

Componentes volátiles del fruto de café

En frutos maduros y frescos de la especie *C. arabica* se identificaron 28 sustancias volátiles; de los cuales diez son alcoholes, nueve aldehídos, cinco cetonas y cuatro monoterpenos. Los cinco compuestos más abundantes, en orden decreciente son: hexano (21%), 2-E-hexenal (11%), 3-metil-1-butanol (9.0%), 3-metil-1butanal(8.5%) y 1-hexanol (8.4%). Los cinco volátiles menos abundantes de los 28 identificados, en orden creciente son: decanal (0.19%), metil hexanoato (0.33%), pulegona (0.44%), x-isomentona (0.45%), y 2-nonanona (0.55%) (Warthen *et al.*, 1997).

Características del Metanol y Hexano

Metanol

El metanol se denomina alcohol metanólico o alcohol "de madera" porque originalmente se obtenía de la destilación de esta materia prima en ausencia de aire. Actualmente puede producirse a partir de gas natural, carbón, madera, e incluso de residuos orgánicos (biomasa celulósica). Es el más simple de los alcoholes y se caracteriza por ser incoloro; su ingestión causa ceguera porque destruye irreversiblemente el nervio óptico (Hassall,1990).

Su fórmula química es: CH₃OH.

Hexano

El n-hexano es una sustancia química manufacturada del petróleo crudo. El hexano puro es un líquido incoloro de olor levemente desagradable. Es sumamente inflamable y sus vapores pueden explotar.

Los laboratorios usan n-hexano puro. La mayor parte del n-hexano usado en industria se mezcla con sustancias químicas similares llamadas solventes. El uso principal de los solventes que contienen n-hexano es en la extracción de aceites vegetales (Hassall,1990).

Características del hexano:

- Se evapora muy fácilmente al aire donde es degradado.
- Es poco soluble en agua.
- La mayor parte del n-hexano que se derrama al agua flotará en la superficie, de donde se evapora al aire.
- Si se derrama n-hexano en la tierra, la mayor parte se evaporará antes de penetrar el suelo.

Ni plantas ni animales acumulan n-hexano (Hassall,1990).

MATERIALES Y METODOS

Lugar de estudio

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de Broca del café y Ecología química de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), ubicado en la ciudad de Tapachula de Córdoba y Ordóñez, Chiapas, México.

Material Biológico

Frutos

Se utilizaron frutos de café de la especie *C. arabica* cultivada comercialmente en la región del Soconusco, Chiapas, Méx. Se usaron frutos rojos, amarillos y verdes; para los frutos infestados, fueron seleccionados aquellos que tuvieron mayor población de inmaduros, esto se realizó por medio de la observación directa, seleccionando los frutos que presentaron un aserrín que son los desechos que emite la broca al alimentarse, el cual es de color verde oscuro y está presente en el orificio que hace la broca al perforar el fruto; para facilitar esta observación, se colocaron los frutos en charolas de 30 x 40 cm, con papel toalla blanco en la base. Los frutos infestados presentaron de 14 a 20 individuos que pudieron estar presentes en fases de larvas/prepupas/pupas, y de 1 a 2 adultos por fruto. Los frutos dañados mecánicamente fueron perforados con una broca metálica causándoles de 5 a 10 perforaciones / fruto. Los frutos sanos al igual que los anteriores fueron colectados de 1-2 días antes de la realización del bioensayo. Como testigo se usaron frutos artificiales (canicas) de los colores de los frutos.

Inmaduros de broca del café

En este tratamiento se retiraron de los frutos los inmaduros, evaluando de 9 a 12 larvas/prepupas/pupas, los que se refrigeraron por una hora para eliminar la posibilidad de que el parasitoide sea atraído por algún movimiento de estos, o por algún sonido que emitan, ya que con la refrigeración estos parasitoides entran en diapausa. Posteriormente se corrió otro tratamiento con inmaduros; los que fueron lavados con metanol durante un minuto y secados por 2-3 minutos; por último se utilizaron inmaduros los cuales fueron lavados con hexano por un minuto y secado durante 2-3 minutos, estos individuos murieron.

Excretas

Son desechos fecales que emite la broca al alimentarse, los cuales se colectaron con una bomba de vacío tipo pecera con polaridad inversa.

Se utilizó este material sin lavar, lavado con metanol por una hora y secado durante 15 minutos e igualmente lavado con hexano.

Extractos Hexánicos y Metanólicos

Se evaluaron extractos hexánicos y metanólicos a una relación 1:1, es decir, 1 mL de hexano o metanol / g de excretas, inmaduros o adultos de broca. El procedimiento es el siguiente:

Se disectó frutos de café para obtener 1 g de brocas adultas y 1 g de inmaduros (larvas/prepupas/pupas), posteriormente se les agregó 1 mL de hexano o metanol según sea el caso, y se agitó durante 5 min. El líquido que se obtuvo fue utilizado en los bioensayos.

Para el caso de excretas se colectó un g de aserrín de frutos previamente seleccionados, y se procedió de igual manera que el anterior, usando metanol y hexano.

Estos extractos se mantuvieron bajo refrigeración a 0° C, durante 90 minutos.

Cría de *Cephalonomia stephanoderis*

Se usaron *C. stephanoderis* hembras “sin experiencia”, los cuales fueron criados usando las técnicas y condiciones descritas por diferentes autores (Barrera *et al.*, 1989; Abraham *et al.*, 1990; Infante *et al.*, 1994; Villacorta y Barrera, 1996). Brevemente se describe la metodología como sigue:

- A) En recipientes de plástico con un diámetro de 20 – 25 cm y altura de 8 cm, fueron colocados frutos infestados por la broca procedente de campo evitando que se formaran más de una capa de frutos en el fondo de los recipientes. Estos frutos se seleccionaban previamente utilizando aquellos en donde se observaba que el polvo que salía por la perforación hecha por la broca fuera de una coloración verde oscuro, característica que denotaba que la población de estados inmaduros dentro de las cerezas era la adecuada para la reproducción de los parasitoides.
- B) Los parasitoides eran introducidos en número igual o menor que el de frutos dependiendo de la buena selección previa de los frutos, tapándose los recipientes inmediatamente después; cabe mencionar que las tapaderas tenían una maya fina de tela de organza en el centro para la oxigenación del recipiente.
- C) A los 20 a 25 días después de la parasitación, se iniciaba la revisión de los recipientes, limpiándolos primeramente para iniciar posteriormente la colecta de los parasitoides de la nueva generación, ya que su ciclo es aproximadamente de esa duración. Estos podían ser colectados de dos formas, en el primero de los casos, se atrapaban los parasitoides con pinceles de cerda fina y se colocaban en tubos de vidrio de fondo plano (2 x 6 cm), también se realizaba la colecta con la bomba de aire con polaridad inversa, la

cual absorbía a los parasitoides llevándolos hacia un recipiente de plástico en el cual quedaban atrapados.

Infraestructura

- Un cuarto oscuro con temperaturas controladas
- Olfatómetros cónico, tipo "Y" y cajas Petri
- Un luxómetro
- Un higrotermógrafo
- Dos cronómetros
- Una lámpara portátil con luz roja (12 lux)
- Tubos de ensaye con base plana
- Cajas Petri de cristal de 5.5 cm de diámetro X 0.9 cm de altura
- Frutos artificiales (canicas rojas, amarillas y verdes)
- Una bomba de aire con polaridad inversa
- Pinceles de cerda fina chica
- Una cuarto con luz blanca homogénea (1767 lux), con temperaturas controladas

Bioensayos

Olfatómetro cónico

Este olfatómetro consistió en un embudo de vidrio, con base cónica con una altura de 5.5 cm, cuyo diámetro mayor fue de 6.6 cm y el diámetro menor de 0.8 cm y un tubo con una altura de 14.2 cm y un diámetro interno de 0.8 cm. El embudo fue invertido y colocado sobre una caja Petri en la cual se incluyeron los tratamientos a evaluar en forma separada: (3 frutos artificiales, 3 frutos sanos, 3 frutos dañados mecánicamente o 3 frutos infestados y coloraciones diferenciales como rojo, amarillo y verde), algunos frutos infestados tenían presencia de excretas. No se utilizó flujo de aire.

Los parasitoides fueron colocados previamente en tubos de vidrio de fondo plano (15 parasitoides / tubo) y aclimatados por un lapso no menor de 2 h a las condiciones usadas en los bioensayos que siempre fue de; luz roja, 12 lux; 26 ± 1 °C; 60 – 70 % HR, con la finalidad de mantenerlos inactivos. Posteriormente cada uno de los tubos con parasitoides fueron colocados sobre el tubo del olfatómetro de los diferentes tratamientos y la respuesta de estos fue observada durante 20 minutos. El número de hembras que se movieron hasta más allá de la base cónica fue registrado como positivo (atracción). En total 15 repeticiones por tratamiento fueron realizadas.

Diseño experimental

Los resultados fueron transformados a arco seno \sqrt{x} y evaluados en un análisis de varianza completamente al azar. En total se realizaron 4 análisis de varianza, uno para los frutos rojos, el segundo entre los amarillos, otro entre verdes y el último se hizo comparando frutos infestados de las tres coloraciones.

Olfatómetro tipo “Y”

El olfatómetro tipo “Y” usado ha sido descrito anteriormente por Vander Meer *et al.* (1989). Brevemente, el olfatómetro está hecho de dos juntas de vidrio de 20 / 40, unidas a los brazos del tubo de 5 cm en forma de “Y”. Las fuentes de olor evaluadas fueron colocadas al final de las juntas de vidrio. El olor de las juntas fue proyectado por aire previamente purificado y controlado por un par de flujómetros. Se usó un flujo de 0.2 L/min, usando una bomba de aire. Los parasitoides fueron colocados de 5 en 5 en tubos de 7 cm de longitud x 0.8 cm de diámetro interno, hechos de pipetas sexológicas, donde se dejaron reposar y aclimatar los parasitoides hembras por lo menos 1 h bajo luz blanca con una intensidad de 1767 lux, con el objetivo de mantenerlos sin movimiento durante el ensayo y evitar que el movimiento que se efectúe por los parasitoides sea por alguna feromona de alarma, los que afectaría su respuesta natural. Todas las uniones fueron hechas con tubo de teflón. Después, el tubo que contenía los parasitoides fue conectado al final del tubo “Y”. La elección del

parasitoide por cualquiera de los dos brazos del olfatómetro fué registrada. El bioensayo terminó una vez que los parasitoides llegaron al final de alguna de las dos juntas de vidrio o que no hayan dejado el tubo de liberación después de 10 min de observación. Después de cada observación, el olfatómetro fue desarmado y lavado con agua, jabón neutro y acetona, y secado a 100 °C / 2 h y enfriado por 10 min antes de iniciar nuevamente los bioensayos (una vez por día), y después de cada 5 repeticiones se lavó nuevamente y se secó por 5 minutos para evitar problemas de contaminación. Después de cada bioensayo, la posición de la fuente de olor fué cambiada de junta para evitar cualquier sesgo experimental.

