



# MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ WORKSHOP INTERNACIONAL

28 de novembro a 2 de dezembro de 2004  
Londrina - Paraná - Brasil

Celso Luiz Hohmann (Organizador)

# ANAIS

# **MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ WORKSHOP INTERNACIONAL**

28 de novembro a 2 de dezembro de 2004  
Londrina - Paraná - Brasil

Celso Luiz Hohmann (Organizador)

# **ANAIS**



**INSTITUTO AGRÔNOMO DO PARANÁ**

Londrina 2007



## INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ

### COMITÊ EDITORIAL

Rui Gomes Carneiro - Coordenador  
Antonio Carlos Rodrigues da Silva  
Séphora Cloé Rezende Cordeiro  
Sueli Souza Martinez - Editora Executiva  
Telma Passini

### EDITOR REVISOR

Álison Néri

### DIAGRAMAÇÃO / CAPA

Devanir de Souza Moraes

### DISTRIBUIÇÃO

Área de Difusão de Tecnologia - ADT  
adt@iapar.br / (43) 3376-2373

TIRAGEM: 500 exemplares

### Todos os direitos reservados

É permitida a reprodução parcial,  
desde que citada a fonte.  
É proibida a reprodução total desta obra.

M274	Manejo da broca-do-café: workshop internacional / organizado por Celso Luiz Hohmann - Londrina: IAPAR, 2007. 282 p.
	1. Manejo da broca-do-café. 2. Hypothenemus hampei- Manejo. 3. Entomologia-Congresso. I. Hohmann, Celso Luiz (Org.). II. Anais do Workshop Internacional de manejo da Broca-de-café, 2004, Londrina (PR). III. Instituto Agronômico do Paraná, Londrina.
	CDD 632.76

## APRESENTAÇÃO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, é a praga que maior prejuízo causa ao cultivo do café no mundo. Apesar dos avanços no desenvolvimento de técnicas para seu controle, a pouca integração entre as instituições tem impedido que as tecnologias geradas sejam utilizadas adequadamente pelos cafeicultores. Foi com o objetivo de se conhecer o estado de arte da broca-do-café e de buscar a integração entre pesquisadores e técnicos de diferentes instituições que se idealizou o Workshop Internacional sobre o Manejo da Broca-do-Café. Nesse evento, que reuniu renomados cientistas nacionais e internacionais, foram discutidos temas de grande relevância para a definição de estratégias de controle da praga. As apresentações, distribuídas em quatro tópicos principais: Bioecologia da broca-do-café; Associação da broca-do-café com microorganismos; Manejo da broca-do-café; e Resistência de plantas, estão sendo agora disponibilizadas à comunidade científica envolvida com a cultura do café, nesta publicação.

*Celso Luiz Hohmann*  
*Organizador*

## INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES

APTA	Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio. São Paulo, SP, Brasil.
CACIQUE	Cia. Cacique de Café Solúvel. Londrina, PR, Brasil.
CENICAFE	Centro Nacional de Investigaciones de Café. Chinchina, Caldas, Colombia.
CIRAD	Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement. Paris, França.
ECOSUR	Colégio de la Frontera Sur. Tapachula, Chiapas, México.
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília, DF, Brasil.
EMATER/PR	Empresa Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural. Londrina, PR, Brasil.
EPAMIG	Empresa de Pesquisa Agrícola de Minas Gerais. Lavras, MG, Brasil.
GRAVENA	Gravena Manejo Ecológico de Pragas Agrícolas Ltda. Jaboticabal, SP, Brasil.
IAC	Instituto Agrônômico de Campinas. Campinas, SP, Brasil.
IAPAR	Instituto Agrônômico do Paraná. Londrina, PR, Brasil.
ICAPE	Instituto del Café de Costa Rica. San José, Costa Rica.
INCAPER	Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. Vitória, ES, Brasil.
ITAFORTE	Itaforte Bioprodutos. Itapetininga, SP, Brasil.
ITAL	Instituto Tecnológico de Alimentos. Campinas, SP, Brasil.
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasília, DF, Brasil.
PROCAFE	Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café. Santa Tecla, El Salvador.
UEL	Universidade Estadual de Londrina. Londrina, PR, Brasil.
UENF	Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos, RJ, Brasil.
UFLA	Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, Brasil.
UFV	Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG, Brasil.
UMNG	Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia.

## **COORDENADOR**

Amador Villacorta Mosqueira - IAPAR

## **COMISSÃO CIENTÍFICA**

Amador Villacorta Mosqueira - IAPAR

Ana Maria Meneguim - IAPAR

Armando Androcioni Filho - IAPAR

Celso Luiz Hohmann - IAPAR

Pedro M. de Oliveira Janeiro Neves - Universidade Estadual de Londrina

Rodolfo Bianco - IAPAR

Rogério Aparecido Depiéri - IAPAR/bolsista

## **COMISSÃO DE APOIO**

Isaura Pereira Granzotti - IAPAR

José Pereira da Silva - IAPAR

Neide Bom Fogo Correia - IAPAR

Paulo Roberto Martins - IAPAR

## **PATROCÍNIO**

COCAMAR COOPERATIVA AGROINDUSTRIAL  
COFERCATU COOPERATIVA AGROINDUSTRIAL  
COMPANHIA CACIQUE DE CAFÉ SOLÚVEL  
INTEGRADA COOPERATIVA AGROINDUSTRIAL  
COOPERATIVA AGROINDUSTRIAL NOVA PRODUTIVA  
COPACOL - COOPERATIVA AGRÍCOLA CONSOLATA  
COROL COOPERATIVA AGROINDUSTRIAL  
ANDREAS STIHL MOTO-SERRAS LTDA.

## **APOIO**

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO  
FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA  
CONSÓRCIO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DO CAFÉ  
CAPES - COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR  
FAEP - FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA DO ESTADO DO PARANÁ  
CIRAD - CENTRE DE COOPÉRATION INTERNATIONALE  
EN RECHERCHE AGRONOMIQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT  
SINDICATO RURAL DE LONDRINA  
AFI - ASSOCIAÇÃO DOS FUNCIONÁRIOS DO IAPAR  
EMATER - INSTITUTO PARANAENSE DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL

# SUMÁRIO

## CAPÍTULO 1 - BIOECOLOGIA DA BROCA-DO-CAFÉ

BIOGEOGRAFÍA Y ASPECTOS GENÉTICOS DE LA BROCA DEL CAFÉ <i>Hypothenemus hampei</i> .....	11
Pablo Benavides Machado, Jeffrey J. Suart, Fernando E. Vega, Jeanne Romero-Severson y Alex E. Bustillo	
EFFECTO DEL CLIMA Y CONDICIONES DE CULTIVO DEL CAFÉ EN LA BIOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO DE LA BROCA DEL CAFÉ, <i>Hypothenemus hampei</i> (FERRARI) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE) .....	37
Alex Enrique Bustillo Pardey y Diógenes Alberto Villalba Guott	
MODELO TRITRÓFICO CAFÉ-BROCA-PARASITOIDES: UNA APROXIMACIÓN AL ANÁLISIS Y MANEJO DEL AGROECOSISTEMA DEL CAFÉ .....	51
José Ricardo Cure e Andrew P. Gutierrez	

## CAPÍTULO 2 - ASSOCIAÇÃO DA BROCA-DO-CAFÉ COM MICROORGANISMOS

MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA BROCA DEL CAFÉ: ¿EXISTE REALMENTE UN MUTUALISMO? .....	65
Jeanneth Pérez, Francisco Infante y Fernando Vega	
DANOS CAUSADOS PELA BROCA-DO-CAFÉ: ENTRADA PARA OS FUNGOS E AS TOXINAS ....	77
Marta Hiromi Taniwaki	

## CAPÍTULO 3 - MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ - ARMADILHAS

CONDICIONES DE USO DE LAS TRAMPAS EN EL CONTROL DE LA BROCA DEL CAFÉ .....	85
Bernard Pierre Dufour	
APLICACIÓN DE TRAMPAS PARA EL MONITOREO DE LA BROCA DEL CAFÉ .....	95
Juan Barrera, Amador Villacorta, Joel Herrera, Heber García y Leopoldo Cruz	
EFICACIA DE LAS TRAMPAS DE VASOS PARA EL MONITOREO Y CONTROL DE LA BROCA DEL CAFÉ <i>Hypothenemus hampei</i> (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN COSTA RICA Y NICARAGUA .....	113
Olger Borbón Martínez	

## CAPÍTULO 4 - MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ - AMOSTRAGEM

AMOSTRAGEM E MONITORAMENTO PARA O MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ NO BRASIL ....	139
Rodolfo Bianco	

## **CAPÍTULO 5 - MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ - DEFENSIVOS QUÍMICOS E BOTÂNICOS**

CONTROLE QUÍMICO NO MANEJO INTEGRADO DA BROCA-DO-CAFÉ ..... 151  
**Paulo Rebelles Reis**

CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ COM INSETICIDAS BOTÂNICOS:  
AVANÇOS E PERSPECTIVAS ..... 177  
**Sueli S. Martinez**

## **CAPÍTULO 6 - MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ - CONTROLE BIOLÓGICO ATRAVÉS DE PARASITÓIDES**

PRODUCCIÓN MASIVA AUTOMATIZADA DE LA BROCA DEL CAFÉ,  
*Hypothenemus hampei* (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE) SOBRE LA DIETA  
ARTIFICIAL CENIBROCA MODIFICADA ..... 185  
**Maribel Portilla R. y Douglas Streett**

PARASITÓIDES DA BROCA-DO-CAFÉ NO BRASIL: HISTÓRICO E PERSPECTIVAS ..... 193  
**Vera Lúcia Rodrigues Machado Benassi**

LIBERACIONES, COMPORTAMIENTO Y DISPERSIÓN DE LOS PARASITOIDES  
DE LA BROCA DEL FRUTO DEL CAFETO, *Hypothenemus hampei* (FERRARI 1867),  
*Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea* PROCEDENTES DE COLOMBIA,  
EN COSTA RICA ..... 199  
**Olger Borbón Martínez**

MANEJO DO HABITAT PARA CONSERVAÇÃO DE INIMIGOS NATURAIS EM  
CAFEIROS ORGÂNICOS ..... 209  
**Luís Cláudio Paterno Silveira**

## **CAPÍTULO 7 - MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ - CONTROLE BIOLÓGICO ATRAVÉS DE FUNGOS**

CONTROL BIOLÓGICO DE LA BROCA DEL CAFÉ EN COLOMBIA ..... 223  
**Alex Enrique Bustillo Pardey**

UTILIZAÇÃO DE *Beauveria bassiana* NO MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ NO BRASIL ... 233  
**Pedro M. O. J. Neves**

PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE *Beauveria bassiana* PARA O CONTROLE  
DA BROCA-DO-CAFÉ NO BRASIL ..... 249  
**Rogério Biaggioni Lopes**

ERRADICAÇÃO DA BROCA-DO-CAFÉ: É POSSÍVEL? ..... 255  
**Amador Villacorta Mosqueira**

## **CAPÍTULO 8 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS E CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ**

RESISTÊNCIA À BROCA EM ESPÉCIES E VARIEDADES DE CAFÉ .....	263
Gustavo H. Sera, Tumoru Sera, Dhalton S. Ito, José A. de Azevedo, Claudionor Ribeiro Filho, João S. da Mata, Vinicius M. Cotarelli e Deisy S. Doi	
INIBIDORES DE $\alpha$ -AMILASE E SUAS APLICAÇÕES NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ ( <i>Hypothenemus hampei</i> ) .....	273
Aulus E. A. D. Barbosa, Railene de Azevedo Pereira, Érika V. S. A. de Barros, Maria C. M. da Silva, Edson L. Z. Figueira, Osmundo B. Oliveira Neto, M. J. Chrispeels, Arnubio Valencia e Maria F. Grossi-de-Sá	

# **CAPÍTULO 1**

## **BIOECOLOGIA DA BROCA-DO-CAFÉ**

## BIOGEOGRAFÍA Y ASPECTOS GENÉTICOS DE LA BROCA DEL CAFÉ *Hypothenemus hampei*

Pablo Benavides Machado<sup>1</sup>, Jeffrey J. Suart<sup>2</sup>, Fernando E. Vega<sup>3</sup>, Jeanne Romero-Severson<sup>4</sup> y Alex E. Bustillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Investigaciones de Café - CENICAFÉ, km 4, Vía Antigua a Manizales, Chinchiná, Caldas, Colombia, pablo.benavides@cafedecolombia.com, alexe.bustillo@cafedecolombia.com

<sup>2</sup>Purdue University, Department of Entomology, 901 W. State Street, West Lafayette, IN 47907-2089, USA, stuartjj@purdue.edu

<sup>3</sup>Insect Biocontrol Laboratory, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Building 011A, BARC-WEST, 10300 Baltimore Ave., Beltsville, Maryland 20705, USA, vegaf@ba.ars.usda.gov

<sup>4</sup>University of Notre Dame, Department of Biological Sciences, Notre Dame, Indiana, USA, jeanne.romero-severson.1@nd.edu

### RESUMEN

La broca del café posee un mecanismo de reproducción que la hace altamente endogámica: primero, machos y hembras de una misma progenie se aparean en el interior de los granos de café infestados; segundo, evidencias de cruces entre brocas provenientes de diferentes granos de café no han sido reportadas; y finalmente, haplo-diploidía funcional, en el cual los machos no expresan ni transmiten sus cromosomas paternos, ha sido documentada. Recientes hallazgos han sugerido que el endosimbionte *Wolbachia*, el cual está presente en la broca, puede estar involucrado en este último mecanismo. Nuevas investigaciones han sido diseñadas para proveer un mejor entendimiento de la genética de la broca. La técnica AFLP (Amplified Length Fragment Polymorphism), la cual es usada para generar huellas moleculares, fue utilizada para detectar diferencias genéticas en ADN genómico proveniente de 100 muestras de brocas recolectadas en 17 países de África, Asia y América. Seis combinaciones selectivas de iniciadores fueron seleccionadas basados en estudios preliminares que examinaron 73 muestras de 12 países. Estas combinaciones revelaron diferencias genéticas de tan sólo  $2,8 \pm 3,6\%$  promedio por país, pero 22,4% de diferencias a través de todas las combinaciones de iniciadores en todos los países. La mayor variación fue observada en las muestras provenientes de la región central de África, lo cual fue consistente con lo esperado en el presunto centro de origen de esta plaga. Las dos combinaciones de iniciadores más informativas fueron después usadas para identificar la variabilidad genética en la totalidad de las muestras y se descubrieron tan sólo 26 huellas moleculares en la población total. Un análisis de variación

molecular (AMOVA) evidenció que la broca se reproduce en líneas maternas, sugiriendo además que su capacidad genética para resistir una medida eficiente de control podría ser limitada. La información también sugirió una invasión de esta plaga en Asia procedente del oeste de África central y se presume que algo similar ocurrió también en América. Los resultados sobre la distribución de estas huellas y su relación genética, determinada por un análisis de Neighbor-Joining, sugirieron que al menos dos introducciones de broca en Brasil se dispersaron posteriormente a través de las Américas, por lo tanto este país fue considerado el centro de origen de la broca en el continente americano. Una tercera introducción en América fue evidente en Perú y Colombia.

## INTRODUCCIÓN

El café, *Coffea arabica* L., es uno de las mercancías más demandadas en el mundo después del petróleo y es además la bebida más popular globalmente. Esta planta es originaria del centro de África y se encuentra actualmente cultivada en este continente, además de Asia, América y las islas del Caribe, especialmente en países en vías de desarrollo y tercermundistas. Se ha estimado que la producción y comercialización de esta bebida es el soporte económico de más de 25 millones de familias (GLOBAL EXCHANGE, 2002) y muchos países dependen fuertemente de él, es el caso de Brasil el cual recibe del café el 5% del total de exportaciones, Colombia el 9%, Vietnam el 15% y los países centro americanos entre el 20% y 30% (LOVE, 2002). Estos países producen un estimado de 6.6 millones de toneladas anualmente (USDA, 2001) los cuales representan 7.3 mil millones de dólares en el mercado al detal.

La industria del café ahora esta enfrentando a su principal insecto plaga, la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) (LE PELLEY, 1968), la cual ha sido la más destructiva en todos los países productores que esta ha invadido. Este insecto es originario de África central y fue descrita inicialmente por Ferrari en el año de 1867 (BAKER, 1999). Los daños económicos que causa están representados en una disminución de la producción, reducción del valor comercial e incremento en los costos de producción (BENAVIDES; ARÉVALO, 2002; BENAVIDES et al., 2002).

**Ciclo de vida y daños causados por *H. hampei*.** El ciclo de vida de la broca ocurre en el interior de las cerezas de café. Las hembras adultas emergen de cerezas infestadas y perforan nuevos granos. La oviposición ocurre durante un periodo de 20 días, tiempo durante el cual deposita 2 a 3 huevos diariamente dentro de las almendras. El promedio de progenie por hembra ha sido estimado en 74 individuos y el ciclo de vida ha sido calculado en 27.5 días (24.5°C). Las hembras viven hasta 150 días (BERGAMIN, 1943).

La broca tiene un comportamiento reproductivo que asegura un alto grado de endogamia. El radio sexual ha sido estimado en 1 macho por 10 hembras (BERGAMIN, 1943). Las hembras se aparean con los machos ápteros de su misma progenie mientras aún están en el interior del grano de café, de esta manera salen de las cerezas infestadas ya fertiles. A pesar que el examen citológico de células somáticas en machos mostraron que estos son diploides, estos fallaron en expresar los alelos paternos y transmitieron posteriormente solo los cromosomas maternos; de esta manera la broca es funcionalmente haplo-diploide (BRUN et al., 1995). Se ha sugerido que la inusual determinación sexual y el radio sexual que favorece a las hembras es debido a la infección causada por *Wolbachia* en la broca (VEGA et al., 2002b; KIRKENDALL, 1993).

Los daños causados por la broca son, principalmente, la reducción de la producción debido a la caída de frutos infestados tempranamente en el campo, la disminución en el peso, la pérdida en la calidad del grano y por ende una baja en el precio de venta. La pérdida de peso de los granos de café causada por la broca ha sido estimada en 55% (MONTROYA, 1999); sin embargo, la disminución del peso en la producción total de café fue establecida en alrededor del 18% (BORBON, 1990). La broca además ataca cerezas pequeñas en formación (menores a 20 semanas posterior a la floración) lo cual resulta en la caída del 32% de estas (MENDOZA, 1996). De esta manera, la broca causa perdida en la producción total de café tan altos como 40-80% a niveles de infestación en campo de 90% (LE PELLE, 1968). Los precios del café son severamente reducidos cuando los granos de café muestran daños por broca ya que las regulaciones internacionales de mercadeo de café no permiten mas de 1.5% de daños causados por insectos.

**Distribución y dispersión de la broca.** La broca ha invadido la mayoría de los países productores del grano en el entorno mundial (Tabla 1). E. Fleutiaux encontró la broca por primera vez en el año de 1901 en semillas transportadas desde Congo hasta Francia, a pesar que este insecto no fue reportado en la República Democrática del Congo hasta 1903 (LEPLAE, 1928). Más tarde, entre 1902 y 1904, A. Chevalier la encontró en África central, pero no fue hasta 1908 que la broca fue encontrada ocasionando daños serios en cultivos de café de Uganda (BUSTILLO et al., 1998). La mayoría de las introducciones de broca en países africanos fueron reportados antes de 1910 (GOWDEY, 1910; BEILLE, 1925; LEPLAE, 1928; SPONAGEL, 1994; BREILID et al., 1997); sin embargo, la broca no fue reportada en Kenya y Costa de Marfil sino 18 años después (BEILLE, 1925; ABASA, 1976).

El proceso de dispersión de la broca en países asiáticos fue mas lento que el sucedido en África. El insecto fue inicialmente documentado en Indonesia

**Tabla 1.** Distribución mundial de *H. hampei*.

Región	País	Año reportado	Referencia
África	Gabón	1901	(Beille 1925)
	Chad	1902	(Sponagel 1994)
	Rep. Dem. del Congo	1903	(Leplae 1928)
	Rep. Central Africana	1904	(Breilid et al. 1997)
	Uganda	1908	(Gowdey 1910)
	Costa de Marfil	1922	(Beille 1925)
	Kenya	1928	(Abasa 1976)
Asia	Java	1909	(Hagedorn 1910)
	Sri Lanka	1910	(Vernalha et al. 1965)
	Sumatra	1919	(Corbett 1933)
	Malasia	1929	(Corbett 1933)
	Nueva Caledonia	1948	(Bugnicourt 1950)
	Filipinas	1960	(Breilid et al. 1997)
	Fiji	1961	(Breilid et al. 1997)
	Tahiti	1963	(Johnston 1963)
América	India	1990	(Sreedharan et al. 1994)
	Brasil	1922	(Bergamin 1946)
	Surinam	1960	(Bustillo et al. 1998)
	Perú	1962	(Amaral 1963)
	Guatemala	1971	(Hernandez y Sanchez 1978)
	Honduras	1977	(El Cafe de Nicaragua 1979)
	Bolivia	1978	(Romero 1990)
	Jamaica	1978	(Reid 1983)
	México	1978	(El Cafe de Nicaragua 1978)
	Ecuador	1981	(Ruales 1997)
	El Salvador	1981	(Decazy 1987)
	Nicaragua	1988	(Monterrey 1991)
	Colombia	1988	(Bustillo 1990)
Rep. Dominicana	1995	(Guharay y Monterrey 1997)	
Venezuela	1996	(Rosales et al. 1998)	
Costa Rica	2001	(Promecafe 2002)	

(Java) y Sri Lanka antes de finalizar el año de 1910 (HAGEDORN, 1910; VERNALHA et al., 1965). Pero no fue hasta 20 años más tarde que la broca fue reportada en otro país asiático: Malasia, tomando casi 20 años más para llegar a Nueva Caledonia (CORBETT, 1933; BUGNICOURT, 1950). El periodo más dinámico de dispersión de la broca en Asia ocurrió entre 1960 y 1963 cuando el insecto fue reportado en Filipinas, Fiji y Tahiti (JOHNSTON, 1963; BREILID et al., 1997). Posteriormente en 1990 la broca fue reportada en India (SREEDHARAN et al., 1994).

Vietnam es el único país asiático, y uno de los mayores productores de café, que aún se encuentra libre de esta plaga.

La distribución de la broca en el continente americano ha sido bastante peculiar. La broca fue reportada por primera vez en Brasil en el año de 1922, el cual es actualmente el mayor productor del grano en el mundo (30% de la producción total), y el origen de esta introducción se cree que fue Indonesia (Java) y África (Congo) (BERGAMIN, 1946). La dispersión de la broca por el resto de América comenzó en 1960 cuando fue detectada en Surinam y Perú (AMARAL, 1963; BUSTILLO et al., 1998), pero el periodo más dinámico de esta dispersión ocurrió entre 1970 y 1988 cuando la broca invadió el 60% de todos los países americanos productores de café que a la fecha habían sido invadidos (EL CAFE DE NICARAGUA, 1978; HERNANDEZ; SANCHEZ, 1978; EL CAFE DE NICARAGUA, 1979; REID, 1983; DECAZY, 1987; BUSTILLO, 1990; ROMERO, 1990; MONTERREY, 1991; RUALES, 1997; BUSTILLO et al., 1998). Estas invasiones incluyeron a Colombia, el cual es el primer productor de cafés suaves en el mundo y participa con alrededor del 12% del total de la producción. La última introducción de broca en las Américas fue documentada en República Dominicana, Venezuela, Costa Rica y Panamá (GUHARAY; MONTERREY, 1997; ROSALES et al., 1998; PROMECAFE, 2002), donde las inspecciones aduaneras en las fronteras contribuyeron en demorar la entrada de la plaga. Puerto Rico y Hawai son las únicas áreas productoras de café que actualmente se encuentran libres de esta plaga. Puerto Rico reportó erróneamente la presencia de la broca en el año de 1946, pero nuevas evidencias han confirmado que este hallazgo se trataba probablemente de *H. seriatus* (VEGA et al., 2002a).

La broca se dispersa en el campo por dos mecanismos: (1) mediante su transporte físico de una región a otra (en semillas, herramientas, humanos, comercio de bienes agrícolas) y (2) mediante el vuelo de las hembras provenientes de cerezas infestadas que permanecen en el cafetal después de las cosechas. La mayoría de las investigaciones desarrolladas para conocer la dispersión de la broca han documentado la habilidad de este insecto para dispersarse mediante el vuelo de las hembras (CASTRO et al., 1998; BAKER, 1999, 2001; MORENO et al., 2001). Poco se conoce acerca de la invasión accidental durante el transporte mediante medios físicos. A pesar de que las hembras de la broca salen de cerezas infestadas en grandes números, la capacidad de estos insectos de dispersarse rápidamente se ve limitado por los cortos periodos de tiempo que ellas pueden volar y por las distancias tan cortas que pueden alcanzar (BAKER, 1984; SÁNCHEZ, 1985). Los reportes de las introducciones de broca a diferentes países están generalmente relacionados con la importación de semillas de café o de productos agrícolas provenientes de áreas infestadas (BERGAMIN, 1946; AMARAL, 1963; BUSTILLO et al., 1998).

**Manejo de la broca del café.** El control de la broca continua siendo una tarea difícil (BAKER, 1999). Sin embargo, un programa de manejo integrado MIP para disminuir las poblaciones de este insecto ha sido desarrollado en Colombia e implementado en varios países productores del grano (BUSTILLO et al., 1998). La base del MIP es el control manual, el cual consiste en la recolección oportuna de los frutos de café en el campo con el fin de interrumpir el ciclo de vida de la broca. Medidas complementarias incluyen el control químico con productos de moderada toxicidad, el uso de formulaciones con base en entomopatógenos como *Beauveria bassiana*, y la liberación de parasitoides de origen africano como los son *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera: Bethyridae) y *Phymastichus coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) (BUSTILLO et al., 1998). Desafortunadamente la ejecución de estas medidas MIP requieren no solo de la adecuada transferencia de la tecnología y entrenamiento, sino además de mayores costos. El costo de controlar la broca se ha estimado en alrededor de 11% del total de los costos de producción de café (BENAVIDES; ARÉVALO, 2002). Anualmente, el costo de controlar la broca en las más de 600.000 hectáreas de Colombia fue estimado en 100 millones de dólares (BIOSCIENCE, 1998).

**Genética de la broca del café.** El uso de nuevas técnicas moleculares pueden dirigirnos a obtener avances significativos en el entendimiento de aspectos básicos de la biología de la broca; sin embargo, la genética de este insecto no ha sido ampliamente estudiada. Han habido experimentos con el objetivo de detectar mutaciones genéticas relacionadas con el desarrollo de la resistencia al insecticida endosulfan (BRUN et al., 1989; FFRENCH-CONSTANT et al., 1994) y el mecanismo de la dispersión de este gen (BRUN et al., 1995). Varios autores además han reportado algunas medidas de variabilidad genética de poblaciones de la broca usando técnicas moleculares para detectar diferencias en locus individuales (BORSA; GINGERICH, 1995; GINGERICH et al., 1996; ANDREEV et al., 1998). Recientemente, el uso de la biología molecular detectó la presencia de infecciones de *Wolbachia* en la broca (VEGA et al., 2002b), la cual se cree que causa la distorsión sexual que da origen a 10 hembras por cada macho.

Actualmente existen diferentes técnicas moleculares que permiten distinguir individuos entre poblaciones de insectos usando marcadores genéticos, de esta forma se pueden establecer similitudes entre individuos de una población. Entre estas técnicas se encuentra el Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) o Amplificación de Polimorfismos por Tamaños de Fragmentos, el cual es un método que permite detectar mutaciones dominantes en cientos de loci nucleares a través del genoma completo del organismo. La técnica AFLP puede ser usada para establecer similitudes entre muestras de

ADN genómico, o encontrar marcadores genéticos que permitan identificar caracteres fenotípicos o loci genéticos (VOS et al., 1995). Es posible también convertir fragmentos polimórficos de AFLP en marcadores co-dominantes que podrían ser usados para reconocer una mutación específica entre individuos en una población para estimar el nivel de homocigosis de un alelo presente en un solo locus (MEKSEN et al., 2001).

Evidentemente, el impacto económico de la broca en la caficultura colombiana ha alcanzado incalculables proporciones. Además, las poblaciones de este insecto se han incrementado dramáticamente en todos los países donde ha llegado, el insecto ha desarrollado niveles de resistencia creciente al insecticida más utilizado para su control (BRUN et al., 1989) y se ha dispersado libremente en todos los ecosistemas donde ha sido introducida (LE PELLEY, 1968; BUSTILLO et al., 1998). Por ejemplo, la presencia de la broca del café en Colombia fue reportada en el año de 1988 (BUSTILLO, 1990); para 1997, el 65% de los cafetales del país se encontraban infestados con este insecto (alrededor de 650.000 hectáreas) y los niveles de broca en el café de exportación estaba al rededor de 13% (FEDERACAFÉ, 1997, com. pers.). A pesar que la biología de esta plaga ha sido vastamente estudiada, su distribución mundial y sus patrones de dispersión en el campo aún permanecen desconocidos.

El objetivo de esta investigación fue determinar la variabilidad genética de la broca del café a partir de una colección mundial de insectos, establecer la similitud genética entre estas poblaciones, determinar la biogeografía de este insecto alrededor del mundo y desarrollar marcadores moleculares.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Muestras de insectos.** Se recolectaron 101 muestras de broca de 17 países en quatro continentes (Tabla 2). Dos tipos de muestras fueron usados: "cerezas múltiples" que consistieron de hembras de broca provenientes de un grupo de cerezas de café infestadas recolectadas en una misma área. Los adultos de broca que emergieron de cada una de estas áreas fueron agrupados y almacenadas a -80°C. Muestras de "cerezas individuales" de café consistieron en todos los estados de broca contenidas en una cereza individual infestada las cuales fueron colectadas en el campo y almacenadas en viales separados. Cada cereza fue posteriormente disecada y todos los insectos presentes en cada una fueron almacenados en viales conteniendo etanol absoluto. El ADN genómico total fue extraído de cada una de las muestras usando el kit DNeasy Tissue Kit (QIAGEN Inc., Valencia, CA) y la calidad de este fue examinada mediante electroforesis en geles de agarosa y su concentración fue determinada usando un mini fluorometro Hoefer Scientific TKO 100. Las muestras de ADN fueron mantenidas a -70°C.

Tabla 2. Muestras de broca recolectadas para el análisis de la variabilidad genética.

Identificación	Localidad	Latitud/Longitud	Año de colección	Tipo de colección*
BR01 - BR08	Brasil/Minas Gerais/Piracicaba	8.97S/72.78W	2000	Sb
BR09 - BR14	Brasil/Santiago/La Cumbre	7.93S/41.98W	2000	Sb
CO01, CO02	Colombia/Sta. Rosa Cabal/CIAO	4.87N/75.63W	2000	Sb
CO03 - CO05	Colombia/Sta. Rosa Cabal/Gorgonia	4.87N/75.63W	2000	Sb
CO06	Colombia/Chinchiná/El Naranjal	4.97N/75.60W	2000	Sb
CO07, CO08	Colombia/Betania/Antioquia	5.23N/75.07W	2000	Sb
CO09	Colombia/La Unión/Nariño	1.60N/77.13W	2000	Sb
CO10	Colombia/Nariño/Nariño	1.53N/78.90W	2000	Sb
DR01, DR02	Rep. Dominicana./Santiago/Cumbre	19.63N/70.87W	2000	Sb
EC01	Ecuador/Manabi/ Jipijapa	1.33S/80.58W	2000	Sb
EC02 - EC04	Ecuador/Pichincha/Sto.Domingo	1.02S/79.82W	2000	Sb
EC05	Ecuador/Manabi/Sta. Ana	1.23S/80.38W	2000	Sb
HO01	Honduras/Cortes/El Tigre	13.75N/87.22W	2000	Sb
HO02, HO04	Honduras/Ilama/La Fé	15.07N/88.22W	2000	Sb
HO03	Honduras/Cortes/Sta. Cruz	13.75N/87.22W	2000	Sb
HO05	Honduras/Ilama/Descombros	15.07N/88.22W	2000	Sb
HO06	Honduras/Punta Blanca/Yojoa Flora	16.43N/86.36W	2000	Sb
HO07	Honduras/Cortes/Babilonia	13.75N/87.22W	2000	Sb
ME01 - ME 05	México/Chiapas/Genova	16.5N/91.75W	2000	Sb
ME06 - ME 10	México/Chiapas/La Alianza	16.5N/91.75W	2000	Sb
ME11 - ME15	México/Chiapas/La Esperanza	16.5N/91.75W	2000	Sb
NI01	Nicaragua	Unknown	1999	Mb
NI02	Nicaragua/El Nispero	11.68N/86.13W	1999	Mb
NI03	Nicaragua/El Tuma	13.07N/85.75W	1999	Mb
NI04	Nicaragua/Matagalpa	12.92N/85.99W	1999	Mb

Continúa.

Tabla 2. Continuação.

Identificação	Localidad	Latitud/Longitud	Año de colección	Tipo de colección*
PE01, PE02	Perú/Paucartambo/Pasco	13S/71W	2000	Sb
PE03	Perú/Lamas/San Martin	6.42S/76.53W	2000	Sb
PE04	Perú/Cajamarca/San Ignacio	7.17S/78.52W	2001	Sb
PE05, PE07	Perú/Cajamarca/Jaen	7.17S/78.52W	2000	Sb
PE06	Perú/Chanchamayo/Juinin	13.70S/75.80W	2001	Sb
PE08, PE09	Perú/Mendoza/Amazonas	6.33S/77.4W	2001	Sb
PE10	Perú/El Dorado/San Martin	4.90S/78.95W	2001	Sb
SA01	El Salvador/Cuscatlan/Libertad	13.97N/89.68W	2000	Sb
JA01	Jamaica/Saint Catherine	17N/76W	2000	Mb
JA02	Jamaica/Saint Andrew	18N/76	2000	Mb
CA01	Camerún/Nkolbison	3.85N/11.62E	1999	Mb
CA02	Camerún/Atok	4.0N/12.78E	1999	Mb
ET01	Etiópia/Jima	9.53N/38.10E	2001	Sb
ET02	Etiópia/Tep i	7.42N/35.43E	2001	Sb
KE01, KE02	Kenya	Unknown	Unknown	Mb
UG01 - UG12	Uganda	Unknown	1997	Mb
IA01, IA02	Indonesia/Malang	8.02S/113.48E	2000	Sb
IA03, IA04	Indonesia/Jember	8.17S/113.70E	2000	Sb
IN01	India/Kodagu	12.30N/75.87E	2000	Mb
IN02	India/Siddapur	12.30N/75.87E	2000	Mb
IN03	India/Kutta	12.30N/75.87E	2000	Mb
IN04	India/Suntikoppa	12.47N/75.83E	2000	Mb
IN05	India/Perumbalai	11.97N/97.95E	2000	Mb
IN06	India/Bangalore	12.98N/77.58E	2000	Mb
CR01 - CR04	Costa Rica/Heredia	10.00N/84.07W	2001	Sb

\*Sb: hembras provenientes de cerezas individuales; Mb: hembras provenientes de múltiples cerezas.

**Huellas moleculares de ADN.** La técnica de AFLP fue utilizada usando el kit AFLP Analysis System II for small genomes (Invitrogen, Carlsbad, CA) e iniciadores hibridizados en los terminales con fósforo radioactivo ( $^{33}\text{P}$ -dATP). Cuarenta amplificaciones selectivas de *EcoRI* y *MseI* fueron usadas con dos muestras de ADN de poblaciones de broca provenientes de Colombia. Los iniciadores *EcoRI* (E) contenían dos nucleótidos adicionales en su terminación 3' (E-AA, E-AC, E-AG, E-AT, E-TG) y los iniciadores *MseI* (M) tenían tres nucleótidos adicionales en su terminal 3' (M-CAA, M-CAC, M-CAG, M-CAT, M-CTA, M-CTC, M-CTG, M-CTT). Una de estas muestras correspondió al ADN de brocas colectadas a partir de cerezas múltiples y la otra de la progenie presente en una cereza individual (CO03) que además fue utilizada como control standard en todas la secuencias subsecuentes en los experimentos de AFLP. Se seleccionaron al final seis combinaciones de iniciadores (E-AT combinados con M-CAT, M-CTA, M-CTC y M-CTG, y E-TG combinados con M-CAT y M-CTG) basados en los resultados de los análisis con 73 muestras provenientes de 12 países (Tabla 3). Dos combinaciones de iniciadores (E-AT/M-CTC y E-AT/M-CTG) fueron usadas con todas las 101 muestras. Los fragmentos amplificados fueron posteriormente separados mediante electroforesis durante 2 horas a 50V en geles denaturantes de poliacrilamida con 6% de Long Ranger (FMC Bioproducts, Rockland, ME). Después de esto, los geles fueron secados y expuestos en un film de rayos X Biomax MR (Kodak, Rochester, NY) durante 48 a 72 horas, tiempo después del cual fueron autoradiografiadas.

**Tabla 3.** Polimorfismos de ADN detectados por AFLP por país.

País	N	Total de bandas	Bandas polimórficas	% Polimorfismos
Brasil	14	201	21	10.4
Camerún	1	197	-*	-
Colombia	1	192	-	-
Ecuador	5	194	1	0.5
Honduras	7	194	3	1.6
Indonesia	4	195	1	0.5
India	6	192	1	0.5
Jamaica	2	191	0	0
México	15	192	2	1.0
Nicaragua	5	198	7	3.5
Uganda	12	210	15	7.1
El Salvador	1	195	-	-

\*No fue posible estimar polimorfismos debido al tamaño de muestra.

Los patrones de bandeo asociados con cada combinación de iniciadores y cada muestra fueron analizados visualmente y convertidas en huellas moleculares digitales. Con el fin de evitar falsos positivos o negativos, las bandas que no fueron reconocidas por dos observadores independientes fueron eliminadas del análisis. La presencia o ausencia de bandas en cada muestra fue calificada como '1' para presentes y '0' para ausentes. Todas las bandas que migraron de manera paralela en los geles se asumieron que eran idénticas en secuencia.

**Análisis estadístico.** Las huellas moleculares digitales fueron usadas para calcular el porcentaje de polimorfismos, o diferencias genéticas, entre países, al igual que para inferir la estructura genética de poblaciones y realizar un estudio filogenético mediante un análisis de Neighbor-Joining. La variabilidad genética entre países fue obtenida después de relacionar las bandas polimórficas entre el total de fragmentos generados con la técnica de AFLP con cada combinación de iniciadores en todos los países. De manera similar, la variabilidad genética dentro de cada país fue calculada relacionando los polimorfismos presentes en cada país con el total de fragmentos generados por AFLP en todas las muestras dentro del país.

La estructura genética de las poblaciones fue obtenida mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA) implementado con el programa Arlequin v2.0 (EXCOFFIER et al., 1992). Este análisis consideró solo aquellas huellas moleculares que se derivaron de muestras de broca provenientes de cerezas individuales en localidades que tuvieran al menos dos poblaciones (Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Honduras, México, Perú, Etiopía e Indonesia). Las localidades fueron tratadas como poblaciones bajo la hipótesis nula de no existir subestructura de poblaciones. Todas las localidades fueron inicialmente muestreadas como un solo grupo. Para establecer significancia para los índices de fijación, las huellas moleculares individuales fueron permutadas entre las localidades y los índices de fijación fueron obtenidos nuevamente (1023 veces). El valor de  $p$  asociado con el índice de fijación fue la probabilidad de tener una componente de varianza y un estadístico de  $\Phi$  más extremo que el valor observado solo por azar. Evaluaciones para las hipótesis alternativas fueron construidas distribuyendo las localidades entre el número supuesto de subpoblaciones y procediendo como anteriormente se expuso. Para obtener el coeficiente de  $\Phi_{CT}$ , las localidades fueron permutadas a través de las subpoblaciones, y para calcular  $\Phi_{SC}$  las huellas individuales fueron permutadas a través de las localidades, pero dentro de la misma subpoblación.

Un análisis de Neighbor-Joining fue realizado utilizando el programa *Phylogenetic Analysis Using Parsimony* (PAUP 4.0b10 Altivec) (SWOFFORD, 1998). Un Bootstrap fue obtenido con 2.000 re-muestreos y 10.000 repeticiones con

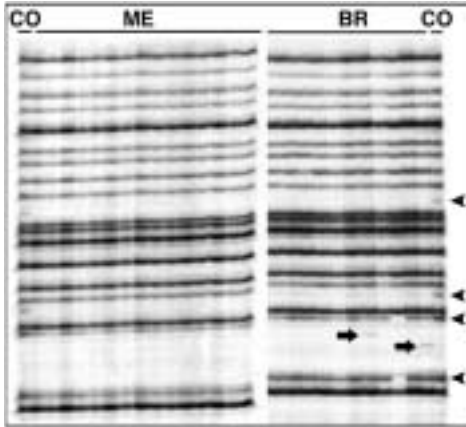
las diferencias de distancia del número total de caracteres pareados. Las muestras de Etiopía fueron usadas como out-group.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar si la técnica de AFLP revelaba diferencias genéticas en muestras de ADN de las poblaciones de broca a evaluar, se utilizaron 40 combinaciones de iniciadores con dos muestras de broca colombianas. Treinta y siete combinaciones produjeron huellas moleculares en ambas muestras. Estas huellas revelaron un promedio de  $31,2 \pm 8,5$  fragmentos de ADN, 1.149 bandas monomórficas y 7 polimórficas.

Con el fin de ampliar esta búsqueda por variabilidad genética, se utilizaron las 6 combinaciones de iniciadores que mostraron mayores diferencias genética para amplificar todas las posibles diferencias a partir de 73 muestras colectadas en 12 países (Tabla 3, Fig. 1). Un mayor número de bandas polimórficas fueron encontradas y Uganda tuvo 2 a 7 veces mas variabilidad que cualquier otro país, excepto Brasil (Tabla 3). A pesar de que el porcentaje medio de polimorfismos al interior de los países evaluados fue solo de  $2,8 \pm 3,6$ , el porcentaje de diferencias genéticas a través de todas las combinaciones de iniciadores fue 10 veces más alto (Tabla 4). Tan solo dos de las seis combinaciones evaluadas revelaron el 56% de las bandas polimórficas descubiertas, por lo tanto estas dos combinaciones fueron utilizadas para evaluar las 101 muestras de broca finalmente recolectadas. Este análisis reveló tan solo 26 huellas únicas (Fig. 2A), las cuales consistieron en 51 fragmentos monomórficos y 29 polimórficos.

Estas observaciones fueron consistentes con investigaciones previas de la biología de la broca. La extremadamente baja variabilidad genética encontrada en este insecto es consistente con las observaciones realizadas por Andreev et al. (1998) y además con lo esperado de un insecto como la broca la cual presenta una alta endogamia. Además, de acuerdo a lo esperado, se descubrió una mayor variabilidad genética cercano al presunto centro de origen, Uganda, que en las otras regiones productoras de café. La abundancia de variación genética en dos fincas de Brasil fue consistente con los registros históricos de la colonización de este insecto en este país. *Hypothenemus hampei* invadió inicialmente a las Américas con la introducción de semillas infestadas de café a Brasil en 1913 provenientes de El Congo y Java (BERGAMIN, 1946). De esta manera, la mayor variabilidad genética esperada en Brasil era mayor que en otro país americano como por ejemplo México (Fig. 1). Tomando todos estos hallazgos, estas observaciones estarían indicando que las huellas moleculares reveladas mediante la técnica de AFLP podrían ser de uso en la determinación de la biogeografía de esta plaga. Para evaluar esto, se realizó un análisis de varianza molecular AMOVA como se describe a continuación.



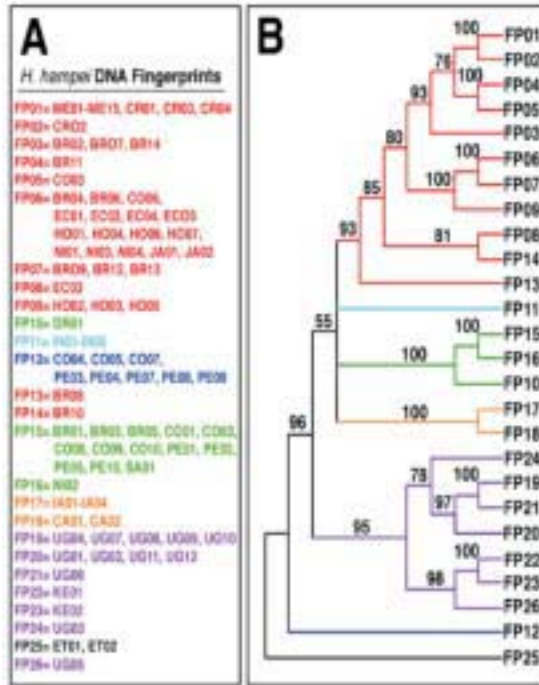
**Figura 1.** Huella moleculares de AFLP de *H. hampei*. Dos geles mostrando huella moleculares basadas en AFLP de muestras de Brasil (BR) y México (ME). Una muestra estandar de Colombia, CO03 (CO), es visible en ambos geles. AFLP fue realizado usando una única combinación de iniciadores (E-TG/M-CTG). Cuatro polimorfismos de ADN son visibles (cabezas de flechas). Algunos falsos positivos (flechas) también pueden ser observados en los geles. Estos falsos positivos estuvieron ausentes en las otras muestras y no fueron utilizados en la construcción de la matriz binaria.