La atracción de las fuentes de olor fue evaluada como positivo cuando las hembras quedaron en alguno de las dos secciones de la “Y”, usando como comparación la respuesta al aire limpio. Así, típicamente una fuente de olor, por ejemplo fruto sano, fruto dañado mecánicamente o fruto infestado fue colocado en una junta de vidrio, mientras que en la otra junta se utilizaron frutos artificiales del mismo color del fruto por donde corrió el aire limpio, para evitar que su atracción sea por el color del fruto.

Además, se evaluó el comportamiento del parasitoide respecto a adultos de broca del café sin lavar comparadas con aire limpio y en otros tratamientos se compararon estos adultos contra brocas adultas lavadas con metanol y hexano por separado.

También se evaluaron de 9 a 13 larvas/prepupas/pupas, comparados con aire limpio, larvas/prepupas/pupas lavados con metanol y lavados con hexano.

Por último se utilizó excretas sin lavar, y se comparó con aire limpio y con este material lavado con metanol y hexano por separado.

Los diferentes tratamientos evaluados fueron colocados en un recipiente hecho de una pipeta serológica, la cual permitía el paso de olores e impedía que los

parasitoides tuvieran contacto directo con estos. Los bioensayos se realizaron bajo luz blanca homogénea con una intensidad de 1767 lux, temperaturas de 26 ± 1 °C y una HR de 60 –70 %.

En total se realizaron 15 repeticiones por tratamiento.

Diseño experimental

Los datos fueron transformados a arc seno \sqrt{x} (Reyes,1982) y analizados en pruebas apareadas, ya que los tratamientos se evaluaron en pruebas de no elección. En total se realizaron 18 análisis (Para frutos, adultos, inmaduros y excretas de broca).

Cajas Petri

En la evaluación en cajas Petri, se utilizaron 8-10 larvas/prepupas/pupas refrigeradas, 8-10 larvas/prepupas/pupas lavadas con metanol y 8-10 larvas/prepupas/pupas lavadas con hexano.

Se evaluó además excretas sin lavar, lavado con metanol y con hexano.

Los diversos tratamientos fueron colocados en el centro de la caja de vidrio, y se introdujo una hembra de *C. stephanoderis* en un extremo, se tapó y se tomó como respuesta positiva el llegar al centro donde se ubicó el material, y se midió el tiempo en que el parasitoide llegaba al centro y el tiempo que permanecía ahí.

Se realizó un total de 50 repeticiones / tratamiento.

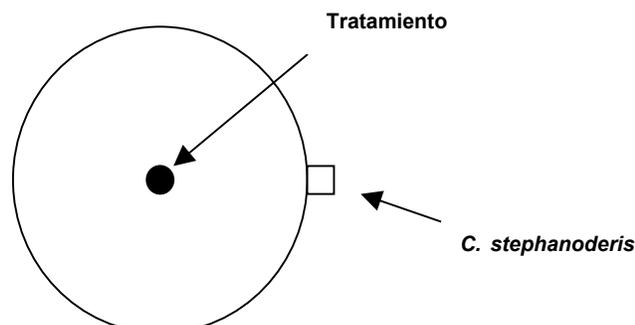


Figura 1. Posición de la hembras *Cephalonomia stephanoderis* y material tratado en cajas Petri.

Por ultimo se evaluaron extractos metanólicos y hexánicos de brocas adultas, inmaduros y frass.

Se colocó papel filtro en la base de cada caja petri, el cual estaba dividido en cuatro partes iguales y en centro se marco un círculo de 1.2 cm de diámetro. Con una micro pipeta graduada se aplicó 100 μL en dos partes, 50 en un cuadrante en forma intercalada, es decir, una parte con hexano, una sin nada y así sucesivamente. Posteriormente se colocó un parasitoide en el centro y se anotó el tiempo que permanecía en el testigo (parte sin extracto) y en el extracto.

En total se realizaron 30 repeticiones por tratamiento.

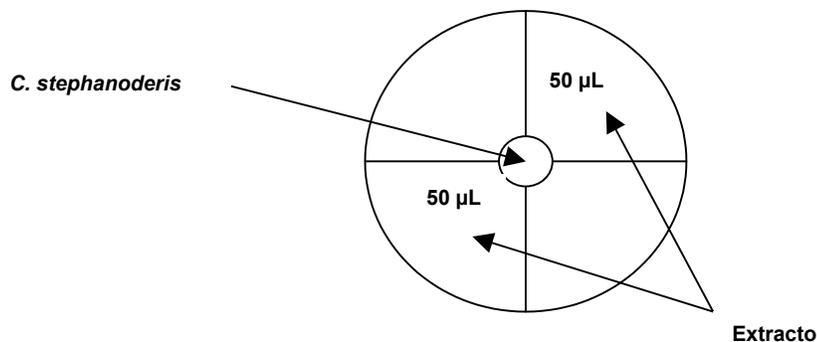


Figura 2. Posición de la hembras *Cephalonomia stephanoderis* y extractos en cajas Petri.

Los bioensayos fueron realizados bajo las siguientes condiciones: 60-70 % HR, 26 ± 1 °C y luz blanca homogénea de 1767 lux. La caja de vidrio tiene un diámetro interno de 5.5 cm y una altura de 0.9 cm.

Diseño experimental

De los datos obtenidos de los bioensayos con inmaduros y excretas solo fueron utilizados para su análisis aquellos en donde hubo respuesta. En total se realizaron dos análisis de varianza completamente al azar, uno para comparar el tiempo de llegada del parasitoide a los inmaduros refrigerados, inmaduros lavados con metanol y lavados con hexano; y otro para comparar excretas sin lavar con este material lavado con metanol y con hexano.

El tiempo de permanencia (min) en los tratamientos antes mencionados se evaluó en pruebas de Kruskal-Wallis. Los datos que se obtuvieron de la respuesta a inmaduros no fueron transformados; sin embargo, los que se obtuvieron de la respuesta a excretas se transformaron a raíz cuadrada de x.

Cuadro 2. Bioensayos realizados en los diferentes Olfatómetros y cajas Petri.

Bioensayos	Efecto de atracción en <i>C. stephanoderis</i>	Tratamientos evaluados
Olfatómetro cónico	Frutos	Rojos, amarillos y verdes
Olfatómetro tipo "Y"		Artificiales Sanos Dañados mecánicamente Infestados
Olfatómetro tipo "Y"	Inmaduros, adultos y excretas	Sin lavar
Cajas Petri		Lavados con metanol Lavados con hexano
Cajas Petri	Extracto de inmaduros, Adultos y excretas	Metanólico Hexánico

RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se presentan los resultados de los bioensayos realizados en atención a los tipos de orientación del trabajo, que son:

Efecto de atracción de: A) Madurez de frutos de café, B) Estados de desarrollo y excretas de broca del café y C) Extractos de estados de desarrollo y excretas; sobre el parasitoide.

Efecto de la Atracción de la Madurez del Fruto de Café en *C. stephanoderis*

Para conocer la atracción de madurez de frutos del café, se realizaron los bioensayos en el olfatómetro cónico y tipo "Y".

Como se muestra en el cuadro 3, en estudios realizados en el olfatómetro cónico, estadísticamente, los parasitoides no son atraídos por los frutos artificiales de diferente color, y la respuesta que hay hacia estos es al azar; por lo tanto, se afirma que el color no es el que atrae. Por otra parte, los frutos maduros (rojos) atraen al parasitoide de un 17 a 21 %, los que es un porcentaje relativamente alto comparado con la respuesta a frutos con madurez inicial (amarillos), que presenta una atracción intermedia que va de 5 a 7 % de respuesta. En frutos verdes no hay efecto de atracción. En atención a lo antes señalado, en las figuras 3 y 4 se puede realizar una comparación y análisis más claro de los resultados antes señalados. Los análisis de varianza de los datos obtenidos se presentan en los cuadros 12, a 14 del anexo.

Cuadro 3. Promedios del porcentaje de la respuesta de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a frutos de café evaluados en el olfatómetro cónico.

Estados de madurez del fruto	Frutos de <i>Coffea arabica</i>			
	Artificiales	Sanos	Dañados mecánicamente	Infestados*
Maduros (Rojos)	3.48	16.96	12.43	21.15
Inicio e madurez (Amarillos)	1.95	4.58	6.55	6.79
Inmaduros (Verdes)	1.03	2.05	1.05	2.78

* *Hypothenemus hampei*

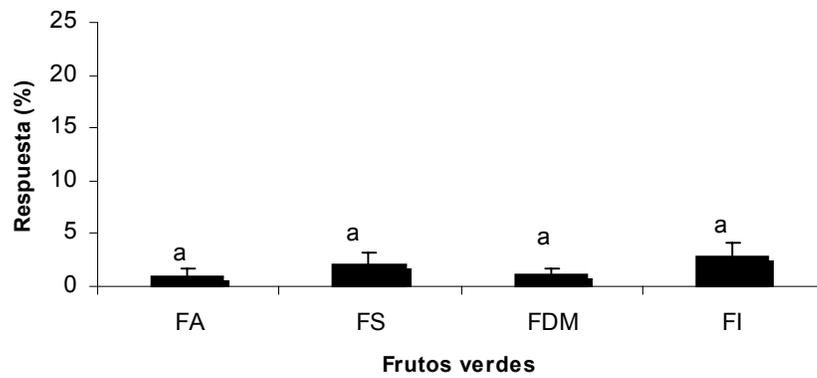
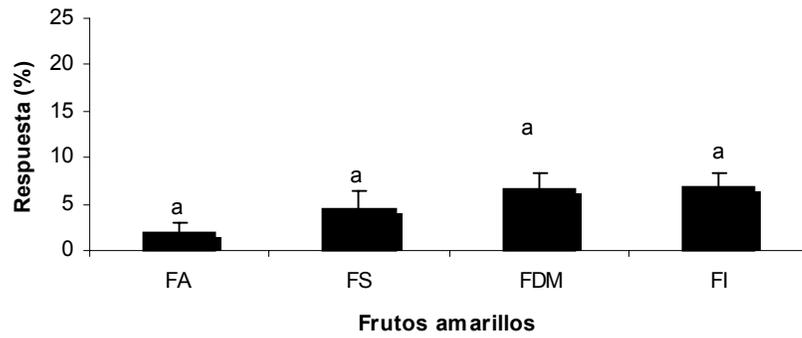
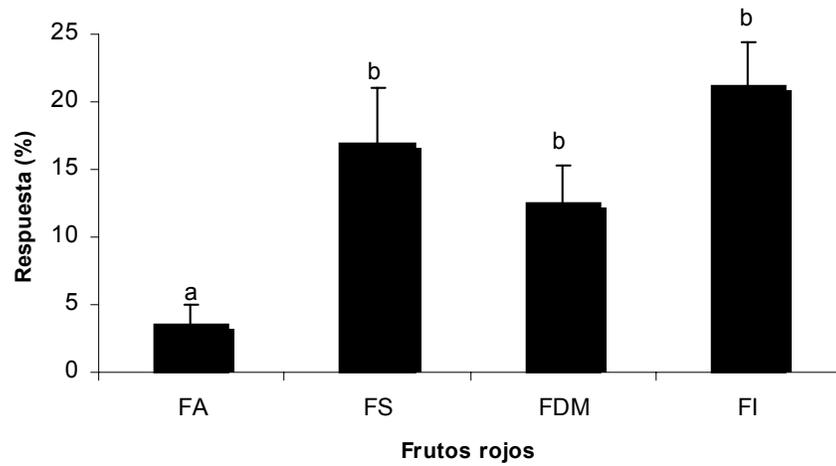


Figura 3. Respuesta de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a frutos de diferente color evaluados en el olfatómetro de cono, y prueba de Tukey al 0.05. FA, fruto artificial; FS, fruto sano; FDM, fruto dañado mecánicamente; FI, fruto infestado.

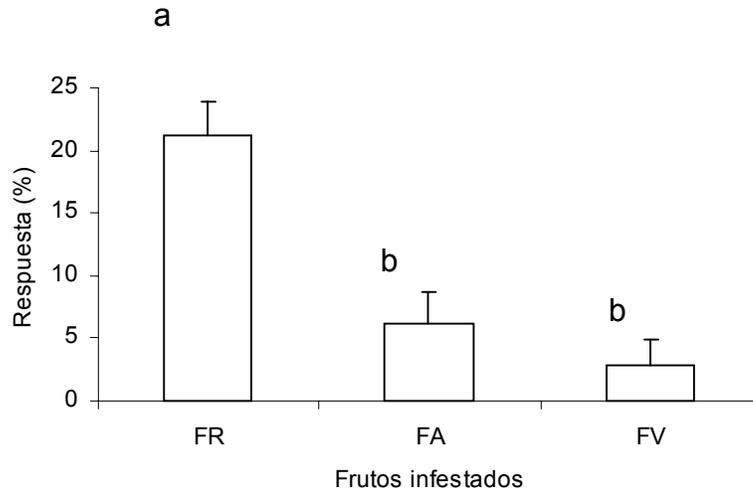


Figura 4. Respuesta de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a frutos infestados por *Hypothenemus hampei*, evaluados en el olfatómetro de cono; y prueba de Tukey al 0.05. FR, fruto rojo; FA, fruto amarillo; FV, fruto verde.

Por otra parte en estudio complementario con el olfatómetro tipo “Y” en el cuadro 4 se muestra la evaluación que se realizó utilizando los mismos tratamientos que el estudio anterior. Los resultados obtenidos demostraron que, estadísticamente no hay atracción hacia los frutos artificiales, y que la respuesta a estos es al azar; datos que corroboran que la respuesta del parasitoide no es por el color; así mismo, los frutos maduros (rojos) atraen más que los frutos con madurez inicial y verdes. Esto lo podemos apreciar más claramente en la figura 5, donde a su vez se aprecia que los frutos maduros infestados presentan el mayor grado de atracción a las hembras de *C. stephanoderis*.

Cuadro 4. Promedios del porcentaje de la respuesta de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a frutos de café con diversas condiciones, en pruebas de no elección evaluados en el olfatómetro tipo “Y”.

Estados de madurez del fruto	Frutos de <i>Coffea arabica</i>					
	Infestados	Artificiales	Dañados mecánicamente	Artificiales	Sanos	Artificiales
Rojos	26.66	17.33	17.33	16.00	13.33	14.66
Amarillos	18.66	14.66	17.33	14.66	5.33	12.00
Verdes	12.00	8.00	14.66	18.66	8.00	6.66

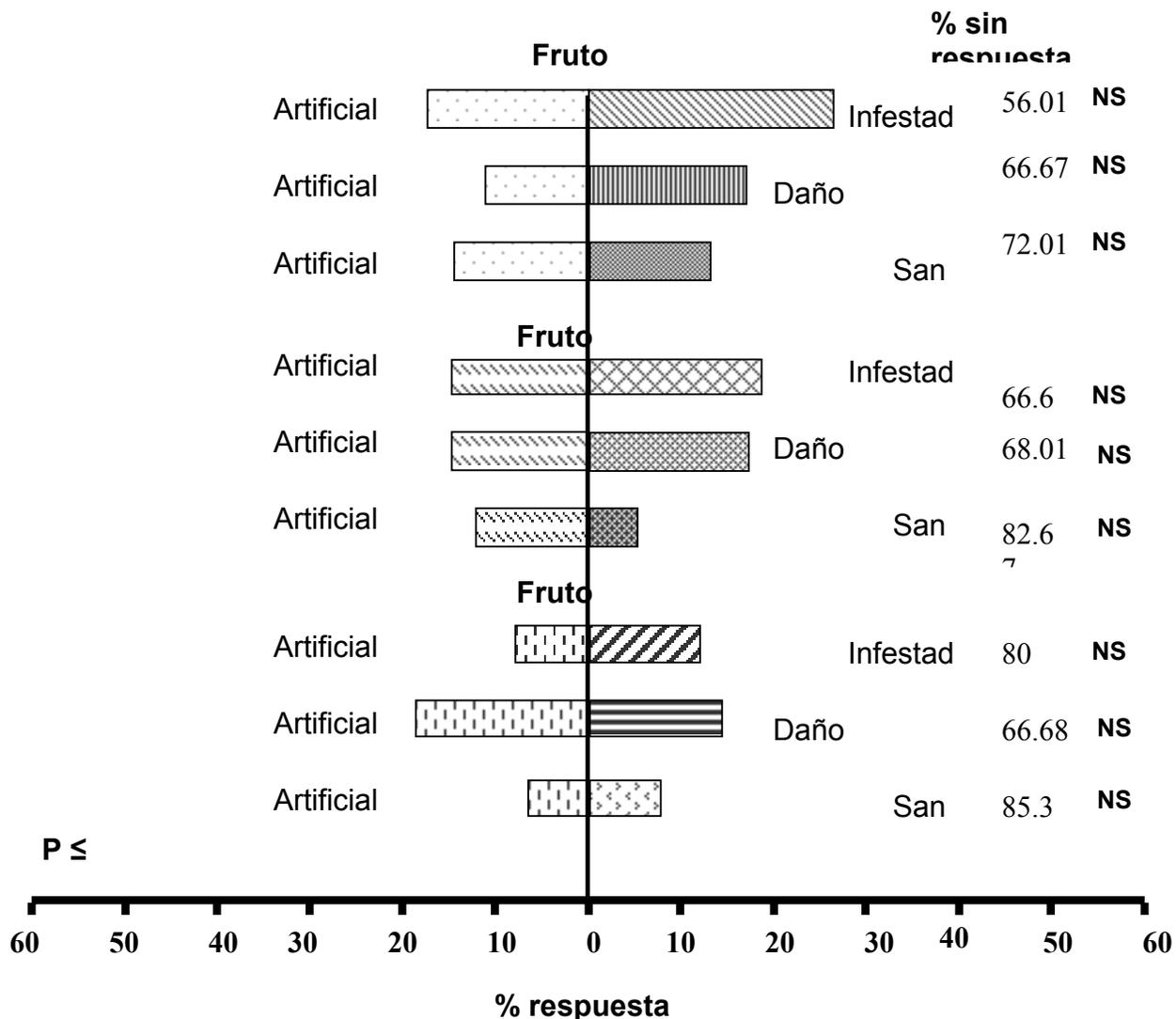


Figura 5. Porcentaje de respuesta de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a frutos de *Coffea arabica* con diferente madurez; sanos, dañados mecánicamente e infestados por *Hypothenemus hampei*; comparados con frutos artificiales; evaluados en el olfatómetro tipo "Y". (NS = No significativo).

Como se ha estudiado, la preferencia por los frutos maduros (rojos) respecto a los frutos con madurez inicial e inmaduros demuestran que estos poseen compuestos volátiles atrayentes del parasitoide; sin embargo, esta atracción es mínima. Tal como lo menciona Mendoza-Mora (1991), los frutos rojos comparados con los amarillos y verdes son más atractivos para la broca del café; es posible que este comportamiento lo haya desarrollado el parasitoide por su dependencia a la

broca, la cual presenta su desarrollo generalmente dentro de frutos maduros y en menor grado en amarillos.

Efecto de la Atracción de Adultos, Inmaduros y Excretas de Broca del Café en *C. stephanoderis*

La atracción de adultos, inmaduros y excretas de broca en *C. stephanoderis* fue evaluada en el olfatómetro tipo “Y” y en cajas Petri.

En lo que respecta a los resultados obtenidos en el olfatómetro tipo “Y”, según el efecto de atracción de adultos, inmaduros y excretas de broca; sin lavar y lavados con metanol y hexano (Cuadro 5); se tiene que al utilizar aire puro, hay una respuesta de 18.6 a 21.3 %, para todas las pruebas; esto se atribuye a que el flujo de aire por si solo tiene un efecto mínimo de atracción, sobre todo cuando las otras fuentes posible de atracción presentaron un efecto pobre sobre la hembra de *C. stephanoderis*.

Los adultos de broca no fueron atractivos para el parasitoide; por lo tanto, las hembras de *C. stephanoderis* responden al azar. Para el caso de los inmaduros sin lavar hay una ligera tendencia a mayor atracción de la hembra del parasitoide, dado que conserva los atrayentes que posee; sin embargo, estadísticamente no hay diferencia significativa.