**Tabla 4.** Polimorfismos de ADN detectados por AFLP por combinación de iniciadores.

Combinación de iniciadores	Total de bandas	Bandas polimórficas	Polimorfismos %
E-AT/M-CAT	45	4	8.9
E-AA/M-CTA	41	8	19.5
E-AT/M-CTC	40	15	37.5
E-AT/M-CTG	40	14	35.0
E-TG/M-CAT	43	9	20.9
E-TG/M-CTG	23	2	8.7
TOTAL	232	52	22.4

**Análisis de varianza molecular.** Las barreras geográficas dividen en subpoblaciones las especies que están dispersas en grandes áreas (HARTL; CLARK, 1997; HANSKI, 1999). Estas especies se definen como poblaciones con subestructura, en las cuales el cruce entre individuos de la misma subpoblación ocurre en mayor medida que aquellos entre diferentes subpoblaciones (HARTL; CLARK, 1997). La diferenciación genética entre subpoblaciones puede ser medida mediante el índice de fijación  $F_{ST}$  el cual cuantifica este efecto de endogamia de la subestructura de poblaciones (WRIGHT, 1921). Una especie como *H. hampei* que se presume se reproduce a través de líneas altamente endogámicas, debería mostrar una gran diferenciación genética tanto dentro de cada población como entre todas las poblaciones analizadas. Esto debido al establecimiento de líneas múltiples, pero puras, altamente diferenciadas en cada localidad.

Para evaluar esta subestructura de poblaciones en la broca, se realizó un análisis de varianza molecular o AMOVA usando la información de las huellas moleculares obtenidas mediante AFLP. Todas las bandas en cada huella dactilar



**Figura 2.** Análisis filogenético con 26 huellas moleculares de broca usando el algoritmo Neighbor-Joining analysis. (A) Distribución de las huellas moleculares (FP01-FP26) entre las muestras listadas en la Tabla 2. Las huellas moleculares (haplotipos) y las muestras están realcionadas de acuerdo al color (B). Los seis mayores grupos identificados por el análisis de Neighbor-Joining. Las muestras de Etiopía en negro fueron usadas como out-group. El grupo de muestras de África Central son púrpuras, las de Indonesia y Camerún naranja, y la de India azul claro. Los tres grupos americanos están representados por los colores verde, rojo y azul oscuro.

se asumió homocigota en cada muestra de tal manera que cada huella dactilar podría analizarse como un haplotipo. Para cumplir mejor con los supuestos, solo se incluyeron en el análisis los resultados obtenidos con las muestras provenientes de broca de cerezas individuales ya que las brocas de cerezas múltiples fueron más dadas a esconder heterocigotos dentro de las poblaciones. De esta manera, en vez de partir la varianza de la frecuencia alélica y correlacionar genes como en una prueba estadística *F* con el uso de marcadores co-dominantes, en este análisis de prueba estadística  $\Phi$  se partió la varianza genotípica y se correlacionaron los genotipos. A pesar que la proporción de la varianza debido a los diferentes niveles evaluados fue informativa y significativa, el  $\Phi_{ST}$  inferido en esta investigación no pudo ser comparada con el  $F_{ST}$  calculado por otros investigadores (BORSA; GINGERICH, 1995; GINGERICH et al., 1996).

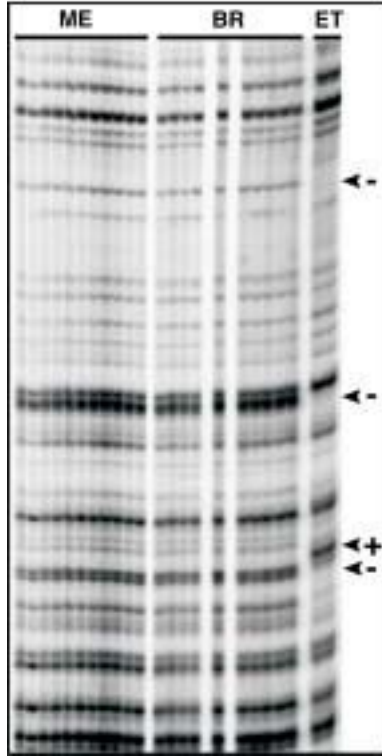
Wright (1921) considera un valor de  $\Phi_{ST}$  entre 0.15 - 0.25 como una indicación de una alta diferenciación genética, y un valor de  $\Phi_{ST}$  mayor a 0.25 como una evidencia de una muy alta diferenciación genética. Con estos criterios, *H. hampei* parece tener un alta diferenciación genética entre las poblaciones colectadas en Etiopía con respecto a las muestras del resto del mundo, y una muy alta diferenciación genética entre poblaciones y entre localidades (Tabla 5). Bajo la hipótesis nula de no subestructura, 46.5% de la varianza fue debida a diferencias al interior de las localidades y no entre las localidades ( $\Phi_{ST} = 0.46$ ).

Las observaciones fueron claramente consistentes con lo esperado en especies que poseen una alta endogamia, sin embargo, un valor alto de  $\Phi_{ST}$  puede resultar cuando una población es muy diferente de otra y todas las poblaciones muestran relativamente pequeña variación al interior de las localidades. De esta manera, las dos muestras provenientes de Etiopía contenían 10 alelos únicos (Fig. 3), cuando las brocas de ningún otro país contenía mas de 3 y en 10 países los insectos no tenían ninguno. Por esta razón se evaluó la hipótesis alternativa de dos subpoblaciones (una etíope y la otra las poblaciones restantes), y se encontró que 18,2% de la varianza fue debida a la diferencia entre los dos grupos, 37,4% a diferencias entre las localidades al interior de los grupos y 44,5% a las diferencias al interior de las localidades ( $\Phi_{ST} = 0,56$ ). Por lo tanto, la separación de las muestras etíopes como una subpoblación, a pesar de los alelos únicos, fue debilmente soportada por el análisis de permutación. Se concluye que el desproporcionado número de alelos únicos en Etiopía fue debido a la proximidad de estas muestras al centro de origen de la plaga.

**Tabla 5.** Análisis de varianza gerarquico para 9 localidades con poblaciones no agrupadas (1) o con dos grupos (Etiopía vs. los restantes, 2).

Grupos	Variancia		g. l.	Variancia	% total	$p^*$	$\Phi$ -estadístico
1	Entre localidades	$\sigma_a^2$	8	0.216	46.46	0.000	
	Dentro de las localidades	$\sigma_c^2$	59	0.249	53.54	0.000	$\Phi_{ST} = 0.464$
	Total		67	0.465			
2	Entre grupos	$\sigma_a^2$	1	0.102	18.17	0.224	$\Phi_{CT} = 0.181$
	Entre localidades dentro de los grupos	$\sigma_b^2$	7	0.209	37.37	0.000	$\Phi_{SC} = 0.456$
	Dentro de las localidades	$\sigma_c^2$	59	0.249	44.46	0.000	$\Phi_{ST} = 0.555$
	Total		67	0.560			

\*Probabilidad de obtener un valor aleatorio mayor al valor observado.



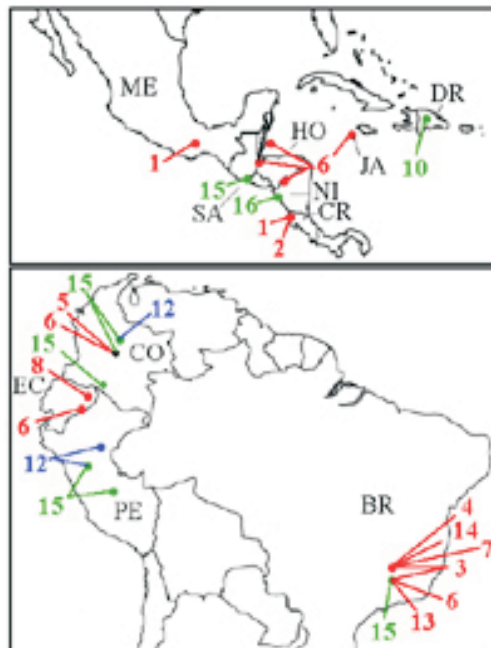
**Figura 3.** Alelos únicos en las huellas moleculares de Etiopía. Una porción del gel de AFLP muestra 4 alelos únicos (flechas) presentes en las huellas moleculares de las muestras de Etiopía y que están claramente ausentes en muestras de México (ME) y Brasil (BR).

**Distribución de líneas endogámicas de la broca.** Las consecuencias de la combinación entre psuedo-arrenotokia y endogamia en *H. hampei* (BRUN et al., 1995) fue evidente en el análisis de varianza molecular. Por lo tanto se consideró apropiado asumir que cada huella molecular obtenida representaba una diferente línea de broca endogámica y por lo tanto, la distribución de estas huellas entre localidades sería informativa (Fig. 2A). El mayor número de líneas endogámicas fue encontrado en el este de África central (8 poblaciones), muy cercano al centro de origen de la plaga. Esta líneas comprendieron muestras de Etiopía (n = 2), Kenya (n = 2) y Uganda (n = 12). Líneas múltiples fueron descubiertas en Brasil (7 poblaciones, n = 14), América Central y el Caribe (7 poblaciones, n = 19), Colombia (4 poblaciones, n = 10), Ecuador (2 poblaciones, n = 4), y Perú (2 poblaciones, n = 10). Una huella molecular única fue descubierta en Indonesia (n = 4), otra en India (n = 6), y finalmente una en Camerún (n = 2). Sólo cuatro líneas: FP01, FP06, FP12, y

FP15 fueron descubiertas en más de un país y sucedió únicamente con muestras de América. Estas cuatro líneas reunieron el 76% de todas las muestras Latinoamericanas.

Los registros históricos (BUSTILLO et al., 1998) y la distribución de las líneas endogámicas de broca (Fig. 4) sugieren que un proceso aleatorio de deriva genética debió ser el factor principal en la dispersión de *H. hampei* en Latinoamérica. El gran número de líneas descubiertas en solo dos fincas de Brasil continúa implicando a este país como el sitio de origen de este insecto en las Américas. La dispersión de la broca desde Brasil hacia el resto de Latinoamérica puede ser explicada por la presencia de las líneas FP06 (presente en 16 muestras) y FP15 (presente en 13 muestras) que comprendieron muestras de Brasil y otros países americanos. En la medida que este insecto invadía otras regiones cafeteras en Latinoamérica, las brocas fundadoras en cada región se convertían en una submuestra aleatoria de la diversidad genética hallada en Brasil.

La huella FP06 no fue detectada en Centro América y otras líneas que fueron halladas en otros países americanos no fueron descubiertas en Brasil. Por ejemplo, FP12 (presente en 8 muestras) que fue hallado sólo en Perú y



**Figura 4.** Distribución de huellas moleculares de AFLP en Latinoamérica. El color de cada huella es consistente con los colores representados en la Fig. 2.

Colombia y FP01 (presente en 18 muestras) que fue detectada en México y Costa Rica. Para explicar la razón por la cual estas líneas no estuvieron presentes en Brasil, se debe tener en cuenta el bajo tamaño de muestra analizado en Brasil, sin embargo la posibilidad de introducciones separadas no puede ser eliminada de este análisis basados solo en la distribución de líneas de *H. hampei*.

**Análisis filogenético.** Con la idea de evaluar el efecto de la deriva genética en la distribución de las líneas de broca, se analizaron las huellas moleculares y su relación genética entre ellas. Para esto se realizó un análisis filogenético bajo el algoritmo Neighbor-Joining utilizando los 26 haplotipos descritos anteriormente (Fig. 2B). Este análisis asumió que las huellas moleculares obtenidas por AFLP revelaron suficiente variabilidad como para determinar la relación genética entre los haplotipos y que cada población colonizadora fue derivada a partir de una sola población de origen. Dado que la colonización de la broca a Asia y América debieron ocurrir de manera separada, se razonó que la distancia genética entre las muestras provenientes de estos dos continentes debería dar una idea de cómo se vería la representación de dos líneas distintas dentro de una sola localidad como por ejemplo Brasil. Se razonó además que la distancia genética entre muestras de Kenya y Uganda deberían indicar la diversidad genética esperada en una población de origen. Para completar el análisis, se tomó como out-group o grupo control, el haplotipo Etíope (FP25) ya que fue colectado cerca al sitio de origen de la plaga y además presentaba un número desproporcionado de alelos únicos asociados a este haplotipo.

El análisis filogenético separó las 26 huellas moleculares en 6 grupos (Fig. 2B). Los haplotipos de Kenya y Uganda (FP19-24 y 26) fueron asignados a un solo grupo el cual fue claramente separado de las otras muestras. Otros 4 grupos fueron más cercanos entre ellos. Las muestras de Indonesia y Camerún formaron uno de estos grupos y las muestras de India otro. Las muestras americanas formaron 3 grupos, de los cuales dos estuvieron más cercanamente relacionados a las muestras de India, Indonesia y Camerún. Los grupos más representativos de estos dos, contenían las huellas FP06, FP01 y otros 10 haplotipos, mientras que el otro contenía FP15 y otros dos haplotipos. Los restantes grupos conteniendo muestras americanas consistieron en un haplotipo individual, FP12, el cual fue igualmente distante de los otros haplotipos americanos y aquellos del este de África Central.

De manera consistente con los registros históricos (HAGEDORN, 1910; CORBETT, 1933; SREEDHARAN et al., 1994), los resultados obtenidos mediante la relación entre las huellas moleculares y su distribución sugirieron que las líneas de broca de Indonesia e India resultaron a partir de introducciones separadas. La cercana similaridad entre huellas descubiertas en Indonesia y

Camerún sugieren que la broca invadió la primera a partir de insectos del Oeste de África Central. Igualmente, la separación de los haplotipos del este de África central del resto de haplotipos sugiere que la invasión de este insecto tanto en Asia como en América debió ocurrir a partir de insectos del oeste y no del este de África Central (BERGAMIN, 1946). Por otro lado, Andreev et al. (1998) sugirió que muestras de broca provenientes de Jamaica estuvieron más relacionadas con África que con cualquier otro país de América. Sin embargo, la línea FP06 conteniendo muestras de Jamaica analizadas en esta investigación estuvo claramente presente en otros países americanos. De cualquier manera, dado el bajo número de muestras provenientes de Jamaica, no se puede descartar que algunos insectos de broca hayan sido introducidos desde África. En esta investigación se evidenciaron no más de tres introducciones separadas en broca en América. Cada introducción putativa habría involucrado un grupo de brocas representada por 3 grupos mayoritarios: grupo 1 conteniendo las huellas FP01 y FP06, el grupo 15 conteniendo FP15, y el grupo 12 conteniendo FP12.

El análisis de Neighbor-Joining reforzó el argumento de que la deriva genética fue la razón por la cual ciertas líneas americanas fueron descubiertas mas al norte de Brasil a pesar de no haber sido detectadas en este país. Parece que las muestras constituidas por los grupos 1 y 15 fueron introducidas a Brasil y ciertas líneas dentro de estos grupos fueron las fundadoras de aquellas descubiertas en los otros países. Entre estas líneas FP01 es particularmente interesante pues fue detectada únicamente en México y Costa Rica. Dado que medidas cuarentenarias evitaron que la broca invadiera Costa Rica hasta el año 2000 (PROMECAFE, 2002), es posible que *H. hampei* haya sido introducida a Costa Rica proveniente de México. Igualmente Guatemala fue reportada como el origen de la broca de Honduras, México, El Salvador y Nicaragua (CÁRDENAS; POSADA, 2001); sin embargo, la distancia genética entre muestras de El Salvador, Nicaragua y Honduras fue más cercana que aquella entre estas muestras y FP01. Si el origen de las poblaciones de México fuera realmente Guatemala, una relación más cercana entre México y el grupo de Honduras, El Salvador o Nicaragua debió haber sido detectada en este análisis.

La mayor evidencia de introducciones múltiples de la broca a América podría estar siendo proporcionada por la línea FP12. Esta población esta más alejada de todas las líneas americanas y además se encuentra ausente en Brasil. Ya que reportes previos han sugerido a Brasil como el origen de la introducción de broca a Perú (AMARAL, 1963), se sospecha que la no detección de esta línea en Brasil haya sido debido al bajo número de muestras recolectadas en tan pocos sitios muestrales. Este análisis agrupó las muestras colombianas en grupos independientes con muestras recolectadas en Brasil, Perú y Ecuador. Esto sugiere que la broca pudo haber invadido Colombia mediante

introducciones múltiples y no como consecuencia de una introducción única de origen ecuatoriano como se reportó previamente (BUSTILLO et al., 1998).

Todos los resultados obtenidos durante la realización de esta investigación han sido consistentes con lo esperado en una especie que se reproduce a partir de una estricta endogamia de líneas maternas; además, la variabilidad genética fue extremadamente baja como consecuencia de la rápida fijación de nuevos alelos. Sin considerar las limitaciones asociadas con la naturaleza dominante de los polimorfismos de AFLP, podemos afirmar que la variabilidad genética encontrada en este análisis fue mayor a la observada en cualquier otra investigación de la genética de la broca (BORSA; GINGERICH, 1995; ANDREEV et al., 1998). Las huellas moleculares de AFLP son claramente una estrategia útil para descubrir y utilizar polimorfismos de ADN en especies donde sería extremadamente difícil lograrlo utilizando métodos que usen marcadores como es el caso de los microsátélites. La mayor limitación en este estudio fue la naturaleza dominante de los polimorfismos, por lo tanto se tuvo que asumir que los fragmentos de AFLP que co-segregaban en los geles de acrilamida eran idénticos en sus secuencias y que todas las bandas polimórficas eran homocigotas. De esta manera, esta investigación pudo haber sobreestimado la real variabilidad genética en este insecto. Para sobrellevar esta limitación, se está realizando secuenciación de estas bandas tanto para descubrir la naturaleza de los polimorfismos como para convertirlos en marcadores para ser usados en estudios posteriores de genética y biología de este insecto.

La consecuencia más probable de la endogamia en la broca sería un rápido incremento en la frecuencia relativa de heterocigotos, de tal manera que se encontraría una muy alta diferenciación y una baja variabilidad genética, tal como se observó en este estudio. Estos resultados concuerdan además con previas investigaciones donde se compararon colecciones mundiales de broca utilizando técnicas moleculares (BORSA; GINGERICH, 1995; ANDREEV et al., 1998). Como consecuencia de la endogamia, mutaciones que confieren resistencia a insecticidas se fijarían rápidamente como caracteres homocigotos y se dispersarían como una línea única. Esto pondría un reto en el manejo de esta plaga ya que el control sería muy bajo en aquellas áreas donde la dependencia a químicos es muy alta. La resistencia al insecticida Endosulfan ya ha sido reportada en Nueva Caledonia y Colombia (BRUN et al., 1989; GÓNGORA et al., 2001). Otra importante consideración es que la pérdida de heterocigosidad en este insecto podría aumentar su riesgo de extinción (FRANKHAM, 1995; SACCHERI et al., 1998; HANSKI, 1999), ya que la flexibilidad genética que posee este insecto para sobrepasar una estrategia intensiva de control sería muy baja.

Una observación final a estos resultados tiene que ver con la causa de la dispersión de este insecto por las Américas y las islas del Caribe. El cultivo del café comparte el mismo habitat y tiene virtualmente la misma distribución que las plantas de coca (*Erythroxylum coca*, y *E. novogranatense*). De esta manera, se puede especular que el movimiento de este insecto dentro y fuera de áreas cuarentenarias y a través de límites geográficos, pudo haber sido mediante el transporte involuntario de adultos en los empaques o vehículos durante el movimiento no registrado de hojas de coca o cocaína procesada. Esta hipótesis resulta del análisis sobre la distribución de las diferentes líneas genéticas de la broca en Latinoamérica, de los reportes de invasión de la broca en América, de observar a Colombia como un punto intermedio en la producción y distribución de cocaína en Europa y los Estados Unidos (MACDONALD, 1988, 1989; KHAN-MELNYK, 1995; MAINGOT, 1995; ROBINSON, 1995) y de hallar en Colombia la totalidad de la diversidad genética de la broca observada en toda Latinoamérica a pesar de no ser Colombia el país centro de origen de esta plaga en América. La presencia de la huella molecular FP12 en Perú y Colombia es también consistente con los reportes sobre el transporte de materia prima de Perú a Colombia para la elaboración de base de coca y producción de cocaína. Finalmente, la distribución de la huella FP01 en México y Costa Rica puede ser explicada por el tráfico de ilegales entre estos dos países ya que la mayoría de cafetales entre estos dos países se encuentran infestados con la línea FP06 de *H. hampei*. Es importante aclarar que la broca emerge de los frutos infestados de manera masal en períodos muy cortos de tiempo, y que cada adulto puede ser fácilmente transportado en vehículos, ropa, herramientas, etc. de un lugar a otro sin ser detectada. De todas maneras esta hipótesis será solo eso ya que su comprobación será imposible de ser relacionada con hechos históricos.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los siguientes colegas por suministrarnos el material biológico estudiado durante el desarrollo de esta investigación: Chris Lomer (difunto; Benin), Ramiro Ruíz (Brasil), Maurice Tindo (Camerún), Gabriel Saldarriaga (Colombia), Pablo Delgado y Alberto Larco (Ecuador), Bernard Pierre Dufour (El Salvador), Raul Muñoz y Angel Trejo (Honduras), R. Naidu, M. M. Balakrishnan y K. Sreedharan (India), Dr. Zaenudin (Indonesia), Alford Williams (Jamaica), George I. Oduor (Kenya), Juan F. Barrera Gaytán (México), Elizabeth Nuñez Sacarías (Perú). Las muestras de Nicaragua fueron colectadas por Fernando Vega, Guy Mercadier y Edwin Zepeda. Las muestras de Uganda fueron colectadas por Fernando Vega, G. Mercadier y Patrick Kucel.

## REFERENCIAS

- ABASA, R. O. A review of the biological control of coffee insect pests in Kenya. **Kenya Coffee**, v. 41, p. 327-333, 1976.
- AMARAL, S. F. El gorgojo de la cereza del café "Broca" y su combate. **Café Peruano**, v. 1, p. 8-20, 1963.
- ANDREEV D. et al. Lack of nucleotide variability in a beetle pest with extreme inbreeding. **Insect Molecular Biology**, v. 7, p. 197-200, 1998.
- BAKER, P. S. Some aspects of the behavior of the coffee berry borer in relation to its control in southern Mexico (Coleoptera: Scolytidae). **Folia Entomológica Mexicana**, v. 62, p. 9-24, 1984.
- \_\_\_\_\_. **The coffee berry borer in Colombia**; final report of the DFID - Cenicafé - CABI Bioscience. IPM for coffee project (CNTR 93/1536A). Chinchiná (Colombia), CENICAFÉ, 1999.
- \_\_\_\_\_. **Integrated Management of the Coffee Berry Borer**. CABI Bioscience, 2001.
- BARRERA, J. F.; GÓMEZ, J.; ALAUZET C. Can the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) reproduce by parthenogenesis. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 77, p. 351-354, 1995.
- BEILLE, L. Les stephanoderes sur les caféiers cultivés à la Côte d'Ivoire. **Revue de Botanique Appliquée et d'Agriculture Tropicale**, v. 5, p. 387-388, 1925.
- BENAVIDES, P.; ARÉVALO H. **Manejo Integrado: una estrategia para el control de la broca del café en Colombia**. CENICAFÉ, Colombia, v. 53, p. 50-59, 2002.
- BENAVIDES, P. et al. Evaluación de los métodos de control cultural, químico y biológico en el manejo integrado de la broca del café. **Revista Colombiana de Entomología**, Colombia, v. 28, p. 247-253, 2002.
- BERGAMIN, J. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Col. Ipidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, Brasil, v. 14, p. 31-72, 1943.
- \_\_\_\_\_. A broca do café no Brasil. **Boletim da Superintendência dos Serviços do Café**, Brasil, v. 33, p. 21-22, 1946.
- BIOSCIENCE. **Integrated management of the coffee berry borer**, 1998.
- BORBON, O. Pérdidas de café provocadas por la broca del fruto del cafeto en Togo *Hypothenemus hampei* (Ferr.). In: **TALLER REGIONAL SOBRE LA BROCA DEL FRUTO DEL CAFETO**, 4., 1990. San Salvador (El Salvador), PROMECAFE.

BORSA, P. GINGERICH, D. P. Allozyme variation and an estimate of the inbreeding coefficient in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 85, p. 21-28, 1995.

BREILID, H. et al. Phylogeographic patterns of introduced populations of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. In: **ASIC COLLOQUE**, Nairobi, 1997.

BRUN, L. O. et al. Endosulfan resistance in coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, v. 82, p. 1311-1316, 1989.

\_\_\_\_\_. Functional haplodiploidy: a mechanism for the spread of insecticide resistance in an important international insect pest. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, p. 9861-9865, 1995.

BUGNICOURT, F. Le scolyte du grain du café en Nouvelle-Caledonie. **Revue d' Agriculture de la Nouvelle Caledonie**, v. 1, p. 3-4, 1950.

BUSTILLO, A. E. Perspectivas de manejo integrado de la broca del café en Colombia. In: **SEMINARIO SOBRE LA BROCA DEL CAFÉ**, 1990, Medellín (Colombia): SOCOLEN, 1990. p. 106-118.

BUSTILLO, A. E. et al. **Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia**. CENICAFÉ, Chinchiná (Colombia), 1998.

CÁRDENAS, R.; POSADA, F. **Los insectos y otros habitantes de cafetales y platanales**. Comité Departamental de Cafeteros del Quindío, Armenia (Colombia), 2001.

CASTRO, L.; BENAVIDES, P.; BUSTILLO, A. E. Dispersión y mortalidad de *Hypothenemus hampei* durante la recolección y beneficio del café. **Manejo Integrado de Plagas**. Costa Rica, v. 50, p. 19-28, 1998.

CORBETT, G. H. Some preliminary observations on the coffee berry borer, *Stephanoderes (Cryphalus) hampei* Ferr. **Malayan Agricultural Journal**, v. 21, p. 8-22, 1933.

DECAZY, B. Control de la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei*. In: **CONGRESO SOBRE EL CULTIVO DEL CAFE**. ISIC-AIDE, 1987, San Salvador (El Salvador).

EL CAFE DE NICARAGUA. **ALARMA en México**: aparece la broca del café. **El Café de Nicaragua**, Nicaragua, p. 14, 1978.

\_\_\_\_\_. **El Café de Nicaragua: Insectos y ácaros del follaje**. **El Café de Nicaragua**, Nicaragua, p. 4-10, 1979.

- GLOBAL EXCHANGE. **Global Economy: Fair Trade Coffee Campaign**, 2002.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, p. 479-491, 1992.
- FFRENCH-CONSTANT, R. H.; STEICHEN, J. C.; BRUN, L. O. A molecular diagnostic for endosulfan insecticide resistance in the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 84, p. 11-16, 1994.
- FRANKHAM, R. Inbreeding and extinction: a threshold effect. **Conservation Biology**, v. 9, p. 792-799, 1995.
- GINGERICH, D. P. et al. Inbreeding in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) estimated from endosulfan resistance phenotype frequencies. **Bulletin of Entomological Research**, v. 86, p. 667-674, 1996.
- GÓNGORA, C.; POSADA, F. C.; BUSTILLO, A. Detección molecular de un gen de resistencia al insecticida endosulfan en una población de broca de Colombia. In: **CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA**, 28., 2001, Pereira (Colombia), p. 47-48.
- GOWDEY, C. C. **Annual Report**. Government Entomologist. Uganda, p. 7, 1910.
- GUHARA, Y. F.; MONTERREY, J. Manejo ecológico de la broca del cafeto *Hypothenemus hampei* en América Central. **Manejo Integrado de Plagas**, Costa Rica, v. 45, p. i-viii, 1997.
- HAGEDORN, M. Wieder ein neuer kaffeeschädlinge. **Entomologische Blätter**, v. 6, p. 1-14, 1910.
- HANSKI, I. **Metapopulation Ecology**. Oxford (England): Oxford University Press, 1999.
- HARTL, D. L.; CLARK, A. **Principles of population genetics**. Sunderland (USA): Sinauer Associates, Inc., 1997.
- HERNANDEZ, P.; SANCHEZ, L. La broca del fruto del café. Guatemala. **Revista Cafetalera**, Guatemala, v. 174, p. 11-26, 1978.
- JOHNSTON, A. *Stephanoderis hampei* in Tahiti. Plant Protection Committee for the South East Asia and Pacific Region. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Asia and the Far East. Bangkok (Thailand), 1963. 4 p., 1963 (Information Letter 23).
- KHAN-MELNYK, A. Politics and U.S. - Jamaican drug trade in the 1980s. In: BAGLEY, B. M.; Walker III, W. O. (Eds.) **Drug trafficking in the Americas**. New Brunswick and London (UK): Transaction Publishers, 1995. p. 481-509.
- LE PELLEY, R. H. **Pests of Coffee**. London (England): Longmans, Green & Co., Ltd., 1968.

- LEPLAE, E. Le scolyte des baies du caféier (Stephanoderes). **Bulletin Agricole du Congo Belge**, v. 19, p. 271-276, 1928.
- LOVE, J. **Coffee exporters counting on improved earnings in 1999/2000**, 2002.
- MACDONALD, S. B. **Dancing on a volcano: the Latin American drug trade**. New York (USA): Praeger, 1988.
- \_\_\_\_\_. **Mountain high, white avalanche: Cocaine and power in the Andean States and Panama**. New York (USA): Praeger, 1989.
- MAINGOT, A. P. The drug trade on the Caribbean: policy options. In: BAGLEY, B. M.; WALKER, III W. O. (Eds.) **Drug trafficking in the Americas**. New Brunswick and London (UK): Transaction Publishers, 1995 p. 469-479.
- MEKSEN, K. et al. Conversion of AFLP bands into high-throughput DNA markers. **Molecular Genetic and Genomics**, v. 265, p. 207-214, 2001.
- MENDOZA, M. E. Evaluación del daño ocasionado por la Broca del Café *Hypothenemus hampei* Ferrari 1867 (Coleoptera: Scolytidae), en los primeros estados de desarrollo del fruto, en dos zonas cafeteras del departamento del Valle del Cauca. In: **CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA**, 23., 1996, Cartagena (Colombia).
- MONTERREY, J. La broca del café en Nicaragua. In: REUNIÓN INTERCONTINENTAL SOBRE BROCA DEL CAFÉ, 1991, Tapachula (México), p. 28-30.
- MONTOYA, E. C. Caracterización de la infestación del café por la broca y efecto del daño en la calidad de la bebida. **Cenicafé**, Colombia, v. 50, p. 245-258, 1999.
- MORENO, D. et al. Escape y mortalidad de *Hypothenemus hampei* en los procesos de recolección y beneficio del café en Colombia. **Cenicafé**, Colombia, v. 52, p. 111-116, 2001.
- NORMARK, B. B.; JORDAL, B. H.; FARRELL, B. D. Origin of a haplodiploid beetle lineage. **Proceedings of the Royal Society of London (B)**, v. 266, p. 2253-2259, 1999.
- PROMECAFE. **Boletin Promecafe**, v. 3, 2002.
- REID, J. C. Distribution of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* within Jamaica, following its discovery in 1978. **Tropical Pest Management**, v. 29, p. 224-230, 1983.
- ROBINSON, L. Central America and drug trafficking. In: BAGLEY, B. M.; WALKER, III W. O. (Eds.) **Drug trafficking in the Americas**. New Brunswick and London (UK): Transaction Publishers, 1995. p. 445-453.

- ROMERO, H. La broca del café. **Guía técnica**. Proyecto Agroyungas AD/BOL/84/405, 1990, p. 25.
- ROSALES, M.; SILVA, R.; RODRIGUEZ, G. **Estrategias para el manejo integrado del minador de la hoja y la broca del fruto del cafeto**. FONAIAP Divulga, Venezuela, p. 19-24, 1986.
- RUALES, C. Aspectos generales sobre la broca del café en Ecuador. *Café y Cacao: Noticias*, Ecuador, v. 2, p. 7-11, 1997.
- SÁNCHEZ, R. Biología de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferr.). In: ANACAFE P- (Ed.) **Curso sobre Manejo Integrado de Plagas del Cafeto, con énfasis en la Broca del Fruto (*Hypothenemus hampei* Ferr.)**. PROMECAFE, Guatemala: ANACAFE, p. 97-104, 1985.
- SACCHERI, I. et al. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature*, v. 392, p. 491-494, 1998.
- SPONAGEL, K. W. **La broca del café, *Hypothenemus hampei* en plantaciones de Café Robusta en la Amazonia Ecuatoriana**. Giessen - Alemania: Wissenschaftlicher Fachverlag, 1994. 229 p.
- SREEDHARAN, K. et al. Bio-ecology and management of coffee berry borer. *Indian Coffee*, v. 58, p. 5-13, 1994.
- SWOFFORD, D. L. **Phylogenetic Analysis Using Parsimony**. Sunderland - Massachusetts (USA): Sinauer Associates, 1998.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Coffee update**. USDA, 2001.
- VEGA, F. E. et al. *Wolbachia* infection in the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae). *Annals of the Entomological Society of America*, v. 95, p. 374-378, 2002a.
- VEGA, F. E.; FRANQUI, R. A.; BENAVIDES, P. The presence of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Puerto Rico: fact or fiction? *Journal of Insect Science*, v. 2, n. 13, p. 1-3, 2002b.
- VERNALHA, M. M. et al. **Pragas e doenças do cafeeiro no estado do Paraná**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba (Brasil), 1965.
- VOS, P. et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, v. 23, p. 4407-4414, 1995.
- WRIGHT, S. Systems of mating. *Genetics*, v. 6, p. 111-178, 1921.

## EFFECTO DEL CLIMA Y CONDICIONES DE CULTIVO DEL CAFÉ EN LA BIOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO DE LA BROCA DEL CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (FERRARI) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)

Alex Enrique Bustillo Pardey y Diógenes Alberto Villalba Guott

Centro Nacional de Investigaciones de Café - CENICAFÉ, km 4, Vía Antigua a Manizales, Manizales, Caldas, Colombia, alexe.bustillo@cafedecolombia.com

Mucho se habla y se especula sobre las relaciones de la broca con el fenómeno climatológico de la corriente del Pacífico denominado “El Niño”. Para entender todas estas relaciones es necesario tener en cuenta muchos aspectos de la biología y comportamiento de la broca, y asociarlo a estudios realizados en Colombia y en otras partes.

**Origen de la broca.** La broca es originaria del África ecuatorial y fue introducida al continente americano en donde en sitios como Colombia ha encontrado condiciones muy favorables para su desarrollo debido especialmente a las condiciones climáticas, a la continuidad de la zona cafetera y su grado de tecnificación, que le aseguran suministro permanente de alimento.

En África el café es una planta que en su estado natural debió encontrarse bajo sombra proporcionada por árboles grandes en la selva. Por esto se presume que la broca sea un insecto adaptado a las condiciones de sombra, lo cual se ha comprobado en el campo. Sin embargo esto no quiere decir que sea más abundante en estos ecosistemas ya que la producción de frutos de los cafetos bajo esta condición es menor que a libre exposición. En los cafetales a libre exposición tipo Caturra plantados a altas densidades, existe un autosombra en las ramas que favorece el ataque de la broca, y debido a las altas producciones existe un mayor número de brocas por unidad de superficie.

**Dispersión de la broca.** En la selva tropical donde se originó la broca hace mucho tiempo se supone que había una gran diversidad de especies y por tanto los cafetos se encontraban dispersos y con baja producción de frutos. Esto permite asumir que la broca vuela bien como lo demuestran varios estudios. Bajo condiciones de laboratorio, la broca puede volar libremente hasta una hora y media y más de tres horas en vuelos sucesivos. La broca vuela levantándose lentamente y casi en forma vertical hasta encontrar corrientes de aire que la arrastran a otros sitios.

Muchos insectos tratan de migrar como un mecanismo de supervivencia. En el caso de la broca existe una proporción de adultos que vuela y se dispersa;

por consiguiente es casi imposible erradicar un insecto con aspersiones de insecticidas o control cultural si en un momento dado parte de su población está volando y otra parte esta refugiada en otros cafetales donde no se están haciendo prácticas para reducir su población. Por lo tanto, una vez la broca aparece en una zona hay que tratar de convivir con ella.

**Biología de la broca.** El comportamiento de la broca y su ciclo de vida han sido estudiados por diversos autores. Existen considerables diferencias en cuanto a la información sobre la duración de sus estados, pero esto obedece fundamentalmente a diferencias en las condiciones ambientales de los diversos estudios, especialmente de temperatura.

El adulto hembra de la broca del café una vez emerge de la exuvia pupal está listo para aparearse y unos tres días después puede iniciar posturas. Su período de ovoposición es de unos 20 días y coloca entre 2-3 huevos/día. El número de días que puede permanecer ovopositando se estima en Colombia en 15 días, y es posible que una broca tenga periodos de intermitencia y la reanude. La incubación del huevo dura 7,6 días (23°C) y el estado de larva 15 días para los machos y 19 días para las hembras, la prepupa 2 días y la pupa 6,4 días (25,8°C). El ciclo total de huevo a emergencia de adulto se estima en 27,5 días (24,5°C). Sin embargo el tiempo generacional, o sea el tiempo que tarda en iniciarse otra generación del insecto, bajo condiciones de campo se estima para la zona cafetera colombiana en 45 días a una temperatura promedio de 20-22°C. La relación de sexos es aproximadamente de 1:10 en favor de las hembras.

La hembra colonizadora no abandona el fruto para atacar otros frutos debido especialmente a la degeneración de los músculos del vuelo. Bajo nuestras condiciones se ha determinado que en un fruto de café desde el momento que es susceptible al ataque de la broca hasta la época de cosecha se pueden producir dos generaciones de la broca. Si estos frutos no se cosechan y se dejan secar en el árbol, se puede llegar a cuatro generaciones.

**Penetración en los frutos.** Al hacer observaciones sobre el tiempo que una hembra demora en penetrar un fruto, se encontró que éste varía de acuerdo con el estado de desarrollo del fruto así: frutos verdes 5h y 36 min., frutos pintones 5h y 54 min., frutos maduros 4h y 50 min. y frutos secos 11h y 21 min. O sea que hay una tendencia de la broca a penetrar con mayor rapidez los frutos maduros.

**Edad de los frutos.** Normalmente, los frutos de café empiezan a ser susceptibles al ataque de la broca, cuando su peso seco es de 20% ó más, lo cual se logra

cuando el fruto alcanza más de 120 días de desarrollo, lo que depende de la latitud y altitud, o sea que el periodo de vulnerabilidad de la broca a un insecticida de contacto está entre 120 y 150 días después de la floración.

Cuando la broca inicia ataques a frutos no muy desarrollados (<120 días) el tiempo de exposición en el canal de penetración es mucho más prolongado ya que se queda esperando a que la consistencia de las almendras sea la adecuada para iniciar su ovoposición, lo que la hace muy vulnerable durante este tiempo.

En estudios realizados en Colombia se encontró la influencia directa que tiene la acumulación de la materia seca en el fruto de café, en el tiempo que tarda el insecto desde el inicio de la perforación hasta iniciar la ovoposición el cual fluctúa entre 63 días para frutos de 60 días de edad (89% de humedad) hasta solo cuatro días en frutos de 210 días de edad (66% de humedad). La información anterior muestra la importancia de realizar labores de control dirigidas a los adultos a tiempo, ya que una vez la broca alcanza el endospermo solo es controlable con la recolección oportuna o con parasitoides.

**Desarrollo de la broca en los frutos de café.** La broca una vez se establece en un fruto apto para su desarrollo permanece en su interior poniendo huevos y cuidando de su progenie. Para el tiempo que los frutos completan su desarrollo la broca como mínimo ha producido una generación y en el interior de los frutos se pueden encontrar adultos hijos y estados inmaduros. Si los frutos maduros brocados no se recogen, pueden caer al suelo o permanecer en el árbol en donde se secan y la broca continua desarrollándose. Un fruto seco puede albergar desde unos pocos adultos de broca (p. e., 10) hasta un gran número (p. e., 150), y allí permanecen hasta que las condiciones ambientales le sean favorables para su reproducción. Cuando el periodo de lluvias llega, se inicia la emergencia de las brocas de estos frutos que van a colonizar nuevos frutos en el árbol.

**Orientación de la broca a los cafetales.** La broca es primero atraída por el olor y luego por el color y la forma del fruto. Las que llegan después son atraídas por los mismos factores, pero también por los olores liberados por la primera broca. Hay evidencias que en los desechos fecales se producen sustancias que atraen otras hembras. Las hembras de la broca debido a lo anterior tienden a agregarse al llegar a un cafetal concentrándose en ciertas ramas y árboles. Estudios realizados en Brasil y confirmados en Colombia, muestran que una mezcla de los alcoholes metanol/etanol en relación de 1:1 es capaz de atraer hembras adultas a trampas colocadas en cafetales, sin embargo el radio de acción es pequeño limitando así su uso para fines prácticos

de control. Esta herramienta es útil para monitorear los vuelos de broca en cafetales y saber cuando están ocurriendo ataques a los frutos sanos.

**Efecto de la broca sobre la producción de café.** El daño que ocasiona la broca al fruto de café, consiste en perforaciones a los frutos y caída de estos cuando atacan frutos jóvenes. Se encontró que cuando la broca ataca frutos de café de dos meses de edad, más del 50% de los frutos afectados se caen de las ramas y muchos de ellos toman un color característico de madurez; pero si el ataque ocurre después de los tres meses de edad, la caída de frutos es menor al 23,5%. La pérdida de peso del café pergamino seco por causa de la broca fue en promedio de 18,1%, y los frutos que fueron atacados tempranamente se maduran prematuramente, lo cual repercute en un manchado del pergamino de los granos sanos.

La infestación en campo al relacionarla directamente con la infestación en café pergamino seco no presenta ninguna correlación; pero si se mide la infestación en campo uno o dos meses antes de la cosecha y se la correlaciona con la infestación ponderada del café pergamino seco de toda la cosecha se obtiene una correlación alta ( $r^2 = 0,87$ ) entre estas dos variables.

**Efecto de la humedad y temperatura sobre la broca.** La humedad afecta la mortalidad y el potencial reproductivo de la broca. A bajas humedades ocurre alta mortalidad y la máxima fecundidad se encontró a 90% y 93,5% de H. R. La emergencia de la broca de frutos infestados se incrementa entre 90-100% H. R. y es muy baja a temperaturas inferiores a 20°C (90-100% H. R.) y se incrementa considerablemente entre 20-25°C.

Los periodos prolongados de sequía en los cafetales causan caída de frutos, se acelera la maduración y las almendras resultan mal formadas y de calidad inferior. Si estos están brocados el desarrollo de la broca también es más rápido o sea que el tiempo generacional es más corto, hay una mayor reproducción de la broca dentro de los frutos caídos al no recibir humedad por las lluvias. La broca, como se dijo antes, durante los periodos secos no emerge de los frutos generando una gran descendencia la cual inicia su salida cuando se inician las lluvias. Durante los periodos lluviosos las brocas no permanecen mucho tiempo en el fruto y su reproducción por consiguiente es menor. Por otra parte se ha observado también una menor reproducción en las semillas averanadas.

**Efecto de frutos brocados en el suelo sobre el incremento de las poblaciones de broca en los cafetales.** En un estudio en que se dirigió a conocer lo que ocurre con los frutos que caen durante las recolecciones, se encontró un derrame promedio de 110 frutos por árbol, de los cuales un 50% verdes y 50%

maduros que representan unos 180 kg de c.p.s., por cada 5.000 cafetos. El índice de infestación en frutos maduros fue mayor en proporción tres a uno. El desarrollo de la broca del café en el suelo en las primeras dos semanas fue superior al crecimiento poblacional en el árbol, pero a las cuatro semanas la población en los frutos del árbol fue mayor. Lo anterior se explica por el efecto de los organismos antagonistas en el suelo y el efecto del clima ya que durante el estudio predominaron las lluvias.

**Dispersión de la broca después del zoqueo del cultivo del café.** En cafetales zoqueados y a los cuales no se les retiran los frutos brocados el problema de la generación de altas poblaciones de broca y su diseminación a los cafetales vecinos es muy grave ya que causa incrementos súbitos en los niveles de infestación.

Durante el período entre enero y agosto de 1996 en la Subestación Experimental "La Catalina" y en la finca Santa Bárbara, municipio de Pereira, se llevó a cabo una evaluación de las poblaciones de la broca y su dispersión a cafetales vecinos después del zoqueo, sin retirar los frutos de los árboles zoqueados. El potencial de estados biológicos vivos de broca en estos lotes de una hectárea se estimó en 5.800.000 y se observó que su reproducción continúa aún después de tres meses de estar en el suelo. En los primeros 30 días emerge del suelo la mayor cantidad de adultos de broca y se triplica el porcentaje de infestación en los lotes vecinos. A los 70 días después del zoqueo cerca del 80% de la población de adultos de broca emergió y se continuó registrando emergencias aún después de 150 días. Esto implica que se tiene un flujo constante de brocas hacia los cafetales vecinos, que dificulta y encarece el manejo de la broca.

Esta información ratifica la necesidad de seguir las recomendaciones de CENICAFÉ sobre zoqueo, que en esencia se reducen a remover los frutos brocados de los árboles antes de desramarlos, usar árboles trampas y cosecharlos oportunamente.

**Efecto de los hongos sobre poblaciones de broca que emergen de frutos en el suelo.** Este estudio evaluó el efecto de aspersiones de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* al suelo sobre la broca que emerge de frutos caídos, a medida que transcurre el tiempo después de depositar el hongo. Las conidias de los hongos utilizados se suspendieron en aceite emulsionable y agua usando una dosis de  $1 \times 10^9$  c/árbol. En la base del árbol que sirvió como unidad experimental se depositaron 350 frutos brocados, asperjando los hongos el mismo día y 2, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 días después de la aspersión, la cual se dirigió al plato de cada árbol. Al cabo de 30 días se evaluó la infección por los hongos sobre la broca presente en frutos perforados en la parte aérea del árbol.

Los resultados mostraron que los niveles más altos de infección por los hongos sobre la broca en las ramas de los árboles, se produjeron los cinco primeros días después de la infestación en el suelo; estos fueron cercanos al 30% para *B. bassiana* y del 11% para *M. anisopliae*; sin embargo la infección disminuyó posteriormente para ambos hongos pero de nuevo alcanzó un pico hacia los 25 días de 24,3% para *B. bassiana* y de 7,7% para *M. anisopliae*. Lo anterior se puede explicar por el fenómeno de microconidiación o formación de propágulos en micro ciclos que ocurre cuando se aplican entomopatógenos al suelo, debido probablemente a la acumulación de esporas infectivas sobre insectos atacados que reinfectan nuevos insectos para asegurar la perpetuación del microorganismo.

En relación con la recuperación de los hongos del suelo, se encontró concordancia con los resultados de infección en los frutos del árbol. Las dos especies se recuperaron aún después de dos meses y la fluctuación en las cantidades de unidades formadoras de colonia, se puede deber a la influencia de las lluvias y a la microconidiación.

Los anteriores resultados muestran las bondades de *B. bassiana* en la regulación de la población de la broca que emerge del suelo y permite concluir que su efecto es superior al de *M. anisopliae*; sin embargo, esta eficiencia se podría mejorar con otro tipo de formulaciones del hongo, p. e., una formulación granulada, que permitiera una mayor permanencia en el suelo para evitar la lixiviación o arrastre causada por las lluvias.

**Evaluación del efecto de insecticidas químicos con coadyuvantes para el control de la broca del café.** Este experimento, se realizó con el objetivo de evaluar la eficacia de insecticidas y la reducción de sus dosis en mezcla con coadyuvantes, sobre adultos de broca que están penetrando en los frutos de café. Los resultados indicaron que las mezclas de fenitrotion + Kem-kol, fenitrotion + Cosmoflux y fentoato + Cosmoflux, produjeron altas mortalidades y no presentaron diferencias significativas entre ellas, pero la mezcla malathion + Cosmoflux, produjo baja mortalidad cuando se realizaron las aplicaciones 1, 3 y 8 días después de la infestación. El insecticida fentoato produjo la mayor mortalidad que fluctuó entre 100% y 78,69%, correspondiendo este último valor a la aspersion de los 15 días y la menor la produjo el insecticida piridiafention.

Este estudio muestra como se puede incrementar la eficacia de algunos insecticidas reduciendo sus dosis de 1,5 lt/ha a 1,0 lt/ha y usando coadyuvantes en proporción de 0,75 lt/ha, para obtener mejores resultados en el control de la broca.

**Eficacia de insecticidas para el control de la broca en relación con el desarrollo de los frutos del café.** El control de la broca del café con el uso de

insecticidas es muy errático, para explicar estas fallas se han estudiado diferentes factores que lo afectan como son el ingrediente activo utilizado, la correcta dosificación, la calibración tanto de los operarios como de los equipos, la topografía del terreno, las condiciones ambientales reinantes al hacer las aspersiones y el momento oportuno de las aspersiones relacionado con el ataque de la broca. Sin embargo es muy poco lo que se conoce sobre el efecto de la edad de los frutos del café que son atacados por la broca y la eficacia de los insecticidas. Para determinar esto se planeó un experimento en la Subestación "Paraguaicito" de CENICAFÉ en el Quindío. En un lote de café variedad Colombia de tres años de edad se evaluó la eficacia de los insecticidas: clorpirifos (Lorsban), endosulfan (Thiodan), fenitrothion (Sumithion), fenthion (Lebaycid) y pirimifos metil (Actellic) usando una dosis comercial de 0,3 cc de producto comercial/árbol y un volumen de aspersión de 50 cc/árbol. Para la aspersión de los productos se utilizaron máquinas de presión previa retenida Triunfo 40-100-10 con una boquilla TX3 para una descarga de 200cc/min a una presión de 40 psi. En el cafetal se marcaron floraciones para tener ramas con frutos de edad conocida así: 60, 90, 120, 150, 180, 210 días, los cuales al alcanzar esta edad se infestaron con adultos de broca con la ayuda de mangas entomológicas. El experimento se organizó en un diseño completamente aleatorio con seis tratamientos (5 productos y un testigo) y con seis repeticiones siendo la unidad experimental una rama con 50 frutos. Al cabo de tres días de la infestación se aplicaron los productos y tres días después se evaluó su eficacia contabilizando el total de la población de adultos de broca y el número muerto por la acción del tratamiento.

Para la edad del fruto de 90 días ó más se encontró que la infestación fue mayor del 96%, en el caso de los frutos de 60 días varió entre 37% y 61%. Los resultados muestran que hubo interacción significativa entre el producto aplicado y la edad del fruto. Para todos los productos se encontró que la eficacia disminuyó a medida que se incrementó la edad del fruto. Todos los productos mostraron una eficacia superior al 98% cuando se asperjaron en las parcelas de edades entre 60 y 120 días, la que disminuyó a medida que se acercaron a los 210 días. Lo anterior se explica por el comportamiento de la broca que prefiere y se desarrolla más rápidamente en frutos de mayor edad, durante el presente estudio se observó que solo después de los 180 días de edad del fruto y al cabo de los tres días de infestación la broca alcanzó la posición C en baja proporción. Este estudio ratifica la hipótesis de que la edad del fruto incide en la eficacia de los insecticidas para el control de la broca del café.

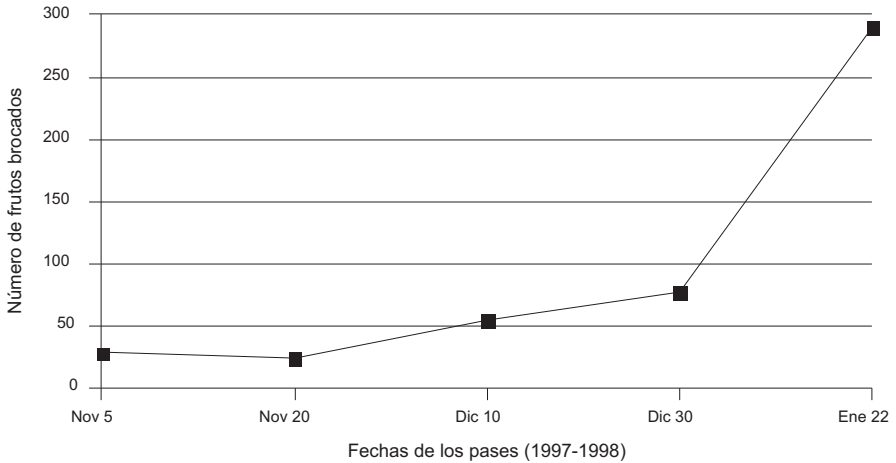
**Escape de la broca durante los procesos de beneficio húmedo tradicional del café.** En muchas fincas es mucho el esfuerzo que se hace para reducir las

poblaciones de broca en los cafetales, sin embargo poco se hace para impedir el escape de la broca durante el proceso del beneficio, la que retorna a los cafetales. El estudio que a continuación se presenta muestra la importancia de evitar al máximo este escape.

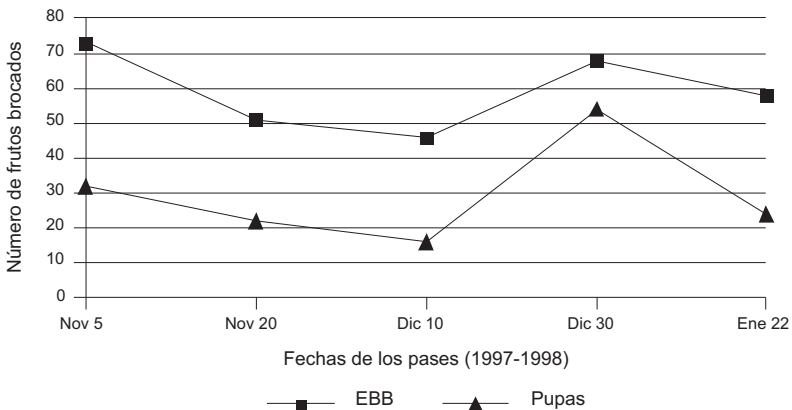
El beneficio húmedo tradicional, comprende las etapas de recolección y recibo del café, despulpado, fermentación, lavado y clasificación, secado, empaque y almacenamiento. Durante la recolección los costales permanecen normalmente abiertos pero se presume que si se cierran habrá menor escape de la broca. En este estudio se quiso cuantificar el escape de adultos de broca a partir de todas las etapas beneficio tradicional y el efecto de la fermentación y el secado solar sobre la mortalidad de los diferentes estados biológicos de broca durante tres recolecciones de café en la cosecha principal de 1995 (octubre - diciembre). Se diseñaron dispositivos de madera y tul impregnado de grasa para capturar las brocas que salían de los costales abiertos y cerrados en el campo durante la recolección y del café pergamino y de pasillas y flotes en el secado. En la tolva y tanque de fermentación se utilizó plástico impregnado de grasa y una malla elástica de licra en los desagües del beneficiadero, para impedir y contabilizar el escape de broca.

Se estimó el potencial de brocas vivas presentes en los tratamientos al inicio de cada recolección evaluada, calculándose un escape de adultos de broca entre el 2,65% y 22,01% en todos los procesos de beneficio; el escape de adultos de broca se observó en todos éstos siendo mayor a partir de las pasillas y flotes durante el secado al sol y de los costales en el campo. La fermentación, contrario al secado, no tuvo ningún efecto sobre la mortalidad de los diferentes estados biológicos de broca. Se concluye que en todas las etapas del beneficio hubo escape de broca, siendo mayor en orden descendente, a partir del secado de flotes y pasillas, de los costales en campo, de la tolva de recibo y de los desagües, y menor a partir de los tanques de fermentación y del secado de café pergamino y la pulpa.

**Dinámica de la broca en los cafetales colombianos.** Los niveles de infestación generalmente son muy altos en los años de poca precipitación pluvial. En la Fig. 1 se muestra para finales del año un aumento en frutos brocados en un cafetal, a consecuencia de las emergencias de broca causadas por los frutos caídos y el efecto de la cosecha. En la Fig. 2 se puede observar la variación en las poblaciones de broca en frutos maduros brocados a medida que avanza la cosecha en un cafetal. Se puede destacar el número de pupas que alcanza su nivel más alto hacia el final de la cosecha, las cuales en poco tiempo se convierten en adultos que estarán listos para emerger e ir a colonizar otros frutos.

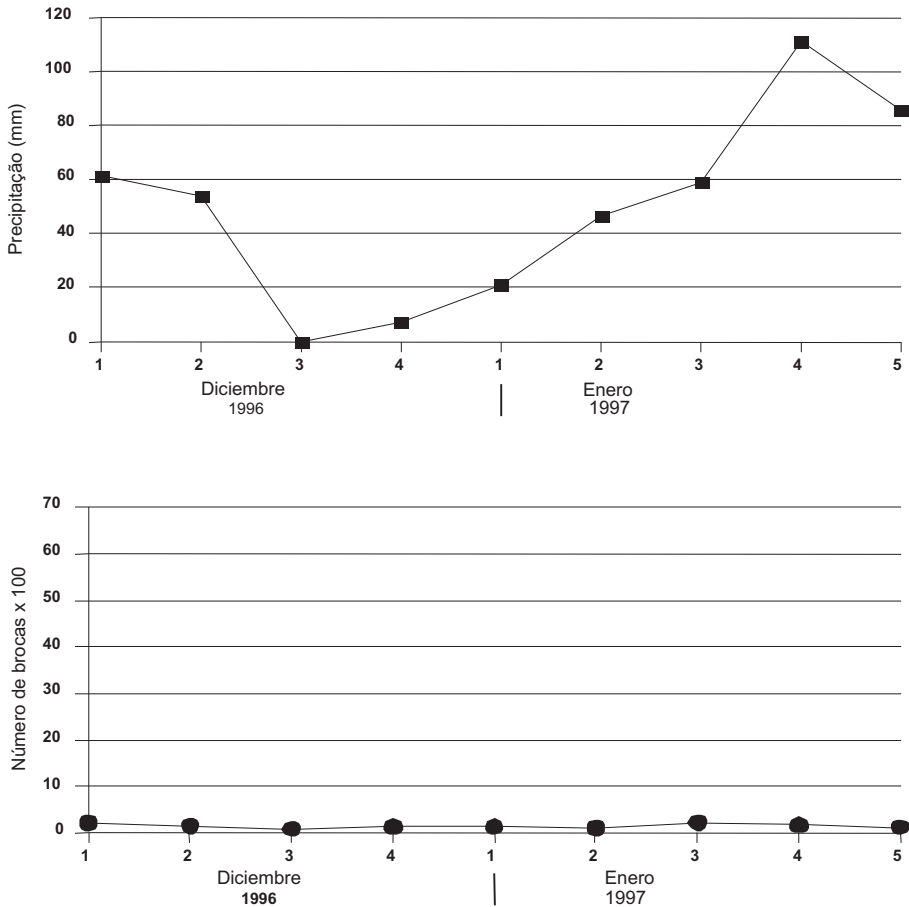


**Figura 1.** Número promedio de frutos maduros brocados en un kg de café cereza en cinco pases, entre noviembre de 1997 y enero de 1998 (N=15). (Zoca de primera cosecha, Naranjal, Caldas).



**Figura 2.** Número de frutos con estados biológicos y número de frutos con pupas en una muestra de 100 frutos maduros brocados. (Zoca de primera cosecha, Naranjal, Caldas).

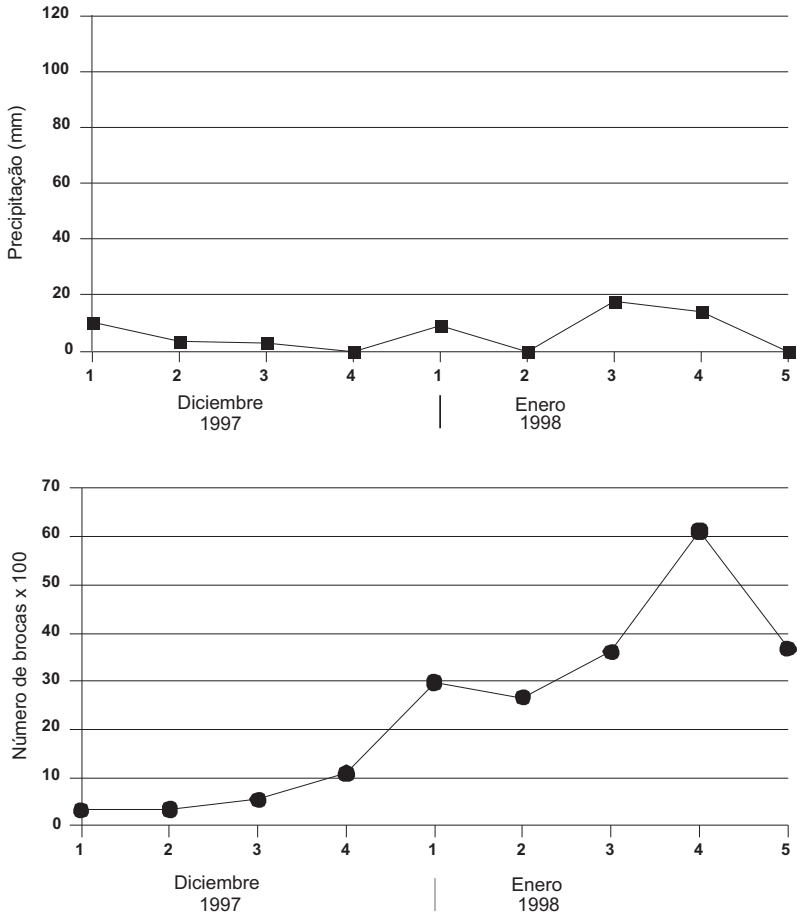
En relación con el vuelo de la broca, medido a través de trampas cebadas con alcohol, se presentan registros de captura después de la cosecha de 1996 (diciembre 96 - enero 1997) (Fig. 3) y después de la cosecha de 1997 (diciembre 97 - enero 1998) (Fig. 4). En estas gráficas, se puede comparar el efecto sobre el vuelo de la broca en un año muy húmedo (1996), en el cual la emergencia de broca de frutos del suelo fue muy escasa, con la de 1997 un año seco en donde pequeños aguaceros estimulan la emergencia de altas poblaciones de broca de los frutos del suelo.



**Figura 3.** Emergencia de brocas (capturadas en una trampa de alcohol) en un cafetal de Naranjal y su relación con la precipitación durante diciembre de 1996 y enero de 1997. (Total capturado semanalmente en 40 trampas).

En general se puede concluir que en los cafetales colombianos debido a las variaciones climáticas la dinámica de la broca es muy variable, siendo favorecido su incremento en los tiempos de sequía. Por otra parte se observa que el cafetero descuida el problema de la broca durante los años de mucha lluvia y cuando vuelve el tiempo seco las poblaciones se incrementan notoriamente causando un daño que resulta inicialmente desapercibido.

Todo lo anterior deja como experiencia que la broca es un enemigo permanente que aunque se encuentre a niveles de población bajos no deja de ser una amenaza y que el caficultor no puede bajo ningún motivo olvidarse de ella.



**Figura 4.** Emergencia de brocas (capturadas en una trampa de alcohol) en un cafetal de Naranjal y su relación con la precipitación durante diciembre de 1997 y enero de 1998. (Total capturado semanalmente en 40 trampas).

## REFERENCIAS

BERNAL, M. G.; BUSTILLO, A. E.; POSADA, F. J. Virulencia de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y su eficacia en campo sobre *Hypothenemus hampei*. *Revista Colombiana de Entomología*, v. 20, n. 4, p. 225-228, 1994.

BUSTILLO, A. E. Perspectivas de un manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. *Agricultura Tropical*, Colombia, v. 28, n. 1, p. 83-93, 1991.

BUSTILLO, A. E. El control biológico como un componente en un programa de manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA 20., 1993, Cali (Colombia). **Memorias...** Cali: SOCOLEN, 1993. p. 159-164.

BUSTILLO, A. E. et al. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 14., 1991, San Francisco (USA). **Proceedings...** Paris (France): ASIC, 1991. p. 679-686.

\_\_\_\_\_. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. **Cenicafé**, v. 47, p. 215-230, 1996.

\_\_\_\_\_. Integrated pest management to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 16., 1995, Kyoto (Japan). **Proceedings...** Paris (France): ASIC, 1995. p. 671-680.

BUSTILLO, A. E.; POSADA, F. J. El uso de entomopatógenos en el control de la broca del café en Colombia. **Manejo Integrado de Plagas**, Costa Rica, v. 42, p. 1-13, 1996.

BUSTILLO, A. E.; VILLALBA, D. A.; CHÁVES, B. Consideraciones sobre el uso de insecticidas químicos en la zona cafetera en el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD ENTOMOLOGICA DE COLOMBIA, 20., 1993, Cali (Colombia). **Memorias...** Cali: SOCOLEN, 1993. p. 152-158.

CÁRDENAS, R. Biología, hábitos y control cultural de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD ENTOMOLOGICA DE COLOMBIA, 20., 1993, Cali (Colombia). **Memorias...** Cali: SOCOLEN, 1993. p. 111-124.

CASTAÑO, A. Determinación del patrón de ataque de la broca *Hypothenemus hampei* (Ferrari), a los frutos del café en diferentes situaciones del cultivo. 1997. 46 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales (Colombia), 1997.

CENICAFÉ. Cómo renovar cafetales que presenten infestaciones de la broca del café?. **Brocarta**, Chinchiná (Colômbia), n. 21, 1995.

CENICAFÉ. Recomendaciones para el manejo integrado de la broca del café. **Brocarta**, Chinchiná (Colômbia), n. 18, 1994.

FLÓREZ, E.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C. Evaluación de equipos de aspersión para el control de *Hypothenemus hampei* con el hongo *Beauveria bassiana*. **Cenicafé**, v. 48, p. 92-98, 1997.

GAVIRIA, A. H. et al. Incremento poblacional de la broca del café *Hypothenemus hampei* relacionado con el desarrollo del fruto del cafeto. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 21, p. 145-151, 1995.

JARAMILLO, N. I. Determinación del costo y la eficiencia del repase en café. 1998. 134 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo) - Departamento de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Medellín (Colombia), 1998.

MONTOYA, S.; CÁRDENAS, R. Biología de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en frutos de café de diferentes edades. **Cenicafé**, v. 45, p. 5-13, 1994.

OROZCO, J. Uso de parasitoides de origen africano para el control de la broca en Colombia. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA, 20., 1995, Santafé de Bogotá (Colombia). **Memorias...** Santafé de Bogotá: SOCOLEN, 1995. p. 102-108.

OROZCO, J.; ARISTIZÁBAL, L. F. Parasitoides de origen africano para el control de la broca del café. **Avances Técnicos de Cenicafé**, Chinchina (Colombia), n. 223, 1996.

OROZCO, J. BUSTILLO, A. E.; GUZMÁN, D. Efecto de varios insecticidas sobre el parasitoide de la broca del café *Cephalonomia stephanoderis* Betrem. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA, 22., 1995, Medellín (Colombia). **Resúmenes...** Medellín: SOCOLEN, 1995. p. 111.

PORTILLA, M.; BUSTILLO, A. E. Nuevas investigaciones en la cría masiva de *Hypothenemus hampei* y de sus parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 21, n. 1, p. 25-33, 1995.

REYES, I. C.; BUSTILLO, A. E.; CHÁVES, B. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre el parasitoide de la broca del café, *Cephalonomia stephanoderis*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 21, p. 199-204, 1995.

RUIZ C. R. Efecto de la fenología del fruto del café sobre los parámetros de la tabla de vida de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). 1996. 87 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales (Colombia), 1996.

SALDARRIAGA, G. Evaluación de prácticas culturales en el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae). 1994. 57 p. Tesis (Ingeniera Agrónoma) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Medellín (Colombia), 1994.

VILLALBA, D. A.; BUSTILLO, A. E.; CHÁVES, B. Evaluación de insecticidas para el control de la broca del café en Colombia. **Cenicafé**, v. 46, p. 152-163, 1995.

# MODELO TRITRÓFICO CAFÉ-BROCA-PARASITOIDES: UNA APROXIMACIÓN AL ANÁLISIS Y MANEJO DEL AGROECOSISTEMA DEL CAFÉ

José Ricardo Cure<sup>1</sup> e Andrew P. Gutierrez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada, Apartado Aéreo 49300, Bogotá, Colombia, jrcure@umng.edu.co

<sup>2</sup>College of Natural Resources, University of California, Berkeley, CA, USA, carpediem@nature.berkeley.edu

## RESUMEN

El sistema tritrófico café (*Coffea arabica*) - broca (*Hypothenemus hampei*) - parasitoides (*Cephalonomia stephanoderis*, *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea*), fue analizado mediante la elaboración de un modelo de simulación que considera los aspectos básicos de la biología y fenología de cada uno de los componentes del sistema, su fisiología y su dinámica de población. El modelo permite analizar de forma simultánea o en diferentes combinaciones, cualquier de las siguientes situaciones: 1) oferta de frutos por parte de la planta, 2) presencia de la broca y sus efectos sobre la producción, 3) influencia de la cosecha y de los frutos no cosechados en la dinámica de población de la broca y de cada uno de sus parasitoides, 4) influencia de la remoción de los frutos que caen al suelo sobre la dinámica de la broca, 5) efecto individual, o en combinación, de cada uno de los parasitoides sobre el control de la broca, 6) efecto de las introducciones inundativas de los parasitoides, en diferentes momentos del desarrollo de los frutos y 7) efecto de productos químicos con niveles de control diferentes.

## INTRODUCCIÓN

La existencia de cuatro parasitoides africanos (*Cephalonomia stephanoderis*, *Prorops nasuta*, *Phymastichus coffea* y *Heterospilus coffeicola*) que actúan como enemigos naturales de la broca del café y de entomopatógenos como *Beauveria bassiana*, generan una expectativa optimista para el manejo sostenible del cultivo. El trabajo publicado por Gutiérrez et al. (1998) ofrece la posibilidad de integrar todos estos elementos, de tal forma que se puedan explorar las posibilidades que tienen para el control de la broca, sin embargo este trabajo ha sido muy poco divulgado y lamentablemente las ventajas que ofrece no han sido comprendidas adecuadamente. Las raíces de este enfoque se encuentran en la ecología de poblaciones, y se originó a partir de los trabajos pioneros realizados en algodón por la Universidad de California, Berkeley a



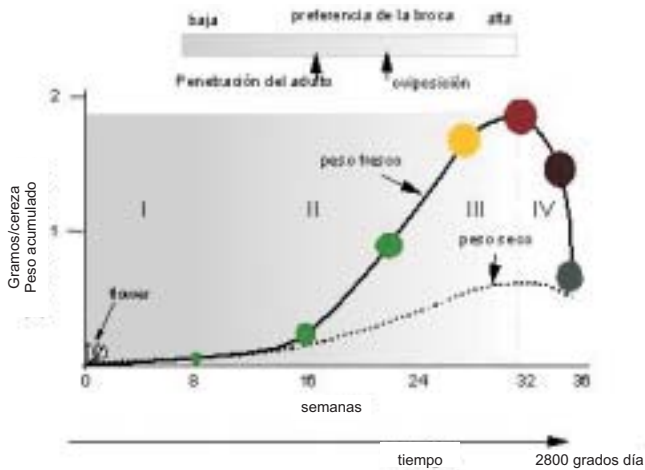
Los modelos ecológicos son herramientas que nos permiten integrar información: ¿Cómo organismos de diferentes niveles tróficos y actuando sobre condiciones cambiantes de clima, resuelven sus problemas básicos de supervivencia? y cómo en ciertas circunstancias estos mecanismos fallan y se producen los problemas de desequilibrio ecológico, que generan los problemas de plagas? En ellos se puede cuantificar lo que se sabe acerca de una relación ecológica y de esta forma se pueden identificar las piezas de información relevantes que están faltando. El mayor mérito de los modelos de simulación es que nos obligan a reconocer y a determinar explícitamente las piezas vitales de información existente y cuales de ellas están faltando (GILBERT et al., 1981).

**Datos utilizados para la propuesta del modelo del café.** Los estudios de campo que sirvieron de base para la elaboración del modelo provienen del Instituto Agronómico do Paraná (IAPAR, Londrina, Brasil), de un cultivo de la variedad *mundo novo*, sembradas en densidad de 3 x 2 m a razón de dos plántulas en cada hoyo. Las plántulas tenían seis pares de hojas en el momento de la siembra realizada el 12 de noviembre de 1982. Muestras de las plantas se recolectaron a intervalos de 20 días durante cerca de tres años y medio, entre el 10 de marzo de 1983 y junio 1 de 1986. Tres muestras (seis plantas en total) fueron recolectadas en cada fecha. Cada árbol de café muestreado se disecó en sus diferentes órganos y estos se secaron y pesaron.

En los muestreos la parte correspondiente a los frutos se clasificó en cuatro estados diferentes (fases fenológicas I-IV de acuerdo a SALAZAR et al., 1993), que varían en sus preferencias de ataque a los frutos (CURE et al., 1998) (Fig. 2). Estos muestreos se realizaron en un cultivo en que se realizó control permanente de la broca.

La fenología y abundancia de los estados biológicos de la broca se estimó en un cultivo diferente en el cual no se realizó control del insecto, con muestreos semanales comprendidos entre febrero 17 de 1986 y julio 7 de 1986. En este muestreo se retiraban 30 cerezas recogidas sobre la planta en tres alturas diferentes. Las cerezas se disecaron y se registró el número y los estados biológicos encontrados en cada uno de los muestreos.

La información biológica para *C. stephanoderis* se tomó de los trabajos de Hempel (1934), Toledo (1942), Abraham et al. (1990), Barrera et al. (1989), Infante y Luis (1993) y de Portilla y Bustillo (1995); para *P. nasuta* de Barrea et al. (1999) y de Abraham et al. (1990) y para *P. coffea* de Feldhege (1992), Infante et al. (1994) y de Portilla y Bustillo (1995). Nuevas informaciones y aportes sobre la biología de estos y otros parasitoides son fácilmente incorporables al modelo.



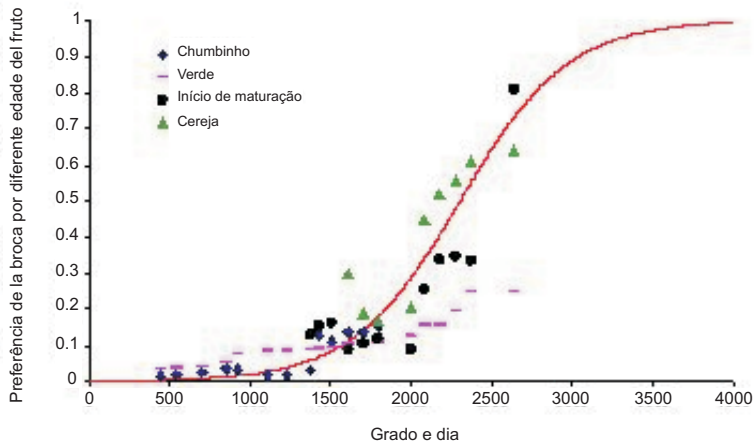
**Figura 2.** Fases de desarrollo del fruto (cf. SALAZAR et al., 1993) y preferências de la broca por diferentes estados del fruto (CURE et al., 1998).

**Fundamentos teóricos del modelo.** El enfoque utilizado coloca en perspectiva, de forma simultánea cinco (5) componentes biológicos del agroecosistema del café: la planta, la broca y tres de sus parasitoides. Estos componentes se modelan dentro de un contexto dado por las condiciones climáticas locales y por las variables de manejo, lo que permite independizarlo de los datos que sirvieron de base para su elaboración. El modelo es parametrizado con base a características genéticas potenciales (máxima demanda) de los organismos considerados. Las relaciones oferta/demanda determinan la proporción de la demanda potencial que puede alcanzarse bajo unas condiciones específicas de clima y manejo. El modelo es perfectamente transportable de una localidad geográfica a otra, siempre y cuando se tenga el registro de dichas variables.

Para el análisis de un determinado nivel trófico, el modelo parte del presupuesto de que la adquisición de recursos en el nivel trófico  $i$  ( $M_i^*$  = respuesta funcional en el contexto de la ecología de poblaciones) es función de la cantidad de recursos disponibles en el nivel trófico inmediatamente anterior  $M_{i-1}$ , de la habilidad o capacidad del organismo en el nivel trófico  $i$ , para capturar el recurso ( $s_i$ ) y de la demanda por el recurso ( $b_i$ ) en ese mismo nivel trófico:  $M_i^* = f(M_{i-1})$ . Por ejemplo, en el contexto de la planta de café, la cantidad de fotoasimilados dependerá de la cantidad disponible de energía (radiación solar), de la habilidad de la planta para captarla (índice de área foliar) y de la demanda que la planta tenga para crecer, la cual está genéticamente determinada (potencial máximo). Este mismo concepto se aplica a todos los niveles tróficos desde la planta hasta los parasitoides. Todos los elementos del modelo están dentro del contexto de la dinámica de poblaciones

y por tanto tienen estructura de edades, lo que les confiere un gran poder para simular los datos de campo (GUTIÉRREZ, 1996).

Los resultados observados en campo dependen, no solamente de los niveles tróficos inferiores, sino también de la acción directa de los niveles tróficos superiores: efectos que en la literatura actual se conocen como "top down" y "bottom up". En nuestro caso la explicación de la dinámica poblacional de la broca depende de la cantidad de frutos presentes y susceptibles de ser atacados (nivel trófico  $M_{i-1}$ ) y de la acción de los parasitoides sobre ella (nivel trófico  $M_{i+1}$ ). Por su vez el número de frutos también depende de las condiciones climáticas que determinan la floración y del estado agronómico del cultivo, lo que también es considerado en el modelo (Fig. 3).



**Figura 3.** Modelo utilizado para preferência de la broca por diferentes estados fenológicos de los frutos.

## RESULTADOS

Una vez formulado el modelo se procedió a su utilización para simular los siguientes factores:

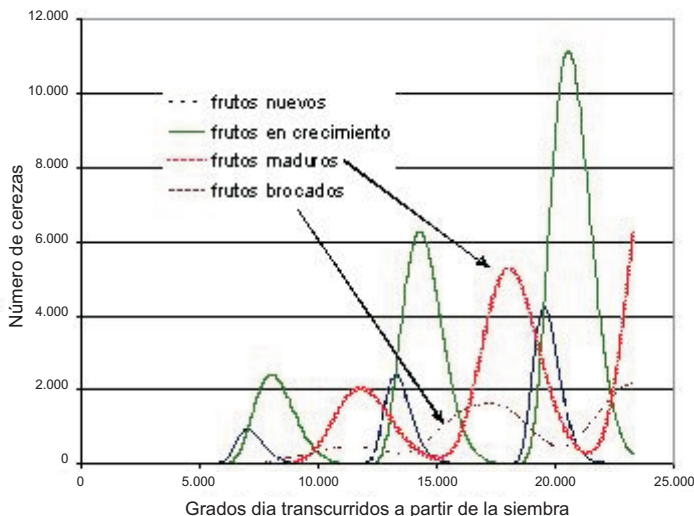
- 1) Oferta de frutos por la planta.
- 2) Presencia o ausencia de la broca y su efecto sobre la producción.
- 3) Influencia de diferentes eficiencias de cosecha y por tanto la importancia del re-re (repase) sobre el control de la broca.
- 4) Remoción de frutos caídos y su influencia en la disminución de la broca y de sus parasitoides.

- 5) Incorporación del efecto de los parasitoides, individualmente o en conjunto sobre el control de la broca.
- 6) Efecto de la liberación de parasitoides en diferentes cantidades y momentos del ciclo sobre el control de la broca.
- 7) Efecto de las aplicaciones de insecticidas sobre el control de la broca.

Se encontró que la oferta de frutos fue adecuadamente descrita a partir de tazas calculadas en base a la acumulación de materia seca del año anterior, modificadas de acuerdo a la relación oferta/demanda vegetativa y a la información climática diaria, considerando un modelo de evapotranspiración relativamente simple (RITCHIE, 1972).

La dinámica del desarrollo de los frutos es dada por las condiciones nutricionales de la planta y por la temperatura y permite diferenciar la abundancia de cualquier estado fenológico en un instante determinado (Fig. 4), lo cual mostró un comportamiento muy bien acorde con los datos de referencia.

Aspectos comportamentales de la broca tales como, su preferencia por frutos de diferentes edades (Fig.3) o su capacidad de búsqueda, son manejadas en el modelo a través de una matriz poblacional de dos dimensiones: una dimensión para las edades de los frutos y la otra para las edades de la broca. Las brocas hembras y su progenie van desarrollándose dentro de las cerezas a tazas que dependen de la temperatura y de la edad de los frutos. El modelo permite determinar el número de frutos suficientemente maduros para la



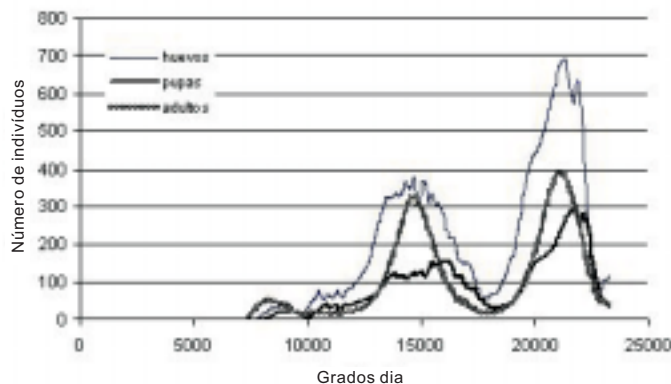
**Figura 4.** Simulación de los diferentes estados fenológicos de frutos, con presencia de la broca y en ausencia de cosecha.

oviposición y llevar el registro del desarrollo de la progenie en los frutos que están en el árbol y también de aquellos que caen al suelo. Este sistema provee las bases necesarias para una correcta simulación de la biología de los parasitoides y su impacto sobre los distintos estados fenológicos de la broca.

En la Fig. 5 se ilustran los diferentes estados fenológicos de la broca en una simulación que incluyó el parasitoide *P. coffea* en ausencia de cosecha. El modelo permite también simular diferentes niveles de cosecha y asociarlos a diferentes magnitudes de caídas de los frutos al suelo. Porcentajes de cosecha diferenciales permiten examinar el impacto del re-re sobre el control de la broca. Para poder simular estas situaciones la simulación lleva un registro del número de adultos de la broca que se encuentra dentro de los frutos y del número de adultos por fuera de los frutos. De esta forma se puede predecir el impacto de los insecticidas tanto de contacto como sistémicos. Incluso puede acomodarse la acción selectiva de *Beauveria* ligándola a las condiciones climáticas, a la edad de los frutos, a los estados fenológicos de la broca y a los adultos que están buscando los nuevos frutos.

Las simulaciones realizadas indican que los parasitoides Bethyidae tienen un efecto en demorar la primera infestación de la broca pero muy pronto se alcanzan niveles de daño de 100%. Esto no elimina totalmente la posibilidad de que estos parasitoides puedan tener un papel en el manejo integrado, particularmente en los momentos iniciales de la infestación, o entre las cosechas, mientras hay adultos suficientes de la broca, que permitan que el parasitoide de adultos *P. coffea* tenga posibilidad de entrar en el sistema. Aquí sería necesario realizar un análisis costo-beneficio.

Nuevos detalles de la biología de los parasitoides betilidos, como por ejemplo la constatación de que ellos pueden ovipositar en más de un fruto

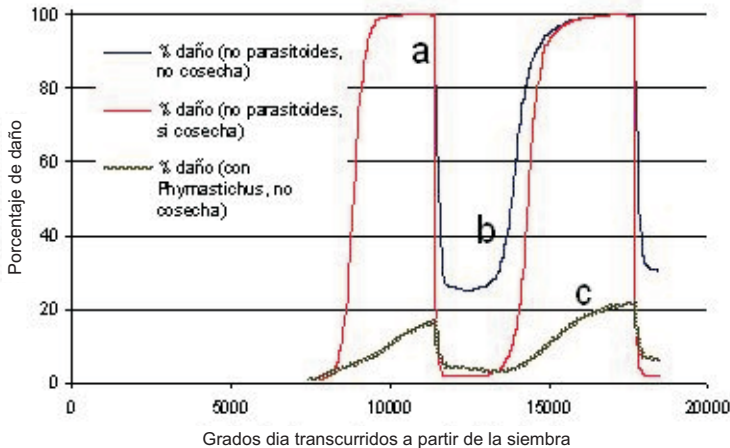


**Figura 5.** Simulación de los diferentes estados fenológicos de la broca en ausencia de cosecha y con presencia de *Phymastichus coffea*.

durante su ciclo de vida, son fácilmente incorporables en el modelo a través de modificaciones en su demanda por frutos, que tiene consecuencias en sus tasas de búsqueda.

En la Fig. 6 (c) se observa el impacto que tiene *P. coffea* en el control de la broca, cuando no hay cosecha. La influencia de la cosecha (95% cosechado y 5% remanente en las plantas) se observa en la misma Fig. 6 (a y b). La simulación o no de la cosecha tienen un valor para entender la reiniciación de las poblaciones en cada ciclo y la importancia relativa del re-re.

Las simulaciones permiten concluir que el impacto de la cosecha sobre *Phymastichus* es muy grande y que por esta razón el control biológico clásico estricto no será probablemente exitoso. El modelo indica que después de las cosechas será necesario realizar algunas nuevas liberaciones del parasitoide. Bajo esta nueva óptica probablemente el re-re también pueda ser revaluado, teniendo en cuenta que podría garantizar la rápida iniciación de *Phymastichus*.



**Figura 6.** Porcentaje de frutos brocados: a) en ausencia de los parasitoides e incluyendo la cosecha, b) en ausencia de los parasitoides y sin cosecha, c) incluyendo *Phymastichus coffea* y sin la cosecha

## CONCLUSIONES

1) La combinación de la acción de los betilidos o cada uno de ellos individualmente, tienen poco impacto sobre las poblaciones de la broca aún asumiendo altas tasas de inmigración en relación con las de la broca (0.25 parasitoides por planta por día vs. 0.5 brocas por planta por día y asumiendo tasas de búsqueda elevadas para los dos parasitoides) ( $\alpha = 0.6$ ).

2) Elevar la tasa de inmigración de los betilidos mejoró la situación pero el control solamente se conseguía a tazas extremadamente elevadas. El control de la broca por estos parasitoides tampoco mejora si asumimos que en todos los casos el parasitoide mata a la broca (esto porque al matar a la broca dentro del fruto el parasitoide disminuye el potencial futuro de si mismo).

3) Las simulaciones en las que se ha incluido el parasitoide de adultos *P. coffea* indican reducciones marcadas de las densidades de la broca, a pesar de que se asuma una tasa de búsqueda muy baja para el parasitoide ( $\alpha = 0.06$  comparada con  $\alpha = 0.6$  para los betilidos) y con una tasa de inmigración la quinta parte de la asumida para los betilidos.

4) La eficiencia de *P. coffea* no es afectada si consideramos que la razón sexual hembras/machos de 20:1 encontrada por Feldhege (1992) se sustituya por la razón sexual de 3:1 encontrada en los experimentos de laboratorio (INFANTE et al., 1994).

5) *P. coffea* ataca en un momento muy inicial y por tanto tiene un efecto inmediato sobre la futura generación de la broca, además, pueden atacar más de un fruto por día. El efecto de este comportamiento es muy drástico y consigue eliminar una buena proporción de la población de la broca.

6) En las simulaciones fue incluido también el efecto de la cosecha y de la remoción de los frutos del suelo sobre el control de la broca. Se pueden asumir diferentes niveles de cosecha lo que permite manejar en el modelo la influencia del re-re (repase) sobre el control de la siguiente generación de la broca. Las simulaciones muestran que el impacto de la remoción de los frutos es positivo en la primera producción, reduciendo el ataque de la broca en un 40%, sin embargo en la siguiente producción el ataque de la broca se eleva al doble debido a que la cosecha y el re-re afectan más a *P. coffea* que a la broca. Liberaciones inundativas de *P. coffea* de forma temprana en el ciclo puede ser una práctica importante para conseguirse un control biológico efectivo, particularmente después de que el re-re (repase) e la limpieza de frutos en el suelo disminuye los niveles de parasitoides para el siguiente ciclo.

7) Liberaciones inundativas y aumentativas de *C. stephanoderis* han sido ampliamente promovidas sin embargo los resultados de las simulaciones indican que esta estrategia es apropiada solamente a niveles de infestación muy bajos y por tanto debe evaluarse la relación costo beneficio de la producción de estos parasitoides.

8) La utilización de feromonas no fue explorada en el modelo pero de acuerdo a las características de la cópula de la broca, dentro del fruto con machos allí generados, esta técnica tendría poco efecto en el control. Otro tipo de semioquímicos que enmascaren los sitios de oviposición para el ataque de la broca o que atraigan las hembras adultas a trampas podrán ser explotados y tener un papel en el manejo integrado o de la broca.

## PERSPECTIVAS

Los trabajos realizados por IAPAR (Londrina, Brasil) y por ECOSUR (Méjico), entre otros, indican que existe un buen potencial para la incorporación de las trampas para el control de la broca, principalmente en los períodos de inter-cosecha (Workshop Internacional. Manejo da broca do café, 2004). Su efecto debe ser examinado en conjunto con las otras medidas de control, ya que además de su acción indirecta sobre los parasitoides, al disminuir la población de adultos de la broca, pueden tener también un efecto directo sobre ellos. Para modelar este nuevo elemento necesitamos obtener los datos de campo que relacionen las capturas, con la disposición y densidad de las trampas y sus efectos sobre los diferentes parasitoides. Problemas como el del "minador de la hoja", de gran importancia económica en algunas regiones brasileras, podrá incorporarse en el modelo, próximamente, teniendo en cuenta el interés que ha demostrado la Universidad Federal de Viçosa en participar con nosotros en los estudios básicos que permitan incorporar los conocimientos existentes en ese campo en el Brasil.

La acción de otros elementos de control, como *Beauveria* pueden incorporarse en este momento como factores de mortalidad de la broca, en función de su virulencia, pero aún sería necesario tener una forma de relacionar su eficacia en relación a los parámetros climáticos, lo que daría al modelo una posibilidad mucho mas amplia de evaluar las posibilidades de este control en condiciones de clima específicas y frente al control ejercido por los parasitoides.

El concepto de agroecosistema y de manejo sostenible en el cultivo del café cobra gran relevancia en los mercados globalizados, en los que temas como la "denominación de origen", ofrecen un valor agregado para los productores. El enfoque presentado en este trabajo responde adecuadamente a este contexto y puede ofrecer las herramientas fundamentales para hacer una realidad la producción ecológica de este cultivo.

Apesar de los alcances que puedan tener los modelos y de su creciente utilización, no podemos olvidar que estos son apenas abstracciones de la realidad y por tanto no contienen toda la complejidad de los ecosistemas en la naturaleza. Esto, sin embargo, es lo que se busca - identificar los

aspectos más relevantes, de tal forma que podamos influir sobre ellos y conseguir mejores resultados.

## REFERENCIAS

- ABRAHAM, Y. J.; MOORE, D.; GODWIN, G. Rearing and aspects of biology of *Cephalonomia stephanoderis* and *Prorops nasuta* (Hymenoptera, Bethyridae), parasitoids of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 80, p. 121-128, 1990.
- BARRERA, J. F. J. et al. Biologie de *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyridae) en laboratoire. I. Cycle biologique, capacité d'oviposition et emergence du fruti du caféier. **Café-Cacao-The**, v. 33, p. 101-108, 1989.
- CURE, J. R. et al. Fenologia e dinâmica populacional da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) relacionadas às fases de desenvolvimento do fruto. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 3, p. 325-335, 1998.
- FELDHEGE, M. R. Rearing techniques and aspects of biology of *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae), a recently described endoparasitoid of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Café-Cacao-The**, v. 36, p. 45-54, 1992.
- GILBERT, N. et al. **Relaciones Ecológicas**. Blume, 1981.
- GUTIERREZ, A. P. **Applied population ecology: A supply-demand approach**. John Wiley and sons, Inc., 1996.
- GUTIERREZ, A. P. et al. 1998. Tritrophic análisis of the coffee (*Coffea arabica* - coffee berry borer (*Hypothenemus hampei* (Ferrari) - parasitoid system. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v. 27, n. 3, p. 357-385, 1998.
- HEMPEL, A. A. *Prorops nasuta* Waterson no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo (Brasil), v. 5, p. 197-212, 1934.
- HERREN, H. R. Cassava and cowpea in Africa In: Persley, G. J. (Ed.) **Biotechnology and integrated pest management**. CAB International Biotechnology in Agriculture, n. 15, 1996.
- INFANTE, F.; LUIS, J. H. Estadísticos demográficos de *Cephalonomia stephanoderis* (Betrem) (Hymenoptera: Bethyridae) a temperaturas constantes. **Folia Entomológica Mexicana**, v. 87, p. 61-72, 1993.