Las excretas resultaron las más atractivas para los parasitoides; Así, al comparar excretas lavadas con hexano contra excretas sin lavar y lavadas con metanol, estos últimos fueron mas atractivos; con esto se afirma que el metanol no elimina los atrayentes o gran parte de ellos. Los resultados anteriores se presentan gráficamente en la figura 6.

Cuadro 5. Promedios del porcentaje de la respuesta de hembras de *Cephalonomia Stephanoderis* a adultos, inmaduros vivos y excretas de *Hypothenemus hampei* contra material lavado con metanol y hexano de los estados anteriores, en pruebas de no elección, evaluados en el olfatómetro tipo “Y”.

	Recipiente vacío	Lavado con	
		metanol	hexano
			Adultos
	21.33	21.33	17.33
Testigo sin lavar (vivos)	20.00	21.33	20.00
			Inmaduros
	20.00	24.00	21.33
Testigo sin lavar (vivos)	30.66	25.33	24.00
			Excretas
	18.66	16.00	18.66
Testigo sin lavar	56.00	48.00	32.00

Con lo que corresponde a las pruebas en cajas Petri, se recuerda que en este caso se trata de evaluar el efecto de atracción de *C. stephanoderis* a olores de inmaduros a corta distancia (cajas Petri), eliminando sonidos y movimientos, a través de inactivar los inmaduros con frío a 0°C por 90 min cubiertos con papel toalla para reducir el riesgo de congelación.

En el cuadro 6 se puede apreciar que el parasitoide se tarda alrededor de 3 minutos para encontrar su huésped, respuesta que se atribuye a los olores cuticulares de los inmaduros naturales y en los lavados con metanol, contrario a los lavados con hexano, los cuales retardaron el encuentro-huésped en el doble de tiempo. Esto se refleja también en el tiempo de permanencia, el cual es relativamente alto cuando no es lavado con hexano. Con esto se dice que el parasitoide busca el sitio para oviposición durante 1.2 min en promedio, una vez que localiza la fuente de atracción.

El porcentaje de respuesta a inmaduros naturales (sin lavar) es alrededor de 76 %, mientras que para los lavados es de 58 %. Esto se aprecia con más claridad en la figura 7.

No se corrieron pruebas para adultos de broca, ya que como se ha demostrado, estos no atraen al parasitoide, además de que *C. stephanoderis* es parasitoide de inmaduros exclusivamente, razón de dicha respuesta.

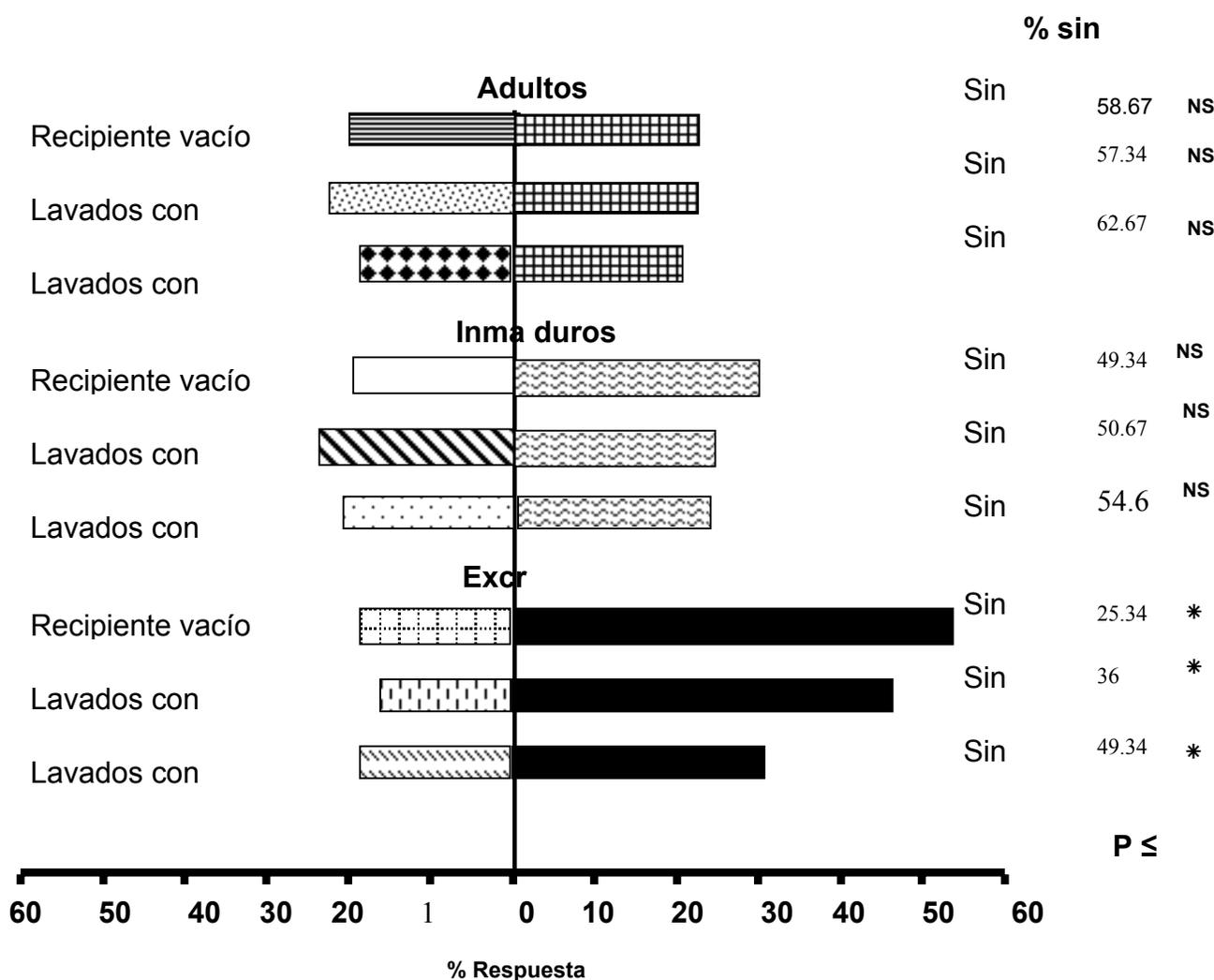


Figura 6. Porcentaje de respuesta de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a brocas adultas, inmaduros y excretas de *Hypothenemus hampei*, sin lavar y lavados con metanol y hexano, en pruebas de no elección en el olfatómetro tipo "Y". (NS = No significativo; * = Diferencia significativa).

Cuadro 6. Promedios en minutos de la respuesta de llegada y permanencia de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a inmaduros de *Hypothenemus hampei*, evaluados en cajas Petri.

Tratamientos evaluados*	Llegada	Permanencia	Sin respuesta (%)
Inmaduros refrigeradas	3.37	1.19	24.00
Inmaduros lavadas con metanol	3.75	1.22	42.00
Inmaduros lavadas con hexano	6.03	0.21	42.00

* Inmaduros= larvas, pupas y prepupas.

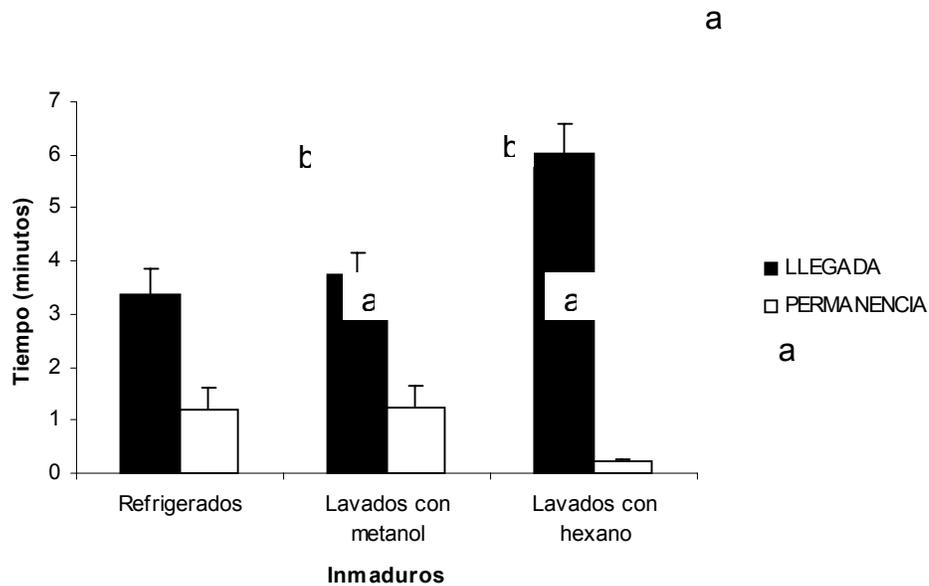


Figura 7. Respuesta en minutos de llegada y permanencia de hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a inmaduros de *Hypothenemus hampei* (larvas, prepupas y pupas) evaluados en cajas Petri, y prueba de Tukey al 0.05.

En el cuadro 7, se aprecia que el tiempo de llegada a excretas se reduce, lo cual indica que son más atractivos que los inmaduros. Esta es una especialización

que *C. stephanoderis* ha desarrollado, misma que utiliza la hembra como indicativo de que el fruto tiene inmaduros en actividad.

Por otra parte se observa que la respuesta de *C. stephanoderis* a compuestos volátiles de excretas oscila entre un 88 y 94 %; además, se puede apreciar dado que el estímulo es más intenso y el parasitoide está tratando de encontrar los inmaduros (Figura 8).

Cuadro 7. Promedios en minutos de la respuesta de llegada y permanencia de *Cephalonomia stephanoderis* a excretas de *Hypothenemus hampei*, evaluados en cajas Petri.