INFANTE, F. et al. Cría de *Phymastichus coffea* parasitoide de la broca del café y algunas notas sobre su historia de vida. **Southwestern Entomology**, v. 19, p. 313-315, 1994.

PORTILLLA, M.; BUSTILLO, A. Nuevas investigaciones en la cría masiva de *Hypothenemus hampei* y de sus parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 21, p. 25-33, 1995.

RITCHIE, J. T. Model for predicting evaporation from a row crop with incomplete cover. **Water Resources Research**, v. 8, p. 1204-1213, 1972.

SALAZAR, G. M. E. R. et al. **Crecimiento y desarrollo del fruto del café y su relación con la broca**. Cenicafé, n. 194, 2 p., 1993.

TOLEDO, A. A. de. Notas sobre a biologia da Vespa de Uganda "*Prorops nasuta* Waterson" (Hymenoptera, Bethylidae) no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo (Brasil), v. 13, p. 233-260, 1942.

WANG, H. Y. et al. A population model for cotton growth and development: coupling cotton-herbivore interactions. **Canadian Entomologist**, v. 109, p. 1359-1374, 1977.

WERMELINGER, B.; BAUMGAERTNER, J.; GUTIERREZ, A. P. A demographic model for assimilation and allocation of carbon and nitrogen in grapevines. **Ecological Modelling**, v. 53, p. 1-26, 1991.

## **CAPÍTULO 2**

# **ASSOCIAÇÃO DA BROCA-DO-CAFÉ COM MICROORGANISMOS**



## MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA BROCA DEL CAFÉ: ¿EXISTE REALMENTE UN MUTUALISMO?

Jeanneth Pérez<sup>1</sup>, Francisco Infante<sup>1</sup> y Fernando Vega<sup>2</sup>

<sup>1</sup>El Colegio de la Frontera Sur - ECOSUR, Carretera Antiguo Aeropuerto, km 2,5, Tapachula, 30700 Chiapas, México, ejperez@tap-ecosur.edu.mx

<sup>2</sup>Insect Biocontrol Laboratory, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Bldg. 011A, Room 214, Beltsville, MD 20705-2350, USA.

### RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo para conocer la diversidad de hongos asociados a la broca del café, *Hypothenemus hampei* y determinar si existe algún microorganismo mutualista de este insecto. El trabajo se dividió en tres fases: (i) exploración de la cutícula en busca de micangias, (ii) colecta e identificación de hongos asociados a la broca y sus galerías y (iii) bioensayos en laboratorio con los hongos más frecuentemente encontrados para verificar su posible mutualismo con la broca. Aunque no se encontraron estructuras especializadas para el transporte de microorganismos en las brocas adultas, sí se observó la presencia de esporas de varias especies de hongos adheridas al insecto, principalmente en el pronoto y las patas. El estudio de aislamiento e identificación de hongos reveló que existe una gran diversidad de especies asociadas a la broca y sus galerías, incluyendo 40 especies distribuidas en 22 géneros. La mayoría de especies fueron colectadas de la cutícula del insecto. Los géneros más dominantes fueron *Fusarium*, *Penicillium*, *Candida* y *Aspergillus* con porcentajes de abundancia de 26.4%, 18.7%, 13.4% y 12.5%, respectivamente. En la tercera y última fase se llevaron a cabo bioensayos en laboratorio usando las especies de hongos que fueron encontradas más frecuentemente asociadas a la broca, siendo estas *Fusarium solani*, *Penicillium citrinum* y *Candida fermentati*. Se evaluaron tres concentraciones y dos métodos de aplicación, usando frutos de café y dietas merídicas como substrato. La sobrevivencia y reproducción de la broca fue evaluada a los 20 y 40 días cuando se usaron frutos de café; y 40, 60 y 80 días para el caso de las dietas. Los resultados indican que los hongos no afectaron el desarrollo normal del insecto y no incrementaron la mortalidad a ninguna concentración evaluada. Cuando la broca fue criada en frutos de café, no hubo diferencias significativas en la producción de progenie entre tratamientos que involucraron hongos y el control. Cuando se crió la broca en dietas merídicas no hubo una clara tendencia para sugerir algún efecto benéfico de alguno de los microorganismos evaluados; mientras que a los 40 días la producción de progenie fue más alta con C.

*fermentati*; a los 60 días fue mayor con *F. solani*, y a los 80 días no hubo diferencias entre tratamientos. Los resultados anteriores indican que no hay un efecto positivo de ninguno de los hongos sobre la broca del café. Por lo tanto, se piensa que este insecto no está en una relación mutualista con hongos tal y como ha sido sugerido por otros autores.

## INTRODUCCIÓN

Una de las interacciones más estudiadas en ecología de insectos es el mutualismo; definido como la asociación íntima y obligatoria entre organismos de diferente especie, en la cual ambos reciben beneficio. Las asociaciones entre insectos y microorganismos son conocidas desde mucho tiempo atrás; los insectos transportan a sus mutualistas en forma libre en el tracto alimentario y lumen intestinal o bien en estructuras cuticulares especializadas llamadas micangias. Los microorganismos mutualistas, entre otras funciones, intervienen en la digestión y nutrición de los insectos o pueden ser utilizados directamente como fuente alimenticia (SCHOONHOVEN et al., 1998).

La mayoría de las 6000 especies conocidas de Scolytidae se encuentran involucradas en asociaciones mutualistas con microorganismos, principalmente hongos (WOOD, 1982; BOOTH et al., 1990). En el caso de la broca del café, este tipo de interacciones permaneció por muchos años sin estudiarse detalladamente, aunque existía la sospecha de organismos mutualistas asociados a este insecto (LE PELLEY, 1968; VILLACORTA; BARRERA, 1993). Por ser la broca de hábitos monófagos, esta hipótesis podría ser cierta, debido a que a menudo, los insectos que tienen un rango estrecho de alimentación hospedan poblaciones de microorganismos mutualistas que suplementan su restringida dieta (BEN-BEARD et al., 2002). Aunque la presencia de micangias no ha sido reportada en la broca, Rojas et al. (1999) y Morales et al. (2000) sugieren que tiene una asociación mutualista con el hongo *Fusarium solani*.

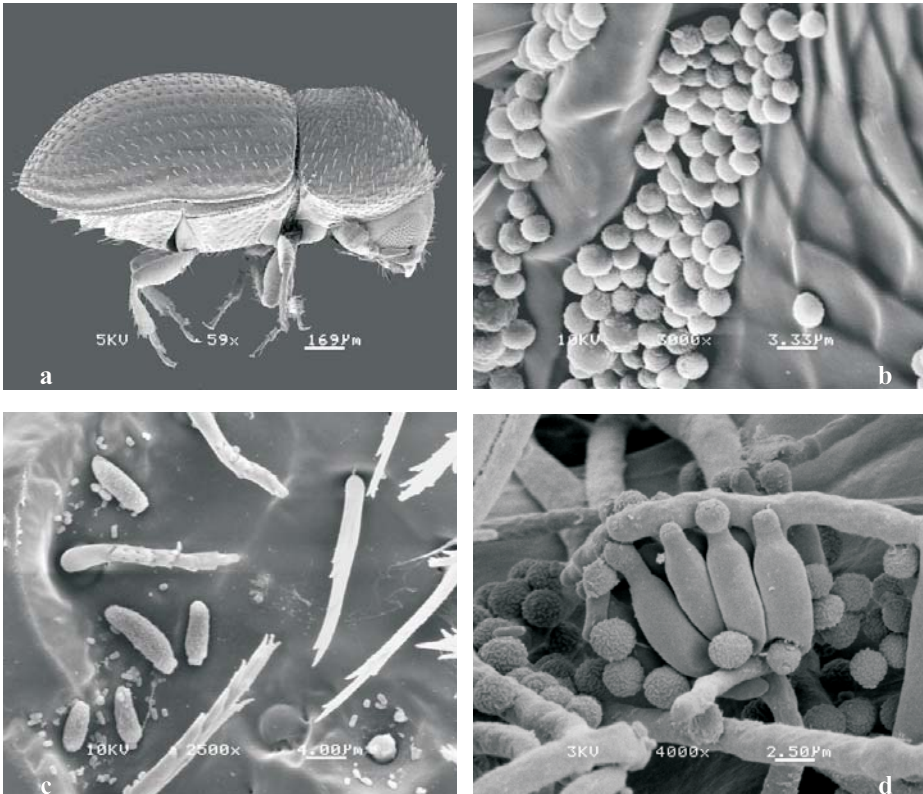
Debido a las implicaciones que este tipo de hallazgos tienen en las estrategias usadas para el control de esta plaga, se realizaron una serie de experimentos con el objetivo de determinar las especies de microorganismos asociados a la broca y clarificar el tipo de asociación en el que ellos se encuentran. Para fines prácticos, el trabajo se dividió en tres fases: (i) exploración de la anatomía externa de adultos de la broca del café en busca de micangias, (ii) colecta e identificación de hongos asociados a este insecto y sus galerías y (iii) bioensayos en laboratorio con los hongos más frecuentemente encontrados para verificar su posible mutualismo con la broca.

**Exploración de la anatomía externa de la broca del café.** Se realizaron exploraciones del integumento de adultos de la broca (hembras y machos) y de las galerías hechas por la broca en frutos de café. El material biológico utilizado fue colectado de plantaciones de café aledañas al municipio de Tapachula, Chiapas, y de la cría de broca en dietas artificiales de los laboratorios de ECOSUR. Ambas muestras se sometieron a un lavado superficial con agua destilada estéril y se fijaron con una solución de glutaraldehído al 3% en buffer fosfatos 0.1M, pH 7.2 por 24 horas. Las deshidrataciones se realizaron en soluciones ascendentes de alcoholes del 30% al 100% dejándose las muestras por un lapso de una hora en cada concentración. Al final se hicieron dos cambios en etanol al 100% y se secaron a punto crítico. Las muestras se recubrieron con una capa de oro-paladio y posteriormente se observaron con un microscopio electrónico de barrido.

No se encontró evidencia de la existencia de micangias en la cutícula de hembras y machos de la broca del café, pero sí la presencia de esporas fungales adheridas al cuerpo de las hembras, principalmente en el pronoto y las patas. Se observaron esporas de dos tipos: unas de forma esférica con superficie rugosa y tamaño promedio entre 3.3 y 3.8  $\mu\text{m}$ ; y otro grupo de forma alargada, superficie lisa y tamaño de 6.0 a 8.0  $\mu\text{m}$  (Fig. 1). Igualmente, se encontraron estructuras ovals aproximadamente de 1.5  $\mu\text{m}$ , presumiblemente bacterias, en la base de cada seta. Las estructuras fungales observadas en las galerías corresponden a lo encontrado en el integumento de los insectos. Debido a que las estructuras internas no fueron examinadas, no se puede concluir que esta especie carezca de micangias. En otras especies de Scolytidae, tales como *Dendroctonus ponderosa*, dicha estructura esta localizada dentro de la cavidad oral del insecto (BEAVER, 1989). Aunque la presencia de micangias es una evidencia física del mutualismo, la aparente ausencia de tales estructuras, no rechaza la existencia de microorganismos mutualistas.

La identificación taxonómica de los hongos observados, se realizó mediante técnicas más especializadas, mismas que se describen en la siguiente fase del trabajo.

**Micobiota asociada a la broca del café.** Se colectaron frutos de café (*Coffea arabica* L.) infestados por la broca, procedentes de tres plantaciones aledañas al municipio de Tapachula, Chiapas: Rosario Izapa, La Alianza y Monteperla, ubicadas a 425, 700 y 950 msnm, respectivamente. De cada localidad se seleccionaron aproximadamente 500 hembras adultas, obtenidas a partir de la disección de frutos. Adicionalmente, se incluyó otro grupo de 500 brocas de cuarta generación, procedentes de una cría en dieta meridica mantenida en los laboratorios de ECOSUR.



**Figura 1.** Hembra adulta de la broca del café (a), con esporas localizadas en el mesotórax (b) y asperito (c). Conidióforos y esporas hallados en una galería hecha por la broca en el fruto del café (d).

Las brocas se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio (5%) durante cinco minutos, se enjuagaron con agua destilada estéril y después se sumergieron en una solución de ácido cítrico (0,05%) más ácido ascórbico (0,05%) por cinco minutos. Se obtuvieron cuatro tipos de muestra: cutícula, tracto digestivo, heces y galerías. El estudio se llevó a cabo con 50 repeticiones para las muestras de cutícula y tracto digestivo, 25 repeticiones para las de heces y diez para las galerías.

La remoción de esporas de la cutícula se realizó mediante la inmersión de una broca en solución salina. El tracto digestivo fue removido presionando el abdomen y halando por el ano con pinzas estériles; posteriormente se maceró en 20  $\mu$ l de solución salina estéril para evitar la deshidratación (GILLIAM; PREST, 1972). Las heces se obtuvieron colocando 15 hembras en cajas Petri con discos de papel filtro humedecido con agua destilada estéril; se dejaron por 24 horas y luego las heces se recolectaron bajo un estereomicroscopio. Cada una de las

muestras se depositó en viales Eppendorf con 100 µl de solución salina estéril y posteriormente tratadas por ultrasonificación durante diez segundos (CAZEMIER et al., 1997). De cada muestra se inocularon diez µl en agar papa dextrosa (PDA) acidificado con ácido láctico al 44% hasta obtener un pH entre 4-4,5, con el fin de inhibir el crecimiento bacteriano.

Para obtener las galerías se seleccionaron por cada localidad diez frutos de café maduros que presentaban actividad de la broca, los cuales fueron sometidos previamente al proceso de desinfección descrito anteriormente para las hembras. De cada fruto se disecaron cinco fragmentos de galería de aproximadamente cinco milímetros y se colocaron directamente sobre la superficie del agar.

Las incubaciones se realizaron a temperatura ambiente ( $\pm 28^{\circ}\text{C}$ ) por un período de siete días, al cabo de los cuales se hizo el recuento de unidades formadoras de colonia (UFC). Los cultivos de hongos filamentosos fueron purificados y se llevó a cabo una identificación preliminar basada en las características macro y microscópicas (BARNETT; HUNTER, 1998), para posteriormente ser identificados por especialistas de cada uno de los grupos.

Para determinar las especies dominantes en todas las muestras y localidades, se calculó el porcentaje de abundancia (HO et al., 2001). La diversidad fungal fue medida calculando el índice de Shannon-Wiener (RICKLEFS; MILLER, 2000); debido a que algunos aislamientos no pudieron ser identificados hasta especie, la unidad taxonómica de comparación para mediar la diversidad fueron los géneros (RICKLEFS; MILLER, 2000). En el caso de algunas levaduras (Ascomycetes) no se logró determinar el género y ellas fueron incluidas en un grupo adicional denominado "Otras Levaduras".

Del cuerpo de la broca se colectaron 187 aislamientos de hongos correspondientes a 21 géneros y 39 especies. De ellos, 110 aislamientos se obtuvieron de la cutícula, 48 del tracto digestivo y 29 de heces. Los géneros más dominantes fueron *Fusarium*, *Penicillium*, *Candida* y *Aspergillus*, en este orden, con porcentajes de abundancia superiores al 12%, mientras que el resto de los aislamientos obtuvieron porcentajes de abundancia inferiores al 2%.

El género *Fusarium* obtuvo una abundancia de 26.4% y estuvo representado por tres especies, de las cuales *F. solani* fue la más predominante. Este hongo estuvo asociado a los tres tipos de muestras (cutícula, tracto digestivo y heces). *Penicillium*, con una abundancia del 18.7%, fue el que registró el mayor número de especies (11) y se encontró principalmente asociado a la localidad de Rosario Izapa. En este lugar fueron colectadas dos especies nuevas, de las cuales una de ellas ha sido clasificada como *P. brocae* (PETERSON et al., 2003).

Las levaduras fueron aisladas de todas las muestras y todas las localidades. Se identificaron tres especies: *Candida diddensiae*, *C. fermentati* y *Pichia burtonii*. Cabe resaltar que ninguna de estas especies estuvo presente en las brocas de laboratorio, en las cuales el género más abundante fue *Aspergillus*. De este género se identificaron seis especies, siendo *A. ochraceus* y *A. niger* las que presentaron los mayores porcentajes de abundancia.

La recuperación de hongos de las galerías del fruto del café fue menor que en el cuerpo de la broca. Únicamente se obtuvieron 25 aislamientos representados por cuatro géneros, *Fusarium* (64.1%), *Candida* (10.3%), *Hanseniaspora* (10.3%) y *Coryne* (2.6%). El único género colectado de las tres localidades fue *Fusarium*.

La riqueza y diversidad de hongos para cada localidad y substrato son presentadas en la Tabla 1. La mayor riqueza de géneros aislados de la cutícula y tracto digestivo de la broca se presentó en las muestras colectadas en La Alianza, mientras que para las heces la mayor riqueza se obtuvo en las muestras de laboratorio. En las galerías la riqueza de géneros fue la misma para las tres localidades.

La mayoría de los microorganismos asociados con la broca del café, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, y algunos de ellos han

**Tabla 1.** Riqueza y diversidad de géneros de hongos asociados a la broca del café en Chiapas.

	Localidad	Género	Índice de riqueza	Índice de Shannon
Cutícula	La Alianza	10	0.20	1.81
	Rosario Izapa	8	0.16	1.44
	Monteperla	3	0.06	0.51
	Laboratorio (dieta)	6	0.12	0.97
Tracto digestivo	La Alianza	7	0.14	1.44
	Rosario Izapa	4	0.08	0.91
	Monteperla	6	0.12	1.17
	Laboratoio (dieta)	5	0.10	1.56
Heces	La Alianza	3	0.12	0.78
	Rosario Izapa	4	0.16	1.00
	Monteperla	1	0.04	0.00
	Laboratorio (dieta)	5	0.20	1.54
Galería	La Alianza	3	0.30	0.69
	Rosario Izapa	3	0.30	0.92
	Monteperla	3	0.30	0.96

sido aislados a partir de otros insectos. Por ejemplo, diferentes especies de los géneros *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Pichia* y *Penicillium* han sido colectados de abejas (Apoidea) y sus nidos (WILLIAM; PREST, 1972; BATRA et al., 1973). *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pichia* y *Trichoderma* se encuentran también asociados con el descortezador *Dendroctonus* sp. (WHITNEY, 1982). *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Fusarium* y *Penicillium* están asociados con la termita *Reticulitermes flavipes* (ZOBERI; GRACE, 1990). *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* y *Penicillium* con la palomilla *Spodoptera littoralis* (ISMAIL; ABDEL-SATER, 1993). *Hanseniaspora*, *Pichia* y *Candida* han sido encontradas asociadas a la cutícula de *Drosophila* spp. (MORAIS et al., 1995). *Aspergillus*, *Mucor* y *Fusarium*, a partir de las galerías de *Xyleborus fornicatus* (KUMAR et al., 1998). Finalmente, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Tritirachium* y *Penicillium*, han sido aislados del tracto digestivo de la chinche *Triatoma* sp. (MORAES et al., 2000).

Es importante mencionar que los muestreos se realizaron solamente durante la época de lluvias y que por lo tanto la microbiota asociada a la broca del café y sus galerías, podría variar con respecto a la precipitación pluvial a lo largo del año.

**Pruebas de mutualismo.** Para las pruebas de mutualismo se evaluaron los hongos *Fusarium solani*, *Penicillium citrinum* y *Candida fermentati* ya que fueron las especies más abundantes encontradas en la fase anterior. El objetivo primordial de este trabajo fue evaluar el efecto que tienen dichos hongos en la aptitud de la broca del café.

Antes de realizar los bioensayos, los tres aislamientos fueron cultivados por ocho días en agar PDA. Para cada especie de hongo se preparó una suspensión de esporas en agua destilada estéril mas tween 80 (0.1%), posteriormente las esporas fueron contadas en una cámara de Neubauer y se ajustaron las concentraciones a:  $5 \times 10^2$ ;  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^6$  esporas/ml.

Los experimentos fueron llevados a cabo con brocas criadas en dieta meridica durante tres generaciones. Con el fin de asegurar la cópula, los insectos se mantuvieron por dos días en un recipiente con pequeñas porciones de dieta. Antes de ser usadas, las brocas hembras se desinfestaron superficialmente con agua destilada, formaldehído 2%, hipoclorito de sodio al 2% y agua destilada. Los insectos se pasaron por 15 segundos en cada una de las soluciones mencionadas.

El estudio se realizó utilizando dos substratos diferentes: frutos de café y dietas. Para el primer caso, fueron colectados en campo frutos verdes de café (*C. arabica* L.) no infestados por la broca, los cuales se colocaron en

charolas de madera durante dos días con el fin de disminuir su contenido de humedad. Para remover la carga microbiana de la superficie de los frutos, éstos se sometieron a un proceso de esterilización superficial, que consistió en: (i) lavado inicial con detergente durante 15 minutos, (ii) enjuague con agua corriente, (iii) inmersión en hipoclorito de sodio al 2% por 10 minutos, (iv) enjuague con agua destilada estéril, y (v) enjuague con sorbato de potasio al 2% por 10 minutos. Finalmente se enjuagaron con agua destilada estéril.

Los bioensayos en frutos se llevaron a cabo en el laboratorio bajo un diseño completamente al azar de una sola vía con 20 niveles y siete repeticiones de cinco frutos cada uno, utilizando 3 especies de hongos (*F. solani*, *P. citrinum* y *C. fermentati*), 3 concentraciones de esporas ( $5 \times 10^2$ ;  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^6$  esporas/ml), 2 métodos de aplicación (inoculación sobre brocas y frutos) y el testigo. La inoculación de los hongos se realizó por inmersión en la suspensión de esporas durante un minuto en el caso de las brocas (tratamiento broca), y dos minutos para el caso de los frutos (tratamiento fruto). Una vez realizada la inoculación, se introdujeron 10 frutos (etiquetados del 1 al 10) en botes de plástico de 1 litro y después se añadieron 10 brocas hembras adultas. Los tratamientos se mantuvieron en un cuarto oscuro a una temperatura de  $29 \pm 2^\circ\text{C}$ , y  $75 \pm 10\%$  de HR. A los 20 días de iniciado el experimento se disecaron cinco frutos (números pares) para verificar la sobrevivencia de las brocas fundatrices y para contabilizar la progenie producida. El mismo procedimiento se llevó a cabo a los 40 días con los cinco frutos restantes (números impares).

Para los bioensayos en dieta se vertieron 5 ml de dieta en viales de  $7.5 \times 1.5$  cm, y sobre la superficie se inocularon  $10 \mu\text{l}$  de suspensión de esporas para cada una de las 3 concentraciones de hongos. El testigo se inoculó con  $10 \mu\text{l}$  de agua destilada estéril. A cada tubo de dieta se le colocó una broca hembra previamente desinfestada. Los tubos se mantuvieron bajo las mismas condiciones ambientales de los demás tratamientos. Las evaluaciones se realizaron a los 40, 60 y 80 días después de la infestación. Se utilizó un diseño completamente al azar de una sola vía con 10 niveles y 10 repeticiones de 3 tubos cada una.

Los datos de producción de progenie en donde no se cumplían los supuestos de normalidad fue usada la transformación de rangos propuesta por Potvin y Roff (1993). Después de las transformaciones se llevó a cabo un análisis de varianza donde las medias fueron comparadas usando la prueba de Tukey. En todas las pruebas estadísticas valores de  $P \leq 0.05$  fueron considerados significativos.

En los bioensayos en frutos, ninguno de los hongos evaluados mostró un efecto benéfico sobre la reproducción de *H. hampei* a ninguna concentración o método de inoculación. No obstante, que la mayoría de los tratamientos

produjeron más progenie que los testigos al día 20, no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $F=1.08$ ;  $gl=18,114$ ;  $P=0.37$ ). De igual forma, la producción de estados biológicos al día 40 de evaluación, no fue estadísticamente diferente en ninguno de los tratamientos ( $F=1.56$ ;  $gl=18,114$ ;  $P=0.08$ ) (Tabla 2). La mortalidad de adultos e inmaduros encontrada al día 20 fue muy baja, menor a 1.2% en todos los tratamientos. El análisis de la mortalidad en la segunda evaluación (40 días), se incrementó a 5.8% en el control, comparado con 4.1-12.9% en tratamientos con hongos, pero no se detectaron diferencias estadísticas significativas ( $F=0.47$ ;  $gl=18,114$ ;  $P=0.96$ ).

En el caso de los bioensayos en dietas, a los 40 días después de la infestación, se encontró la producción de progenie más alta en el tratamiento con *C. fermentati* en la concentración  $5 \times 10^2$  esporas/ml, siendo

**Tabla 2.** Producción de estados biológicos de *H. hampei* criado en frutos de café, después de la aplicación de tres especies de hongos.

Tratamiento		Día Evaluación	20	40
			Media $\pm$ EE	Media $\pm$ EE
Testigo			17.3 $\pm$ 1.5	17.9 $\pm$ 2.6
<i>F. solani</i>	Broca	$5 \times 10^2$	21.7 $\pm$ 2.7	18.5 $\pm$ 4.3
		$5 \times 10^4$	20.8 $\pm$ 2.5	20.9 $\pm$ 4.3
		$5 \times 10^6$	19.4 $\pm$ 1.4	19.3 $\pm$ 3.8
	Fruto	$5 \times 10^2$	17.2 $\pm$ 2.3	21.6 $\pm$ 5.8
		$5 \times 10^4$	23.4 $\pm$ 3.6	13.1 $\pm$ 1.4
		$5 \times 10^6$	18.7 $\pm$ 2.9	14.5 $\pm$ 2.8
<i>P. citrinum</i>	Broca	$5 \times 10^2$	16.7 $\pm$ 1.6	32.1 $\pm$ 8.5
		$5 \times 10^4$	16.4 $\pm$ 1.3	18.9 $\pm$ 5.2
		$5 \times 10^6$	20.9 $\pm$ 2.1	13.0 $\pm$ 1.3
	Fruto	$5 \times 10^2$	24.1 $\pm$ 3.5	16.5 $\pm$ 2.7
		$5 \times 10^4$	18.6 $\pm$ 2.7	21.5 $\pm$ 3.9
		$5 \times 10^6$	15.7 $\pm$ 1.6	22.9 $\pm$ 5.7
<i>C. fermentati</i>	Broca	$5 \times 10^2$	18.8 $\pm$ 1.6	11.3 $\pm$ 2.6
		$5 \times 10^4$	16.1 $\pm$ 2.5	9.04 $\pm$ 1.9
		$5 \times 10^6$	16.0 $\pm$ 1.9	11.6 $\pm$ 3.3
	Fruto	$5 \times 10^2$	18.6 $\pm$ 2.9	13.1 $\pm$ 2.9
		$5 \times 10^4$	15.3 $\pm$ 3.9	18.6 $\pm$ 3.9
		$5 \times 10^6$	17.7 $\pm$ 1.7	15.3 $\pm$ 2.7

estadísticamente diferente del testigo y de los tratamientos de *F. solani*  $5 \times 10^2$  y  $5 \times 10^4$  esporas/ml, *P. citrinum*  $5 \times 10^2$  y  $5 \times 10^4$  esporas/ml y *C. fermentati*  $5 \times 10^6$  esporas/ml ( $F=2.77$ ;  $gl=9,90$ ;  $P = 0.006$ ) (Tabla 3). En contraste, a los 60 días después de la inoculación, la producción más alta de progenie fue encontrada en el tratamiento *F. solani*  $5 \times 10^4$  esporas/ml, el cual fue significativamente más grande que el testigo, *P. citrinum*  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^6$  esporas/ml, y *C. fermentati* a las tres concentraciones ( $F=2.79$ ;  $gl=9,90$ ;  $P = 0.006$ ). La misma tendencia fue observada a los 80 días (tercera evaluación), donde los tratamientos *F. solani*  $5 \times 10^4$  y  $5 \times 10^6$  esporas/ml resultaron en los promedios más altos, pero no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ( $F=1.89$ ;  $gl=9,90$ ;  $P = 0.062$ ). La mortalidad registrada para los adultos y estados inmaduros de *H. hampei* en dieta fue cercana a cero en todos los tratamientos y fechas de evaluación.

Debido a que la tendencia de los resultados no fue contundente, no se puede concluir que existe un mutualismo entre la broca del café y los hongos *F. solani*, *P. citrinum* o *C. fermentati*. Ningún efecto benéfico en la reproducción de la broca fue observado cuando los hongos fueron inoculados en frutos de café o en dietas, aunque la presencia del hongo tampoco fue detrimental para el insecto. Nuestros resultados discrepan de los reportados por Morales et al. (2000), quienes sugirieron un efecto mutualista entre *F. solani* y *H. hampei*. Para explicar las diferencias entre ambos trabajos, habría que considerar que el mutualismo reportado por los autores antes mencionados, está basado únicamente en evidencias indirectas, como lo es la presencia de alto contenido

**Tabla 3.** Producción de estados biológicos de *H. hampei* criado en dieta artificial, después de la aplicación de tres especies de hongos.

Día Evaluación		40	60	80
		Media $\pm$ EE	Media $\pm$ EE	Media $\pm$ EE
<i>F. solani</i>	Testigo	21.9 $\pm$ 3.6	49.8 $\pm$ 9.8	37.4 $\pm$ 1.0
	$5 \times 10^2$	18.2 $\pm$ 2.1	77.6 $\pm$ 4.1	31.1 $\pm$ 8.6
	$5 \times 10^4$	18.9 $\pm$ 1.8	98.0 $\pm$ 12.3	79.2 $\pm$ 20.2
<i>P. citrinum</i>	$5 \times 10^6$	29.1 $\pm$ 3.3	73.3 $\pm$ 9.8	84.4 $\pm$ 13.9
	$5 \times 10^2$	26.2 $\pm$ 2.4	70.9 $\pm$ 7.5	34.5 $\pm$ 7.1
	$5 \times 10^4$	24.3 $\pm$ 3.9	53.7 $\pm$ 8.1	36.7 $\pm$ 5.7
<i>C. fermentati</i>	$5 \times 10^6$	27.4 $\pm$ 2.9	62.7 $\pm$ 4.3	50.0 $\pm$ 9.6
	$5 \times 10^2$	43.4 $\pm$ 6.1	45.4 $\pm$ 4.9	37.8 $\pm$ 6.0
	$5 \times 10^4$	27.9 $\pm$ 3.7	65.1 $\pm$ 10.7	39.0 $\pm$ 11.0
	$5 \times 10^6$	24.0 $\pm$ 5.2	61.5 $\pm$ 9.6	67.7 $\pm$ 19.4

de ergosterol en frutos de café con *Fusarium*. En estos frutos la capacidad reproductiva de las brocas fue significativamente mayor que en los controles. Sin embargo, los bioensayos involucrando la broca y el hongo no fueron llevados a cabo por esos autores.

## REFERENCIAS

BARNETT, H. L.; HUNTER B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4th ed. APS Press, 1988.

BATRA, L. R.; BATRA, S. W. T.; BOHART, G. E. The mycoflora of domesticated and wild bees (Apoidea). **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, v. 49, p. 13-44, 1973.

BEAVER, R. A. Insect-Fungus relationship in the bark and ambrosia beetles. In: WILDING, N. et al. (Eds.) **Insect-Fungus interactions**. New York (USA): Academic Press, 1989, 367 p.

BEN-BEARD, C. B.; CORDON-ROSALES, C.; DURVASULA, R. D. Bacterial symbionts of the Triatominae and their potential use in control of Chagas disease transmission. **Annual Review of Entomology**, v. 47, p. 123-141, 2002.

BOOTH, R. G.; COX, M. L.; MADGE, R. B. **IIE Guides to insects of importance to man**. 3. Coleoptera. London (England): CAB International, 1990. 384 p.

CAZEMIER, A. E. et al. Bacteria in the intestinal tract of different species of arthropods. **Microbiology Ecology**, v. 33, p. 189-197, 1997.

HO, W. A. et al. Fungal communities on submerged wood from streams in Brunei, Hong Kong, and Malaysia. **Mycological Research**, v. 105, p. 1492-1501, 2001.

ISMAIL, M. A.; ABDEL-SATER, M. A. Fungi associated with the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* Boisdoval. **Mycopathologia**, v. 124, p. 79-86, 1993.

KUMAR, N. S.; HEWAVITHARANAGE, P.; ADIKARAM, N. K. B. Histology and fungal flora of shot-hole borer beetles (*Xyleborus fornicatus*) galleries in tea (*Camellia sinensis*). **Journal of the National Science Council of Sri Lanka**, v. 26, p. 195-207, 1998.

LEPELLEY, R. H. **Pests of coffee**. London (England): Logmans, Green & Co. Ltd., 1968. 618 p.

MORAES, A. M. L. et al. Fungal flora of the digestive tract of 5 species of triatomines vectors of *Trypanosoma cruzi*, Chagas 1909. **Mycopathologia**, v. 151, p. 41-48, 2000.

MORAIS, P. B. et al. Yeast succession in the Amazon fruit *Parahancornia amapa* as resource partitioning among *Drosophila* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 4251-4257, 1995.

MORALES, R. et al. Symbiotic relationship between *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) and *Fusarium solani* (Moniliales: Tuberculariaceae). **Annals of Entomological Society of America**, v. 93, p. 541-547, 2000.

PETERSON, S. W. et al. *Penicillium brocae*, a new species associated with the coffee berry borer in Chiapas, Mexico. **Mycologia**, v. 95, p. 141-147, 2003.

POTVIN, C.; ROFF, D. A. Distribution-free and robust statistical methods: viable alternatives to parametric statistics? **Ecology**, v. 74, p. 1617-1628, 1993.

RICKLEFS, R. E.; MILLER, G. L. **Ecology**. 4th ed. New York (USA): Freeman and Company, 2000. 822 p.

ROJAS, M. G.; MORALES, R., J. A.; HARRINGTON, T. C. Association between *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) and *Fusarium solani* (Moniliales: Tuberculariaceae). **Annals of Entomological Society of America**, v. 92, p. 98-100, 1999.

SCHOONHOVEN, L. M.; JERMY, T.; VAN LOON, J. J. A. (Eds.) Plants as insect food: Not the ideal. **Insect - Plant Biology: From physiology to evolution**. New York (USA): Chapman & Hall, 1998. 409 p.

VILLACORTA, A.; BARRERA, J. F. Nova dieta meridica para criação de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 22, p. 405-409, 1993.

WHITNEY, H. S. Relationships between bark beetles and symbiotic organisms. In: Mitton, J. B.; Sturgeon, K. B. (Eds.) **Bark beetles in North American conifers: A system for study of evolutionary biology**. University of Texas Press, 1982. 527 p.

WOOD, S. L. **The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a taxonomic monograph**. Great Basin Naturalist Memoirs n. 6. Brigham Young University, 1982.

ZOBERI, M. H.; GRACE, K. Fungi associated with the subterranean termite *Reticulitermes flavipes* in Ontario. **Mycologia**, v. 82, p. 289-294, 1990.

## DANOS CAUSADOS PELA BROCA-DO-CAFÉ: ENTRADA PARA OS FUNGOS E AS TOXINAS

**Marta Hiromi Taniwaki**

Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, Av. Brasil, 2880, 13.073-001 Campinas, SP, Brasil, mtaniwak@ital.sp.gov.br

### INTRODUÇÃO

Os fungos são um dos principais componentes da microbiota presente nos frutos de café. Ao lado de seu potencial deteriorador e conseqüente influência na qualidade da bebida a presença de fungos vem sendo relacionada nos últimos anos com o aspecto de saúde pública. É um fato conhecido que muitas espécies de fungos são capazes de produzir micotoxinas, dentre estas a ocratoxina, que tem sido encontrada em algumas amostras de cafés. Como conseqüência, a União Européia está estabelecendo, uma barreira fito-sanitária para ocratoxina A em café torrado e em café solúvel, com limite de 5 e 10mg/kg, respectivamente. No contexto atual em que a globalização da economia é uma realidade, aspectos gerais de qualidade e principalmente higiênico-sanitários são fundamentais na definição da aceitação e da recomendação de quaisquer produtos, especialmente os destinados à alimentação humana. No presente manuscrito serão revisados os fungos produtores de ocratoxina A e a presença desta toxina no café. Também será abordada a relação de danos causados pela broca-do-café como uma entrada para os fungos e as toxinas.

**Fungos e toxinas no café.** A incidência e atividade de microrganismos nas fases pré e pós-colheita do café tem sido considerada como um dos principais fatores que afetam sua qualidade. Os frutos de café estão expostos a uma grande diversidade de microrganismos, tais como bolores, leveduras e bactérias. Os primeiros trabalhos publicados correlacionando a presença de microrganismos com a qualidade do café produzido no Brasil datam de 1936 (KRUG, 1940), quando se detectou a presença de micélio do fungo *Fusarium* em uma amostra de grãos classificados como "ardidos".

Estudos realizados demonstraram que vários bolores, entre eles espécies de *Fusarium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus* e *Gliocladium* incidem sobre os frutos do cafeeiro no terreiro, acelerando o processo de fermentação dos frutos (CARVALHO et al., 1997). As principais injúrias ou danos pré-colheita são: infecção dos frutos, ainda na planta, por microrganismos, ataque de insetos no fruto, o que facilita a infecção microbiana e o desenvolvimento de microrganismos do solo nos grãos caídos

(CARVALHO et al., 1997). Taniwaki et al. (1999) analisaram várias amostras de café provenientes do Cerrado Mineiro desde a árvore até a tulha. Os fungos mais comuns foram: *Alternaria alternata*, *Cladosporium oxysporum*, *Fusarium incarnatum*, *Penicillium brevicompactum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Khuskia oryzae*, *Phoma sorghina*, *Mucor racemosus* e leveduras.

Alguns fungos são comprovadamente produtores de micotoxinas. As micotoxinas são metabólitos secundários de fungos que podem ocorrer em produtos alimentícios sob determinadas condições de umidade e temperatura e que podem causar sérios danos à saúde humana e de animais domésticos (BULLERMAN et al., 1984; BIANCARDI; RIBERZANI, 1996).

A ocratoxina A é uma micotoxina que, quimicamente consiste numa dihidroisocumarina ligada através de sete grupos carboxílicos por uma ponte amida a L-fenilalanina. É conhecida por suas características carcinogênicas, nefrotóxicas, teratogênicas e imunotóxicas em células animais. Sendo um derivado da dihidro-hidroxycumarina, atua como um xenobiótico antivitamina K, causando síndromes hemorrágicas em animais de laboratório. Os seres humanos são mais sensíveis aos efeitos nefrotóxicos (BIANCARDI; RIBERZANI, 1996).

Aocratoxina é produzida por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, que normalmente contaminam cereais e cafés (LEVI et al., 1974; MICCO et al., 1989). Das espécies de *Penicillium*, o *Penicillium verrucosum* é o maior produtor de ocratoxina em climas temperados (PITT; HOCKING, 1997). Dentre as espécies de *Aspergillus*, destacam-se *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus carbonarius* (HEENAN et al., 1998). As espécies de *Aspergillus* produtoras de ocratoxina são mais comuns em climas tropicais e semi-tropicais (PITT; HOCKING, 1997). Taniwaki et al. (2003) comprovaram a incidência e toxigenicidade desses fungos, analisando 407 amostras de cafés do Brasil. Foi isolado um total de 872 cepas de: *Aspergillus niger* (549), *Aspergillus ochraceus* (269) e *Aspergillus carbonarius* (54), sendo 3%, 75% e 77%, respectivamente, produtores de ocratoxina. Contudo nas amostras analisadas apenas nove apresentaram ocratoxina em níveis superiores a 5 mg/kg.

Furlani (1998) analisou 84 amostras de café verde do Brasil e constatou que 18 amostras continham ocratoxina em níveis que variavam de 1,7 a 147,5 mg/kg. Romani et al. (2000) analisaram 162 amostras de café provenientes da África, América e Ásia. Foram detectados níveis de ocratoxina que variavam de 0 a 48 mg/kg, sendo que as amostras da África apresentaram os maiores níveis de contaminação.

Vários outros trabalhos, em vários países, têm relatado a presença da ocratoxina em café verde e café torrado, incluindo amostras comercializadas, atingindo níveis de 3,2 a 80 mg/kg (LEVI et al., 1974; VAN DER STEGEN et al.,

1997; TSUBOUCHI et al., 1988; STUDER-ROHN et al., 1995; URBANO et al., 2001a).

**Fungos, insetos e café.** *Hypothenemus hampei* é o inseto causador da broca de café que ataca os frutos em qualquer estágio de maturação desde verdes até maduros (cerejas) e/ou secos. A presença de fungos produtores de ocratoxina em larvas de *H. hampei* tem sido relatada como uma forma de disseminação do fungo no café. Vega e Mercadier (1998) pesquisando cafés infectados com *H. hampei* em Uganda e Benin, isolaram cepas de *A. ochraceus* nos insetos adultos. Nas amostras de Uganda, dos 636 insetos, 34 (5,3%) estavam infectados com *A. ochraceus*. Em Benin, dos 564 insetos, 98 (17,4%) estavam infectados com *A. ochraceus*. Vega e Mercadier (1998) concluíram que se as fêmeas de *H. hampei* forem infectadas com *A. ochraceus*, a progênie adulta provavelmente irá deixar o fruto do café infectado, disseminado assim o fungo. Este inseto, que é endêmico na África, tem se espalhado na maioria das regiões produtoras de cafés do mundo, portanto o seu potencial de servir como vetor para este fungo cosmopolita é alto. Outros insetos são conhecidos como vetores de fungos toxigênicos, incluindo *Aspergillus flavus* em milho. *H. hampei*, além de ser uma peste direta do café, também podem servir de vetor para *A. ochraceus*.

Planos com objetivo de reduzir a contaminação de ocratoxina em café devem também levar em consideração a presença deste inseto no campo. Desta forma os danos causados pela broca-do-café podem ser uma entrada para os fungos e as toxinas, pois os orifícios deixados pelos insetos nos frutos de café permitem a entrada de fungos em qualquer fase do processamento. Havendo a presença do fungo produtor de toxina e condições para o fungo se desenvolver, a toxina poderá ser produzida no café.

**Prevenção da ocratoxina A no café.** A questão sobre o tempo de invasão do café pelos fungos toxigênicos é de grande importância na compreensão do problema da ocratoxina A no café e no desenvolvimento de estratégias de controle. Experiências em outras culturas têm demonstrado que se a invasão ocorrer antes da colheita, o controle será mais difícil do que se ocorrer após a colheita. Problemas pós-colheita geralmente estão relacionados com o clima desfavorável durante a secagem, falha na secagem ou condições inadequadas de estocagem e transporte. Os fatores de maior risco e as fases de processamento que podem levar à contaminação do café com ocratoxina A foram revisados por Bucheli e Taniwaki (2002).

A contaminação dos fungos no café antes da colheita pode ocorrer pelas seguintes razões: a) insetos; b) penetração pelo ginóforo; c) sementes

contaminadas penetrando o sistema vascular; d) danos mecânicos e e) estresse hídrico. Por outro lado, a contaminação pós-colheita tem sido causada por: a) danos mecânicos pela colhedeira; b) falhas na secagem (incompleta, demora); c) falhas no transporte; d) falhas no armazenamento (re-absorção da umidade) e e) ataque de insetos e roedores durante a estocagem.

A contaminação por ocratoxina A no café pode ser minimizada seguindo as boas práticas de agricultura e as técnicas apropriadas para secagem, transporte e armazenamento do café. A fim de evitar o desenvolvimento de fungos e a produção de ocratoxina, o café deve ser seco até 11-12 % de umidade. Além disso, uma boa seleção da matéria prima e procedimento de beneficiamento e a redução dos defeitos usando máquinas de separação por cor poderá reduzir a concentração de ocratoxina no café cru.

Dados na literatura têm demonstrado que a torração pode destruir até mais de 90% da ocratoxina A no café (URBANO et al., 2001b; BLANC et al., 1998; HEILMANN et al., 1999). Contudo é importante lembrar que mesmo que a torração e a filtração reduzam o conteúdo da toxina, a qualidade do café poderá ser drasticamente afetada se a matéria prima utilizada não for de boa qualidade.

## REFERÊNCIAS

- BIANCARDI, A.; RIBERZANI, A. Determination of ochratoxin A in cereals and feed by sax-spe clean up and LC flourimetric detection. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 19, p. 2395-2407, 1996.
- BLANC, J. et al. Behavior of ochratoxin A during green coffee roasting and soluble coffee manufacture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 673-675, 1998.
- BUCHELI, P.; TANIWAKI, M. H. Research on the origin, and the impact of postharvest handling and manufacturing on the presence of ochratoxin A in coffee. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, p. 655-665, 2002.
- BULLERMAN, L. B.; SCHOROEDER, L. L.; PARK, K. Y. Formation and control of mycotoxins in food. **Journal of Food Protection**, v. 47, p. 637-646, 1984.
- CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. R.; SOUZA, S. M. C. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário**, v. 18, p. 5-20, 1997.
- FURLANI, R. P. Z. **Ocratoxina A em café brasileiro**. Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

HEENAN, C. N.; SHAW, K. J.; PITT, J. I. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* isolates and detection using coconut cream agar. **Journal of Food Mycology**, v. 1, p. 67-72, 1998.

HEILMANN, W.; REHFELDT, A. G.; ROTZOLL, F. Behaviour and reduction of ochratoxin A in green beans in response to various processing methods. **European Food Research Technology**, v. 209, p. 297-300, 1999.

KRUG, H. P. Cafés duros II. Um estudo sobre a qualidade dos cafés de varrição. **Revista do Instituto do Café**, v. 26, p. 636-638, 1940.

LEVI, C. P.; TRENK, H. L.; MOHR, H. K. Study of the occurrence of ochratoxin A in green coffee beans. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 57, p. 866-870, 1974.

MICCO, C. et al. A study of the contamination by ochratoxin A of green and roasted coffee beans. **Food Additives and Contaminants**, v. 6, p. 333-339, 1989.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. London (England): Blackie Academic & Professional, 1997.

ROMANI, S. et al. Screening on the occurrence of ochratoxin A in green coffee beans of different origins and types. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 3616-3619, 2000.

STUDER-ROHR, I. et al. The occurrence of ochratoxin A in coffee. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 33, p. 341-355, 1995.

TANIWAKI, M. H.; BANHE, A. A.; IAMANAKA, B. T. Incidência de fungos em café. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGIA NA AGROINDÚSTRIA CAFEEIRA, 3., 1999, Londrina (Brasil). **Anais...** Londrina: IAPAR, 2000. p. 487-492.

TANIWAKI, M. H. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, p. 173-179, 2003.

TSUBOUCHI, H. et al. Ochratoxin A found in commercial roast coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 36, p. 540-542, 1988.

URBANO, G. R. et al. Occurrence of ochratoxin A producing fungi in raw Brazilian coffee. **Journal of Food Protection**, v. 64, p. 1226-1230, 2001a.

URBANO, G. R. et al. Preliminary studies on the destruction of ochratoxin A in coffee during roasting. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 19., 2001b, Trieste (Italy). **Proceedings...** Paris (França): ASIC, 2001.

VAN DER STEGEN, G. et al. Screening of European coffee final products for occurrence of ochratoxin A (OTA). **Food Additives and Contaminants**, v. 14, p. 211-216, 1997.

VEGA, F. E.; MERCADIER, G. Insects, Coffee and ochratoxin A. **Florida Entomologist**, v. 81, p. 543-544, 1998.

## **CAPÍTULO 3**

# **MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ ARMADILHAS**



## CONDICIONES DE USO DE LAS TRAMPAS EN EL CONTROL DE LA BROCA DEL CAFÉ

**Bernard Pierre Dufour**

*CIRAD/PROMECAFE/PROCAFE, Ave. Manuel Gallardo y 13 Calle Poniente, Santa Tecla, La Libertad, El Salvador, [bernard.dufour@navegante.com.sv](mailto:bernard.dufour@navegante.com.sv)*

### INTRODUCCIÓN

El manejo de trampas con atrayentes es una forma de controlar los insectos plagas, conocida desde hace mucho tiempo. Sus aplicaciones en agricultura han sido bastante amplias antes de la aparición de los primeros insecticidas sintéticos en los años 40 del siglo pasado (BALACHOWSKY, 1951). Después de varias décadas de abandono, el trampeo está de nuevo en pleno desarrollo con la identificación y el aislamiento de numerosas sustancias semioquímicas que dirigen la comunicación química ínter y intra específica de los insectos: especialmente feromonas y kairomonas (FRÉROT, 1990). Mendoza (1991) fue uno de los primeros a investigar sobre las propiedades atractivas de la mezcla etanol y metanol para la broca y proponer el trampeo como estrategia de monitoreo y de control. Gutiérrez-Martínez et al. (1995 a y b) iniciaron experimentos en el campo, abriendo la vía del trampeo masivo para controlar esta plaga. Luego, Dufour et al. (1999) experimentaron el trampeo de broca en condiciones de campo con una trampa experimental funcionando con la mezcla etanol-metanol y Borbón-Martínez et al. (2000) elaboraron un modelo con el mismo principio, para monitoreo. En el marco del segundo seminario internacional de broca del café, organizado en Costa Rica por ICAFE/PROMECAFE en julio de 2002, los países participantes calificaron el trampeo de nuevo componente del manejo integrado de la broca y expresaron la necesidad de seguir investigando en este tema.

Esta presentación se compone de dos partes: una breve revisión de la situación actual del trampeo de broca especialmente en El Salvador donde el uso de trampas se inició a partir del año 2000 y una serie de puntos críticos que trataremos de discutir con el fin de despertar interés en la realización de nuevos experimentos. Hablaremos de número de trampa por unidad de área, trampeo en cafetales en pleno sol y cafetales sobre infestados, techos para proteger trampas, atrayentes y trampas artesanales.

## SITUACIÓN ACTUAL DEL TRAMPEO

**Aspectos metodológicos.** Por lo general, el trapeo se aplica en cafetales plantados con variedades de porte alto y bajo sombra. Las trampas se cuelgan sobre las ramas intermedias de los cafetos. En el espacio delimitado por el follaje y el suelo, se distribuye los efluvios del atrayente generados por los difusores. De esta forma, la broca emergiendo de los frutos residuales y atraídos por el olor, se dirige volando hacia la fuente.

Las trampas están distribuidas en forma de red homogénea con un número variable según el tipo de trampa. En El Salvador, el periodo de captura no sobrepasa 4 meses, lo que corresponde al tiempo de migración de la broca de post cosecha (DUFOUR, 2002). El mantenimiento del material de trapeo es mínimo: limpieza del cono, cambio de líquido de captura cada 10 o 20 días según la intensidad de captura y cambio de difusor a los 2 meses.

El trapeo tiene sus limitantes por ser expuesto a factores externos: exceso de lluvias que atrasan las migraciones, ráfagas de vientos que impiden las emergencias de la broca, también el mal manejo de los cafetales que puede dificultar el vuelo de la broca cuando se acerca de las trampas. La presencia de frutos prematuros es otro problema porque puede atraer la broca con la misma facilidad que la trampa.

**Aspectos materiales.** En pocos años, se desarrollaron varios modelos de trampas, de fabricación industrial o artesanal (Fig. 1). Cada uno con sus propias



Figura 1. Modelos de trampa para broca del café en El Salvador, BROCAP® (1) y trampa artesanal (2).

características: con embudos únicos, múltiples o con apertura lateral (Fig. 3). De la misma manera se diversificaron los sistemas de difusión: tipo gotero o membrana semipermeable (Figs. 2 y 3). El atrayente es una mezcla de etanol y metanol con proporciones que varían de 50:50 a 30:70.

**Divulgación.** El trapeo se desarrolla en varios países de la Región centroamericana, México, Jamaica y República Dominicana en forma de iniciativas privadas o proyectos. Se cuenta con el apoyo de la red PROMECAFE para capacitación y transferencia de tecnología. Otros países tienen interés en la tecnología de trapeo. Por ejemplo, la India está desarrollando su propia trampa (COFFEE BOARD, 2001). Indonesia está solicitando asistencia para comprobar la metodología elaborada en El Salvador. Camerún y Tanzania se preparan a validar la trampa BROCAP®.

**Caso de la trampa BROCAP® en El Salvador.** La trampa BROCAP® estuvo en venta a partir del año 2000. Se compraron un poco más de 1000 unidades el primer año para alcanzar los 16000 en el año 2004. En realidad, la crisis del café afectó el desarrollo del trapeo en el país. Una encuesta elaborada por la Fundación PROCAFE indica que el trapeo fue adoptado tanto por los pequeños como los medianos y grandes productores y de igual forma por las cooperativas y las empresas privadas. Sin embargo, son pocos los que utilizan la cantidad de trampas recomendada por área.



Figura 2. Difusor (El Salvador).



Figura 3. Trampa Fiesta de Costa Rica (3), modelos de Brasil (4 y 5).

## PUNTOS CRÍTICOS DEL TRAMPEO

**Cantidad de trampas por unidad de área.** En El Salvador, el número óptimo de trampas por área ha sido definido en base a resultados de ensayos: 16 unidades/mz con las primeras trampas experimentales y luego 12 unidades/mz con la trampa BROCAP® (Fig. 4). En este caso los resultados de eficacia lograron sobrepasar el 80% (DUFOR et al., 2004). Por otro lado los resultados publicados por el Coffee Board de la India, indican que la cantidad óptima de trampas de tipo "brocatrap" alcanza 27 unidades/acre o sea 46 unidades/mz, produciendo una eficacia de 67%.

Las características de estos modelos de trampas y de las condiciones agro-ecológicas son probablemente responsables de esas diferencias. Por esta razón, es importante seguir investigando para definir mejor las cantidades de trampas por unidad de área. Así, se podría contemplar el aumento de trampas BROCAP®, hasta 20/mz en cafetales muy infestados y más de 20/mz con las trampas artesanales.

En condiciones de finca, la situación es totalmente distinta. A pesar de las recomendaciones elaboradas a partir de los resultados de investigación, muchos productores de café utilizan menos trampas que lo indicado, hasta la mitad en el caso de la rotación de trampas y menos de la mitad cuando el trampeo se aplica por focos. Pero no se conoce la eficiencia de cada método.

**Adaptación del trampeo a los cafetales en pleno sol.** Este aspecto del trampeo ha sido poco estudiado. Sin embargo los resultados del primer ensayo realizado en la región oriental de El Salvador, en un cafetal tecnificado, a pleno sol y con poca auto-sombra, indican que el número de broca capturada es muy bajo sin mucho efecto sobre el control y que la captura es directamente relacionada

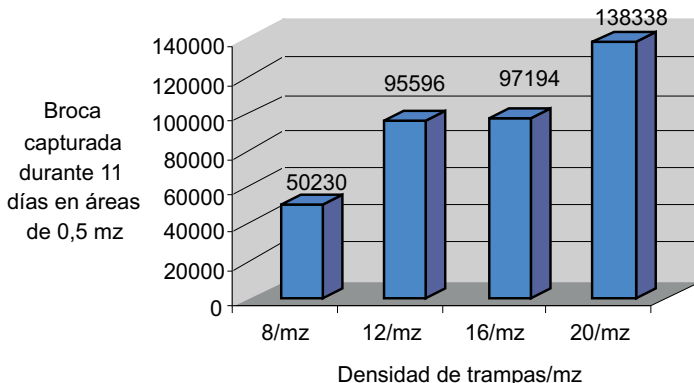


Figura 4. Captura de broca/número de trampas BROCAP®.

con el número de trampas (Tabla 1). Por otro lado, una parte del control de la broca se debe al secamiento rápido de los frutos residuales que impide su multiplicación en época de post cosecha.

En Nicaragua, el trampeo en parcelas a pleno sol, con dos densidades de auto sombra, regular y alta, presentan otras características: más capturas cuando aumenta la auto sombra, menos control natural por secamiento de los frutos residuales y por lo tanto, aumento de los niveles de infestación de la nueva fructificación (Tabla 2).

En condiciones agronómicas clásicas que implican la presencia de árboles de sombra, la difusión del atrayente genera efluvios que ocupan todo el espacio del cafetal y atrae la broca ubicada en los frutos residuales del suelo. En cambio, a pleno sol, los efluvios suben sin alcanzar los frutos del suelo y por lo tanto, la broca no les percibe. El proceso se agrava con el viento. Con poca auto sombra, los frutos residuales se secan, impidiendo el desarrollo de la broca (control natural). Con bastante auto sombra, el desarrollo sigue en los frutos residuales y las poblaciones crecen.

Para resolver los problemas relacionados con el pleno sol y la auto sombra, existen varias soluciones que se podrían manejar en forma integrada: colocar las trampas a un nivel más bajo, es decir más cerca del suelo, aumentar el número de trampas y contemplar en el futuro, el uso de un atrayente más poderoso. Por otro lado sería necesario definir un sistema de poda que permitiría reducir el nivel de auto sombra sin afectar la producción ni aumentar los costos.

**Uso de las trampas en cafetales muy infestados.** En varias oportunidades el trampeo con la trampa BROCAP® se ha experimentado en cafetales sin control de broca y por lo tanto con altos niveles de infestación. El ensayo de manejo integrado de la broca (MIB) realizado en El Salvador en 2004 ha demostrado que la cosecha sanitaria podía desempeñar un papel muy importante en la disminución de las cantidades de brocas residuales y que la poda y el trampeo favorecían esta tendencia (Tabla 3). El mejor resultado se observó en las parcelas con cosecha sanitaria, asociada a la poda y al trampeo.

**Tabla 1.** Capturas y tasa de ataque sobre la nueva generación de frutos después del trampeo (El Salvador, agosto, 2002).

Nombre de la parcela	Tratamientos	Capturas por trampa (en 4 meses)	Tamaño de muestra(frutos)	Tasa de ataque (%)
El Puma (auto sombra leve)	18 BROCAP®/mz	637	600	3,5
	12 BROCAP®/mz	473	600	4,8
	Testigo	0	600	7,5

**Tabla 2.** Capturas y tasa de ataque sobre la nueva generación de frutos después del trampeo (Nicaragua, julio, 2004).

Nombre de la parcela	Tratamientos	Capturas por trampa (en 3 meses)	Tamaño de muestra (frutos)	Tasa de ataque (%)
Santa Fe (auto sombra regular)	12 BROCAP®/mz	5 928	66 867	4,7
	Testigo	0	32 882	7,7
Piedras Negras (auto sombra alta)	12 BROCAP®/mz	12 177	36 943	13,8
	Testigo	0	43 731	17,2

**Tabla 3.** Tasas de ataque en las nuevas fructificaciones en función de los componentes del MIB aplicados.

	Tasa de ataque en la nueva fructificación (%)			
	Testigo absoluto	Poda de café y sombra	Poda de café y sombra + trampeo	Testigo + trampeo
Con cosecha sanitaria	4,38	3,12	1,32	1,94
Sin cosecha sanitaria	11,8	9,86	6,56	9,08

Si con el MIB se puede esperar una disminución fuerte de las infestaciones, es necesario tomar en cuenta su factibilidad de aplicación y sus costos. Un cálculo rápido del precio pagado para realizar la cosecha sanitaria en la finca Esmeralda donde se instaló el experimento, indica que la venta del café de "pepena"<sup>1</sup> procesado, cubre el 85% del costo de la actividad y que la venta del café de "repela"<sup>2</sup>, paga aproximadamente el complemento. Por otro lado, los costos de regulación de sombra y poda de cafetos no se incluyen en el control de la broca ya que son actividades clásicas del manejo agronómico. Finalmente, solo el trampeo representa un verdadero costo.

Para aumentar más aún la capacidad de control, se puede contemplar la limpieza del cafetal que consiste en eliminar malezas y desechos de podas y por lo tanto airear el cultivo y acelerar el secamiento de los frutos residuales del suelo.

<sup>1</sup>"pepena": café residual de post cosecha recolectado a nivel del suelo

<sup>2</sup>"repela": café residual de post cosecha recolectado a nivel de las ramas

**Utilidad de un techo protector para la trampa BROCAP®.** La trampa BROCAP® fue diseñada y fabricada sin techo protector. Por este motivo, dos pruebas se realizaron para evaluar la utilidad de proteger el cono de captura contra la caída de las hojas, los desechos vegetales y la lluvia. Con la primera prueba, se demuestra que el techo protege la trampa contra las hojas y los desechos por un periodo de 7 semanas y que la falta de techo no afecta el funcionamiento de la trampa en el transcurso de este tiempo. Con la segunda prueba de 11 semanas de duración, se demuestra que en periodo de lluvia, el agua penetra en los difusores no protegidos, diluye el atrayente y por lo tanto altera la tasa de difusión. En este caso, el techo es una protección muy útil para la trampa.

**El atrayente: el principal componente de la trampa.** El metanol es el ingrediente activo de la mezcla etanol-metanol. El etanol es el elemento que genera el efecto sinergista. La mezcla tiene una actividad casi similar con diferentes proporciones de los dos alcoholes y diferentes tasas de difusión (DUFOR et al., 2001).

Actualmente, se está estudiando la atractividad de nuevos compuestos volátiles, especialmente los de los frutos del café, identificados por Mathieu et al. (1998). El objetivo es multiplicar por 2 o 3 el potencial atractivo del atrayente. Dos terpenos ya han manifestado una cierta actividad, la cual no parece ser permanente en el transcurso del periodo de migración de la broca de post cosecha (DUFOR et al., 1999).

**Las trampas artesanales.** En el Salvador, las trampas artesanales se han desarrollado poco después de la trampa BROCAP®. Se fabrican a bajo costo con envases de plástico de 1,5 o 2 litros y utilizan difusores y atrayente de la trampa BROCAP®. Su efectividad y duración de vida útil son menores.

**Los riesgos de la trampa artesanal.** El atrayente es altamente tóxico si se respira o si se ingiere en pequeñas cantidades por la presencia de metanol. Para la seguridad de todos, se recomienda contratar un laboratorio para procesar el atrayente (toxicidad y riesgo de explosión), utilizar difusores desechables para evitar el llenado manual, controlar la venta de los difusores. Para diferenciar el atrayente de una bebida es necesario agregar un colorante, pegar una etiqueta sobre cada difusor con nota informativa acerca del producto, colocar los difusores en cajas con la misma información.

**Propuesta para controlar la fabricación del atrayente.** En varios países, los institutos de café fomentan la fabricación de trampas artesanales y la elaboración del atrayente. Ahora es muy difícil de retroceder, es decir impedir

la libre utilización del metanol como principal ingrediente. En cambio, tal como se hace en El Salvador, el Ministerio de Salud de cada país puede proponer una regulación de venta y compra del metanol con el fin de controlar el uso de este producto ya que se sabe que representa un peligro por la salud humana. En este caso, para comprar el metanol, se tendrá que justificar: su uso específico, las medidas de seguridad para su manejo y las medidas de prevención contra el mal uso del producto formulado.

## RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

Para lograr buenos resultados con el trameo, es necesario adaptar la metodología a las condiciones agroecológicas de la zona donde se aplica y también perfeccionarla, tomando en cuenta factores económicos, ambientales y legales. En este sentido, se recomienda:

- aumentar el número de trampas por unidad del área cuando se necesite, para reforzar el potencial de captura;
- buscar soluciones que permiten compensar la debilidad de la comunicación entre fuente de atracción (difusor) y receptor (broca) en cafetales a pleno sol;
- asociar otros componentes del MIB, especialmente la cosecha sanitaria, para asegurar un control más efectivo;
- agregar un techo protector a la trampa BROCAP® con el fin de aumentar su autonomía de funcionamiento;
- seguir investigando sobre el tema de la atracción y de los atrayentes;
- proponer y tomar medidas en todos los países donde se manejan trampas artesanales, para controlar la fabricación del atrayente, lo cual presenta altos riesgos para la salud humana.

## REFERENCIAS

BALACHOWSKY, A. S. *La lutte contre les insectes*. Paris (France): Payot, 1951. 380 p.

BORBÓN-MARTÍNEZ, O. et al. Proyecto de trampas, atrayentes y repelentes para el control de la broca del fruto del cafeto, *Hypothenemus hampei* F. (Coleoptera: Scolytidae). In: **SIMPOSIO LATINOAMERICANO DE CAFICULTURA**, 19., 2000, San José (Costa Rica).

COFFEE BOARD. **Coffee borer in India**. In: Naidu, R. (Ed.). Bangalore (India): Coffee Board Report, 2001. 112 p.

DUFOUR, B. Importante du piégeage pour la lutte intégrée contre le scolyte du café, *Hypothenemus hampei* Ferr. **Plantation, recherche, développement**, v. 3, p. 109-116, 2002.

DUFOUR, B.; GONZÁLEZ, M. O.; FRÉROT, B. Piégeage de masse du scolyte du café *Hypothenemus hampei* Ferr (Col. Scolytidae) en conditions réelles: premiers résultats. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 18., 1999, Helsinki (Finland), **Proceedings...** Paris (France): ASIC, 1999. p. 480- 491.

DUFOUR, B.; PICASSO C.; GONZÁLEZ, M. O. Contribution to the development of a trap against coffee borer *Hypothenemus hampei* Ferr en El Salvador. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 19., 2001, Trieste (Italy). **Proceedings...** Paris (France): ASIC, 2001.

DUFOUR, B. P. et al. Validation of coffee berry borer (*Hypothenemus hampei* Ferr.) trapping with the BROCAP® trap. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 20., 2004, Bangalore (India). **CD-rom...** Paris (France): ASIC, 2004.

FRÉROT, B. Les phéromones sexuelles et leurs applications en lutte directe contre les lépidoptères ravageurs des cultures par la méthode dite "confusion sexuelle". **COLLOQUE INTERNATIONAL ANPP**, 5., Paris (France). p. 61-71.

GUTIERREZ-MARTINEZ, A.; HERNANDEZ-RIVAS, S.; VIRGEN-SANCHEZ, A. Efectos de los diferentes extractos de café robusta *Coffea canephora* Pierre ex Froehner sobre la captura de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera : Scolytidae). In: SIMPOSIO DE CAFICULTURA LATINOAMERICANA, 16., 1993, Managua, (Nicaragua). **Memorias...** Tegucigalpa (Honduras): IICA/ PROMECAFE, 1995a. 2, 7 p.

\_\_\_\_\_. Trampeo en el campo, de la broca del fruto de café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae) con los semioquímicos volátiles del fruto de café robusta *Coffea canephora* Pierre ex Froehner. In: SIMPOSIO DE CAFICULTURA LATINOAMERICANA, 16., 1993, Managua (Nicaragua). **Memorias...** Tegucigalpa (Honduras): IICA/PROMECAFE, 1995b. 2, 7 p.

MATHIEU, F.; MALOSSE, C.; FRÉROT, B. Identification of the volatile components released by fresh berries at different stages of ripeness. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 3, p. 1106-1110, 1998.

MENDOZA MORA, J. R. Resposta da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, a estímulos visuales e semioquímicos. 1991. 44 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (Brasil), 1991.



## APLICACIÓN DE TRAMPAS PARA EL MONITOREO DE LA BROCA DEL CAFÉ

Juan Barrera<sup>1</sup>, Amador Villacorta<sup>2</sup>, Joel Herrera<sup>1</sup>, Heber García<sup>1</sup> y Leopoldo Cruz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>El Colegio de la Frontera Sur - ECOSUR, Tapachula, Chiapas, México, [jbarrera@tap-ecosur.edu.mx](mailto:jbarrera@tap-ecosur.edu.mx)

<sup>2</sup>Área de Proteção de Plantas, Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR, Rodov. Celso Garcia Cid, km 375, C. postal 481, 86001-970 Londrina, PR, Brasil

### RESUMEN

El uso de trampas para el muestreo y control de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) ha despertado mucho el interés a escala mundial en los últimos 10 años. Muchos tipos de trampas han sido diseñados y evaluados en diversos países y el uso de esta tecnología por productores se está generalizando. En México se han usado diferentes tipos de trampas, y recientemente, se ha distribuido la trampa BROCAP del CIRAD y PROCAFÉ (El Salvador, Centroamérica) a productores de Chiapas a través de programas gubernamentales de apoyo a la producción a un costo subsidiado de \$2.82 dólares americanos por trampa. La trampa BROCAP, que usa un atrayente de metanol y etanol, es altamente efectiva en la captura de broca, sin embargo, una de las limitaciones más importantes para su uso por productores es su alto costo. Tomando en cuenta este problema, hemos estado desarrollando un modelo de trampas más barato a fin de incrementar su uso por productores de bajos recursos. Desde 2002 hemos estado evaluando un modelo que se basa en la trampa IAPAR desarrollada en Brasil. A este modelo lo hemos denominado ECOIAPAR y es aproximadamente 10 veces más barato que BROCAP. El propósito de esta charla es dar a conocer los resultados que hemos logrado con relación al uso de ECOIAPAR para el muestreo de la broca. Para ello, a través de la Ley de Poder de Taylor (LPT) se estableció la relación entre la varianza-media de las capturas y los coeficientes de la LPT se usaron para determinar el número requerido de trampas para estimar densidades simuladas de broca con varios niveles de confianza. Asimismo, esta información se usó para comparar el costo del muestreo de la broca con ECOIAPAR y otros tipos de trampas. Los resultados indican que ECOIAPAR es una trampa que puede ser usada en el muestreo de la broca y cuyo costo está al alcance de productores de bajos recursos.

### INTRODUCCIÓN

La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) se ha convertido en la plaga más dañina para el

cultivo del café en casi todos los países productores (JARAMILLO et al., 2006). Este insecto, cuya forma adulta es apenas de unos 2 mm de longitud, se multiplica y esconde en el interior de los granos de café y bajo condiciones adecuadas para su desarrollo puede alcanzar altas densidades poblacionales en poco tiempo, de ahí su importancia económica. Entre los métodos de control desarrollados para *H. hampei*, en los últimos años destaca el trapeo masivo con trampas cebadas principalmente con metanol-etanol (BARRERA et al., 2006). Estas trampas tienen además la posibilidad de aplicarse en el monitoreo de la plaga, opción que ha sido poco desarrollada. El objetivo de este trabajo es desarrollar un marco conceptual de la aplicación de trampas para el monitoreo de la broca del café.

## PRINCIPIOS PARA EL MONITOREO DE LA BROCA

El monitoreo de un insecto requiere disponer de un sistema efectivo de trapeo, basado en la ecología y comportamiento del organismo que se pretende capturar (WALL, 1990). El sistema de monitoreo de la broca está dado por información sobre: i) la relación insecto-planta-ambiente, ii) la trampa, iii) el atrayente y iv) el número y disposición de las trampas en el terreno.

**Relación insecto-planta-ambiente.** Información sobre la biología, comportamiento y ecología de la broca es esencial para establecer un sistema efectivo de monitoreo (BARRERA et al., 2006). En particular, es importante conocer la información sobre el estado de desarrollo que se desea capturar, en este caso las hembras voladoras. De vital interés es la información sobre los procesos de dispersión de la población y colonización de los frutos de café, los cuales de manera breve se describen a continuación (Fig. 1). Las hembras fundadoras de *H. hampei* perforan los frutos de café desde las primeras etapas de desarrollo, sin embargo, colonizan el grano hasta que éste alcanza la consistencia adecuada: aproximadamente 20% de peso seco, estado de desarrollo denominado semiconsistencia (BARRERA, 1994). Una sola hembra inicia la infestación de un grano y en su interior deposita huevos a partir de los cuales se desarrollan larvas, prepupas y pupas antes de dar origen a una nueva descendencia de adultos, cuyas hembras en mayor proporción que los machos, se aparean con sus hermanos antes de abandonar el fruto donde se desarrollaron. En el periodo de desarrollo del fruto, o periodo productivo del cafeto, las hembras emergen continuamente en busca de nuevos frutos, sin embargo, al entrar el periodo inter cosecha, cuando la broca habita frutos que no fueron cosechados (residuales), la emergencia se reduce drásticamente, la

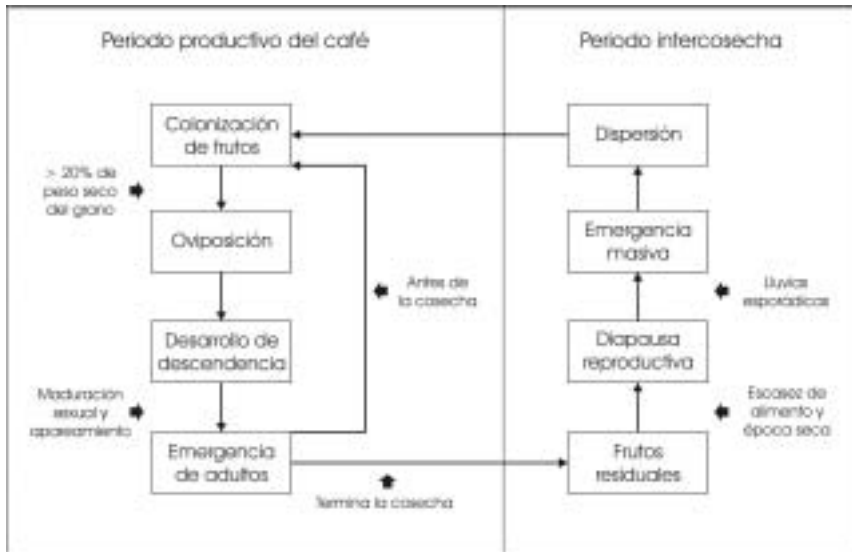
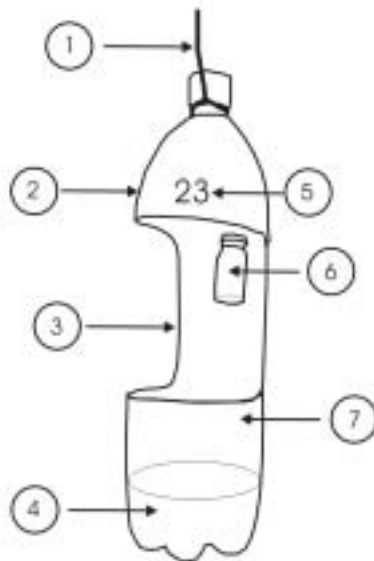


Figura 1. Bioecología de *H. hampei*.

reproducción se detiene por completo y se observan agrupamientos numerosos de adultos en el interior de los frutos negros. Poco estudiado, este fenómeno denominado diapausa reproductiva, se presenta con particular énfasis en lugares donde el periodo inter cosecha suele ser muy seco y la escasez de alimento se acentúa en el interior de los frutos (MANSINGH, 1991). Las lluvias fuertes pero esporádicas que se presentan en este periodo desencadenan la floración en los cafetos, pero también, son un factor disparador de la emergencia masiva de la broca (BAKER, 1984). Las brocas postdiapáusicas son responsables de la dispersión, la cual realizan mediante vuelo, y de la búsqueda de los frutos de la nueva cosecha. Se dice que la "broca está en tránsito" cuando abandona los frutos del ciclo anterior para infestar los del siguiente. La emergencia masiva de las brocas en tránsito suele ser uno de los más importantes en cuanto al monitoreo de este insecto, pues la información generada permitiría conocer cuándo ésta da inicio y cuándo concluye, y pronosticar los niveles de infestación en campo y valorar las pérdidas potenciales en la nueva cosecha.

**La trampa.** El uso de trampas para broca del café ha despertado mucho el interés a escala mundial en los últimos 10 años (BARRERA et al., 2006). Muchos tipos de trampas han sido diseñados y evaluados en diversos países y el uso de esta tecnología por productores se está generalizando. En México se han usado diferentes tipos de trampas, y recientemente, el gobierno de Chiapas distribuyó la trampa BROCAP del CIRAD y PROCAFÉ (El Salvador, Centroamérica) a

productores a través de programas de apoyo a la producción a un costo subsidiado de \$ 2.82 dólares americanos por trampa. La trampa BROCAP, que usa un atrayente de metanol y etanol, es altamente efectiva en la captura de broca (DUFOR, 2002), sin embargo, una de las limitaciones más importantes para su uso por productores es su alto costo. Tomando en cuenta este problema, hemos estado desarrollando un modelo de trampa más barato a fin de incrementar su uso por productores de bajos recursos. Así, desde 2002 iniciamos la evaluación de un modelo de trampa para broca que se basa en la trampa IAPAR desarrollada en Brasil. A este modelo lo hemos denominado ECOIAPAR y es mucho más barato que BROCAP. ECOIAPAR (Fig. 2) está hecha de materiales de desecho como botellas vacías de plástico de refrescos embotellados que se usan como "el cuerpo" de la trampa, y botellitas vacías de vidrio de medicamentos usadas como dispersores del atrayente (BARRERA et al., 2003). Por su bajo costo, una trampa con estas características es muy barata y adecuada para monitoreo de áreas grandes.



**Figura 2.** Diseño de la trampa ECOIAPAR para broca del café. 1. Alambre flexible para colgar el captador de un cafeto; 2. Botella desechable de plástico de refresco embotellado con tapón; 3. Abertura de 11 por 20 cm sobre la botella para permitir la entrada de la broca; 4. Agua pura y limpia en el receptáculo de la botella para atrapar la broca; 5. Identificación del captador con un número; 6. Difusor del atrayente sujetado con alambre a la botella; 7. Perforaciones en la botella para permitir el desagüe durante la lluvia y retener la broca capturada (tomado de BARRERA et al., 2003).

**El atrayente.** El atrayente para la captura de la broca consiste en una mezcla de metanol-etanol en una proporción de tres partes del primero por una parte del segundo (BARRERA et al., 2003). Estos alcoholes constituyen el atrayente más usado en los últimos años para el trampeo de la broca, aunque las proporciones suelen variar. En nuestro caso, para incrementar la atracción pasamos la mezcla por un poco de café tostado y molido para que se impregne con el aroma del café. Tal mezcla es sumamente atractiva para la broca, si bien otras especies de insectos son también atraídas. La falta de especificidad de los alcoholes y la toxicidad del metanol son algunos problemas que restan por resolver. Un difusor lleno con el atrayente tiene una duración de dos a tres meses, dependiendo de la temperatura y la exposición de la trampa a los rayos del sol.

**Número y disposición de las trampas en el terreno.** A la fecha existen muy pocos procedimientos claramente definidos y suficientemente sustentados para determinar el número y disposición de las trampas para el monitoreo de la broca del café. A fin de generar esta información es necesario definir el objetivo del monitoreo. Siguiendo el enfoque de Wall (1990) para otros insectos, el monitoreo de la broca podría enmarcarse en los siguientes objetivos: i) detectar a la broca en áreas libres, ii) definir umbrales para la toma de decisiones de control, y iii) estimar la infestación en campo y/o la población de brocas voladoras (Tabla 1).

En el caso de México, el uso de trampas para detección está contemplado en la Norma Oficial Mexicana (NOM) correspondiente a la Campaña contra la Broca del Café (NOM-002-FITO-2000). En ésta se indica el establecimiento de trampas para formar un cordón fitosanitario en los límites de zonas libres y las no reconocidas oficialmente como tales (Tabla 2). Sin embargo, a nuestro conocimiento no existe información científica publicada que sustente las disposiciones mencionadas en la NOM, por lo que se considera que el procedimiento empleado es arbitrario de acuerdo a la clasificación que hemos propuesto en el Tabla 1. Como veremos más adelante, el número de trampas por hectárea con fines de detección podría ser diferente a 16 (cantidad que se propone en la NOM), dependiendo del tipo de trampa, la densidad de la broca y la confiabilidad que se desee obtener con el trampeo.

## LPT Y MONITOREO

La Ley de Poder de Taylor (LPT) ha sido utilizada con frecuencia en el estudio y muestreo de poblaciones de una amplia gama de organismos (TAYLOR, 1961; TAYLOR, 1984). Esta ley describe la relación entre varianza ( $s^2$ ) y media ( $m$ ) de una población mediante esta ecuación de poder:

$$s^2 = am^b \dots\dots\dots \text{Ecuación 1}$$

la cual se puede transformar a una línea recta con:

$$\log s^2 = \log a + b \log m \dots\dots\dots\text{Ecuación 2}$$

donde  $a$  el intercepto y  $b$  la pendiente de la recta, son también conocidos como los coeficientes de Taylor; el coeficiente  $a$  depende del tamaño de la unidad de muestreo y el coeficiente  $b$  es un índice de dispersión o agregación

**Tabla 1.** Aplicaciones del monitoreo de la broca del café con trampas.

Tipos de monitoreo	Aplicación	Objetivo	Estado de desarrollo <sup>1</sup>
Detección	Alerta temprana	Informar a tiempo sobre la presencia (o ausencia) de la broca en áreas libres	Nivel II
	Cuarentena	Establecer medidas de cuarentena en una zona o región al detectarse la broca	Nivel I
	Distribución	Conocer la distribución de la broca en una región o país	Nivel I
Umbrales	Tratamientos oportunos	Determinar el momento oportuno de la aplicación o uso de un método de control de la broca	Nivel I
	Uso oportuno de otros métodos de muestreo	Definir con oportunidad el muestreo de la infestación de la broca en frutos	Nivel I
	Evaluación de riesgos	Valorar los daños potenciales de la broca a la producción y calidad del café en relación a un umbral	Nivel I
Estimación de la densidad	Tendencias poblacionales	Determinar la evolución temporal de la población de broca	Nivel II
	Dispersión	Determinar la evolución espacio-temporal de la población de broca en un área dada	Nivel I
	Evaluación de riesgos	Valorar los daños potenciales de la broca en relación a la densidad	Nivel I
	Efecto de medidas de control	Evaluar la efectividad de métodos de control en términos de densidad	Nivel II

<sup>1</sup>Nivel I: sin procedimiento definido; nivel II: procedimiento arbitrario; nivel III: procedimiento con sustento científico.

**Tabla 2.** Disposiciones de la Norma Oficial Mexicana con respecto al trapeo de la broca del café<sup>1</sup>.

Sección de la NOM	Disposiciones
4.6.1	En las zonas libres y las no reconocidas oficialmente como tales, se deberán establecer trampas con semioquímicos durante el periodo inter cosecha, a razón de una densidad de 16 trampas por hectárea.
4.6.2	En los límites de zonas libres y las no reconocidas oficialmente como tales, se deberá colocar trampas formando un cordón fitosanitario que permita identificar la situación fitosanitaria, actividad que será coordinada por profesionales fitosanitarios del Organismo Auxiliar de Sanidad Vegetal que corresponda o unidades de verificación.
4.6.3	Las trampas establecidas en el cordón fitosanitario deberán establecerse durante todo el año y revisarse semanalmente, principalmente en los periodos inter cosecha.
4.6.4	La dimensión del cordón fitosanitario, será definido por el coordinador de la campaña, de acuerdo a las necesidades fitosanitarias de cada entidad federativa y en común acuerdo con la Secretaría, los Gobiernos de los Estados y los Organismos Auxiliares de Sanidad Vegetal,
4.6.5	La actividad de revisión de las trampas estará a cargo de los profesionales fitosanitarios que presten sus servicios en el Organismo Auxiliar de Sanidad Vegetal que corresponda o unidades de verificación.

<sup>1</sup>NOM-002-FITO-2000. Diario Oficial de la Federación (México), 18 de abril de 2001.

que varía desde cero para una distribución uniforme ( $b$  tiende a cero), hasta el infinito para una distribución altamente agregada ( $b$  tiende al infinito); con  $a=b=1$ , la distribución es al azar. La diferencia estadística de  $b$  con respecto a la unidad para determinar el tipo de distribución, se puede establecer a partir de calcular los límites de confianza al 95% de  $b$ . Dado que un diseño o tipo de trampa causará una atracción específica para un organismo particular, es necesario calcular los coeficientes de Taylor para cada tipo de trampa que se use. Asimismo, para captar la mayor variabilidad posible de las capturas, se hace necesario evaluar la o las trampas bajo diferentes condiciones ambientales y también en épocas diferentes.

Los valores de los coeficientes de Taylor obtenidos con las Ecuaciones 1 ó 2 se pueden incorporar a fórmulas basadas en la relación varianza-media, por ejemplo, en aquellas para determinar el tamaño de muestra (RUENSINK, 1980;

BUNTIN, 1994). Siguiendo esta idea, primero Nordenfors y Chirico (2001) y después Zavala-Olalde et al. (2005), utilizaron la Ecuación 3 para determinar el número de trampas requeridas ( $n$ ) para estimar diferentes poblaciones de *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) e *Idiarthron subquadratum* (Orthoptera: Tettigoniidae), respectivamente:

$$n = [1/(20\% m/m)^2] (am^b / m^2) \dots\dots\dots\text{Ecuación 3}$$

donde el promedio de organismos por trampa es  $m$  y los coeficientes de Taylor son  $a$  y  $b$ . Con esta información, más los costos asociados al monitoreo, Wilson et al. (1989) propusieron la Ecuación 4 para comparar el costo ( $C_i$ ) de dos procedimientos de muestreo:

$$C_1/C_2 = n_1 (d_1+e_1) / n_2 (d_2+e_2) \dots\dots\dots\text{Ecuación 4}$$

donde  $n_i$  es el número de trampas requeridas para estimar una población dada con cada tipo de procedimiento;  $d_i$  es el tiempo (costo) de revisión de las trampas en cada tipo de procedimiento; y  $e_i$  se refiere al tiempo (costo) de desplazarse entre trampa y trampa al aplicar cada tipo de procedimiento. Si el producto de  $C_1/C_2$  es mayor que la unidad, entonces  $C_1$  es un procedimiento de monitoreo más caro que  $C_2$ .

Posteriormente, Zavala-Olalde et al. (2005) modificaron la Ecuación 4 al integrar el costo de la trampa ( $f_i$ ), obteniéndose la Ecuación 5 para estimar el costo de un procedimiento de monitoreo ( $C$ ) y la Ecuación 6 para comparar el costo de dos procedimientos ( $C_i$ ):

$$C = n (d + e + f) \dots\dots\dots\text{Ecuación 5}$$

$$C_1/C_2 = n_1 (d_1+e_1+f_1) / n_2 (d_2+e_2+f_2) \dots\dots\dots\text{Ecuación 6}$$

Considerando que  $e$ , el tiempo de desplazarse entre trampa y trampa en una superficie definida, variará al aumentar o disminuir el número de trampas, una mejor estimación de esta variable para el caso de una superficie de una hectárea podría darse con:

$$e = (100/\text{raíz cuadrada } (n)) * s * p \dots\dots\dots\text{Ecuación 7}$$

donde  $s$  = segundo por metro recorrido y  $p$  = costo de desplazarse durante un segundo. Al incorporar la Ecuación 7 en las Ecuaciones 5 y 6 tenemos:

$$C = n [d + ((100/\text{raíz cuadrada } n) * s * p) + f] \dots\dots\dots\text{Ecuación 8}$$

$$C_1/C_2 = n_1 [d_1 + ((100/\text{raíz cuadrada } n_1) * s * p) + f_1] / n_2 [d_2 + ((100/\text{raíz cuadrada } n_2) * s * p) + f_2] \dots\dots\dots\text{Ecuación 9}$$

A fin de generar una representación lineal entre  $C_1/C_2$  y la densidad de la broca, se grafica log (densidad) contra log ( $C_1/C_2$ ).

## MONITOREO DE LA BROCA DEL CAFÉ CON TRAMPAS

Estudios previos permitieron conocer que la LPT tiene gran aplicación en el muestreo de la infestación de la broca en campo (BARRERA, 1994; BARRERA en prensa). A fin de conocer la utilidad de la LPT en monitoreo de la broca con trampas, procedimos a aplicar la metodología arriba mencionada. Para ello, establecimos un experimento para comprar los siguientes tres tipos de trampas: BROCAP, FIESTA y ECOIAPAR (Fig. 3). Las trampas fueron cebadas con una mezcla de etanol: metanol (1:3), se colgaron de ramas de cafetos a 1.2-1.5 m sobre el suelo y se distribuyeron sobre el terreno a una distancia entre trampas de 14.5 m. Se usaron 16 trampas o repeticiones ( $n = 16$ ) por tipo de trampa bajo un diseño en campo completamente al azar. El experimento se estableció en un robustal (*Coffea canephora*) del Rancho La Esperanza, municipio de Tapachula, Chiapas, México de mayo a agosto de 2003. Las trampas fueron revisadas semanalmente, registrando el número de brocas por trampa, por fecha y por tratamiento o tipo de trampa. A partir de estos datos se estimó para cada fecha ( $n = 14-16$ ) y tipo de trampa el promedio y la varianza de las capturas.

**Capturas por tipo de trampa.** Los resultados de las capturas de broca en el experimento se presentan en la Fig. 4. Se aprecia que en las primeras cuatro fechas, cuando las capturas fueron más altas, la trampa BROCAP capturó más broca que las otras trampas; esta diferencia se debió principalmente a que los diseños ECOIAPAR y FIESTA, a diferencia de BROCAP, permitieron el escape de la broca al saturarse el contenedor de captura con el gran número de insectos atrapados. A partir de la quinta fecha de muestreo, BROCAP y ECOIAPAR capturaron cantidades estadísticamente similares y superiores a FIESTA, en tanto que no hubo diferencia entre trampas las últimas cuatro fechas de agosto, cuando las capturas fueron más bajas. El número acumulado de broca en 16 trampas por hectárea durante cuatro meses para cada tipo de trampa fue: BROCAP: 679,107; ECOIAPAR: 278,162; y FIESTA: 214, 347.

**Coefficientes de Taylor.** La Tabla 3 presenta los coeficientes de Taylor para cada uno de los tres tipos de trampas estudiadas estimados con la Ecuación 2. En todos los casos se observó que  $b$  fue mayor que la unidad, si bien de acuerdo a los límites de confianza al 95% (LC 95%), no se registraron diferencias estadísticas entre trampas con respecto a este coeficiente.

**Número requerido de trampas.** Usando los valores de los coeficientes de Taylor del Tabla 3, se calculó con la Ecuación 3 el número de requerido de trampas



Figura 3. Trampas para broca del café evaluadas en el presente estudio (de izquierda a derecha): BROCAP, FIESTA y ECOIAPAR.

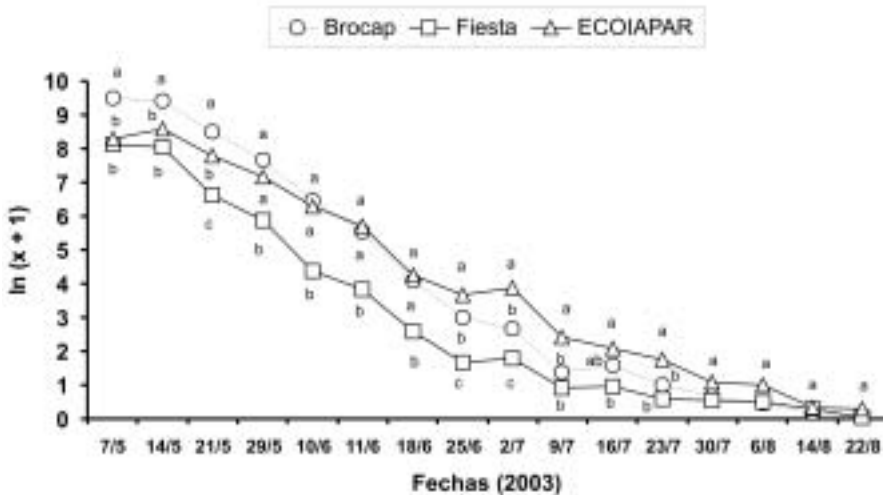


Figura 4. Datos transformados de las capturas semanales de broca del café en tres tipos de trampa. Rancho La Esperanza, Chiapas, México. Mayo-agosto de 2003.