Tratamientos evaluados	Llegada	Permanencia	Sin respuesta (%)
Excretas sin lavar	1.8	1.93	12.00
Excretas lavadas con metanol	1.15	2.51	6.00
Excretas lavadas con hexano	2.09	2.14	12.00

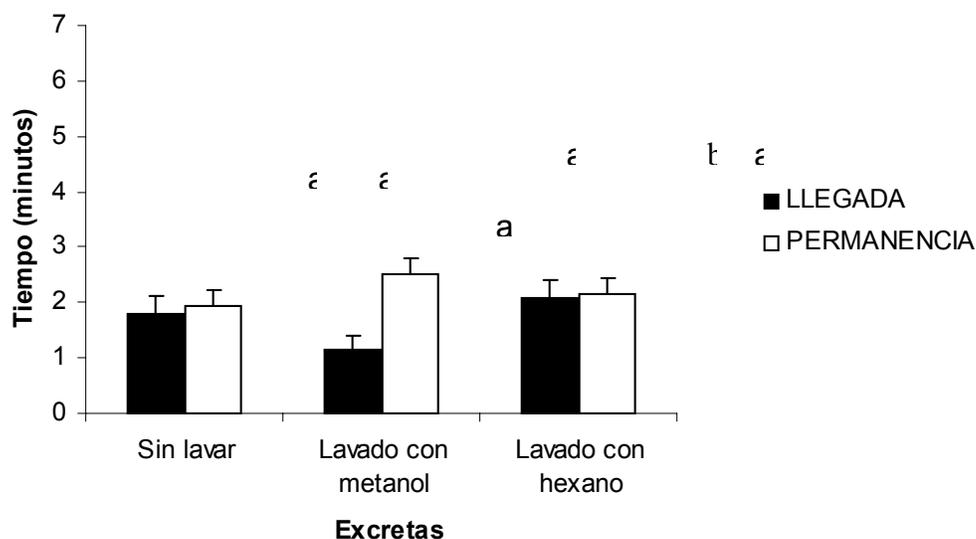


Figura 8. Respuesta en minutos de llegada y permanencia de hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a excretas de *Hypothenemus hampei*, evaluados en cajas Petri, y prueba de Tukey al 0.05.

Efecto de la Atracción de Extractos de Adultos, Inmaduros y Excretas de Broca del Café en *C. stephanoderis*.

Los resultados obtenidos de la respuesta a extractos evaluados en cajas Petri se puede ver en el cuadro 8, los cuales confirman que las excretas poseen alto efecto de atracción en el parasitoide; sin embargo, no se encontró diferencia entre extractos metanólicos y hexánicos de este material.

Por otra parte lo extractos hexánicos de inmaduros captaron parte de los atrayentes, los cuales propiciaron la retención del parasitoide hasta en 1 min. Para el caso de extractos de adultos estadísticamente hubo diferencia; sin embargo, el efecto de atracción es mínimo, comparado con excretas. Lo anterior se aprecia gráficamente con mayor claridad en las figuras 9 y 10. (Los análisis estadísticos se presentan en los cuadros 26 y 27 del anexo).

Cuadro 8. Promedios en minutos de la permanencia de hembras *Cephalonomia stephanoderis* en extractos de excretas, inmaduros y adultos de *Hypothenemus hampei* evaluados en cajas petri.

Tratamientos	Extracto hexánico	Testigo*	Extracto metanólico	Testigo*
Excreta	1.409	0.07	1.429	0.066
Inmaduros	1.028	0.066	0.327	0.071
Adultos	0.558	0.068	0.368	0.092

* Sin solución

Mendoza-Mora (1991), afirma que el metanol y hexano por si solos son atrayentes de la broca del café; sin embargo, la posibilidad de que estos compuestos sean atrayentes también del parasitoide se elimina al observar que los efectos de

atracción no solo se percibieron en los extractos, sino también en el material tratado, por ejemplo excretas e inmaduros.

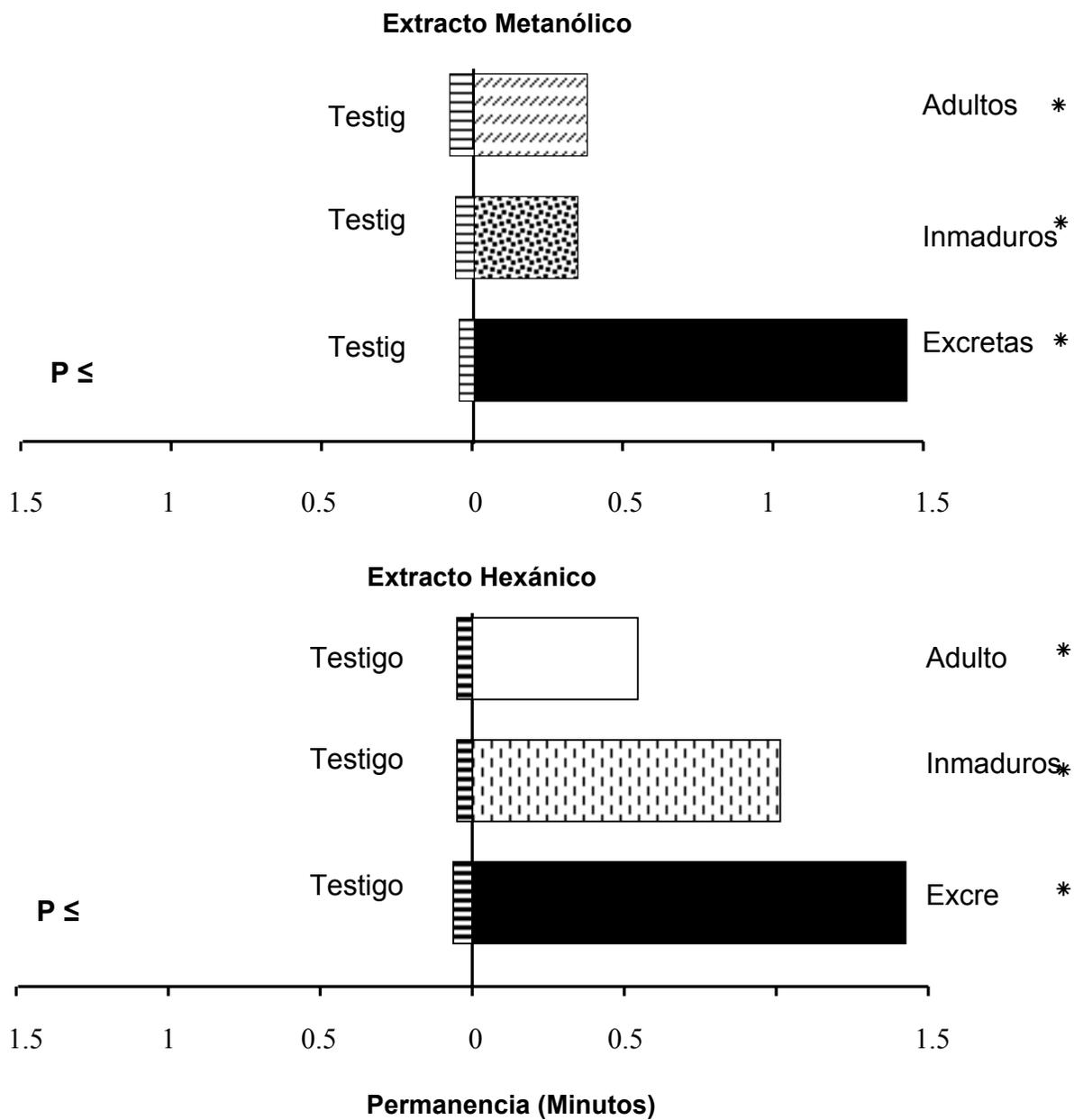


Figura 9. Tiempo de permanencia en minutos de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* en extractos metanólicos y hexánicos de *Hypothenemus hampei* comparados con un testigo, evaluados en cajas Petri. (* = Diferencia estadística; Testigo = Sin solución).

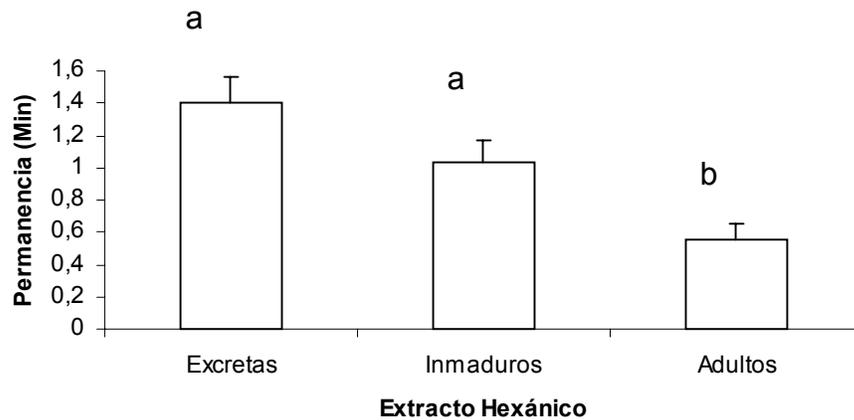
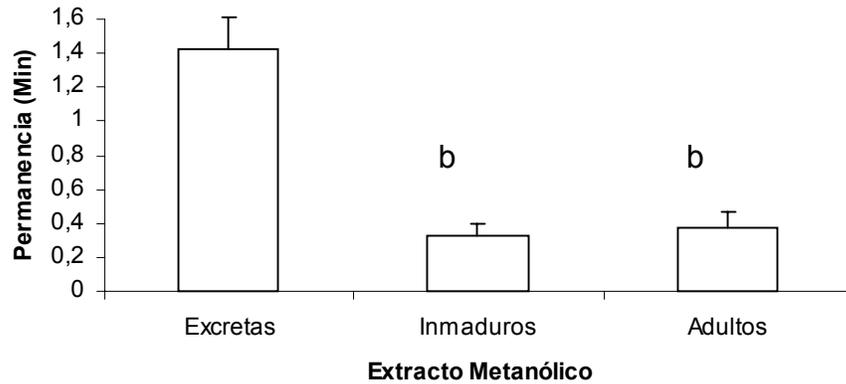


Figura 10. Tiempo de permanencia en minutos de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* en extractos metanólicos y hexánicos de excretas, inmaduros y adultos de *Hypothenemus hampei*, evaluados en cajas petri; y prueba de Tukey al 0.05.

CONCLUSIONES

1. Los colores no tienen ningún efecto de atracción y retención sobre las hembras de *C. stephanoderis*.
2. Los compuestos volátiles de los frutos maduros (rojos) de *C. arabica* presentan un efecto de atracción mejor que frutos inmaduros en hembras de *C. stephanoderis*.
3. Los olores de adultos de *H. hampei* no tienen efecto de atracción en la hembras de *C. stephanoderis*.
4. Los olores cuticulares de inmaduros (larvas, pupas y prepupas) de *H. hampei*, tienen en *C. stephanoderis* un efecto de atracción ligero.
5. Bajo condiciones visibles y distancia corta (cajas Petri), *C. stephanoderis* encuentra los inmaduros en promedio a los 3.2 minutos
6. Los productos volátiles de excretas (desechos fecales) de *H. hampei* poseen fuerte atracción en las hembras de *C. stephanoderis* y un mayor tiempo de retención.
7. Los extractos hexánicos y metanólicos de excretas presentan la mayor atracción y retención de las hembras de *C. stephanoderis*.