**Tabla 3.** Análisis de la distribución de *H. hampei* con tres tipos de trampas usando la Ley de Poder de Taylor. Rancho La Esperanza, Municipio de Tapachula, mayo-agosto de 2003.

Tipo de trampa	$a^1$	$b$	$b (\pm LC 95\%)$	$r$	$n$
BROCAP	1.8638	1.8462	1.7741 a 1.9184	0.9981	14
FIESTA	1.1830	1.9332	1.8507 a 2.0157	0.9975	15
ECOIAPAR	1.7620	1.8340	1.7248 a 1.9432	0.9946	16

<sup>1</sup> $a$  y  $b$  = coeficientes de Taylor;  $r$  = coeficiente de correlación;  $n$  = número de pareja de datos. Los valores de los coeficientes fueron calculados con la Ecuación 2:  $\log s^2 = \log a + b \log m$ .

para estimar densidades simuladas de broca para los tres tipos de trampas con tres niveles de precisión expresados en porcentaje del error estándar de la media (Tabla 4). Los tres tipos de trampa requirieron más trampas conforme disminuyó la densidad de la broca; asimismo, la cantidad de trampas aumentó al disminuir el error estándar de la media. Esto significa, por un lado, que mientras mayor número de brocas se encuentren volando se requerirá un menor número de trampas para hacer estimaciones de la densidad de las brocas voladoras; por otro lado, significa que si queremos ser más precisos en dicha estimación, tendremos que aumentar el número de trampas por unidad de superficie.

En cuanto al tipo de trampa, se observó que a densidades bajas de la broca (igual o menor a 10 insectos) y considerando el mismo nivel de precisión (error estándar de la media expresado en porcentaje), la trampa FIESTA requirió menor número de trampas que BROCAP y ECOIAPAR. Sin embargo, menor número de trampas del tipo ECOIAPAR fueron requeridas para estimar con el mismo nivel de precisión poblaciones más altas de broca (mayor a 100 insectos) durante el vuelo (Tabla 4). Por ejemplo, con una precisión de 30%, se requirieron 21, 13 y 20 trampas para estimar la densidad de una broca con BROCAP, FIESTA y ECOIAPAR, respectivamente, en tanto que con la misma precisión se requirieron 7, 8 y 6 trampas para estimar una densidad de 1000 brocas con cada uno de los tres tipos de trampas citados en el orden anterior (Tabla 4). La diferencia entre tipos de trampa con respecto al número requerido de trampas obedece a los coeficientes de Taylor (Tabla 3) contenidos en la fórmula del tamaño de muestra (Ecuación 3); esa diferencia fue mucho más marcada al reducir el error estándar de la media con el propósito de mejorar la precisión de la estimación.

**Costo del monitoreo.** Los costos estimados de revisión de las trampas ( $d_i$ ), desplazamiento entre trampa y trampa ( $e_i$ ) y la trampa incluyendo el atrayente ( $f_i$ ) para BROCAP, FIESTA y ECOIAPAR se presentan en la Tabla 5. Como se puede observar, con un costo de \$ 42.52, BROCAP la trampa registrada y comercialmente disponible, fue 5.9 y 8.0 veces más elevado que las trampas artesanales o elaboradas a mano FIESTA y ECOIAPAR, respectivamente. La trampa ECOIAPAR

**Tabla 4.** Número requerido de trampas para estimar densidades simuladas de broca con tres tipos de de trampas y tres niveles de precisión (error estándar de la media expresado en porcentaje), calculados con la Ecuación 3:  $n = [1/(20\% m/m)^2]$  ( $am^b/m^2$ ).

Densidad simulada	BROCAP			FIESTA			ECOIAPAR		
	10%	20%	30%	10%	20%	30%	10%	20%	30%
1	186	47	21	118	30	13	176	44	20
5	146	36	16	106	27	12	135	34	15
10	131	33	15	101	25	11	120	30	13
50	102	26	11	91	23	10	92	23	10
100	92	23	10	87	22	10	82	21	9
200	83	21	9	83	21	9	73	18	8
500	72	18	8	78	20	9	63	16	7
1000	64	16	7	75	19	8	56	14	6
2000	58	14	6	71	18	8	50	12	6
5000	50	13	6	67	17	7	43	11	5
10000	45	11	5	64	16	7	38	10	4
15000	42	11	5	62	16	7	36	9	4
20000	41	10	5	61	15	7	34	9	4

fue la de menor costo, ya que se usan materiales de desecho para su elaboración. Se usó el mismo atrayente, por lo cual el costo de una dosis con duración en campo de 2.5-3.0 meses (\$ 2.52) fue igual en las tres trampas.

El costo del monitoreo para los tres tipos de trampa con tres niveles de precisión (error estándar de la media expresado en porcentaje) a partir de aplicar la Ecuación 8, se presenta en la Tabla 6. De manera general se observa que el costo estuvo asociado al número de trampas y éste a la precisión del monitoreo. Gráficamente, la comparación del costo de los tres sistemas de monitoreo de la broca con la Ecuación 9 se presenta en la Fig. 5. El sistema de monitoreo con BROCAP fue más caro para todas las densidades de broca, observándose una tendencia a incrementarse el costo al incrementarse la densidad al compararse con ECOIAPAR, mientras que una relación inversa entre costo - densidad se observó al compararlo con FIESTA. El sistema de monitoreo basado en trampas ECOIAPAR fue el más barato de los tres, con excepción del monitoreo con FIESTA a muy bajas densidades de broca (igual o menor a una broca en vuelo).

**Tabla 5.** Costos asociados al uso de las trampas BROCAP, FIESTA y ECOIAPAR en 2004.

Concepto (las letras se refieren a la Ecuación 5)	Costos en pesos mexicanos por tipo de trampa <sup>1</sup>		
	BROCAP	FIESTA	ECOIAPAR
Trampa, <i>f</i> (incluye atrayente <sup>2</sup> )	42.52 <sup>3</sup>	7.24 <sup>4</sup>	5.33 <sup>5</sup>
Revisión de la trampa, <i>d</i> <sup>6</sup>	0.55	0.46	0.38
Desplazamiento entre trampas, <i>e</i> <sup>6</sup>	variable <sup>7</sup>	variable	variable

<sup>1</sup>1.00 USD = 10.7 MXN (1/11/2006); <sup>2</sup>el atrayente con un costo de \$ 2.52, consiste en tres partes de metanol por una parte de etanol más café tostado y molido; <sup>3</sup>costo aproximado de la trampa en el mercado sin atrayente: \$ 40.00; <sup>4</sup>incluye costo del atrayente, herramientas para hacer la trampa y materiales y jornales empleados para elaborarla; <sup>5</sup>además de los conceptos mencionados en el punto anterior, incluye la colecta de las botellas; <sup>6</sup>se refiere a los jornales empleados para hacer estas actividades; <sup>7</sup>depende del número de trampas por hectárea y se calcula con la Ecuación 7.

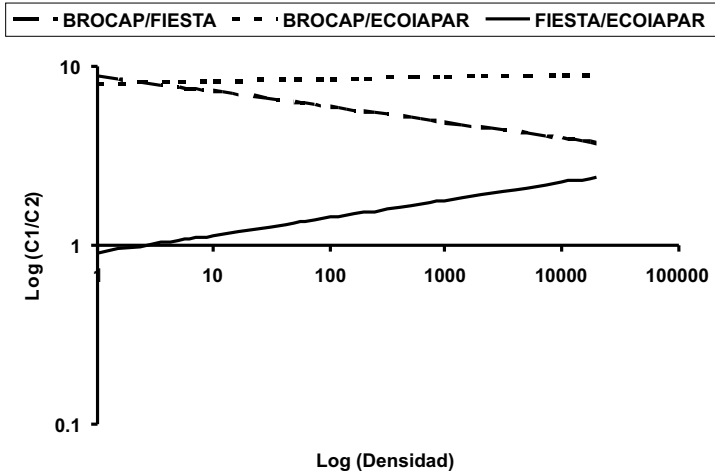
**Tabla 6.** Costos en pesos mexicanos<sup>1</sup> del monitoreo de acuerdo al número requerido de trampas para estimar densidades simuladas de broca con tres tipos de trampas y tres niveles de precisión (error estándar de la media expresado en porcentaje) del Cuadro 4, calculados con la Ecuación 8:  $C = n [d + ((100/\text{raíz cuadrada } n) * s * p) + f]$ .

Densidad	BROCAP (pesos)			FIESTA (pesos)			ECOIAPAR (pesos)		
	10%	20%	30%	10%	20%	30%	10%	20%	30%
1	8030.19	2008.25	892.86	913.17	228.85	101.96	1008.80	252.88	112.69
5	6269.66	1568.03	697.18	820.19	205.58	91.60	772.58	193.74	86.37
10	5635.79	1409.53	626.72	783.13	196.30	87.47	688.73	172.74	77.02
50	4400.25	1100.58	489.38	703.41	176.34	78.59	527.50	132.37	59.05
100	3955.40	989.34	439.92	671.62	168.38	75.05	470.27	118.03	52.66
200	3555.52	889.34	395.47	641.28	160.78	71.67	419.26	105.25	46.97
500	3088.28	772.50	343.53	603.26	151.27	67.43	360.22	90.46	40.38
1000	2776.08	694.43	308.82	576.00	144.44	64.39	321.15	80.67	36.02
2000	2495.44	624.25	277.62	549.98	137.93	61.49	286.33	71.94	32.13
5000	2167.52	542.24	241.16	517.38	129.76	57.86	246.02	61.84	27.63
10000	1948.41	487.45	216.80	494.00	123.91	55.25	219.35	55.15	24.65
15000	1830.66	458.00	203.70	480.82	120.61	53.78	205.12	51.58	23.06
20000	1751.46	438.19	194.90	471.69	118.32	52.76	195.58	49.19	22.00

<sup>1</sup>1.00 USD = 10.7 MXN (1/11/2006)

## DISCUSIÓN

El trampeo de la broca del café con fines de monitoreo o control ha abierto nuevos e interesantes caminos en el manejo de la plaga. Aún más, el monitoreo de las brocas voladoras con trampas está permitiendo ampliar la información sobre aspectos de su bioecología antes ignorados o poco conocidos,



**Figura 5.** Comparación del costo del monitoreo de la broca del café con las trampas BROCAP, FIESTA y ECOIAPAR. La comparación entre dos monitoreos se realizó con la Ecuación 9:  $C_1/C_2 = n_1 [d_1 + ((100/\text{raíz cuadrada } n_1) * s * p) + f_1] / n_2 [d_2 + ((100/\text{raíz cuadrada } n_2) * s * p) + f_2]$ . Error estándar de la media de 30%.

como es la teoría de las “brocas suicidas” (BARRERA et al., 2005). Sin embargo, el monitoreo de este insecto con trampas ha sido científicamente poco desarrollado, de allí que su uso por agricultores e investigadores haya tenido, en el mejor de los casos, un fundamento más bien empírico (BARRERA, 2005). En muchos países se ha avanzado de manera sustancial en definir el mejor diseño de trampa, sobresaliendo por su bajo costo, no sin problemas de diversa índole, aquellos hechos a mano. Avances menos sustantivos se han logrado después de conocer que la mezcla de los alcoholes metanol-etanol era extremadamente atractiva para la broca. Esta intensa atracción estimuló la investigación y aplicación del trampeo masivo de broca con fines de control, mientras que el monitoreo del insecto con el propósito de apoyar la toma de decisiones de manejo, se ha dejado casi siempre de lado.

El presente trabajo tuvo el objetivo de mejorar el monitoreo de la broca. Para ello, hemos pretendido desarrollar un marco conceptual de la aplicación de trampas para el monitoreo de este insecto. Asimismo, ha sido nuestra intención desarrollar una metodología cuantitativa que sirva de base para la aplicación del monitoreo bajo diversas condiciones. La Ley de Poder de Taylor (LPT) aquí aplicada, surge potente como medio para mejorar el monitoreo de la broca a través de trampas. Como en el caso de otras plagas, la LPT no solo se fundamenta en características biológicas del organismo en cuestión como su distribución espacial, sino también se adapta a una gran variedad de procedimientos analíticos, lo cual hace que tenga un amplio uso en manejo de

plagas (BARRERA, en prensa). En el caso de broca, su utilidad ha quedado manifiesta al facilitar, por un lado, la estimación de la densidad de las poblaciones de hembras en vuelo, información que ayudaría a establecer umbrales de acción; por otro lado, ha sido reveladora al conjugar información biológica y económica para determinar el costo del monitoreo más allá de los análisis económicos convencionales.

Los resultados aquí expuestos indican que las trampas artesanales pueden ser tan eficaces como las trampas comerciales. El bajo costo de las trampas hechas a mano permite incrementar su número para equipararse en cuanto a capturas con el modelo comercial sin resultar oneroso. Así, las trampas artesanales resultan muy satisfactorias para productores de bajos recursos económicos y para usarse en el monitoreo de áreas grandes. No obstante, cada tipo o diseño de trampa tiene características que lo hacen diferente de otros, afectando los coeficientes resultantes de Taylor, mismos que a su vez afectarán el número requerido de trampas y en consecuencia el costo del monitoreo. Por lo tanto, es recomendable establecer los parámetros de la LPT para cada tipo de trampa. Igualmente es deseable establecer la relación varianza-media bajo diferentes sistemas productivos, épocas del año, densidades de la broca, etc.

La información generada con nuestro estudio permite disponer de una guía cuantitativa para establecer con mayor certeza el número de trampas por hectárea con fines de monitoreo. Como antes se indicó, el número requerido de trampas será afectado por el tipo o diseño de trampa, la densidad de la broca y el grado de precisión del monitoreo (Tabla 3), de tal forma que resulta riesgoso recomendar cantidades constantes. Por lo mismo, 16 trampas por hectárea, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-002-FITO-2000 (Tabla 2), podría no ser el número más adecuado para monitorear a la broca en áreas libres. Nuestros resultados indican que para estimar densidades bajas de broca (por ejemplo 1.0 broca/trampa), como podría esperarse en zonas libres con alto riesgo de invasión, serían necesarias 176 trampas ECOIAPAR por hectárea con precisión de 10% de error estándar de la media, 44 trampas con 20% y 20 trampas con 30% de precisión (Tabla 4). Si se usara ECOIAPAR, 16 trampas darían una precisión de 33%, pero con BROCAP y FIESTA la precisión sería de 34% y 27% respectivamente. Esto indica que un diseño como la trampa FIESTA sería el más recomendable para monitorear a la plaga en áreas libres porque sería más barato.

A pesar de los avances, todavía falta mucho por hacer en el monitoreo de la broca (Tabla 1). Por ejemplo, es necesario disponer de un atrayente mucho más específico que la mezcla de metanol-etanol, ya que particularmente en áreas libres se requiere la intervención de un especialista para diferenciar

a la broca de otros escolítidos del mismo género (*Hypothenemus*). También se requiere corroborar mediante experimentación la distancia óptima entre trampas e identificar los factores que la afectan. Otros estudios de gran trascendencia son aquellos para correlacionar las poblaciones capturadas en las trampas (densidad relativa) con los daños, la densidad por unidad de superficie (densidad absoluta) y otros índices como los días grados o unidades calor, información de mucha utilidad para pronosticar infestación en fruto o grano, pérdidas económicas y para establecer alertas tempranas, entre otros.

## AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento al Don Germán Pérez y su hijo Don Hermán Pérez, por todas las facilidades otorgadas para realizar este trabajo en su finca cafetalera Rancho La Esperanza, municipio de Tapachula, Chiapas. Esta investigación se realizó como parte de las investigaciones del proyecto "Bioecología y manejo de la broca del café en el Soconusco y Sierra de Chiapas" financiado por Fundación Produce Chiapas, A. C. Especialmente agradecemos la invitación que nos hizo el Instituto Agronómico de Paraná (IAPAR), Brasil a través del Comité Organizador para participar en el Workshop Internacional sobre manejo da Broca-do-Café, celebrado en Londrina, Paraná en 2004.

## REFERENCIAS

- BAKER, P. S. Some aspects of the behavior of the coffee berry borer in relation to its control in southern Mexico (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Entomológica Mexicana*, v. 61, p. 9-24, 1984.
- BARRERA, J. F. Dynamique des populations du scolyte des fruits du caféier, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), et lutte biologique avec le parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyilidae), au Chiapas, Mexique. 1994. 301 p. Tesis. Université Paul Sabatier, Toulouse (France), 1994.
- BARRERA, J. F. Investigación sobre la broca del café en México: logros, retos y perspectivas. In: Barrera, J. F. (Ed.) In: **IMPOSIO SOBRE SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS DE LA INVESTIGACIÓN Y MANEJO DE LA BROCA DEL CAFÉ EN COSTA RICA, CUBA, GUATEMALA Y MÉXICO**. 2005, Tapachula (México). Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur. p. 1-13.
- BARRERA, J. F. Aplicación de la Ley de Poder de Taylor al muestreo de insectos. In: Toledo Arreola, J. T.; Infante Martínez, F. I. **Manejo Integrado de Plagas**. México: Ed. Trillas. En prensa.

BARRERA, J. F.; HERRERA, J.; VALLE, J. Efecto de la altura de la trampa en la captura de la broca del café: Implicaciones en dispersión y muestreo. **Entomología Mexicana**, v. 4, p. 542-546, 2005.

BARRERA, J. F. et al. Trampas de metanol-etanol para detección, monitoreo y control de la broca del café *Hypothenemus hampei*. In: Barrera, J. F.; Montoya, P. (Eds.) **SIMPOSIO SOBRE TRAMPAS Y ATRAYENTES EN DETECCIÓN, MONITOREO Y CONTROL DE PLAGAS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA**. 2006 Tapachula (México). Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur. p. 71-83.

BARRERA, J. F. et al. ECO-IAPAR el capturador de Broca del Café: Recicle botellas de plástico y gane contra la broca. El Colegio de la Frontera Sur, Proyecto Manejo Integrado de Plagas, México. **Folleto técnico n. 8**, 16 p., 2003.

BUNTIN, G. D. Developing a primary sampling program. In: Pedigo, L. P.; Buntin, G. D. (Eds.) **Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture**. Boca Raton (USA): CRC Press, 1994. p. 99-115.

DUFOUR, B. Validación de la trampa Brocap® para el control de la broca del café. **Boletín de Promecafé**, v. 93, p. 14-20, 2002.

JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, C.; BAKER, P. Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae): searching for sustainable control strategies. **Bulletin of Entomological Research**, v. 96, p. 1-12, 2006.

MANSINGH, A. Limitations of insecticides in the management of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* Ferrari. **Journal of Coffee Research**, v. 21, p. 67-98, 1991.

NORDENFORS, H.; CHIRICO, J. Evaluation of a sampling trap for *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 94, p. 1617-1621, 2001.

RUESINK, W. G. Introduction to sampling theory. In: Kogan, M.; Herzog, D. C. (Eds.) **Sampling methods in soybean entomology**. New York (USA): Springer-Verlag, 1980. p. 61-78.

TAYLOR, L. R. Aggregation, variance and the mean. **Nature**, v. 189, p. 732-735, 1961.

TAYLOR, L. R. Assessing and interpreting the spatial distributions of insect populations. **Annual Review of Entomology**, v. 29, p. 321-357, 1984.

WALL, C. Principles of monitoring. In: Ridgway, R. L.; Silverstein, R. M.; Inscoc, M. N. (Eds.) **Behavior-modifying chemicals for insect management**. New York (USA): Marcel Dekker, Inc., 1990., p. 9-23.

WILSON, L. T. et al. Quantitative sampling principles in cotton IPM. In: Frisbie, R. E.; El-Zik, K. M.; Wilson, L. T. (Eds.) **Integrated pest management systems and cotton production**. New York (USA): John Wiley e Sons, 1989. p. 85-119.

ZAVALA-OLALDE, J. A. et al. Design and evaluation of traps for *Idiarthron subquadratum* (Orthoptera: Tettigoniidae) with farmers participation in coffee plantations of Chiapas, Mexico. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, p. 821-835, 2005.

# EFICACIA DE LAS TRAMPAS DE VASOS PARA EL MONITOREO Y CONTROL DE LA BROCA DEL CAFÉ *Hypothenemus hampei* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EN COSTA RICA Y NICARAGUA

**Olger Borbón Martínez**

*Centro de Investigaciones de Café del Instituto del Café de Costa Rica - ICAFE. San Pedro de Barva, Heredia, Costa Rica*

## RESUMEN

En los trabajos realizados en Nicaragua como en Costa Rica se pudo determinar que la trampa de color blanca y de vasos es significativamente eficiente en el monitoreo y control de la broca, en comparación a otras trampas, llegando a reducir los niveles de ataque de broca en un 58%. La liberación de la mezcla de los alcoholes metanol:etanol en la proporción 3:1, en cantidades de 240 a 300 mg/día fue la ideal en el campo para la atracción de la broca y no se necesita agregar ningún otro extracto de café para mejorar su atracción. Las horas de mayor de captura de la broca en el campo fue entre las 2 y 4 de la tarde y está influenciada directamente por la lluvia, siendo este elemento el detonante de salida de las brocas que se encuentran en los frutos del suelo a inicios de la temporada, pero una vez establecida la lluvia reduce al mínimo la salida de las brocas que están en los frutos de la planta. Las investigaciones determinaron que el mejor radio de ubicación de una trampa a la otra fue de 10 m, cubriendo cada trampa un área de 500 m<sup>2</sup> y la altura a la cual la trampa se debe de colocar en la planta de café es a 1,50 metros. En Costa Rica las trampas se recomiendan en áreas donde no está presente la plaga todo el año y en las fincas que tienen broca después de realizada la poda hasta que los frutos alcancen el 20% de materia seca, que se da entre los 100 a 150 días después de la floración, dependiendo de la altura sobre el nivel del mar. Se encontraron varias sustancias que repelen la broca ya sea en mezcla o individualizadas.

**PALABRAS CLAVE:** *Hypothenemus hampei*, broca, café, trampas, color, atrayentes, repelentes, radios, altura, lluvia, extractos, captura

## REVISIÓN DE LITERATURA

Debido a que la broca del fruto del cafeto se ha convertido en la principal plaga del cultivo de café (BORBÓN, 1989, 1991, 2001, 2002, 2003), muchos

investigadores se han dado a la tarea de desarrollar varios métodos de control que puedan ser utilizados en el Manejo Integrado de la Broca.

En Costa Rica la broca fue detectada en Diciembre de 2000 y ya desde 1996 se estaban desarrollando investigaciones en Nicaragua, sobre los efectos de la plaga en el rendimiento de café, métodos de control, áreas de cuarentena y nuevas técnicas de detección y control entre ellas el desarrollo de trampas. (BORBÓN, 2001).

El propósito de los investigadores es buscar métodos que estén en armonía con los ecosistemas de café, el medio ambiente y la salud humana. Con esto se busca reducir el uso de agro tóxicos en las plantaciones de café y evitar a la vez la aparición de resistencia de la broca a éstas sustancias como ya ha sido reportado por Brun (1994) y Bustillo (2002).

Las trampas para la captura de escolítidos se han usado en diferentes países del mundo, sobre todo para el control de brocas que atacan árboles forestales, como es el caso de Estados Unidos, Canadá, Japón y algunos países europeos (MENDOZA, 1991). Más que todo se han utilizado en asocio con feromonas que atraen a los machos y hembras. Kimberly (2002) en estudios sobre *Ips pini* demuestra que los escolítidos son atraídos por la feromonas y las sustancias que se encuentren en el floema como los monoterpenos. En su estudio determino que el alfapineno y la limonena ayudan a atraer más insectos a los árboles enfermos. Dickens et al. (1992), Wilson et al. (1996) y Borden et al. (1997) estudiaron también algunas sustancias semioquímicas que atraían o repelían la agregación algunos escolítidos de árboles.

La trampa más utilizada para la captura de brocas de árboles forestales, ha sido sobre todo la de embudo múltiples.

Los primeros trabajos de captura de la broca del café, se desarrollaron en Brasil en los años 1991 a 1994, (MENDOZA, 1991) utilizando las trampas de embudo múltiple y el de embudo único (ESALQ/84), de aletas y difusor de atrayentes en el centro. Otras investigaciones se han desarrollado también en México (1989 a 1991), Nicaragua (1995), El Salvador (1995 a 2000) y Costa Rica (1995 a 2002) con atrayentes de alcoholes y trampas.

Las trampas desarrolladas siempre han estado ligadas algún componente que libera sobre todo las cerezas del café que atraen a la broca, no debemos olvidar que en el café existen más de 50 tipos diferentes de alcohol. Gutiérrez (1991) demostró que los alcoholes metanol y etanol atraían a la broca y en mayor cantidad cuando eran mezclados, determinando éste autor que la mejor relación de esos dos productos era tres partes de metanol con una parte de etanol.

Giordanengo (1933) y Mathieu (1998, 2001) demostraron que las hembras de la broca son atraídas por algunas sustancias que emanan de los frutos y el color. Ticheler (1991) ya había demostrado que la broca podía diferenciar colores

y que era atraída primero por los frutos negros (secos), luego los rojos y por último los verdes.

Existe poca información sobre los diferentes tipos de trampas para la captura de broca, donde inclusive el productor ha realizado algunas observaciones y trabajos sobre todo en prueba y error, no sabiendo si efectivamente la trampa captura una buena cantidad de broca o no.

Dufour (2000, 2002) muestra resultados de los trabajos realizados en El Salvador con la trampa BROCAP® en relación con otras trampas evaluadas y ésta ha sido más eficiente en la captura de la broca, el autor afirma que la eficacia del trapeo sobrepasa el 80% cuando el cafetal es bien manejado.

El trabajo que se presentará tiene como objetivo dar alternativas para la captura eficiente de la broca con otros modelos de trampas de fácil fabricación, de larga duración y económicas.

Se podrán observar las diferentes dosis de liberación de los alcoholes, horas de mayor captura de las brocas, altura de ubicación de las trampas, épocas de captura de la broca, radios de ubicación de las trampas, disminución de los ataques de broca y su comparación con otros tipos de trampa.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Ubicación de las investigaciones.** De 1998 a 2000 se desarrollaron las primeras investigaciones en la Finca Santa Rosa, San Marcos de Jinotepe, Nicaragua en un área de 5 hectáreas, con la variedad Catuai rojo con una distancia de siembra de 0,9 metros entre plantas y 1,90 metros entre calles.

En Costa Rica de 2001 a 2002 se desarrollaron investigaciones en fincas ubicadas en los cantones de Naranjo, Palmares y Grecia de Alajuela, Desamparados y Curridabat de San José, en las variedades Caturra y Catuai rojo.

**Porcentajes de ataque de broca en los lotes estudiados.** En Nicaragua el lote tenía un porcentaje de ataque del 28% y en Costa Rica se manejaron niveles de ataque entre el 2% y 8%. Se utilizó el muestreo sistemático de 20 puntos por hectárea al azar, escogiéndose 100 frutos al azar de cada planta seleccionada.

### **Diseño de trampas**

Nicaragua

- 1) La trampa A era de embudos múltiples (5) hecha de cartulina plástica de colores, blanco, negro, amarillo, rojo, azul y verde.
- 2) La trampa B se hizo con vasos de polipropileno de color blanco y desechables de un volumen de 200 ml, cubiertos por un plato del

mismo color, ella semejaba la trampa de embudos múltiples. Los vasos estaban sujetos por hilos de nylon.

- 3) La trampa C estaba formada por vasos de polietileno no desechables de color blanco, de un volumen de 150 ml, sujetado por hilos de nylon. Estaban protegidos por plato del mismo color.
- 4) La trampa D era un recipiente de color amarillo de un litro, con dos ventanas a cada lado de un tamaño de 10 x 10 cm. Trampa generada por los productores nicaragüenses. En ella se colocaba el atrayente en el fondo del mismo, que era alcohol de metílico.
- 5) La trampa E se denominó de pantallas grande (34,5 cm x 57,5 cm) de polietileno de color blanco de cuadrículas de 1 cm x 1 cm. La trampa se cubrieron con goma antes de su uso y el difusor con el atrayente se colocaba en el centro de la misma.
- 6) La trampa F se denominó de pantallas pequeña (27 cm x 34,5 cm) de polietileno de color blanco de cuadrículas de 1 cm<sup>2</sup>. La trampa se cubrieron con goma antes de su uso y el difusor con el atrayente se colocaba en el centro de la misma.

#### Costa Rica

- 1) Trampa de vasos blancos.
- 2) Trampa de vasos blanca con el último vaso más ancho.
- 3) Trampa de vasos rojos.
- 4) Trampas de vasos rojos con el último más ancho.
- 5) Trampa BROCAP® de color roja.
- 6) Trampa parecida a la BROCAP® de color amarilla.
- 7) Trampa parecida a la BROCAP® de color blanca.

**Difusores para la liberación de metanol:etanol.** En Nicaragua se estudió un gotero de 40 ml con un orificio de 0,2 mm, que bajo condiciones de laboratorio de temperaturas de 15°C a 27°C liberaba 22 mg/día de la mezcla de alcoholes metanol:etanol, en la proporción de 3:1. Se estudió también una membrana elaborada de plástico permeable que bajo condiciones de laboratorio de temperaturas de 17°C a 27°C liberaba 62 mg/día de la mezcla de metanol:etanol en la proporción de 3:1.

En Costa Rica se utilizó una membrana que liberaba de 200 a 250 mg/día.

**Repelentes.** Las sustancias usadas como repelentes se colocaron en una membrana que liberaba ciertas cantidades bajo condiciones de laboratorio de 15°C a 27°C, excepto aquellos que no fueron elaborados en ChemTica: Z-hex-2-en-1-ol (investigación Bedoukain), E-hex-2-en-1-ol, Z-hex-3-en-1-ol (investigación Bedoukain), E-hex-3-en-1-ol, Z-hex-2-en-1-al, E-hex-2-en-1-al, Z-hex-3-en-1-al, E-hex-3-en-1-al, verbona (investigación Bedoukain), 3-

methylcyclohex-2-en1-uno (investigación Bedoukain),  $\alpha$ -pineno (aldrich Chemical) ésta sustancia fue colocada en una bolsa plástica permeable.

### Diseño experimental

**Nicaragua.** Se utilizó un diseño de bloques al azar. Las trampas se colocaban a una altura de 1,5 m en la planta de café. Los tratamientos estaban separados a 10 metros de los bordes de camino. Cada trampa (tratamiento) estaba separada a 10 metros y los bloques cada 18 metros.

Los insectos capturados en las trampas se contaban diariamente y se removían entre las 9 am y 12 meridiano del día siguiente. Cada dos días las trampas se combinaban al azar dentro de los bloques para garantizar que todas las diferentes trampas tenían la misma posibilidad de capturar las brocas.

**Costa Rica.** Se utilizó un diseño de bloques al azar, con siete tratamientos y ocho repeticiones. Las trampas se colocaban cada 18 metros y entre bloques cada 24 metros. Los insectos se contaban diariamente la primera semana y posteriormente cada tres días, removiendo todas las brocas.

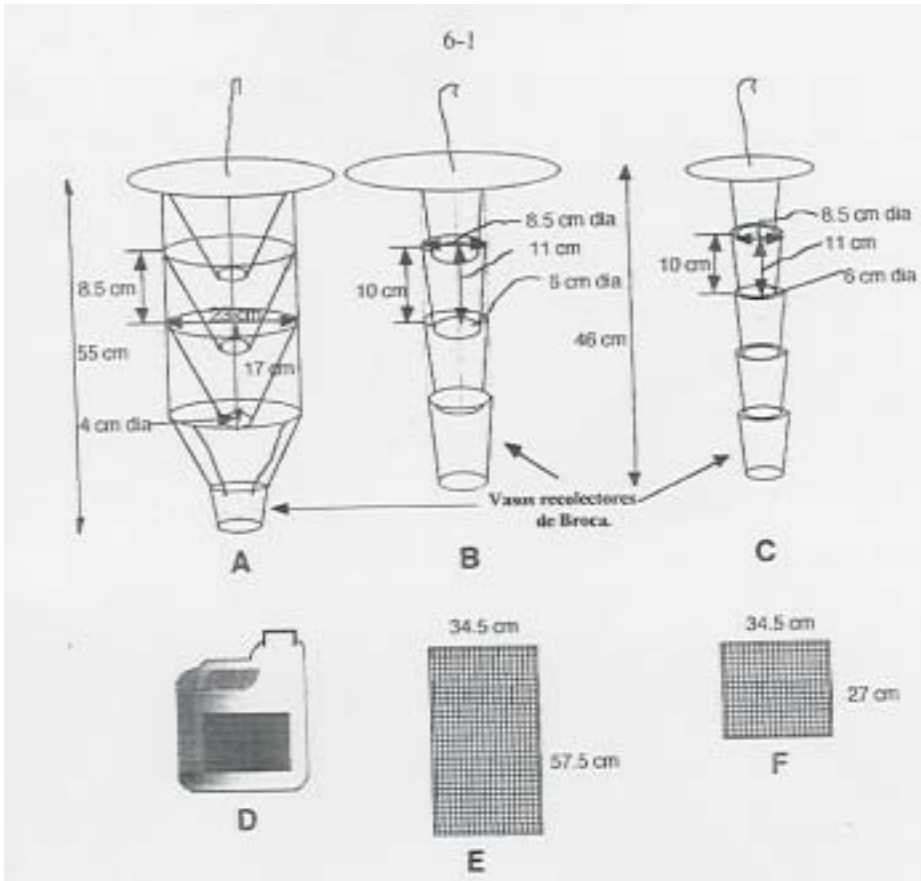
**Análisis de datos.** Los datos evaluados en Nicaragua se transformaron con  $\log(x + 1)$  para homogeneizar la varianza. Los datos se analizaron usando el Sytat, en un análisis factorial de rutina completo de ANOVA. Los datos de Costa Rica se transformaron también con  $\log(x + 1)$  y se hizo un análisis de ANDEVA. Las medias se presentan sin transformar. Datos con la misma letra no difieren entre sí, según Bonferonni Test,  $P < 0.95$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Trampas.** Los primeros experimentos consistían en optimizar el color y el diseño de la trampa. Investigadores brasileños demostraron que la trampa de embudo múltiple (Fig. 1A) es casi tres veces más eficiente que la trampa de embudo simple con paletas en la captura de *H. hampei* (MENDOZA, 1991).

La captura de broca en la trampa A de embudos múltiples de colores: blanco, negro, amarillo, rojo, azul y verde, utilizando un difusor que libera 22 mg/día de metanol:etanol en la proporción de 3:1 dio como resultado que las trampas blancas superan ampliamente en la captura de broca a las demás, como se puede observar en la Fig. 2, en mayo de 1999.

En la Fig. 2 se observa que la trampa de color blanca fue significativamente más eficiente en la captura de broca que los otros colores. Se utilizaron dos difusores que emanaban en total 44 mg/día de alcoholes.

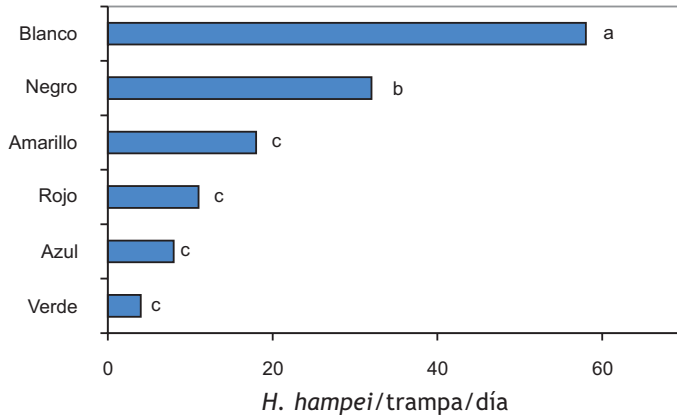


**Figura 1.** Trampas utilizadas en los ensayos de broca.

El ensayo constó de 11 repeticiones, para una mayor homogeneización de la varianza se transformaron los datos de ANOVA al cuadrado ( $x + 1$ ). ( $n = 22$ ) dio como resultado  $F = 27,67$ ,  $df = 5, 132$ ,  $P < 0.05$ .

Los resultados obtenidos por Mathieu et al. (1999), para evaluar el color de la trampa y las liberaciones de alcoholes de 500, 1500, o 20.000 mg/día en la relación 1:1 de la mezcla de metanol:etanol, dieron como resultado que las trampas rojas capturaran más brocas que las blancas, pero nunca se comprobó su eficacia en campo.

En el estudio realizado, podemos observar que las trampas blancas capturaron 5,27 veces más que las rojas, esto puede estar asociado a que éste tipo de insectos es altamente fotopositivo.

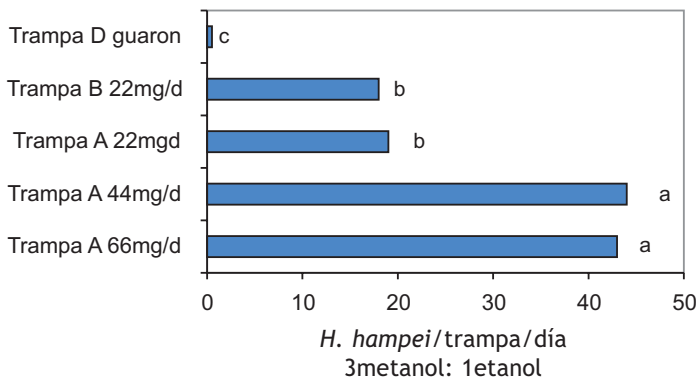


**Figura 2.** Captura de broca de acuerdo al color de la trampa.

En un segundo experimento realizado también en mayo de 1999 se estudió la eficiencia de la trampa de embudo múltiple (B), con conos de tamaño y ángulo diferentes. Al igual que la trampa anterior (A) se probaron con 1, 2 y 3 difusores de la mezcla metanol:etanol en proporción 3:1, con una liberación de 22 mg/día, cada uno.

En la Fig. 3 se observa que las trampas de embudo múltiple tipo A y B fueron muy similares en la captura de broca, sin diferencias estadísticas, pero ésta aumentó significativamente en 2,5 veces más cuando se usaron con 2 y 3 difusores, lo que daba a pensar que entre más cantidad se liberaba de alcoholes más broca se capturaba.

En este ensayo se probó también una trampa artesanal elaborada por productores con etanol y una mezcla de frutos de café denominado guaron,



**Figura 3.** Captura de broca con respecto al tipo de trampa y diferentes alcoholes y cantidades liberadas.

que se depositaba en el fondo. Ella consistía en un recipiente plástico de color blanco de un litro, con una ventana de 10 x 10 cm en cada lado.

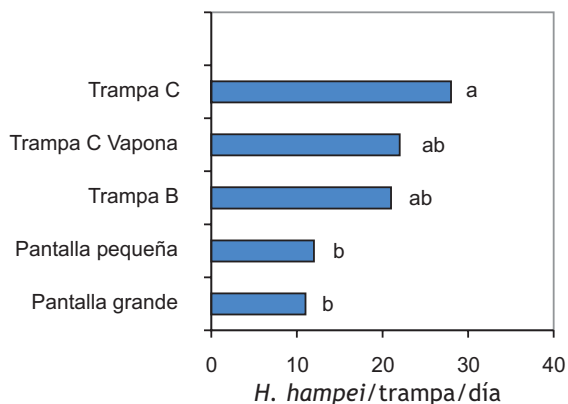
El análisis ANOVA con Log ( $x + 0,5$ ), con datos transformados ( $n = 19 - 21$ ) dio como resultado una  $df = 4, 95$ , una  $F = 105,71$ ,  $P < 0,05$ , dando como resultado que ésta última trampa es muy ineficientes en la captura de broca en comparación a las trampas de embudo múltiple A y B.

La literatura reporta que algunos escolítidos son fácilmente capturados con trampas de pantalla de malla (BORDEN et al., 1982), por lo que se realizó un experimento para comparar éste tipo de trampa con la trampa B y C, ésta última tiene como modificación un mayor número de vasos (5).

En la Fig. 4, las trampas de pantalla pequeña y grande fueron poco eficientes en la captura de brocas, en comparación con las trampas B y C, lo cual establece que el número de vasos no es un factor determinante en la eficacia de la trampa para la captura de *H. hampei*. Suponemos que la broca en su acercamiento a la trampa no cae en su primer intento, ésta vuelve a volar hasta que es capturada.

El análisis estadístico de la captura de brocas con las trampas B y C blanca en comparación con las de pantalla E y F, cada una contiene un difusor que emana 62mg/día, el ANOVA en Log ( $x + 1$ ) con  $n = 18$  da una  $df = 4, 40$ , una  $F = 7,26$ , con una probabilidad de  $P < 0,05$ . Las medias se transformaron para homogeneizar la varianza y las trampas se rotaron para que todas estuvieran en posiciones diferentes y así evitar que algunas siempre estuvieran en los focos principales de la plaga.

En éste experimento a una de las trampas se le agregó Vapona en el último vaso en lugar de agua, la cual tiene una larga duración en el campo, por lo que podría utilizarse por largos periodos de monitoreo, sin causar ninguna repelencia a la hora de capturar las brocas.



**Figura 4.** Captura de broca según tipo de trampa.

Para el año 2002 se realizó una investigación para comparar la efectividad de las trampas de vasos blancas y rojas versus trampas de ROCAP® de color rojas amarillas y blancas.

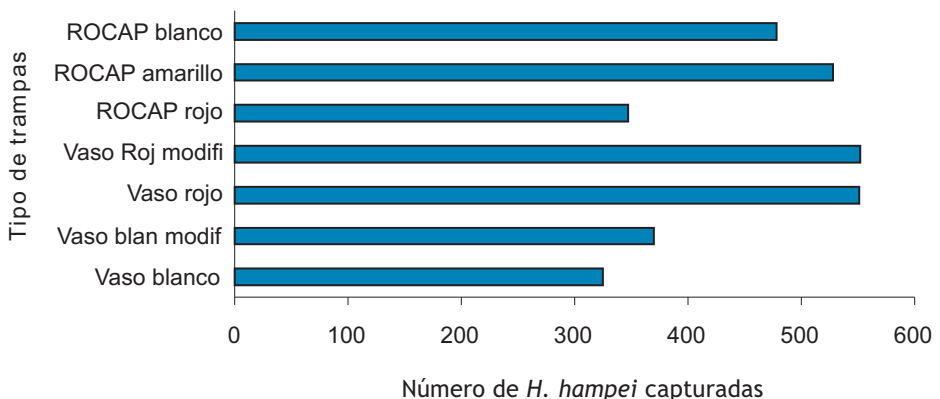
Se realizó una prueba de bloques al azar, con 7 tratamientos y 8 repeticiones, siendo los tratamientos:

- 1) Trampa de vasos blancos.
- 2) Trampas de vasos blanco, con el último vaso más ancho.
- 3) Trampas de vasos rojos.
- 4) Trampas de vasos rojo, con el último vaso más ancho.
- 5) Trampas rojas tipo ROCAP®.
- 6) Trampas amarillas tipo ROCAP®.
- 7) Trampas blancas tipo ROCAP®.

En la Fig. 5 se puede observar que no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos cuando se aplicó una prueba de Duncan al  $P < 0,05$ , los datos se transformaron para homogeneizar las varianzas con  $\text{Log}(x + 1)$ , con un C.V. de 30.46%.

**Determinación de la cantidad de liberación de los atrayentes.** El uso de difusores con la mezcla de metanol:etanol, ha sido investigado por investigadores franceses y brasileños. En la investigación brasileña a medida que los índices de liberación de los alcoholes en los difusores aumentaban de 60 a 180 mg/día, las capturas de *H. hampei* en las trampas de aleta, fueron menores (MENDOZA, 1991).

Los investigadores franceses encontraron que al aumentar el índice de liberación de los alcoholes metanol:etanol en una proporción de 1:1 en los



**Figura 5.** Captura de brocas con diferentes tipos de trampas. Palmares, Alajuela, 2002.

difusores en cantidades de 500 a 20.000 mg/día las capturas de broca fueron menores utilizando las trampas de embudo múltiple (MATHIEU et al., 1997). En nuestro estudio se estudio la liberación de los alcoholes metanol:etanol en la proporción de 3:1 con los difusores, para la captura de la broca con trampas de embudo múltiple grande (A) en dosis de 22 a 66 mg/día y se observó que las capturas fueron mayores en la mayor liberación (Fig. 3). Mientras que al variar el índice de liberación de los alcoholes de 62 a 186 mg/día en trampas de embudo múltiple pequeños (C) aumentó la captura de las brocas pero no de forma significativa (Fig. 6).

En la Fig. 6 se observa la cantidad de brocas capturadas con relación a la cantidad de alcoholes liberados por día. La prueba se realizó el 20 de junio de 1999. Se hizo un análisis estadístico de ANOVA, con transformación de datos de Log (x + 1) obteniéndose una  $F = 7,44$ ,  $df = 3, 25$  y una  $P < 0.05$ .

Se estudio el comportamiento de la captura de broca con trampas de embudo pequeño, con tres difusores, para una liberación de 66 mg /día. Cuando tenían un mes de estar en el campo se compararon con una bolsa de membrana recién preparada con una liberación de 62 mg/día, siendo ésta más eficiente en la atracción de las brocas, que los difusores.

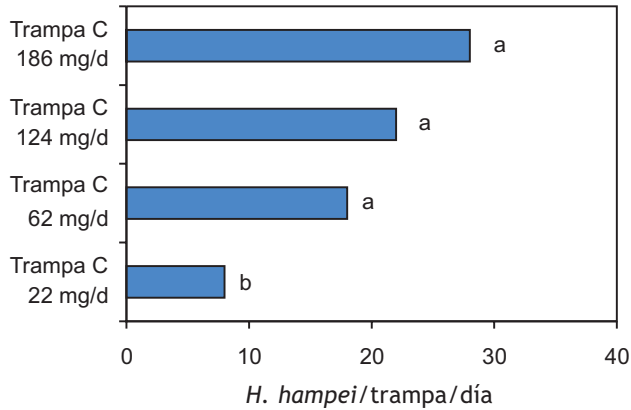
Acompañado a este estudio se realizó la investigación de cual era la cantidad de alcoholes liberados por día que atraían más brocas, por lo que se pusieron varias dosis en el campo y el resultado lo podemos observar en la Fig. 7.

Las tasas de captura de *H. hampei* en las trampas de embudo múltiple (tipo B) con las membranas se estudiaron en el ámbito de 53 a 1068 mg/día como lo observamos en la Fig. 7.

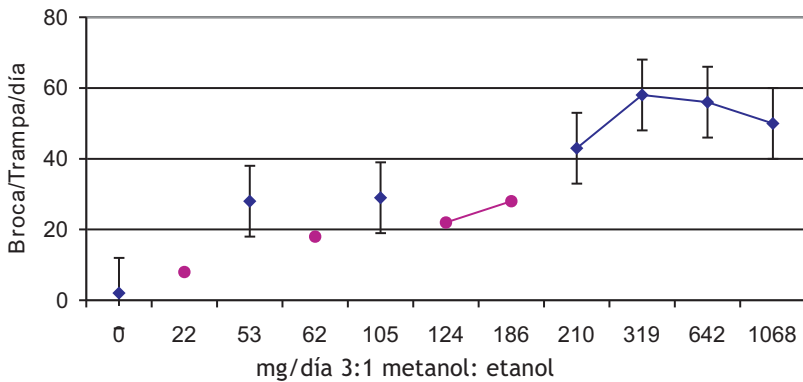
En el estudio se pudo observar que a medida que se aumentaba la liberación de los alcoholes por día desde 53 hasta 319 mg/día la captura de brocas era mayor, aunque no se presentaron diferencias estadísticas entre 319 a 1068 mg/día.

Estos resultados se contraponen a los obtenidos por Mendoza (1991) en Brasil. Es a partir de aquí que el uso de las membranas se intensifica liberando aproximadamente 220 mg/día y es lo que se utiliza en el campo de forma masiva.

**Comparación del metanol:etanol con otros extractos.** En la trampa artesanal de Nicaragua al alcohol se le agregaba un extracto de café molido, ya que mejoraba la captura de las brocas de acuerdo a las observaciones de los investigadores, por lo que se procedió a realizar un experimento, comparando la relación de metanol:etanol liberando 22 mg/día con extractos de broca molida, frutos molidos, frutos verdes más metanol:etanol, sólo frutos verdes y un testigo sólo agua.



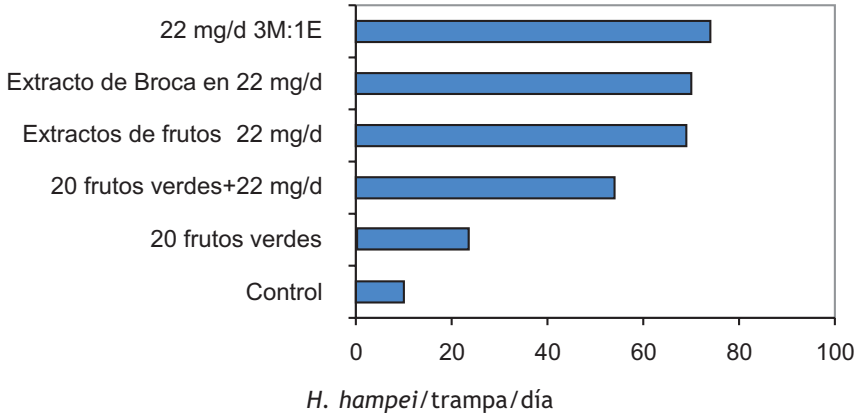
**Figura 6.** Captura de broca de acuerdo a la liberación de los alcoholes metanol:etanol en relación 3:1.



**Figura 7.** Optimización de la liberación de los alcoholes metanol:etanol mediante una membrana plástica para la captura de *H. hampei*. Nicaragua, septiembre, 1999.

En la Fig. 8 se observan los resultados y se puede apreciar que no se presentan diferencias estadísticas entre los tratamientos.

La literatura cita que las brocas son más atraídas por los frutos secos, maduros y por último verdes (TICHELER, 1961). Los franceses reportan que *H. hampei* prefiere los frutos rojos a los verdes (GIORDANENGO et al., 1993), esta misma autora reporta que los granos de los frutos verdes con solventes orgánicos opuestos, tales como la acetona, el acetato etílico y el etanol dan mezclas atractivas para la atraktividad de las brocas. Los brasileños aseguran que las brocas prefieren el olor de los frutos rojos que de los verdes (MENDOZA, 1991), mientras que algunos autores mexicanos como Gutiérrez et al. (1996) describen que los extractos de los granos de café maduro, verde y partes de los granos con solventes polares son atractivos para la broca.

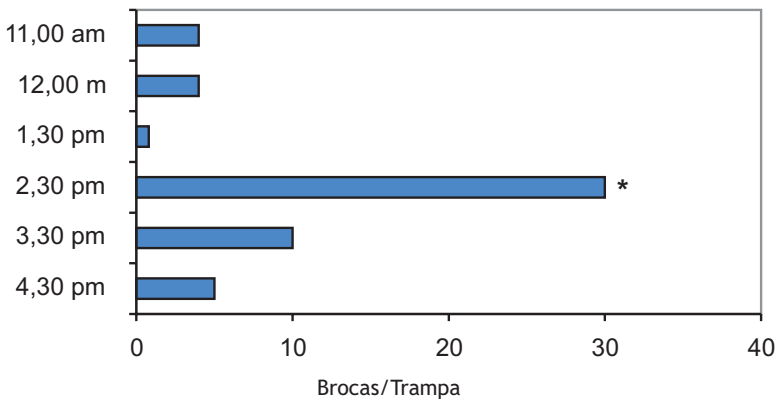


**Figura 8.** Captura de brocas con metanol: etanol en comparación a otros extractos. Nicaragua, junio, 1999.

De nuestro resultado se desprende que la mezcla de metanol:etanol ejerce una buena función de atracción de las brocas comparadas con todos los extractos utilizados.

**Horas de mayor captura de broca.** Se ejecutaron dos ensayos para determinar con exactitud cuales eran las horas de mayor captura de broca, desde las 11 a.m. hasta las 4.30 p.m.

En la Fig. 9 tenemos los resultados del primer ensayo y se observa que la mayor captura se obtuvo en las horas de la tarde y la máxima captura diferenciándose estadísticamente de las demás horas fue las 2.30 p.m.



**Figura 9.** Horas de mayor captura de broca. Nicaragua, junio, 1999.

Se realizó un análisis de test-t de Benferonni de ANOVA con datos transformados de raíz cuadrada ( $x + 0.5$ ) con ( $n = 6$ ), una  $df = 5, 30$ , una  $F = 4.40$ ,  $P < 0.05$ .

El 95% de las capturas de broca en las trampas se realizaron en horas de la tarde, utilizando una liberación de 62 mg/día de metanol:etanol en una proporción de 3:1.

El segundo ensayo se desarrolló en noviembre de 1999 en la misma fincas de Santa Rosa. Jinotepe, Nicaragua. Utilizando la trampa de vasos múltiples de color blanco y una liberación de 240 mg/día de la mezcla de metano: etanol en una proporción de 3:1. Se realizó un análisis estadístico de ANOVA ( $n = 10$ ),  $F = 11.05$ ,  $df = 5, 51$  y una  $P < 0.05$ . Se presentaron diferencias significativas en la captura de brocas de acuerdo a las horas, con una test-t de Bonferonni.

En la Fig. 10 se puede observar que las horas de 2 p.m. a 4 p.m. se presentan las mayores capturas de broca, siempre y cuando se presente un día soleado, ya que las precipitaciones influyen sobre los vuelos de la plaga.

Podemos concluir, con el análisis de los datos de los dos experimentos que la mayor captura de broca se da por la tarde entre las 2 p.m. y 4 p.m.

**Altura más apropiada para la trampa.** Se realizó una investigación para determinar cuál era la mejor altura de las trampas de embudos múltiples de tipo C, para la captura de broca. Las alturas estudiadas fueron 0.50 m, 1.5 m y 2.5 m sobre el nivel del suelo, esto se ligó a acuerdo a la altura propia de las plantas de café.

La mejor captura de broca se realizó a la altura de 1.5 m del suelo sin encontrarse diferencias estadísticas con las otras dos alturas. Esto puede depender de la cantidad de frutos que se encuentren atacados por la broca, los cuales se ubicaban en el tercio medio de la planta. A la

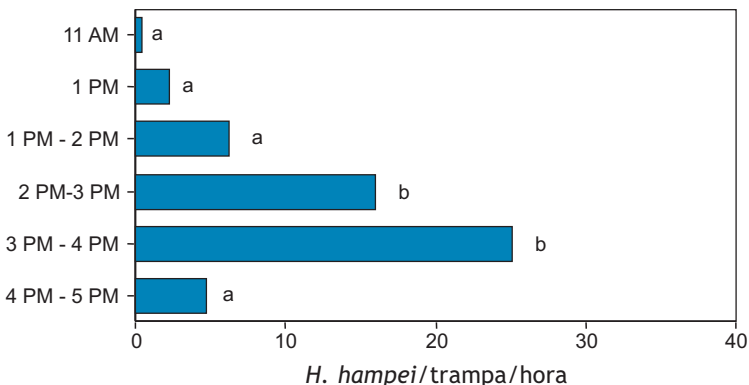


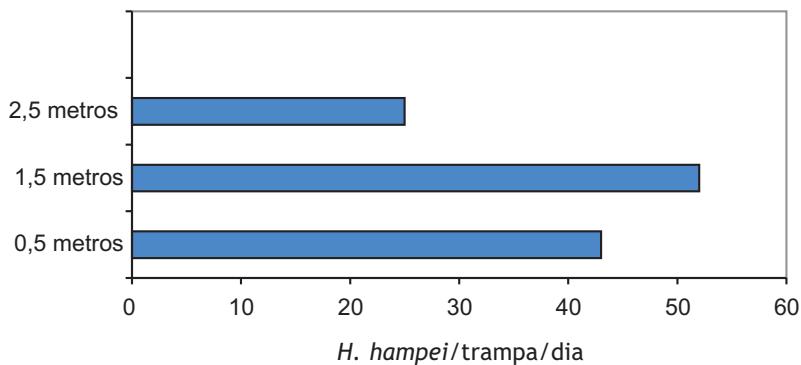
Figura 10. Horas de mayor captura de brocas. Nicaragua, noviembre, 1999.

altura de 2.5 m existe mucha radiación solar, lo que desfavorece a la broca para atacar los frutos.

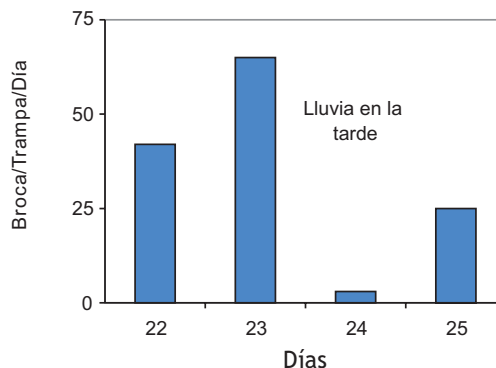
Los resultados los podemos ver en la Fig. 11. Se utilizó un difusor que liberaba 80 mg/día de metanol:etanol en la proporción de 3:1. Se utilizó el ANOVA ( $n = 10$ ),  $F = 7.44$ ,  $df = 7$  y una  $P < 0.05$ .

**Efecto de la precipitación en la captura de broca.** Observaciones de campo, comprobaron que las precipitaciones afectan la salida de las brocas de los frutos atacados en el suelo como los que se encuentran en la planta siendo mínima la captura de la plaga en las trampas. A continuación presentaremos dos casos del efecto de la lluvia sobre la captura de broca.

En la Fig. 12 podemos observar como la precipitación tiene un efecto directo de la salida de las brocas de los frutos tanto del suelo como de la planta, quizás ello se deba a que la lluvia disminuye la temperatura y aumenta



**Figura 11.** Efecto de la altura de la trampa en la captura de brocas. Nicaragua, septiembre, 1999.



**Figura 12.** Efecto de la lluvia sobre la captura de brocas. Nicaragua, septiembre, 1999.

la humedad relativa, controlando la salida de las brocas, todo lo contrario se presenta cuando el día es soleado y las temperaturas altas. Se utilizaron trampas de vasos múltiples con membranas que liberaban 240 mg/día de alcoholes de metanol:etanol en la proporción 3:1. Las trampas se colocaron cada 10 metros y separadas entre hileras 24 metros.

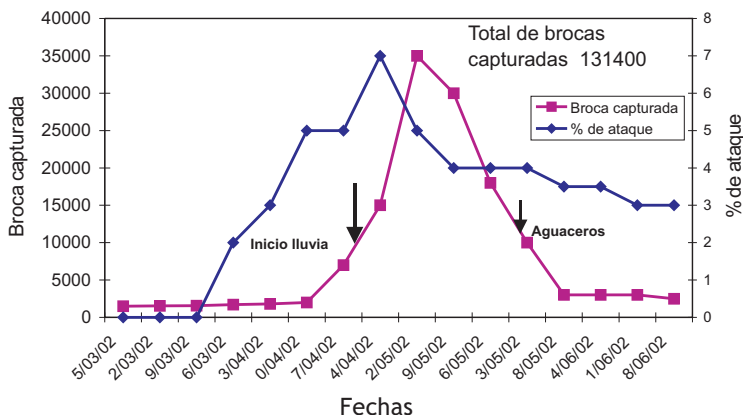
En Costa Rica se realizó un trabajo con 20 trampas por hectárea, con la trampa B y membranas plásticas que liberaban 240 mg/día de metanol:etanol en la proporción de 3:1.

En la Fig. 13 se puede observar la buena captura de brocas en las trampas y el efecto de las lluvias tanto para estimular la salida de la broca en épocas postcosecha, como la reducción de la captura de brocas en las trampas cuando el invierno se establece en las zonas con presencia de broca.

La captura total de brocas fue de 131400 y el nivel de ataque de los frutos disminuyó de 7% a 3%, provocando daños menores la broca en el rendimiento de café. En Costa Rica se recomienda utilizar las trampas después de finalizada la poda entre los meses de enero a abril y dejar las trampas en el campo hasta que los frutos tengan unos 120 días después de la floración, por motivo que la broca prefiere quedarse en el canal de penetración en los frutos y para esa época las lluvias también son intensas.

**Radios de ubicación de trampas en el campo.** Se realizaron tres ensayos de radios dos a 10 metros y uno a 20 metros en Nicaragua. Se utilizó la trampa de tipo C, con señuelos de metanol:etanol.

El diseño experimental básico fue colocar una trampa dentro de un círculo de trampas equivalentes y comparar su captura de broca (**Trampa Central**) con relación a la captura de brocas en la trampa localizada a 50 metros (**Trampa**

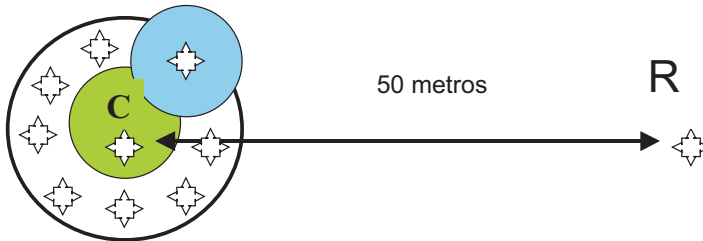


**Figura 13.** Captura de broca con trampas tipo B y nivel de ataque. Curridabat. San José, junio, 2002.

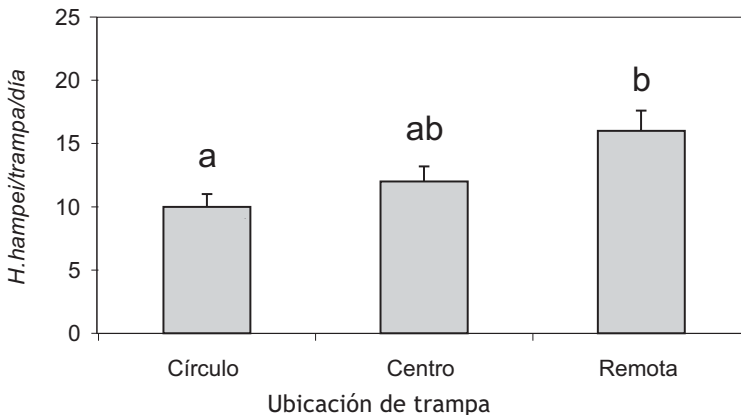
**Remota).** Se establece que cuando el radio efectivo de las trampas del círculo y la trampa del centro se traslapan, la captura de la trampa Central es menor que en la trampa Remota (Fig. 14).

El primer experimento se realizó en Nicaragua en setiembre de 1999, con trampas múltiples de tipo C, con señuelos que liberaban 240 mg/día de metanol:etanol en la proporción 3:1. Las trampas fueron colocadas en grupos de 10 formadas por una trampa central, 8 periféricas y una remota a 50 metros de la central. El ensayo se repitió cuatro veces, los insectos se recolectaban cada dos o tres días y las trampas se relocalizaron en octubre para un segundo ensayo.

En la Fig. 15, podemos observar los resultados. Al realizar el análisis de ANOVA de  $n = 16$ ,  $df = 1, 3$ , una  $F = 0.3$  con una  $P < 0.05$ , para la comparación de la trampa central vs trampa remota y el ANOVA trampas del anillo vs trampa remota  $n = 16$ , con una  $F = 5.92$  y una  $P < 0.05$ . Del análisis de los datos se desprende que existen diferencias significativas cuando se realiza con el test-t de Bonferonni.



**Figura 14.** Diseño experimental de radios de las trampas.



**Figura 15.** Prueba de radio de las trampas múltiples Tipo C. Nicaragua, septiembre, 1999.

La trampa remota como la central captura estadísticamente igual cantidad de brocas, pero sí se presentaron diferencias entre la trampa remotas y las trampas del círculo.

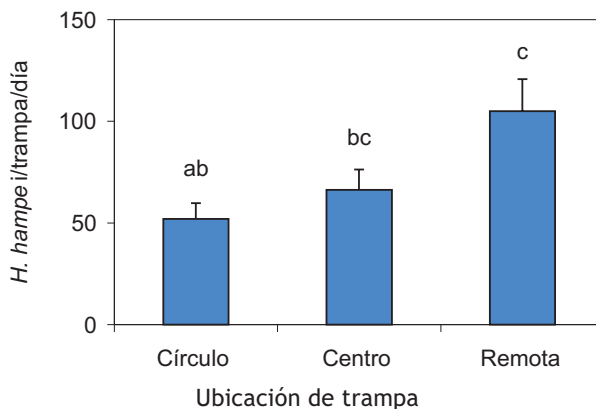
En la Fig. 16 se puede observar los resultados obtenidos en el segundo ensayo de radios de 10 metros, efectuado en octubre de 1999, con las mismas características de diseño que el anterior ensayo. Se utilizaron las trampas de Tipo C, con señuelos de metanol:etanol en la proporción de 3:1, liberando 175 mg/día.

En el ensayo se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos de la trampa remota y las ubicadas en el círculo con relación a la cantidad de brocas capturadas, pero no así entre la trampa central y la remota. Esto nos indica que el radio estudiado de 10 metros es muy eficiente en la captura de brocas y no hay interferencia entre las trampas.

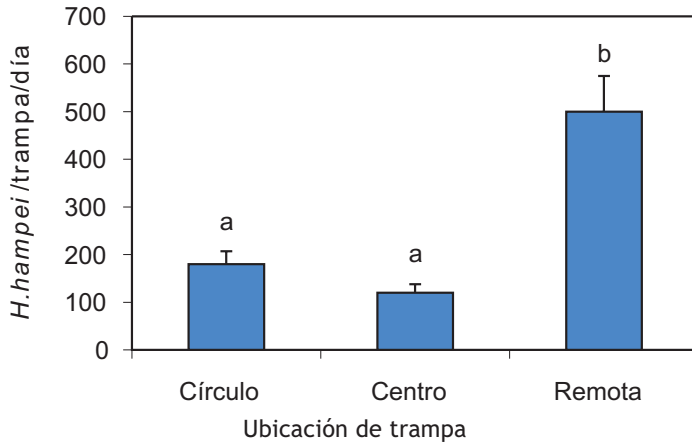
Por condiciones climáticas, debido al vuelo de las brocas y la cosecha que se estaba realizando se capturaron mayores cantidades de broca en las trampas, como se observa en la Fig. 16.

En último ensayo que se realizó en noviembre de 1999, sobre radios de 20 metros de las trampas, se pudo determinar que se presentaron diferencias significativas entre la trampa central y la remoto como con las trampas del círculo, diciendo esto que un radio superior a 10 metros no permite una buena captura de brocas y éstas posiblemente se escapan por no haber suficiente atrayente para conducir las hacia las trampas. El análisis dio una  $F = 5.43$ , una  $df = 2, 9$  con  $n = 16$  y en  $P < 0.05$  con un test-t de Bonferonni.

Los resultados de éste ensayo se pueden observar en la Fig. 17.



**Figura 16.** Prueba de radio de las trampas múltiples Tipo C. Nicaragua, octubre, 1999.



**Figura 17.** Estudio de radios de 20 metros de trampas Tipo C. Nicaragua, noviembre, 1999.

**Estudio de posibles productos repelentes a la broca.** En el campo se ha observado que cuando una broca entra a un fruto otros individuos de su especie no hacen lo mismo. No se conoce si los frutos perforados son convenientes para el acercamiento de otras hembras en proceso de colonización, ya que cuando las hembras han comenzado su proceso de a poner de huevos, aparentemente se produce un freno para impedir que otras hembras entren a ese fruto. Existe además la posibilidad que algunos subproductos, producidos en la de fermentación provocada por la mordedura de la broca en ese fruto, sean repelentes para otras hembras colonizadoras.

Se supone que cuando la hembra penetra la pulpa del fruto existen posibles liberaciones de lípidos oxidables tales como volátiles de hoja verde. Si embargo no se conoce si esos volátiles de hoja verde son producidos en éste proceso, pero existe la posibilidad de determinar si son repelentes de *H. hampei*. Si se parte que éstos componentes son producidos por la planta huésped, a priori se esperaría que estos volátiles de hoja verde no sean repelentes a la plaga. Para intentar dilucidar dicha hipótesis se realizó un experimento en la que se comparaba la captura de *H. hampei* con trampas de embudo múltiple (Tipo A) con difusores de alcoholes metanol:etanol y trampas con iguales difusores conteniendo una combinación de ocho volátiles de hoja verde: [(E)-hex-3-en-1-ol, (Z)-hex-3-en-1-ol, (E)-hex-2-en-1-ol, (Z)-hex-2-en-1-ol, (E)-hex-3-en-1-al, (Z)-hex-3-en-1-al, (E)-hex-2-en-1-al, (Z)-hex-2-en-1-al] o  $\alpha$ -pineno, colocados en la planta de café a una distancia de 10 a 20 cm del borde del segundo embudo de las trampas.

Los datos se observan en la Fig. 18, en la cual se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Los ocho volátiles de hojas verdes

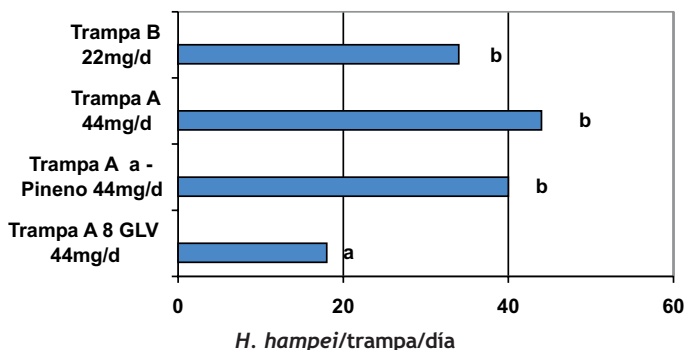


Figura 18. Prueba de productos repelentes para *H. hampei*. Nicaragua, mayo, 1999.

mezclados provocaron una repelencia de las brocas, por lo que la captura fue mucho menor que los otros tratamientos, donde se utilizaron los alcoholes metanol:etanol y el  $\alpha$ -pineno. Se hizo un análisis de ANOVA, con transformación de datos mediante la fórmula de  $\log(x + 1)$  ( $n = 16 - 23$ ), con una  $df = 3, 732$ , una  $F = 7.47$  y una  $P < 0.05$ .

En un segundo ensayo ejecutado el mismo mes, se comparó la repelencia de los 8 productos juntos, de forma separada en alcoholes y aldehídos.

Se realizó un análisis estadístico con la prueba de ANOVA, con datos transformados con  $\log(x + 1)$ , con  $n = 8 - 10$ , una  $df = 3, 34$ , una  $F = 5.69$  y una  $P < 0.05$ .

En este caso los difusores con los repelentes se colocaron al interior de la trampa cerca del difusor de alcoholes, observándose una mayor repelencia de los productos a la broca. En comparación al ensayo anterior se obtuvo un 90% más de repelencia cuando los difusores con los ocho volátiles, son puestos al interior de la trampa (Figs. 18 y 19).

En la Fig. 19 se observa que tanto los aldehídos, como los alcoholes separados y que conforman los 8 volátiles, tiene una repelencia a la broca, presentando una diferencia significativa cuando en las trampas sólo se utiliza los alcoholes metanol:etanol en la captura de *H. hampei*.

En un tercer ensayo se realizaron pruebas de la mezcla de los 8 volátiles, cuatro alcoholes, verbona, 3-metilciclohex-2-en-1 y el control de metanol:etanol.

En la Fig. 20 se observan los resultados una vez analizado estadísticamente, mediante la prueba de ANOVA, con transformación de datos de la raíz cuadrada  $(x + 0.5)$ , con  $N = 20$ , con una  $df = 7, 15$ , una  $F = 20.02$  y una  $P < 0.05$ .

En el ensayo se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 20) donde los alcoholes Z-hex-3-en-1-0l y E-hex-2-en-1-0l presentaron la misma repelencia que la mezcla de los 8 volátiles de la hoja

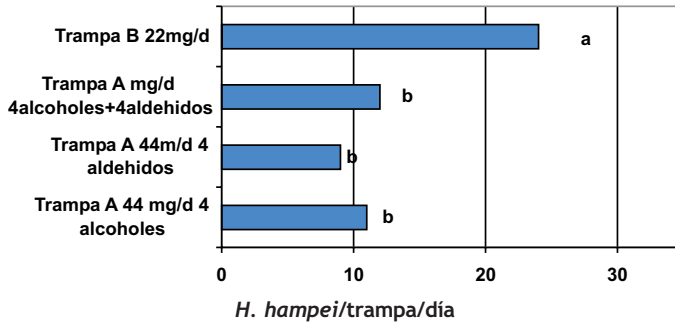


Figura 19. Prueba de productos repelentes a *H. hampei*. Nicaragua, mayo, 1999.

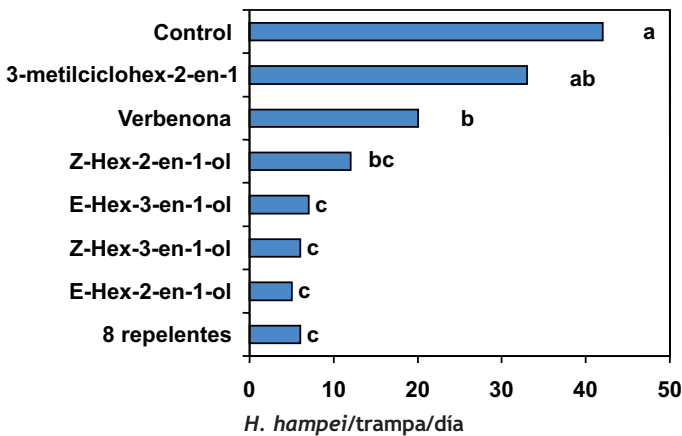


Figura 20. Prueba de productos repelentes de *H. hampei*. Nicaragua, junio, 1999.

verde probada. La literatura reporta que estos dos alcoholes muestran la más alta repelencia de los volátiles de hoja verde de otros escolítidos (BORDEN et al., 1996; WILSON et al., 1997).

El 3-metilciclohex-2-en-1 (MCH) y la verbona feromónas antigregarias, fueron menos eficientes como repelentes en comparación a los alcoholes y la mezcla de los 8 volátiles de hoja verde.

## CONCLUSIONES

- 1) Las trampas blancas presentaron la mayor captura de broca.
- 2) Las trampas de tipo B y C son tan eficientes en la captura de broca que las trampas de tipo A.
- 3) Las trampas de pantalla plástica rectangulares impregnadas de goma no son eficientes en la captura de broca.

- 4) La mezcla de los alcoholes metanol:etanol da un buen resultado para la atracción de *H. hampei*.
- 5) La proporción de 3:1 de la mezcla metanol:etanol da excelentes resultados para la atracción de la broca, no así cuando se utilizan puros los dos alcoholes.
- 6) La liberación de 240 a 300 mg/día de la mezcla de los alcoholes metanol:etanol proporciona excelentes resultados de captura de broca en las trampas.
- 7) La sustancia Vapona presenta una buena alternativa de sustitución del agua y no provoca ninguna interferencia en la captura de *H. hampei* en las trampas.
- 8) No es necesario agregar extractos de frutos o de brocas a los alcoholes metanol:etanol, ya que por sí solos son buenos atrayentes de la broca.
- 9) Las horas de mayor vuelo de las brocas son de 2 a 4 p.m.
- 10) La altura más apropiada para colocar las trampas es 1,50 metros.
- 11) La lluvia juega un papel muy importante tanto en la salida de las brocas del fruto, como la retención de la plaga al interior de las cerezas.
- 12) El mejor radio de las trampas es de 10 metros, es donde se presenta la mejor captura y no existe interferencia entre ellas.
- 13) En Costa Rica se recomienda ubicar las trampas en el campo desde el mes de enero-febrero hasta junio o julio dependiendo de la zona.
- 14) Existen algunas sustancias que presentan repelencia a la broca.
- 15) Los 8 volátiles de las hojas verdes, como de manera individualizada los alcoholes y los aldehídos presentan una repelencia a la broca.
- 16) Las sustancias 3-metilciclohex-2-en-1-ol y la verbenona antigregarias de algunos escolítidos no fueron eficientes en la repelencia de *H. hampei*.

## REFERENCIAS

BORBÓN, M. O. 1989. Biécologie d'un ravageur des baies du caféier, *Hypothenemus hampei* Ferr (Coleoptera; Scolytidae) et de ses parasitoides au Togo. 1989. 185 p. Thèse (Doctorat 3<sup>e</sup> cycle) - Université Paul Sabatier de Toulouse, Toulouse (Franc), 1989.

BORBÓN, M. O. (Ed.). **La broca del fruto del cafeto. *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867)**. Programa cooperativo ICAFE - MAG, San José, Costa Rica. 50 p.

BORBÓN, M. O. et. al. Proyecto de trampas, atrayentes y repelentes para el control de la broca del fruto del cafeto. *Hypothenemus hampei*. Ferr (Coleoptera: Scolytidae), In: **SIMPOSIO LATINOAMERICANO DE CAFICULTURA**, 19., 2000, Costa Rica, p. 331-348.

- BORBÓN, M. O. Situación actual de la broca del fruto del cafeto en Costa Rica. (*Hypothenemus hampei*, Ferrari, 1867). In: **SEMINARIO LATINOAMERICANO SOBRE LA BROCA**. PROMECAFÉ-ICAFÉ, 2001, San José, Costa Rica, p. 45-51.
- BORBÓN, M. O. Situación de la broca del café en Costa Rica. (*Hypothenemus hampei*, Ferrari, 1867). In: **SEMINARIO LATINOAMERICANO SOBRE LA BROCA**. PROMECAFÉ-ICAFÉ, 2., 2002, San José, Costa Rica, p. 30-40.
- BORBÓN, M. O. et. al. **Manejo Integrado de la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei***. Proyecto MAG-FAO TCP/RLA/01(T). Ferr. San José, Costa Rica, 2002. 69 p. (Manual para instructores).
- BORDEN, M. J. et al. Responses to green leaf volatiles in two biogeoclimatic zones by striped ambrosia beetle, *Trypodendrom lineatum*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, p. 2479-2491, 1997.
- BRUN, L. O. et al. Endosulfan resistance in coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, v. 82, p. 1311-1316, 1989.
- BUSTILLO, P. A. **Manejo Integrado de la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei***. Proyecto MAG-FAO TCP/RLA/01(T). Ferr. San José, Costa Rica, 2002. 30 p.
- DICKENS, J. C. et al. Green leaf volatiles interrupt aggregation pheromone response in bark beetles infesting southern pines. **Experientia**, v. 48, p. 523-524, 1992.
- DUFOUR, B. Desarrollo de una metodología de trapeo masiva de broca. In: **SEMINARIO LATINOAMERICANO SOBRE LA BROCA**, 2., 2002, San José, Costa Rica: PROMECAFÉ-ICAFÉ, p. 10-415.
- GIORDANENGO P. H. et al. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 4, p. 763-769, 1993.
- GUTIERREZ, M. A.; ONDARZA, R. A. Kairomone effect of extracts from *Coffea canephora* over *Hypothenemus hampei*. **Environmental Entomology**, v. 25, p. 96-100, 1996.
- KIMBERLY, F. W.; KENNETH, F. R. Density-mediated of bark beetles to host allelochemicals: a link between individual behaviour and population dynamics. **Ecological Entomology**, v. 27, p. 484-492.
- MATHIEU, F. et al. Identification of the volatile components released by fresh coffee berries at different stages of ripeness. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 1106-1110, 1998.

MATHIEU, F. et al. Effect of physiological status on olfactory and visual responses of female *Hypothenemus hampei* during host plant colonization. **Physiological Entomology**, v. 26, p. 189-193, 2001.

MENDOZA, M. J. Reposta da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, à estímulos visuais e semioquímicos. 1991. 44 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (Brasil), 1991.

TICHELER, J. Etude analytique de l'épidémiologie du scolyte des graines de café, *Stepanoderes hampei* Ferr. En Côte d'Ivoire. **Landbouwhogeschool**, Wageningen, v. 61, p. 1-49, 1961.



## **CAPÍTULO 4**

# **MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ AMOSTRAGEM**



# AMOSTRAGEM E MONITORAMENTO PARA O MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ NO BRASIL

**Rodolfo Bianco**

Área de Proteção de Plantas, Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR, Rodov. Celso Garcia Cid, km 375, C. postal 481, 86001-970 Londrina, PR, Brasil, rbianco@iapar.br

## INTRODUÇÃO

A broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) é considerada uma das pragas mais importantes da cafeicultura. Este pequeno coleóptero, da família Scolytidae, foi descoberto e descrito por Ferrari em 1867, em um carregamento de café proveniente da África Equatorial. Foi observado pela primeira vez no Brasil em 1913, no Estado de São Paulo (LE PELLEY, 1968). A fêmea adulta da broca perfura o fruto a partir de 120 dias após a floração, geralmente na coroa (SPONAGEL, 1994). Faz uma galeria, tornando-a uma pequena câmara na qual deposita 12 a 18 ovos, em média. A fêmea pode continuar ovipositando em outros frutos durante 30 dias, depositando em torno de 50 a 70 ovos. Após 5 a 10 dias nascem as larvas, que se alimentam dos grãos, expandindo as galerias. O desenvolvimento completo (ovo - adulto) tem a duração de 27,5 dias, a temperatura de 24,5°C. No total pode haver de quatro a sete gerações ao ano (LE PELLEY, 1968; SPONAGEL, 1994).

A broca pode provocar a queda dos frutos novos, podendo causar redução na colheita de até 80%. O ataque das larvas e adultos da broca pode causar também redução no peso do grão, apodrecimento da semente devido à entrada de patógenos secundários (fungos e bactérias) e redução da qualidade do café pela presença de grãos perfurados e apodrecidos (LE PELLEY, 1968).

No sistema de cultivo tradicional, a densidade populacional da broca está altamente vinculada à flutuação do preço no mercado; preços baixos não estimulam a colheita intensiva dos frutos, determinando um abandono de frutos na planta e no chão, o que permite um rápido crescimento populacional da broca.

No sistema de cultivo adensado (8.000 - 10.000 plantas/ha), o microclima é de alta umidade, conferindo à broca condições ótimas para o seu desenvolvimento. Le Pelley (1968) afirma que plantações adensadas e sombreadas favorecem a população da praga; além disso, com o adensamento da cultura, a colheita geralmente não é bem feita e a distribuição dos inseticidas na planta (aplicados com equipamentos convencionais) não é eficiente, impedindo uma boa ação dos mesmos contra a praga. Com a expansão do sistema de cultivo adensado, a broca-do-café poderá se tornar um grande empecilho para a obtenção de boas produtividades.

A manutenção da qualidade e competitividade no meio agrícola passa necessariamente pela implantação de lavouras dentro de novos padrões tecnológicos. O não atendimento dos princípios básicos do Manejo Integrado de Pragas (MIP), particularmente a não utilização de técnicas adequadas de monitoramento, tem levado os produtores a tomar decisões de controlar as pragas de modo empírico, provocando com isso desequilíbrio ambiental, além de onerar desnecessariamente a produção.

Em tempos de economia globalizada, a competitividade assume papel muito importante, exigindo maior produtividade e/ou diminuição de custos, e respeito ao meio ambiente.

Ao mesmo tempo em que ocorrem elevações nos preços dos insumos agrícolas, constata-se maior exigência da sociedade por proteção ambiental e alimentos mais saudáveis. Esse quadro leva necessariamente os agricultores a buscarem mais informações a respeito das técnicas preconizadas no MIP, como o nível de dano econômico, momento e métodos adequados para efetuar o controle das pragas.

Segundo Bianco (1995), o manejo criterioso de pragas exige conhecimentos a respeito da bioecologia da praga em estudo, de seu nível de dano, dos métodos para seu controle e métodos de amostragem, adequados para a tomada de decisão de adotar ou não medidas para o manejo da praga. Os métodos de amostragem convencionais, que se baseiam num número fixo de amostras e precisão pré-estabelecida, geralmente exigem muito tempo para a tomada de decisão. Por isso, às vezes são preteridos e as decisões de controlar ou não a praga são tomadas de forma empírica. Tal atitude resulta, via de regra, no uso indevido de produtos químicos, promovendo o desequilíbrio no agroecossistema, riscos aos aplicadores e aumento do custo de produção. Para resolver os problemas citados anteriormente, propõe-se a amostragem seqüencial, cuja característica é não ter um número fixo de amostras. Este modelo de amostragem tem como vantagem a necessidade de poucas amostras para tomar decisão sobre a necessidade de controle ou não, quando a densidade populacional for extremamente alta ou baixa. Neste caso, por evitar a amostragem excessiva, há uma grande economia de tempo, sem reduzir a precisão (ALVAREZ et al., 1990).

No México, considerando meramente aspectos estatísticos, Sanchez Ramirez (1979) propõem métodos de amostragem para a broca-do-café que garantem boa precisão da média, mas que seriam de difícil aceitação na prática pelo tempo excessivo requerido na amostragem, ou seja, 1,5 homens/dia para vistoriar um ha de café.

No Brasil a metodologia mais comumente utilizada para avaliar a percentagem de frutos brocados baseia-se na coleta de 5000 frutos por talhão

(100 frutos/planta), que são avaliados em laboratório (GALLO et al., 1988; SOUZA; REIS, 1997). Portanto, trata-se de um método destrutivo, devido à coleta dos frutos, e geralmente bastante laborioso na execução. Bianco (2000) propõe um plano de amostragem do tipo binomial (presença-ausência), que tem se mostrado bastante confiável e prático para o monitoramento da broca-do-café em *Coffea arabica*.

Por fim, faz-se menção da importância de que técnicos e produtores entendam que o monitoramento de pragas e seus inimigos naturais deverão constituir-se na base de sustentação do MIP. Sem o que não será possível tomar decisões seguras, tanto do ponto de vista econômico quanto do ponto de vista agroecológico.

### **DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO PLANO DE AMOSTRAGEM PARA A BROCA DO CAFÉ**

Para desenvolver o plano de amostragem foram atendidos os seguintes requisitos:

- a) Identificação do padrão de distribuição especial dos frutos brocados, considerando diferentes alturas na planta (parte alta, mediana e baixo) e a distribuição no ramo (base, meio e ápice);
- b) Definição do tamanho da unidade amostral;
- c) Definição do número de plantas a serem amostradas e o número de amostras por planta.

No estudo foram conduzidos ensaios nos municípios de Londrina, Abatiá e Ribeirão do Pinhal, PR entre 1997 e 1998. Em cada ensaio (1 ha) foram marcadas 32 plantas, que foram consideradas pontos amostrais. Cada planta foi dividida em três partes (superior, média, inferior), sendo em cada parte avaliados 5, 10 e 20 frutos por ramo, afim de se observar o tamanho e número ideal de amostra, além da distribuição do ataque da praga nas diferentes partes da planta. Avaliações foram realizadas em diferentes épocas para se obter variações no nível de infestação da praga. Aplicação do teste  $\chi^2$  e modelo de regressão de TAYLOR indicaram ser do tipo agregado a distribuição da praga. Maior infestação da broca foi constatada na parte média e inferior da planta. O tamanho de unidade de amostra de 5 frutos agrupados/ramo subestimou o nível de infestação da broca, além de proporcionar pouca quantidade de amostras infestadas, enquanto que a unidade de 20 frutos/ramo conferiu muita alta proporção de amostras infestadas, e por isso não seriam recomendáveis para o desenvolvimento do plano de amostragem. O tamanho de 10 frutos/ramo foi então utilizado como unidade padrão de amostra. Utilizando o modelo

binomial (presença-ausência) e considerando  $p_0 = 0,2$  e  $p_1 = 0,3$  (proporção de amostras infestadas), foram então calculadas as linhas de decisões, com base no teste de razão de probabilidades de WALD, obtendo-se as equações:  $Li = 3,818 - 0,215 n$  e  $Ls = 3,818 + 0,215 n$ . Com base nestas equações foi construída uma Tabela de Amostragem (Tabela 1), que foi modificada para facilitar sua utilização conforme Tabela 2. Esta tabela é que foi validada a campo em 1999, comparando-se com uma amostragem padrão, onde eram avaliados 1600 frutos, calculando-se a % de frutos brocados. Para este teste 25 novas lavouras cafeeiras foram selecionadas e avaliadas em duas ocasiões, totalizando 50 amostragens. O resultado dessa comparação mostrou 94% de acertos na tomada de decisões, com uma economia de tempo de 78%, quando se utilizou a amostragem seqüência binomial (Tabela 3).

**Tabela 1.** Tabela da amostragem sequencial binomial (presença - ausência) para tomada de decisão de controlar ou não *H. hampei*.

Plantas	Amostras <sup>1</sup> ( n )	Total de amostras infestadas <sup>2</sup>	
		Limite inferior $Li = 0,215 n - 3,818$	Limite superior $Ls = 0,215 n + 3,818$
1	5	-	5
2	10	-	6
3	15	-	7
4	20	-	8
5	25	2	9
6	30	3	10
7	35	4	11
8	40	5	12
9	45	6	14
10	50	7	15
11	55	8	16
12	60	9	17
13	65	10	18
14	70	11	19
15	75	12	20
16	80	13	21
17	85	14	22
18	90	15	23
19	95	17	24
20	100	18	25

<sup>1</sup>Uma amostra equivale a 10 frutos agrupados/ramo.

<sup>2</sup>Amostra infestada: aquela com pelo menos 1 fruto brocado.

Tabela 2. Tabela de amostragem sequencial binomial (presença - ausência), para a tomada de decisão de controlar ou não *H. hampei*.

TABELA DE AMOSTRAGEM		DECISÕES		
1. Nº de plantas avaliadas	2. Nº de amostras infestadas	Se ficar abaixo	Se ficar no intervalo	Se ficar acima
1	1			
2	2			
3	3			
4	4			
5	5			
6	6			
7	7			
8	8			
9	9			
10	10			
11	11			
12	12			
13	13			
14	14			
15	15			
16	16			
17	17			
18	18			
19	19			
20	20			
21	21			
22	22			
23	23			
24	24			

INSTRUÇÕES DE USO	
1. Dividir a lavoura cafeeira em talhões homogêneos e avaliar separadamente cada um.	
2. Distribuir as amostras na área, das seguintes formas:	
a) Café tradicional	b) Café adensado
3. Considerar amostra infestada se, entre os 10 frutos (unidade de amostra) observados no ramo, for encontrado pelo menos 1 (um) fruto brocado	
4. Avaliar pelo menos 5 pontos amostrais (planta/cova) antes de iniciar o processo de tomada de decisão; Dependendo do n.º de amostras infestadas, decidir por:	
a) - Interromper a amostragem, não controlando se o n.º de amostras infestadas ficar abaixo do intervalo "continuar amostrando".	
b) - Interromper a amostragem controlando a praga se ficar acima do intervalo.	
c) - Continuar amostrando se ficar no intervalo.	
5. Da 6ª planta avaliada em diante, decidir conforme a), b) ou c), novamente	
6. Não havendo uma decisão definitiva até a 20ª planta avaliada, repetir a amostragem numa outra ocasião (1 a 2 semanas depois).	