BIBLIOGRAFIA

- Abraham, Y. J., D. Moore and G. Godwin. 1990. Rearing and aspects of biology of *Cephalonomia stephanoderis* and *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae) parasitoids of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Bull. Entomol. Res. 80: 121-128.
- Baker, P. S., J. F. Barrera, and J. E. Valenzuela. 1989. The distribution of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Southern Mexico: a survey for a biocontrol project. Tropical Pest Management. 35 (2): 163-168.
- Barrera, J. F., F. Infante, M. Vega, O. González, E. Carrillo, O. Campos, R. Muñoz, A. Serrano, J. J. Osorto, B. Decazy Y D. Moore. 1990. Introducción de *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyridae) a Centroamérica para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Turrialba 40(4): 570-573.
- Barrera, J. F. 1994. Dynamique des populations du scolyte des fruits du caféier, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), et lutte biologique avec le parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyridae), au Chiapas, Mexique. Ph. D. Thesis. Université Paul Sabatier. Toulouse, France. 301 pp.
- Barrera, J. F. 1998. Los agentes del control biológico de la broca del café en México. Memorias del IX Curso Nacional de Control Biológico. SMCB-Río Bravo, Tamaulipas. 2-4 de noviembre 1998. P: 121-128.
- Bergamin, J. 1943. Contribucao para o conhecimento da biologia da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Col: Ipidae). Archives of the Institute of Biology 14: 31-72.
- Borror, J. D., D. M. De Long y C. A. Triplehorn. 1981. An introduction to the study of insects. Fifth edition. CBC. College Publishing. USA. 631 pp.
- Brown, W. L., T. Eisner and R. H. Whitaker. 1970. Allomonas and Kairomonas transpecific chemical messengers. Bioscience 20:21-22.
- Damon, A. 2000. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Bulletin of Entomological Research. 90: 453-465.
- De La Rosa, R. W. 1993. Manejo del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Y su efecto sobre la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) y su parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* Betrem. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 60 pp.

- Evans, H. E. 1964. A synopsis of the American Bethyridae (Hymenoptera, Aculeata). Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Univ. 132: 1-222..
- FAO. 1995. Statics series No. 130. Production Yearbook 49:171-172.
- Finidory-Logli, V., A. G. Bagnères and J. L. Clement. 1996. Role of plant volatiles in the search for a host by parasitoid *Diglyphus isae* (Hymenoptera: Eulophidae). J. Chem. Ecol. 22: 541-558.
- Giordanengo, P., L. O. Brun, and B. Frerot. 1993. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* by coffee berries. J. Chem. Ecol. 19: 763-769.
- Godfray, H. C. J. 1994. Parasitoids: Behavioural and Evolutionary Ecology. Princeton University Press, Chichester, West Sussex, Reino Unido.
- Hassall, K. A. 1990. The biochemistry and uses of pesticides. 2^a Edition. Mac Millan Press Ltd. Houndmills and London. 536 pp.
- Hernández Paz, M., y A Sánchez de León . 1972. La broca del fruto del café. Asociación Nacional del Café. Guatemala C. A. Boletín 11: 1-72
- Howard, W. R., M. Charlton and R. E. Charlton. 1998. Host-finding, host-recognition, and host-acceptance behavior of *Cephalonomia tarsalis* (Hymenoptera: Bethyridae). Ann. Entomol. Soc. Am. 91: 879-889.
- Infante, M. F.; S. T. Murphy; J. F. Barrera; J. Gómez; W. De la Rosa y A. Damon. 1994. Cría de *Phymastichus coffea* parasitoid de la broca del café, y algunas notas sobre su historia de vida. Southwestern Entomology 19: 313-315.
- Klein-Koch, C. O.; O. Espinoza; A. Tandazo; P. Cisneros y D. Delgado. 1988. Factores naturales de regulación y control biológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferr.). Sanidad Vegetal. Ecuador. 3: 5-30.
- Koch, J. H. G. 1973. Abundance de *Hypothenemus hampei* Ferr., Scolyte des graines de café, en fonction de sa Phante-hote et de son parasite *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, en cote D'Ivoire. Mededelingen Landbouwhogesschol Wageningen. 16: 1-85.
- La Salle, J. 1990. A new genus and species of tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae) parasitic on the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Bull. Ent. Res. 80: 7-10.
- Lauzière, I.; G. Pérez-Lachaud and J. Brodeur. 2000. Behavior and activity pattern of *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyridae) attacking the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). J. Insect Behav. 13: 375-395.

- Leonard, D. E., Z. X. Wu and D. N. Ferro. 1987. Responses of parasite *Edovum puttleri* to kairomones from eggs of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. J. Chem. Ecol. 13: 335-344.
- Le Pelley, R.H. 1968. Pests of Coffee. Ed. Longmans Green and Co. London, England. 58 pp.
- Le Pelley, R. H. 1973. Coffee Insects. Ann. Rev. Ent. 18:121-142.
- Le Pelley, R. H. 1973. Las plagas del Café. Ed. Labor, S. A. Barcelona, España. 45 pp.
- Mattiacci, L., E. Huntter and S. Dorn. 1999. Host location of *Hysopus pallidus*, a larval parasitoid of the codling moth, *Cydia pomonella*, Biol. Control 15: 241-251.
- Meiners, T., C. Westerhaus and M. Hilker. 2000. Specificity of chemical cues used by a specialist egg parasitoid during host location. Entomol. Exp. Appl. 95: 151-159.
- Mendoza-Mora, J. (1991). Desposta da Broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, a estímulos visuais e semioquímicos, Tese, Magíster Scientiae, Universidade Federal de Vicosa, Brasil. 44 pp.
- Meyhofer, R., J. Casas and S. Dorn. 1997. Vibration-mediated interactions in a host-parasitoid system. Proc. R. Soc. Lond. B. 264: 261-266.
- Moguel, P. y V. M. Toledo. 1996. El café en México, ecología, cultura indígena y sustentabilidad. Ciencias. 43: 40-51.
- Murai, T., T. Imai and M. Maekawa. 2000. Methyl anthranilate as an attractant for two thrips species and the thrips parasitoid *Ceranisus menes*. J. Chem. Ecol. 26: 2557-2565.
- Murphy, S. T. and D. Moore. 1990. Biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae): Previous programs and possibilities for the future. Biocontrol News information 11: 107-117.
- Nestel, D. 1995. Coffee in Mexico: international market, agricultural landscape and ecology. Ecological Economics 15: 165-178.
- Nordlund, D. A. And W. J. Lewis. 1976. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific interactions. J. Chem. Ecol. 2:211-220.
- Pérez-Lachaud, G. 1998. A new bethylid attacking the coffee borer in Chiapas (México) and some notes on its biology. Southwestern Entomology 23: 287-288.

- Regalado, O. A. 1996 Manual para la cafecultura mexicana. Editado por Instituto de Capacitación Rural. SAGAR. México. 58 pp.
- Reyes-Castañeda P. 1982. Diseño de Experimentos Aplicados, Ed. Trillas, México. 344 pp.
- Suiter, D. R., D. A. Carlson, R. S. Patterson and P. G. Koehler. 1996. Host location kairomone from *Periplaneta Americana* (L). for parasitoid *Aprostecetus hagenowii* (Ratzeburg). J. Chem. Ecol. 22 : 637-651.
- Ticheler, J. H.G. 1961. Etude analytique de l'épidémiologie du scolyte des graines de café, *Stephanoderes hampei* Ferr. En cote D'Ivoire. Mededelingen Landbouwhogesschol Wageningen. 61 (11): 1-49.
- Vander Meer, R. K., F. Alvarez and C. S. Lofgren. 1989. Isolation of the trail recruitment pheromone of *Solenopsis invicta*. J. Chem. Ecol. 14: 825-838.
- Vargas, R. I., J. D. Stark, R. J. Prokopy and T. A. Green. 1991. Response of oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) and associated parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) to different-color spheres. J. Econ. Entomol. Pp 1503-1507.
- Vega, F. E.; G. Mercadier; A. Damon and A. Kirk. 1999. Natural enemies of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in Togo And Côte d'Ivoire, and other insects associated with coffee beans. African Entomology. 7: 243-248.
- Vet, L. E. and M. Dicke. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. Annu. Rev. Entomol. 37: 141-172.
- Villacorta, A. and J. F. Barrera. 1993. Nova dieta verídica para criação de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867). An. Soc. Entomol. Brasil, 22: 405-409.
- Vinson, S. B., F. Bin and L. E. M. Vet. 1998. Critical issues in host selection by parasitoids. Biol. Control. 11: 77-78.
- Vinson, S. B. 1985. The behaviour of parasitoids. Em: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Physiology, Kerkut, G. A. and L. I. Gilbert (eds). Academic Press, Londres. Pp. 517-469.
- Warthen, J. D., C.J. Lee, E.B. Jang, D.R. Lonce and D.O. Mcinnis, 1997. Volatile Potentia attractants from ripe coffee fruit for female mediterranean fruit fly. Chem. Ecol. 23:1891-1899.
- Whitaker, R. H. 1970a. The Biochemical Ecology of higher plants. In: E. Sondheimer and J. B. Simeone (Eds). Chemical Ecology Academic press. New York. Pp. 43-70.

Whitaker, R. H. 1970b. Communities and ecosystems. Academic Press, New York.
Pp. 95-125.

Wood, S. L. 1982. The Bark and Ambrosia Beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic Monograph Great Basin Naturalist Memoirs. No. 6. Brigham Young Univ. Provo. Utah. 1359 pp.

ANEXO

Cuadro 9. Respuesta en porcentaje de hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a frutos rojos, evaluados en el olfatómetro de cono.

Repeticiones	Fruto artificial	Fruto sano	Fruto dañado mecánicamente	Fruto infestado*
1	11.11	30.00	22.22	25.00
2	0	11.11	20.00	30.00
3	0	10.00	28.57	33.33
4	0	12.5	11.11	11.11
5	14.28	54.54	16.66	35.71
6	14.28	7.14	0	7.69
7	0	7.69	0	7.14
8	0	33.33	0	0
9	12.5	29.41	28.57	33.33
10	0	0	0	14.28
11	0	14.28	0	9.09
12	0	11.11	25.00	12.5
13	0	33.33	14.28	33.33
14	0	0	20.00	27.27
15	0	0	0	37.5

**Hypothenemus hampei*

Cuadro 10. Respuesta en porcentaje de hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a frutos amarillos, evaluados en el olfatómetro de cono.

Repeticiones	Fruto artificial	Fruto sano	Fruto dañado mecánicamente	Fruto infestado*
1	9.09	10.00	0	15.38
2	0	0	0	10.00
3	0	0	0	0
4	0	0	8.33	0
5	0	0	0	9.09
6	0	0	16.66	15.38
7	11.11	20.00	20.00	7.14
8	0	0	7.69	0
9	0	0	11.11	0
10	0	15.38	7.14	7.69
11	9.09	9.09	9.09	9.09
12	0	14.29	0	10.00
13	0	0	18.18	0
14	0	0	0	0
15	0	0	0	18.18

**Hypothenemus hampei*

Cuadro 11. Respuesta en porcentaje de hembras de *C. stephanoderis* a frutos verdes, evaluados en el olfatómetro de cono.

Repeticiones	Fruto artificial	Fruto sano	Fruto dañado mecanicamente	Fruto infestado*
1	0	0	0	7.69
2	7.14	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	8.33
5	0	0	0	0
6	0	0	0	0
7	0	0	0	0
8	8.33	0	0	0
9	0	8.33	0	0
10	0	0	0	0
11	0	0	6.66	0
12	0	0	0	0
13	0	13.33	9.09	16.66
14	0	9.09	0	0
15	0	0	0	9.09

**Hypothenemus hampei*

Cuadro 12. Análisis de varianza del porcentaje de respuesta a frutos rojos, en el olfatómetro de cono; transformados a la función arco seno \sqrt{x} .

Fuente de var.	S. C.	gl	C. M	Fc	P
Tratamiento	3344,611	3	1114.870	7.338 *	0.0003
Error	8508,096	56	151.930		
Total	11852,707	59			

P ≤ 0.05

Cuadro 13. Análisis de varianza del porcentaje de respuesta a frutos amarillos, en el olfatómetro de cono; transformados a la función arco seno \sqrt{x} .

Fuente de var.	S. C.	Gl	C. M	Fc	P
Tratamiento	604.219	3	201.406	2.044	0.117
Error	5515.568	56	98.492		
Total	6119.787	59			

P ≤ 0.05

Cuadro 14. Análisis de varianza del porcentaje de respuesta a frutos verdes en el olfatómetro de cono; transformados a la función arco seno \sqrt{x} .

Fuente de var.	S. C.	Gl	C. M	Fc	P
Tratamiento	83.274	3	27.758	0.552	0.648
Error	2811.45	56	50.2045		
Total	2894.729	59			

P ≤ 0.05

Cuadro 15. Análisis de varianza del porcentaje de respuesta de *Cephalonomia stephanoderis* a frutos infestados por color (rojos, amarillos y verdes) en el olfatómetro de cono; transformados a la función arco seno \sqrt{x} .

Fuente de var.	S. C.	Gl	C. M	Fc	P
Tratamiento	3378.211	2	16.89	17.031 *	0.000
Error	4165.487	42	99.178		
Total	7543.698	44			

P ≤ 0.05

Cuadro 16. Respuesta en porcentaje de hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a frutos de café comparados con un fruto artificial. Evaluados en el olfatómetro tipo "Y".

Rep	Frutos Rojos					
	Infestado	Artificial	Dañado		Sano	Artificial
			Mecánicamente	Artificial		
1	20	60	0	0	0	20
2	40	40	40	20	60	0
3	20	0	20	0	20	20
4	0	0	0	60	20	20
5	60	20	20	0	20	40
6	60	0	20	40	20	20
7	20	0	40	20	0	0
8	0	40	0	0	0	20
9	40	20	20	0	20	0
10	20	20	0	20	0	0
11	20	0	20	20	0	20
12	20	0	0	0	20	20
13	20	20	20	20	0	0
14	40	20	40	20	0	0

15	20	20	20	20	20	40
Rep	Frutos Amarillos					
	Dañado					
	Infestado	artificial	Mecánicamente	artificial	Sano	artificial
1	20	0	20	0	0	20
2	20	0	40	0	0	20
3	40	20	0	0	0	0
4	0	20	60	0	20	0
5	40	20	20	20	20	0
6	20	20	0	20	0	0
7	20	40	20	20	0	20
8	20	0	20	40	0	0
9	0	20	0	20	0	40
10	20	0	20	40	0	0
11	40	20	20	0	0	60
12	0	20	0	20	20	0
13	20	0	20	0	0	0
14	0	20	0	20	20	20
15	20	20	20	20	0	0
Rep	Frutos Verdes					
	Dañado					
	Infestado	artificial	Mecánicamente	artificial	Sano	artificial
1	20	40	0	60	20	0
2	0	0	40	60	0	40
3	0	40	20	40	0	20
4	0	0	0	20	20	20
5	40	0	0	0	20	0
6	20	0	80	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	20	20	0	0	0	0
9	0	0	0	20	0	0
10	0	0	40	0	20	0
11	40	0	0	20	0	20
12	40	0	0	0	0	0
13	0	0	40	20	20	0
14	0	20	0	20	20	0
15	0	0	0	20	0	0

Cuadro 17. Respuesta en porcentaje de hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a adultos de broca, inmaduros y excretas; sin lavar, lavados con metanol y hexano. Evaluados en el olfatómetro tipo “Y”.

Rep	Adultos*					
	sin lavar	Recipiente vacío	sin lavar	lavados con metanol	sin lavar	lavados con hexano
1	40	40	0	20	40	0
2	20	20	60	0	0	40
3	0	40	0	60	40	0
4	40	0	0	0	0	40
5	0	0	40	40	20	20
6	20	20	0	0	20	20
7	40	0	60	20	0	0
8	0	40	20	0	60	40
9	60	40	0	20	0	0
10	0	0	20	40	40	20
11	0	40	40	20	0	40
12	0	20	20	20	20	0
13	40	0	0	40	20	40
14	20	60	0	20	20	0
15	20	0	60	20	20	0
Rep	Inmaduros**					
	sin lavar	Recipiente vacío	sin lavar	lavados con metanol	sin lavar	lavados con hexano
1	20	60	40	0	0	60
2	40	20	40	20	20	40
3	20	40	20	40	20	40
4	60	0	0	20	40	0
5	60	40	40	40	40	20
6	20	20	0	40	20	0
7	20	60	40	40	0	40
8	40	0	60	0	0	20
9	0	0	20	20	40	0
10	20	0	20	20	60	20
11	40	0	0	40	60	40
12	0	40	40	40	20	0
13	60	0	0	0	40	0
14	20	20	20	0	0	40
15	40	0	40	40	0	0
Rep	Excretas*					
	sin lavar	Recipiente vacío	sin lavar	lavado con metanol	sin lavar	lavado con hexano
1	40	40	60	0	20	20
2	60	20	60	20	20	0

3	60	0	80	20	20	40
4	60	0	40	20	60	0
5	40	20	60	20	20	0
6	60	20	40	40	20	40
7	80	0	40	40	40	20
8	80	20	40	0	20	0
9	40	60	60	0	40	0
10	100	0	20	0	40	20
11	40	40	80	0	40	40
12	100	0	40	0	40	20
13	40	0	60	20	20	60
14	40	60	0	20	40	20
15	0	0	40	40	40	0

* *Hypothenemus hampei*

**larvas, prepupas y pupas

Cuadro 18. Respuesta en minutos de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* a inmaduros de broca; refrigerados, lavados con metanol y hexano. Evaluados en cajas petri.

Rep	Inmaduros refrigerados		Lavados con metanol		Lavados Con hexano	
	llegada	permanencia	Llegada	permanencia	llegada	permanencia
1	-	-	1.483	0.133	-	-
2	0.083	0.167	3.850	0.133	8.833	0.133
3	-	-	-	-	9.667	0.033
4	0.283	0.050	-	-	8.800	0.033
5	-	-	1.483	0.150	-	-
6	3.383	0.167	6.983	0.033	5.200	0.217
7	7.583	0.133	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	9.117	0.133	2.750	7.250	-	-
10	5.383	0.583	-	-	-	-
11	4.833	0.292	4.083	0.700	7.417	0.500
12	2.600	0.233	2.617	0.767	8.500	0.167
13	0.650	0.060	1.783	0.017	-	-
14	8.333	0.100	-	-	-	-
15	9.483	0.183	-	-	-	-
16	2.717	4.683	-	-	-	-
17	2.367	0.100	-	-	1.083	0.067
18	2.017	0.116	2.733	0.200	5.167	0.033
19	3.667	0.050	3.483	0.050	9.617	0.033
20	4.817	0.050	1.600	8.400	8.867	0.283
21	7.167	0.028	1.900	0.233	-	-

22	-	-	-	-	2.500	0.300
23	-	-	-	-	3.650	0.150
24	2.000	0.033	-	-	9.500	0.500
25	-	-	6.600	0.150	-	-
26	0.500	0.033	6.350	3.650	-	-
27	1.400	8.600	-	-	-	-
28	8.000	0.283	-	-	1.733	0.050
29	-	-	6.067	0.033	-	-
30	0.100	0.033	0.067	0.033	4.817	0.133
31	2.833	0.333	5.067	0.150	3.667	0.267
32	1.300	0.183	-	-	-	-
33	1.000	5.283	-	-	1.733	0.200
34	0.367	0.083	5.950	4.050	9.883	0.117
35	3.283	0.083	-	-	2567	0.683
36	0.633	0.033	6.267	0.483	9.083	0.033
37	2.217	7.783	1.917	0.383	8.050	0.033
38	7.867	0.017	0.700	0.400	-	-
39	0.417	9.583	8.533	1.467	-	-
40	-	-	6.050	0.033	8.533	1.467
41	4.917	5.083	0.833	0.117	5.667	0.067
42	-	-	5.817	0.050	-	-
43	1.017	0.067	-	-	4.300	0.083
44	-	-	-	-	0.833	0.033
45	2.267	0.117	3.167	0.333	-	-
46	2.533	0.200	4.300	5.700	7.267	0,183
47	0.183	0.033	-	-	-	-
48	7.917	0.117	4.600	0.150	6.983	0.017
49	2.867	0.033	1.700	0.033	7.467	0.183
50	-	-	-	-	3.417	0.067

Cuadro 19. Respuesta en minutos de las hembras de *C. stephanoderis* a excretas sin lavar, lavado con Metanol y Hexano. Evaluados en cajas petri.

Rep	Excreta sin lavar		Excreta lavado con metanol		Excreta lavado con hexano	
	llegada	permanencia	Llegada	permanencia	llegada	permanencia
1	3.133	0.133	2.050	7.950	1.467	8.533
2	1.500	0.100	0.067	3.767	1.233	1.783
3	6.033	0.100	4.400	1.083	2.150	0.967
4	0.033	6.017	2.383	1.450	1.417	2.567
5	4.467	1.817	0.767	0.850	-	-
6	7.933	2.167	-	-	2.583	1.500
7	0.133	2.700	0.417	3.080	0.750	2.350
8	1.383	0.033	3.000	6.333	8.850	1.150

9	1.250	4.383	0.367	1.117	0.067	0.267
10	1.333	1.400	0.367	0.867	-	-
11	0.933	1.500	0.150	0.833	0.050	0.983
12	9.417	0.583	2.517	1.650	1.800	0.433
13	-	-	0.600	0.650	4.067	2.533
14	1.250	2.000	8.250	1.750	-	-
15	6.100	1.717	1.183	0.817	2.217	0.800
16	0.133	0.067	0.067	1.433	2.700	3.833
17	1.383	5.617	0.150	3.050	3.983	0.317
18	0.300	7.117	1.633	4.133	1.017	1.517
19	0.633	0.433	0.050	4.283	3.033	0.717
20	3.167	1.333	0.250	0.667	1.217	1.783
21	4.667	1.167	0.633	9.367	7.400	2.600
22	1.333	0.133	7.517	0.650	5.000	2.383
23	-	-	0.050	1.833	0.800	1.833
24	-	-	0.933	3.117	-	-
25	0.050	2.083	0.083	0.867	4.500	1.167
26	1.083	1.517	0,533	2.050	-	-
27	0.033	2.033	0.133	1.867	1.433	1.400
28	0.050	1.617	1.500	0.833	4.233	1.917
29	0.133	4.200	0.150	6.433	3.867	4.617
30	1.467	7.883	4.300	2.300	0.033	0.650
31	1.917	0.083	0.050	1.950	0.100	9.583
32	-	-	0.100	1.550	8.000	1.033
33	0.033	3.367	0.067	1.233	2.700	1.400
34	2.033	0.067	0.417	2.333	0.917	2.917
35	0.500	0.667	-	-	1.033	1.450
36	-	-	1.617	5.850	0.033	1.767
37	1,833	0.333	0.317	3.450	1.000	0.717
38	1.067	0.067	1.183	2.950	-	-
39	2.167	1.750	0.667	1.167	4.583	3.417
40	1.883	5.883	0.183	2.817	1.167	5.750
41	-	-	0.483	2.517	2.250	0.167
42	0,050	3,783	0.900	7.383	0.617	1.817
43	0.767	1,400	1.417	0.933	0.817	0.683
44	0.050	3,250	0.200	2.050	0.033	3.717
45	1.583	1,333	-	-	0.633	0.517
46	0.083	1,050	0.183	1.800	0.300	1.533
47	0.083	1,217	0.250	1.000	0.650	0.650
48	1.800	0,500	0.133	1.650	1.333	5.350
49	0.133	0,217	0.117	1.117	0.033	2.383
50	3.333	0,100	0.067	1.367	0.050	0.500

Cuadro 20. Análisis de varianza del tiempo de llegada (minutos) a inmaduros de broca refrigerados, lavados con Metanol y Hexano. Evaluados en cajas petri.

Fuente de var.	S. C.	Gl	C. M	Fc	P
Tratamiento	123.685	2	61.843	8.1865 *	0.000534
Error	694.984	92	7.554		
Total	818.670	94			

P ≤ 0.05

Cuadro 21. Prueba de Kruskal-Wallis de la permanencia de *C. stephanoderis* sobre inmaduros de broca; evaluados en cajas petri.

	Code	Valid	Sum of
Inmaduros refrigerados	101	37	1694,000
Inmaduros lavados con metanol	102	29	1594,000
Inmaduros lavados con hexano	103	29	1272,000

Kruskal-Wallis test: H (2, N= 95) =2.765281 p = 0.2509

Cuadro 22. Análisis de varianza del tiempo de llegada en minutos a excretas sin lavar, lavada con metanol y hexano. Transformados a raíz cuadrada de x; y evaluados en cajas petri.

Fuente de var.	S. C.	gl	C. M	Fc	P
Tratamiento	3.8122	2	1.9061	3.7339 *	0.026460
Error	67.3829	132	0.5105		
Total	71.1951	134			

P ≤ 0.05

Cuadro 23. Prueba de Kruskal-Wallis de la permanencia de *C. stephanoderis* sobre excretas; evaluados en cajas petri.

	Code	Valid	Sum of
Excreta sin lavar	101	44	2607,500
Excreta lavada con metanol	102	47	3598,000
Excreta lavada con hexano	103	44	2974,500

Kruskal-Wallis test: $H(2, N=135) = 4.448494$ $p = 0.1082$

Cuadro 24. Permanencia en minutos de las hembras de *Cephalonomia stephanoderis* en extractos metanólicos de adultos de broca, inmaduros y excretas; evaluados en cajas petri

Rep	Adultos		Inmaduros		frass	
	Extracto	Sin extracto	Extracto	Sin Extracto	Extracto	Sin Extracto
1	0.11	0.2	0,66	0,06	1,43	0,05
2	0.05	0.08	1,06	0,08	1,48	0,06
3	0.28	0.05	0,08	0,03	0,33	0,05
4	0.05	0,03	0,38	0,03	1,85	0,11
5	0.1	0,16	0,05	0,03	0,35	0,06
6	0.96	0,11	0,5	0,05	0,68	0,05
7	0.13	0,05	0,28	0,11	0,73	0,06
8	0.33	0,13	0,66	0,03	1,38	0,03
9	0.83	0,15	0,06	0,1	0,25	0,06
10	0.1	0,13	0,08	0,16	3,01	0,05
11	0.08	0,06	0,16	0,03	0,8	0,03
12	0.56	0,1	0,43	0,1	4,03	0,05
13	0.4	0,11	0,03	0,08	1,26	0,03
14	0.1	0,06	0,28	0,06	0,38	0,01
15	0.1	0,08	0,25	0,03	1,58	0,03
16	0.25	0,1	0,33	0,05	1,11	0,08
17	0.3	0,05	0,26	0,05	2,4	0,05
18	0,11	0,1	0,06	0,05	3,03	0,13
19	0,1	0,1	0,1	0,1	0,33	0,15
20	2-16	0,25	0,16	0,25	2	0,08
21	0.06	0,05	0,06	0,05	0,53	0,03
22	0.08	0,06	0,08	0,06	1,78	0,25
23	2.05	0,05	2,05	0,05	1,46	0,05
24	0.13	0,08	0,13	0,08	1,5	0,08
25	0.3	0,05	0,3	0,05	1,7	0,05
26	0.55	0,1	0,55	0,1	0,28	0,1
27	0.16	0,05	0,16	0,05	3,33	0,08
28	0.03	0,06	0,03	0,06	0,25	0,08
29	0.	0,06	0,5	0,06	1,1	0,03
30	0.	0,11	0,1	0,11	2,55	0,03

Cuadro 25. Permanencia en minutos de las hembras de *C. stephanoderis* en extractos hexánicos de adultos de broca, inmaduros y excretas; evaluados en cajas petri.

Rep	Adultos		Inmaduros		frass	
	Extracto	Sin extracto	Extracto	Sin Extracto	Extracto	Sin Extracto
1	0,61	0,11	1,16	0,08	2,46	0,05
2	0,33	0,05	0,65	0,05	2,93	0,06
3	0,06	0,06	0,33	0,08	1,08	0,05
4	0,41	0,06	0,35	0,06	0,41	0,05
5	0,11	0,06	1,63	0,1	0,66	0,03
6	1,25	0,08	0,83	0,06	1,95	0,05
7	2,08	0,13	0,7	0,05	2,98	0,03
8	0,2	0,1	1,66	0,05	1,5	0,03
9	0,91	0,06	0,43	0,0005	1,53	0,05
10	0,21	0,05	0,11	0,11	1	0,08
11	1,03	0,06	0,15	0,05	2,5	0,05
12	0,2	0,03	1,45	0,1	1,38	0,05
13	1,83	0,11	0,63	0,15	1,33	0,03
14	0,33	0,05	2,53	0,08	0,5	0,06
15	0,16	0,08	0,08	0,05	0,28	0,31
16	0,2	0,06	1,61	0,08	0,38	0,05
17	0,98	0,05	0,98	0,06	0,61	0,03
18	0,7	0,06	0,28	0,15	3,65	0,1
19	1,03	0,03	0,85	0,05	1,33	0,06
20	0,41	0,03	2,33	0,05	0,55	0,08
21	0,05	0,06	0,8	0,03	2,41	0,06
22	0,05	0,18	0,48	0,05	1,25	0,05
23	0,31	0,08	1,15	0,08	0,96	0,11
24	0,85	0,05	2,9	0,03	1,75	0,05
25	0,28	0,1	0,3	0,06	0,45	0,03
26	0,8	0,08	1,13	0,03	1,38	0,15
27	0,36	0,03	0,95	0,03	0,75	0,21
28	0,46	0,05	0,98	0,06	1,13	0,05
29	0,45	0,06	2,98	0,08	1,8	0,03
30	0,11	0,05	0,43	0,08	1,38	0,08

Cuadro 26. Análisis de varianza de la permanencia (minutos) en extractos metanólicos de brocas adultas, inmaduros y excretas; evaluados en cajas petri.

Fuente de Var.	S. C.	GL	C. M	Fc	P
Tratamiento	23.418	2	11.709	24.019	0.000
Error	42.412	87	0.487		
Total	65.830	89			

P ≤ 0.05

Cuadro 27. Análisis de varianza de la permanencia (minutos) en extractos hexánicos de brocas adultas, inmaduros y excretas; evaluados en cajas petri.

Fuente de var.	S. C.	GL	C. M	Fc	P
Tratamiento	10.885	2	5.443	9.879	0.000
Error	47.927	87	.551		
Total	58.813	89			

P ≤ 0.05