**O IAPAR, através do Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café (CBP & D / Café), buscando soluções práticas para o cafeicultor.**

Pesquisa parcialmente financiada pelo FUNCAFE

**Tabela 3.** Teste comparativo da amostragem padrão e binomial na tomada de decisão de controlar ou não a broca-do-café, em 50 amostragens realizadas. Londrina 1998.

Nível de infestação (% brocados)	Amostragem Padrão <sup>1</sup>			Amostragem binomial			
	custo (minutos)	Nº de decisões		Nº de amostras (média)	custo (minutos)	Nº de decisões	
		NC	C			NC	C
até 2,9	46,65	17	0	31	10,88	17	0
de 3,0 - 3,9	54,40	5	0	44	13,80	2	3
de 4,0 - 4,9	51,14	0	7	32	10,00	0	7
5,0 ou mais	51,23	0	21	26	11,80	0	21
Média geral	51,44			30	11,44		
Valor relativo (%)	100,00			18,7 <sup>2</sup>	22,00 <sup>3</sup>		
Decisões contrárias							3
Acertos (%)							94 <sup>4</sup>

NC: não controlar; C: controlar

<sup>1</sup>Nº fixo de 160 amostras (32 plantas, 5 ramos/planta e 10 frutos/ramo)

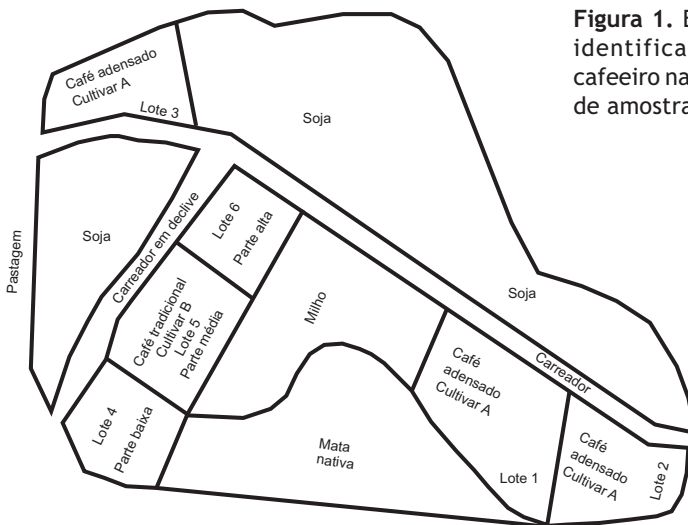
<sup>2</sup>(Nº médio de amostras/nº fixo de amostras) x 100 = (30/160) x 100

<sup>3</sup>(11,44/51,44) x 100 equivale a 78% de economia

<sup>4</sup>((50 - 3)/50) x 100

**Operacionalização do plano de amostragem para a broca do café.** Para aplicar adequadamente o plano de amostragem é preciso atender necessariamente os seguintes procedimentos:

- 1) Elaborar mapa da propriedade, situando as áreas cultivadas com cafeeiros (Fig. 1).



**Figura 1.** Exemplo hipotético de identificação de talhões com cafeeiro na propriedade, para fins de amostragem.

- 2) Dividir as áreas em talhões homogêneos (2000 a 3000 covas), considerando: a) cultivares diferentes; b) idade das plantas; c) localização dos talhões (terreno de topo, de baixadas, próximas a mata, ao terreiro ou a cafezais velhos/abandonados); d) modalidade de plantio (convencional, adensado e/ou sombreado). Convém avaliar separadamente as fileiras de cafeeiros situados sob a sombra de árvores (quebra - ventos).
- 3) Identificar (numerar) os talhões procurando ajustar um traçado que passe por todos eles, e que racionalize o tempo. Uma planilha, onde conste o número do talhão, tamanho (área), cultivar, idade da planta, data da avaliação e decisão alcançada, é necessária, além de se constituir em fonte de informação de grande valia, à medida que se acumulem as avaliações de vários anos.
- 4) Iniciar as amostragens quando a florada mais abundante completar de 90 - 120 dias (no Paraná, geralmente coincide com a 2<sup>a</sup> quinzena de dezembro).
- 5) Seguir as instruções de uso contidas na Tabela de Amostragem (Tabela 2), atendendo a recomendação de avaliar cinco ramos por planta, conforme indicado na Fig. 2.



Figura 2. Localização dos pontos amostrais no cafeeiro.

#### Viabilidade técnica e econômica do uso da Tabela de Amostragem do IAPAR.

A distribuição da infestação da broca numa propriedade cafeeira geralmente não é uniforme, havendo, portanto, talhões com diferentes graus de infestação e por isso nem todos necessitariam de controle ao mesmo tempo. Somente nos talhões com infestação acima de 4% de frutos brocados é que seria indicada a

pulverização. A Tabela de Amostragem utilizada para o monitoramento da broca, se baseia justamente nestes valores, para indicar quais os talhões que alcançaram ou não o nível de ação ou de controle.

Para estudar a viabilidade técnica econômica do uso da Tabela de Amostragem proposta pelo IAPAR (Tabela 2) foram selecionadas 12 propriedades agrícolas, distribuídas em oito municípios do Estado do Paraná, que não foram afetadas pela geada de 2000 e que apresentavam produção satisfatória para a safra 2000/2001. A coleta de dados e o monitoramento da broca foram realizados por técnicos da EMATER-PR, previamente orientados quanto ao uso da Tabela de Amostragem. Também, foi preparado e aplicado um questionário onde os produtores eram solicitados a responder sobre a área cultivada, área pulverizada na safra 1999/2000, número de pulverizações, inseticida utilizado, dose / ha e se realizavam ou não algum tipo de avaliação da infestação da broca. O resultado desse questionário indicou que 50% dos produtores praticavam, mesmo que empiricamente, algum tipo de avaliação da infestação da broca, e que geralmente a simples presença da praga e/ou de alguns frutos brocados era motivo para decidir pelo controle da praga.

**Tabela 4.** Avaliação do manejo da broca-do-café em propriedades cafeeiras de diversos municípios do Estado do Paraná, durante duas safras agrícolas. IAPAR, Londrina, 2002.

Município	Identificação da propriedade	Manejo na safra 1999/2000			Manejo na safra 2000/2001	
		Área cultivada	Área (ha) pulverizada	Custo <sup>1</sup> (R\$)	Área (ha) pulverizada	Custo <sup>2</sup> (R\$)
Abatia	Sítio São Luiz	6,5	6,5	351,00	3,0	116,00
Abatiá	Sítio Bom Jesus (*)	9,7	7,0	189,00	0,0	45,00
Cornélio Procópio	Sítio Akyoshi (*)	6,0	6,0	324,00	1,5	96,00
Cruzeiro do Oeste	Fazenda São João (*)	7,2	0,0	0,00	0,0	25,00
Cruzeiro do Oeste	Chácara São Silvestre	2,4	0,0	0,00	0,0	10,00
Ibaiti	Sítio Café	12,0	12,0	972,00	0,0	15,00
Ibaiti	Sítio Massera (*)	7,0	7,0	283,50	0,0	12,00
Primeiro de maio	Sítio Chicarelli	10,7	10,7	432,00	0,5	80,25
Ribeirão Claro	Sítio São Joaquim (*)	14,6	10,8	874,80	0,0	40,00
Ribeirão Claro	Sítio Pau D'alto	13,0	13,0	702,00	3,0	131,00
Ribeirão do Pinhal	Sítio N, S, Aparecida (*)	2,6	2,6	280,80	0,3	36,20
Santo A. da Platina	Sítio Corsini	8,5	6,0	324,00	0,0	25,00
Total geral		100,2	82,3	4733,10	8,3	631,45
Valor relativo (%)			100,0	100,0	10,1	13,3

(\*) Propriedades onde era realizado algum tipo de monitoramento da broca, ainda que empírico.

<sup>1</sup>Valor do inseticida + mão-de-obra para a aplicação.

<sup>2</sup>Inclui o custo do monitoramento.

Isso explica a alta porcentagem da área com aplicação verificada na safra 1999/2000. Das doze propriedades avaliadas, 10 delas (83%) utilizaram inseticida contra a broca (Tabela 4).

Com a realização do monitoramento, utilizando a Tabela de Amostragem, ocorreu uma redução acentuada na área pulverizada, baixando de 82,3 ha (safra 1999/2000) para 8,3 ha (safra 2000/2001). Essa redução na área pulverizada, na ordem de 90%, foi semelhante à citada por Souza e Reis (1997), que se referem a um caso de monitoramento numa grande propriedade cafeeira no sul de Minas, onde a necessidade de controle foi atribuída a somente 11,4% dos talhões monitorados. Salienta-se que, mesmo incluindo o custo do monitoramento no cálculo do custo do controle da praga, obteve-se uma vantagem econômica, que atingiu a marca de 87%. Com respeito aos aspectos técnicos/práticos, produtores e técnicos consideraram que o método de monitoramento foi de fácil entendimento, seguro e altamente prático.

## REFERÊNCIAS

ALVAREZ, J. R.; MARTINEZ, O. W. Plan de muestro secuencial para larvas de gusano del maíz (Lepidoptera: Noctuidae), en maíz. **Agronomía Colombiana**, Bogotá (Colombia), v. 7, n. 1-2, p. 26-32, 1990.

BIANCO, R. **Construção e validação de planos de amostragem para o manejo da lagarta do cartucho - *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho**. 1995. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba (Brasil), 1995.

\_\_\_\_\_. Desenvolvimento e validação de um plano de amostragem seqüencial binomial (presença - ausência) para a broca do café (*Hypothenemus hampei*). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2000, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos expandidos...** Brasília (Brasil): EMBRAPA - Café/ MINASPLAN, 2000. p. 279-282.

GALLO, D. et al. **Manual de entomologia agrícola**, 2. ed. São Paulo (Brasil): Agronômica Ceres, 1988. 649 p.

LE PELLEY, R. H. **Pests of Coffee**. London and Harlow, 1968. 590 p.

SANCHEZ RAMIREZ, V. **Sistema de muestreo para detectar broca del grano de café**. Instituto Mexicano de Café. Vera Cruz (México). 1979. 33 p.

SOUZA, J. C. de.; REIS, P. R. **Broca-do-café: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos, monitoramento e controle**. 2. ed. Belo Horizonte (Brasil): EPAMIG, 1997. 40 p. EPAMIG. (Boletim Técnico, 50).

**SPONAGEL, K. W. La broca del café *Hypothenemus hampei* en plantaciones de café robusta en la Amazonía Ecuatoriana. Giessen (Alemania), 1994. 229 p.**

## **CAPÍTULO 5**

# **MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ DEFENSIVOS QUÍMICOS E BOTÂNICOS**



## CONTROLE QUÍMICO NO MANEJO INTEGRADO DA BROCA-DO-CAFÉ

**Paulo Rebelles Reis**

*Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG-CTSM/EcoCentro, C. postal 176, 37200-000 Lavras, MG, Brasil, paulo.rebelles@epamig.ufla.br*

### RESUMO

É apresentado um levantamento dos trabalhos de controle químico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (FERRARI, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) no Brasil, assim como daqueles envolvendo estudos de resíduos nos frutos. A revisão foi feita nos trabalhos publicados nos anais do Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras e Congresso Brasileiro de Entomologia dos últimos 30 anos. Coincidentemente, ambos os eventos tiveram início em 1973. Também foram levantados os trabalhos de controle químico e resíduo de produtos fitossanitários em frutos de café que fizeram parte de teses nesse período. Dos 269 tratamentos levantados nos últimos 30 anos para o controle da broca, cerca de 21% foram feitos com endosulfan, 9% com fipronil, 7% com lindane, 4% com chlorfenvinphos, 4% com lufenuron + profenofos e 2% com chlorpyrifos-ethyl. Os dados mostram portanto que o produto mais estudado foi o endosulfan, cuja eficiência variou, na maioria das vezes, entre 70% e 100%. Os resultados obtidos até agora com extratos vegetais mostram que, apesar de eficientes em testes de laboratório, em campo não apresentam eficiência no controle da broca. Desde que aplicado corretamente e sendo respeitado o período de carência (70 dias), não foram constatados resíduos de endosulfan acima do limite de tolerância (0,04 ppm) nos grãos de café. Embora já tendo sido constatada resistência da broca ao endosulfan, no Brasil as populações testadas apresentaram baixa frequência de resistência ao produto. Apesar de muitos tratamentos terem sido experimentados nos últimos 30 anos apenas dois produtos, endosulfan e chlorpyrifos-ethyl, encontram-se registrados para uso no controle da broca-do-café em cafeeiro no Brasil. O endosulfan foi sem dúvida o produto mais testado e eficiente. O número de pulverizações contra a praga não deve ser superior a três, devendo ser respeitada a carência em virtude da possibilidade de ocorrerem resíduos nos grãos. Sempre deve ser considerado o nível de controle de 3% a 5% de frutos broqueados (infestação a partir da qual ocorre significativa redução no peso de café beneficiado), o qual deve ser obtido através do monitoramento da praga. Caso o nível de controle seja atingido, o uso de produtos químicos somente deve ser feito nos talhões onde ocorram essas infestações, deixando isentos de aplicações os demais, a fim de preservar os inimigos naturais bem como espécimens da broca suscetíveis aos produtos.

## INTRODUÇÃO

Foi realizado um levantamento dos trabalhos de controle químico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (FERRARI, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) no Brasil, assim como daqueles envolvendo estudos de resíduos nos frutos. A revisão foi feita nos trabalhos publicados nos anais do Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras e Congresso Brasileiro de Entomologia nos últimos 30 anos. Coincidentemente, ambos os eventos tiveram início em 1973. Também foram levantados os trabalhos de controle químico e resíduo de produtos fitossanitários em frutos de café que fizeram parte de teses nesse período. Os tratamentos já testados no controle da broca-do-café e registrados nos eventos mencionados e teses estão apresentados na Tabela 1, classificados em ordem alfabética pelo nome técnico do produto utilizado no tratamento. Em seguida ao nome técnico aparece o nome comercial, a dosagem (na maioria das vezes em litro ou quilograma por hectare), a eficiência de controle em porcentagem e a referência bibliográfica. Considerou-se todos os tratamentos e não somente o princípio ativo do produto, pois o mesmo ingrediente ativo foi avaliado mais de uma vez em diferentes dosagens e condições.

## EFICIÊNCIA DOS PRODUTOS TESTADOS NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ

São apresentados os tratamentos mais eficientes no controle da broca-do-café, tantos os inseticidas sintéticos como os de origem vegetal.

**Inseticidas sintéticos.** Dos produtos testados, em duas ou três aplicações, mostraram-se mais eficientes, com mais de 80% de eficiência em condições de campo, no controle da broca, o endosulfan, lindane, fipronil, methiocarb e thiacloprid. Lufenuron em mistura com profenofos em estudos de laboratório mostrou-se eficiente (Tabela 1) necessitando a confirmação em condições de campo. Alguns produtos tiveram seu desempenho melhorado quando aplicados com óleo emulsionável, como o chlorfenvinphos, endosulfan e lindane (NAKANO et al., 1973; PIPAEMG, 1973a; FERREIRA et al., 1976).

Com eficiência entre 70% e 79% no controle da broca se destacaram os produtos azinphos-ethyl, lindane, endosulfan, methiocarb, quinalphos, fipronil, omethoate, chlorpyrifos-ethyl, methomyl e imidacloprid. Endosulfan, fipronil, lindane e methiocarb estão incluídos nos dois grupos de eficiências, acima de 80% e entre 70% e 79% (Tabela 1).

Inseticidas éster piretróide (deltamethrin, cypermethrin, permethrin, etc.) e éter piretróide (etofenprox) se apresentaram ineficientes no controle

**Tabela 1.** Principais inseticidas já testados no Brasil, visando o controle da broca-do-café, a partir de 1973.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
-	SAN 339 - 320 CE	-	2,0	42	Ferreira et al., 1984
-	SAN 197 - 50 E	-	2,0	-	Almeida et al., 1977
Abamectin	Vertimec 18 CE	Avermectina	0,6 + óleo	39	Passos et al., 1993
Aldicarb	Temik 10 G	Carbamato	4 g/planta	-	Yokoyama, 1978
Aldicarb	Temik 10 G	Carbamato	12 g/planta	-	Yokoyama, 1978
Aldicarb	Temik 10% G	Carbamato	15,4	2	Brunelli Jr. et al., 1978
Aldicarb	Temik G 10%	Carbamato	31,0	3	Brunelli Jr. et al., 1978
Aldicarb	Temik 10%	Carbamato	15 g/planta	4	Ferreira et al., 1980
Arprocarb	-	Carbamato	0,5	16	Freire et al., 1973
Azinphos-ethyl	Gusathion A Em 40	Organofosforado	1,0	45	Alvarenga e Paulini, 1975
Azinphos-ethyl	Gusathion A Em 40	Organofosforado	1,0	65	Ferreira et al., 1977
Azinphos-ethyl	Gusathion 40 E	Organofosforado	1,5	79	Paulini e Ferreira, 1985
Azinphos-ethyl	Gusathion 40 CE	Organofosforado	1,5	65	Paulini e Ferreira, 1986
Bendiocarb	Bendiocarb 50 SC	Carbamato	2,0	6	Ferreira et al., 1984
Bendiocarb	Bendiocarb 50 SC	Carbamato	2,0	52	Paulini e Ferreira, 1985
Beta-Cyfluthrin	Bulldock 125 SC	Éster piretróide	0,08	0	Paulini, 1989
Beta-Cyfluthrin	Bulldock 125 SC	Éster piretróide	0,12	11	Paulini, 1992
Beta-Cyfluthrin	Bulldock 125 SC	Éster piretróide	0,16	37	Paulini, 1992
BHC	BHC PS 1,5	Organoclorado	40,0	-	Dias Netto et al., 1973
BHC	BHC P 1%	Organoclorado	40,0	31	PIPAEMG, 1973a
BHC	BHC 12 PM	Organoclorado	3,3	46	PIPAEMG, 1973a
BHC	BHC P 1%	Organoclorado	40,0	52	Reis et al., 1974
BHC	BHC 12 PM	Organoclorado	3,3	52	Reis et al., 1974
BHC	BHC 12 PM	Organoclorado	3,5	-	Alvarenga e Paulini, 1975

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Bromophos-ethyl	Embit 50	Organofosforado	1,5	0	Ferreira et al., 1984
Cabofuran	Furadan 5 G	Carbamato	8 g/planta	-	Yokoyama, 1978
Carbosulfan	Marshall 20 CE	Carbamato	2,0	45	Ferreira et al., 1984
Carbosulfan	Marshal 250 CE	Carbamato	2,0	40	Paulini e Ferreira, 1985
Cartap	Cartap 50	Tiocarbamato	1,5	49	Ferreira et al., 1977
Cartap	Cartap BR 500	Tiocarbamato	1,0	-	Ruiz et al., 1989
Chlorfenvinphos	Birlane 24 CE	Organofosforado	2,5	27	PIPAEMG, 1973b
Chlorfenvinphos	Birlane 24 CE	Organofosforado	2,5	-	Lima et al., 1974
Chlorfenvinphos	Birlane 24 CE	Organofosforado	2,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Chlorfenvinphos	Birlane 24 CE	Organofosforado	2,0	64	Alvarenga e Paulini, 1975
Chlorfenvinphos	Birlane 24 CE	Organofosforado	2,0	29	Ferreira et al., 1977
Chlorfenvinphos	Birlane 24 CE	Organofosforado	2,0	64	Paulini e Ferreira, 1986
Chlorfenvinphos	Birlane 240 CE	Organofosforado	1,5	-	Carvalho et al., 1989
Chlorfenvinphos	Birlane 240 CE	Organofosforado	2,0	-	Carvalho et al., 1989
Chlorfenvinphos	Birlane 240 CE	Organofosforado	2,5	-	Carvalho et al., 1989
Chlorfenvinphos	(1,5% óleo)	Organofosforado	30,0	93	Nakano et al., 1973
Chlorpenvinphos	Birlane 24 CE	Organofosforado	0,5	39	Freire et al., 1973
Chlorpyrifos-ethyl	Lorsban 4 E	Organofosforado	2,0	64	Alvarenga e Paulini, 1975
Chlorpyrifos-ethyl	Lorsban 4 E	Organofosforado	1,5	35	Ferreira et al., 1977
Chlorpyrifos-ethyl	Lorsban 480 CE	Organofosforado	1,5	0	Pazini et al., 1991
Chlorpyrifos-ethyl	Lorsban 480 BR	Organofosforado	2,0	72	Ferreira et al., 1984
Chlorpyrifos-ethyl	Lorsban 480 BR	Organofosforado	0,42	-	Carvalho et al., 1989
Chlorpyrifos-ethyl	Lorsban 4 E	Organofosforado	1,5	71	Ferreira et al., 1977
Chlorthiofos-ethyl	Celathion 50 E	Organofosforado	1,5	40	Ferreira et al., 1984

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Cyfluthrin	Baytroid 050 EC	Éster piretróide	0,3	17	Paulini, 1989
Cyfluthrin	Baytroid 050 EC	Éster piretróide	0,4	15	Paulini, 1989
Cypermethrin	Arrivo 40 CE	Éster piretróide	0,6	-	Yokoyama, 1978
Cypermethrin	Arrivo 40 CE	Éster piretróide	1,2	-	Yokoyama, 1978
Cypermethrin	WL - 43467	Éster piretróide	1,2	66	Ferreira et al., 1977
Cypermethrin	Ripcord 40%	Éster piretróide	0,025	5	Ferreira et al., 1980
Deltamethrin	Decis 2,5 % CE	Éster piretróide	1,0	-	Almeida et al., 1977
Deltamethrin	Decis 2,5 CE	Éster piretróide	1,0	61	Ferreira et al., 1977
Deltamethrin	Decis 2,5%	Éster piretróide	0,2	0	Ferreira et al., 1980
Dicrotophos	Bidrin 50 CE	Organofosforado	1,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Dicrotophos	Bidrin 50 S	Organofosforado	1,0	8	Alvarenga e Paulini, 1975
Dicrotophos	Bidrin 50 S	Organofosforado	1,0	16	Ferreira et al., 1977
Dieldrin	-	Ciclodieno	0,4	43	Freire et al., 1973
Dimethoate	Perfekthion 50 CE	Organofosforado	1,5	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Dimethoate	Rogor 5 G	Organofosforado	0,005 g/ano	-	Yokoyama, 1978
Dimethoate	Rogor CE 50%	Organofosforado	5,0	0	Brunelli Jr. et al., 1978
Disulfoton	Disyston G 2,5%	Organofosforado	77,1	0	Brunelli Jr. et al., 1978
Disulfoton	Disyston G 2,5%	Organofosforado	38,5	9	Brunelli Jr. et al., 1978
Disulfoton	Disyston 2,5%	Organofosforado	50 g/planta	21	Ferreira et al., 1980
Endosulfan	Thiodan 35 CE	Ciclodieno	2,0	-	Yokoyama, 1978
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	90	Ferreira et al., 1984
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	80	Gitirana Neto et al., 2000
Endosulfan	Thiodan 350 CS	Ciclodieno	2,0	60	Gitirana Neto et al., 2000
Endosulfan	Thiodan 350 MC	Ciclodieno	2,0	82	Souza e Reis, 2000
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	70	Souza e Reis, 2000

Continua.

**Tabela 1.** Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	90	Barros et al., 2001
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	82	Lucas et al., 2001
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	-	Costa et al., 2003a
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	-	Costa et al., 2003b
Endosulfan	Thiodan 350 CS	Ciclodieno	1,5	-	Jocys et al., 2003
Endosulfan	Thiodan 350 CS	Ciclodieno	2,0	-	Jocys et al., 2003
Endosulfan	Thiodan 350 CS	Ciclodieno	3,0	-	Jocys et al., 2003
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	-	Jocys et al., 2003
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	-	Dias Netto et al., 1973
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	66	PIPAEMG, 1973b
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	-	Lima et al., 1974
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	-	Alves e Nishida, 1974
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	-	Mariconi et al., 1974
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	65	Alvarenga e Paulini, 1975
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	75	Ferreira et al., 1976
Endosulfan	Thiodan + 1,0% óleo	Ciclodieno	2,0	77	Ferreira et al., 1976
Endosulfan	Thiodan + 1,5% óleo	Ciclodieno	2,0	88	Ferreira et al., 1976
Endosulfan	Thiodan + 2,0% óleo	Ciclodieno	2,0	92	Ferreira et al., 1976
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	75	Ferreira et al., 1977
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	95	Ferreira et al., 1977
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	75	Ferreira et al., 1980
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	95	Paulini e Ferreira, 1985
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	90	Paulini e Ferreira, 1986

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	87	Paulini, 1989
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	-	Carvalho et al., 1989
Endosulfan	Laser 35 CE	Ciclodieno	1,0	-	Ruiz et al., 1989
Endosulfan	Laser 35 CE	Ciclodieno	1,5	-	Ruiz et al., 1989
Endosulfan	Laser 35 CE	Ciclodieno	2,0	-	Ruiz et al., 1989
Endosulfan	Thiodan 35 CE	Ciclodieno	2,0	-	Ruiz et al., 1989
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	85	Paulini, 1990
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	88	Paulini, 1990
Endosulfan	Thiodan 35 MC	Ciclodieno	1,5	75	Paulini, 1990
Endosulfan	Thiodan 35 MC	Ciclodieno	1,75	80	Paulini, 1990
Endosulfan	Thiodan 35 MC	Ciclodieno	1,8	90	Paulini, 1990
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	98	Matiello, 1991
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	76	Paulini, 1992
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	85	Paulini, 1992
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	90	Matiello, 1993
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	82	Matiello et al., 1994
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	98	D'Antônio, e Aguiar, 1994
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	81	Matiello e Coelho, 1995
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	53	Stevanato et al., 2002
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	0,4%	94	Nakano et al., 2004
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	0,1%	92	Sazaki et al., 2004
Endosulfan	Thiodan 35 CE	Ciclodieno	0,7	61	Freire et al., 1973
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	78	Pazini et al., 1991
Endosulfan	Thiodan 350 MC	Ciclodieno	1,5	48	Pazini et al., 1991
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	1,5	72	Passos et al., 1993
Endosulfan	Thiodan 350 CE	Ciclodieno	2,0	97	Costa et al., 2002
Ethion	Ethion 50 CE	Organofosforado	1,0	-	Alves e Nishida, 1974
Ethion	Ethion 50 CE	Organofosforado	1,5	-	Alves e Nishida, 1974

Continua.

**Tabela 1.** Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Ethion	Ethion 50 E	Organofosforado	1,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Ethion	Ethion 50 E	Organofosforado	1,0	0	Alvarenga e Paulini, 1975
Ethion + Lindane	Ethanox	-	2,0	79	Ferreira et al., 1977
Ethiprole	100 CE	Fenil pirazol	1,5	54	Souza e Reis, 2000
Ethiprole	100 CE	Fenil pirazol	2,0	21	Souza e Reis, 2000
Etofenprox	Trebon 300 CE	Éter piretróide	0,8	44	Barros et al., 2001
Etofenprox	Trebon 300 CE	Éter piretróide	1,6	60	Barros et al., 2001
Etofenprox	Trebon 300 CE	Éter piretróide	0,8	0	Stevanato et al., 2002
Fenitrothion	Sumithion 50 CE	Organofosforado	2,0	22	PIPAEMG, 1973b
Fenitrothion	Sumithion 50 CE	Organofosforado	2,0	-	Lima et al., 1974
Fenitrothion	Sumithion 50 CE	Organofosforado	2,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Fenthion	Lebaycid 50 CE	Organofosforado	1,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Fenthion	Lebaycid 50 CE	Organofosforado	1,0	15	Alvarenga e Paulini, 1975
Fenthion	Lebaycid 50 CE	Organofosforado	0,9	15	Freire et al., 1973
Fenvalerate	Belmark 30 CE	Éster piretróide	0,8	-	Yokoyama, 1978
Fenvalerate	Belmark 30 CE	Éster piretróide	1,6	-	Yokoyama, 1978
Fenvalerate	Sumicidin 20 E	Éster piretróide	1,25	-	Almeida et al., 1977
Fenvalerate	Sumicidin 20 E	Éster piretróide	1,0	57	Ferreira et al., 1977
Fenvalerate	WL - 43775	Éster piretróide	1,0	36	Ferreira et al., 1977
Fenvalerate	Sumicidin 20%	Éster piretróide	0,2	7	Ferreira et al., 1980
Fipronil	Regent 300 CE	Fenil pirazol	0,25	100	Gitirana Neto et al., 2000
Fipronil	Regent 300 CE	Fenil pirazol	0,2	60	Gitirana Neto et al., 2000
Fipronil	Regent 300 CE	Fenil pirazol	0,15	60	Gitirana Neto et al., 2000

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Fipronil	Regent 300 CE	Fenil pirazol	0,2	70	Souza e Reis, 2000
Fipronil	Regent 300 CE	Fenil pirazol	0,25	85	Souza e Reis, 2000
Fipronil	Regent 300 CE	Fenil pirazol	0,3	86	Souza e Reis, 2000
Fipronil	Klap 200 SC	Fenil pirazol	0,25	86	Costa et al., 2003a
Fipronil	Klap 200 SC	Fenil pirazol	0,5	95	Costa et al., 2003a
Fipronil	Regent	Fenil pirazol	0,25	56	Matiello, 1993
Fipronil	Regent	Fenil pirazol	0,5	73	Matiello, 1993
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,05	81	Matiello et al., 1994
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,08	86	Matiello et al., 1994
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,1	84	Matiello et al., 1994
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,125	85	Matiello et al., 1994
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,05	81	D'Antônio, e Aguiar, 1994
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,08	92	D'Antônio, e Aguiar, 1994
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,1	94	D'Antônio, e Aguiar, 1994
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,125	98	D'Antônio, e Aguiar, 1994
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,1	81	Matiello e Coelho, 1995
Fipronil	Regent 800 GrDA	Fenil pirazol	0,1	28	Stevanato et al., 2002
Fipronil	Regent 200 SC	Fenil pirazol	0,1 + óleo	0	Costa et al., 2002
Fipronil	Regent 200 SC	Fenil pirazol	0,2 + óleo	24	Costa et al., 2002
Fipronil	Regent 200 SC	Fenil pirazol	0,3	0	Costa et al., 2002
Fluvalinate	Mavrik 24 E	Éster piretróide	0,3	2	Paulini e Ferreira, 1985
Heptenephos	Hostaquick CE 50%	Organofosforado	4,6	0	Brunelli Jr. et al., 1978
Imidacloprid	NTN - 33893 - 200CE	Neonicotinóide	1,0	66	Matiello, 1991
Imidacloprid	NTN - 33893 - 200CE	Neonicotinóide	2,0	71	Matiello, 1991

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Imidacloprid	Provado 200 SC	Neonicotinóide	0,7	43	Stevanato et al., 2002
Isoprocarb	Etrofolan 75 PM	Carbamato	1,0	-	Dias Netto et al., 1973
Isoxathion	Karphos 50 E	Organofosforado	1,5	-	Almeida et al., 1977
Isoxathion	Karphos 50 CE	Organofosforado	1,5	17	Ferreira et al., 1977
Isoxathion	Karphos 50 CE	Organofosforado	1,0	43	Ferreira et al., 1977
Leptophos	Phosvel 3 EC	Organofosforado	2,0	45	Alvarenga e Paulini, 1975
Lindane	Isolin 20 E	Organoclorado	2,0	-	Dias Netto et al., 1973
Lindane	Isolin 20 CE	Organoclorado	2,0	68	PIPAEMG, 1973b
Lindane	Isolin 20 CE	Organoclorado	2,0	53	PIPAEMG, 1973a
Lindane	Isolin 1,5% óleo	Organoclorado	30,0	56	PIPAEMG, 1973a
Lindane	Isolin 20 CE	Organoclorado	2,0	89	Reis et al., 1974
Lindane	Isolin 1,5% óleo	Organoclorado	30,0	88	Reis et al., 1974
Lindane	Isolin 20 CE	Organoclorado	2,0	-	Lima et al., 1974
Lindane	Isolin 20 E	Organoclorado	2,0	-	Mariconi et al., 1974
Lindane	Inseticida Agroceres	Organoclorado	2,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Lindane	Fertilindane 20% CE	Organoclorado	2,0	71	Ferreira et al., 1976
Lindane	Fertilindane + 1% óleo	Organoclorado	2,0	74	Ferreira et al., 1976
Lindane	Fertilind. + 1,5%óleo	Organoclorado	2,0	89	Ferreira et al., 1976
Lindane	Fertilindane + 2% óleo	Organoclorado	2,0	86	Ferreira et al., 1976
Lindane	Lindane 80% PM	Organoclorado	0,6	-	Almeida et al., 1977
Lindane	Isolin 20% E	Organoclorado	2,5	-	Almeida et al., 1977
Lindane	Café Sana 6%	Organoclorado	3,0	83	Ferreira et al., 1977
Lindane	Rodane 75 F	Organoclorado	0,5	79	Paulini e Ferreira, 1985
Lindane	Rodane 20 E	Organoclorado	2,0	81	Paulini e Ferreira, 1985

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Lindane	(1,5% óleo)	Organoclorado	30,0	96	Nakano et al., 1973
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,1%	14	Nakano et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,1% + óleo	29	Nakano et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,1% + enxofre	6	Nakano et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,15%	43	Nakano et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,15% + óleo	37	Nakano et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,15% + enxofre	23	Nakano et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,2%	64	Nakano et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,2% + óleo	64	Nakano et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,2% + enxofre	54	Nakano et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,2%	15	Sazaki et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,25%	69	Sazaki et al., 2004
Lufenuron + Profenofos	Curyom 550 CE	Benzoiluréia + Organofosforado	0,3%	92	Sazaki et al., 2004
Lufenuron	Match CE	Benzoiluréia	0,2%	23	Sazaki et al., 2004
Malathion + Fenitrothion	Ambithion	Organofosforado	1,0	64	Ferreira et al., 1977
Mecarban	Murfotox 80 CE	Organofosforado	1,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Mephosfolan	Citrolane 10 G	Organofosforado	10 g/planta	-	Yokoyama, 1978
Mephosfolan	Citrolane 10 G	Organofosforado	12 g/planta	-	Yokoyama, 1978
Methamidophos	Tamaron 60	Organofosforado	1,5	42	Paulini e Ferreira, 1986
Methiocarb	Mesurool 500 SC	Carbamato	1,0	77	Lucas et al., 2001
Methiocarb	Mesurool 500 PM	Carbamato	1,0	57	Paulini, 1989
Methiocarb	Mesurool PM 25%	Carbamato	2,0	84	Matiello, 1991
Methiocarb	Mesurool 500 PM	Carbamato	1,0	27	Paulini, 1992
Methomyl	Lannate 90 PM	Carbamato	1,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Methomyl	Lannate 90	Carbamato	0,6	72	Ferreira et al., 1977

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Monocrotophos	Azodrin 60 CE	Organofosforado	1,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Monocrotophos	Nuvacron SC 40%	Organofosforado	6,0	3	Brunelli Jr. et al., 1978
Novaluron	Rimon 100 EC	Benzoiluréia	0,3	-	Jocys et al., 2003
Novaluron	Rimon 100 EC	Benzoiluréia	0,4	-	Jocys et al., 2003
Novaluron	Rimon 100 EC	Benzoiluréia	0,5	-	Jocys et al., 2003
Omethoate	Folimat 1000	Organofosforado	1,0	46	Ferreira et al., 1977
Omethoate	Folimat 1000	Organofosforado	1,0	73	Ferreira et al., 1977
Oxamyl	Vydate 10 G	Carbamato	4 g/planta	-	Yokoyama, 1978
Parathion-methyl	Folidol	Organofosforado	0,7	17	Freire et al., 1973
Permethrin	Pounce 384 CE	Éster piretróide	0,13	-	Yokoyama, 1978
Permethrin	Pounce 384 CE	Éster piretróide	0,26	-	Yokoyama, 1978
Permethrin	Pounce 384 CE	Éster piretróide	0,65	-	Almeida et al., 1977
Permethrin	ICI 10%	Éster piretróide	0,6	67	Ferreira et al., 1977
Permethrin	Ambush 50%	Éster piretróide	0,1	0	Ferreira et al., 1980
Phenthoate	Elsan 50 CE	Organofosforado	2,0	25	PIPAEMG, 1973b
Phenthoate	Elsan 50 CE	Organofosforado	2,0	-	Lima et al., 1974
Phenthoate	Cidial 50 CE	Organofosforado	2,0	-	Mariconi et al., 1974
Phorate	Granutox 10 G	Organofosforado	10 g/planta	-	Yokoyama, 1978
Phorate	Granutox 10 G	Organofosforado	12 g/planta	-	Yokoyama, 1978
Phosalone	Zolone 35 CE	Organofosforado	1,0	-	Alves e Nishida, 1974
Phosalone	Zolone 35 CE	Organofosforado	1,5	-	Alves e Nishida, 1974
Phosalone	Zolone 35 CE	Organofosforado	1,0	57	Ferreira et al., 1977
Phoxim	Baythion 50 CE	Organofosforado	2,0	63	Ferreira et al., 1984
Propoxur	Unden 50 PM	Carbamato	1,5	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Prothiofos	Tokuthion 500 CE	Organofosforado	1,5	29	Passos et al., 1993

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome		Grupo químico	Dosagem litro ou kg /ha	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Técnico	Comercial				
Quinalphos	Ekalux 480	Organofosforado	2,0	77	Paulini e Ferreira, 1985
Quinalphos	Ekalux 480	Organofosforado	2,0	75	Paulini e Ferreira, 1986
Silaneophane	HOE 498 (40%)	-	0,25	14	Paulini, 1990
Silaneophane	HOE 498 (40%)	-	0,325	10	Paulini, 1990
Tetrachlorvinphos	Gardona	Organofosforado	0,7	12	Freire et al., 1973
Thiacloprid	Calypso 480 SC	Neonicotinóide	0,15	82	Lucas et al., 2001
Thiacloprid	Calypso 480 SC	Neonicotinóide	0,2	84	Lucas et al., 2001
Thiacloprid	Calypso 480 SC	Neonicotinóide	0,4	47	Stevanato et al., 2002
Thiacloprid	Calypso 480 SC	Neonicotinóide	0,3	19	Stevanato et al., 2002
Thiacloprid	Calypso 480 SC	Neonicotinóide	0,2	0	Stevanato et al., 2002
Thiocyclan	Evisect	Nereistoxin	2,0	68	Paulini e Ferreira, 1986
Thiodicarb	Larvin 375 SC	Organofosforado	2,0	61	Paulini e Ferreira, 1985
Triazophos	Hostathion 40 CE	Organofosforado	1,5	-	Dias Netto et al., 1973
Triazophos	Hostathion 40 CE	Organofosforado	1,5	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Triazophos	Hostathion 40 CE	Organofosforado	1,5	17	Alvarenga e Paulini, 1975
Triazophos	Hostathion	Organofosforado	1,5	26	Ferreira et al., 1977
Trichlorphon	Dipterex 80 PS	Organofosforado	2,0	-	Mariconi et al., 1974
Trichlorphon	Dipterex 80 PM	Organofosforado	1,5	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Trichlorphon	Dipterex 80 PM	Organofosforado	2,0	39	Alvarenga e Paulini, 1975
Trichlorphon	Dipterex 80 PS	Organofosforado	2,0	66	Ferreira et al., 1977
Vamidotion	Kilval 40 E	Organofosforado	1,0	-	Alvarenga e Paulini, 1975
Vamidotion	Kilval CE 40%	Organofosforado	6,0	9	Brunelli Jr. et al., 1978
Volaton (Phoxim)	Valexon CE 50	Organofosforado	2,0	-	Dias Netto et al., 1973

(-) Não informado pelo autor ou não foi possível calcular a eficiência com os dados apresentados no trabalho ou foram apresentadas apenas conclusões não numéricas.

da broca-do-café (ALMEIDA et al., 1977; YOKOYAMA, 1978; FERREIRA et al., 1980; PAULINI, 1992; BARROS et al., 2001; STEVANATO et al., 2002), assim como inseticidas sistêmicos granulados ou líquidos aplicados via solo (YOKOYAMA, 1978; BRUNELLI JR. et al., 1978; FERREIRA et al., 1980; PAULINI, 1989).

Dos 269 tratamentos levantados nos últimos 30 anos para o controle da broca, cerca de 21% foram feitos com endosulfan, 9% com fipronil, 7% com lindane, 4% com chlorfenvinphos, 4% com lufenuron + profenofos e 2% com chlorpyrifos-ethyl. Os dados levantados mostram, portanto que o produto mais estudado foi o endosulfan, cuja eficiência variou, na maioria das vezes, entre 70% e 100% (Tabela 1).

**Inseticidas naturais ou botânicos.** Os extratos vegetais já testados no controle da broca-do-café são apresentados na Tabela 2.

Os resultados obtidos até agora com extratos vegetais mostram que, em laboratório, a nicotina pura e extrato de fumo de rolo foram eficientes no

**Tabela 2.** Extratos de plantas testados no controle da broca-do-café no Brasil.

Nome		Tipo de extrato/ concentração	Eficiência (%)	Referência bibliográfica
Comum	Específico			
Artemisia	<i>Artemisia vulgaris</i>	EHF <sup>1</sup>	0	Galvan et al., 2000
Chagas	<i>Tropaeolium majus</i>	EHF	100	Galvan et al., 2000
Fumo	<i>Nicotiana tabacum</i>	EAF 2%	36	Ferreira et al., 1984
Fumo de rolo	<i>Nicotiana tabacum</i>	Extrato água 1%	100	Aviles et al., 1983
Gergelim	<i>Sesamum indicum</i>	EHF	0	Galvan et al., 2000
Girassol	<i>Helianthus annuus</i>	EHF	0	Galvan et al., 2000
Mentrasto	<i>Ageratum conyzoides</i>	EHF	36	Dionizio et al., 2000
Nicotina 98-100%	<i>Nicotiana tabacum</i>	Água 0,5%	100	Aviles et al., 1983
Nicotina 98-100%	<i>Nicotiana tabacum</i>	Água 1%	100	Aviles et al., 1983
Nim	<i>Azadirachta indica</i>	EAS 4% p/v	70	Depieri et al., 2003
Nim	<i>Azadirachta indica</i>	EAS 2% p/v	38	Depieri et al., 2003
Nim	<i>Azadirachta indica</i>	EAS 1% p/v	31	Depieri et al., 2003
Nim	<i>Azadirachta indica</i>	EAF 15% p/v	57	Depieri et al., 2003
Nim	<i>Azadirachta indica</i>	EAF 1,5% p/v	39	Depieri et al., 2003
Nim	<i>Azadirachta indica</i>	EAF 0,15% p/v	17	Depieri et al., 2003
Nim	<i>Azadirachta indica</i>	Óleo 1,5%	59	Depieri et al., 2003
Nim	<i>Azadirachta indica</i>	Óleo 1%	42	Depieri et al., 2003
Nim	<i>Azadirachta indica</i>	Óleo 0,5%	30	Depieri et al., 2003
Sulfato de nicotina	<i>Nicotiana tabacum</i>	Água 0,5%	25	Aviles et al., 1983
Sulfato de nicotina	<i>Nicotiana tabacum</i>	Água 1%	25	Aviles et al., 1983

<sup>1</sup>EHF - extrato hexânico de folhas; EAS - extrato aquoso de sementes; EAF - extrato aquoso de folhas.

controle de adultos da broca (AVILES et al., 1983), entretanto Ferreira et al. (1984) não constataram eficiência em condições de campo ao testar extrato aquoso de folhas de fumo.

Em testes com extratos hexânicos de diversas plantas Galvan et al. (2000) constataram que somente o extrato de folhas de chagas (*Tropaeolium majus* L.), também conhecida como sete-chagas ou capuchinha, apresentou controle, com 100% de mortalidade de adultos da broca em laboratório (Tabela 2). Já, extrato hexânico de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) apresentou, também em laboratório, baixa atividade sobre adultos da broca (DIONÍZIO et al., 2000) (Tabela 2).

Depieri et al. (2003) constataram que extrato aquoso de sementes ou folhas e emulsão de óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.), em diversas concentrações e em laboratório, reduziram o ataque da broca aos frutos pulverizados, principalmente o extrato aquoso a 4% p/v (Tabela 2).

Em condições de campo Souza e Reis (2004 não publicado) não constataram efeito do óleo de nim, em aplicações com pulverizador costal manual ou tratorizado, no controle da broca quando comparado com endosulfan.

## RESÍDUOS DE INSETICIDAS NAS CASCAS E GRÃOS DE CAFÉ

Já foram realizados e divulgados estudos de resíduos com BHC, chlorfenviphos, endosulfan, endrin e lindane e para nenhum produto foi constatado, nos grãos de café, resíduo acima do limite de tolerância (RIBAS et al., 1974a, b; ANGELI et al., 1974; RIBAS, 1976). Como desses produtos somente o endosulfan encontra-se registrado para uso em cafeeiros no Brasil (AGROFIT, 2004), serão discutidos apenas os resultados de resíduos obtidos com esse inseticida.

Com quatro aplicações de endosulfan foram encontrados resíduos (0,012 ppm), acima do limite de tolerância (na época 0,01 ppm); com três foi encontrado 0,007 ppm e com duas < 0,005 ppm, abaixo, portanto do limite de tolerância da época (RIBAS et al., 1974b), o qual atualmente é de 0,04 ppm (AGROFIT, 2004).

Ribas et al. (1976b) concluíram em seus estudos que a torração dos grãos de café reduz os níveis de resíduos de endosulfan a valores abaixo da tolerância da época, que era de 0,01 ppm para café em grão cru.

Um fator importante na quantidade de resíduos nos grãos de café é a época de aplicação do produto, pois quanto mais próximo da colheita o produto for aplicado, maior será o resíduo (RIBAS et al., 1976a) daí a importância de ser obedecido o período de carência. No caso do endosulfan a carência é de 70 dias, e do chlorpyrifos-ethyl é de 21 dias (tolerância de 0,02 ppm) (AGROFIT, 2004).

## RESISTÊNCIA DA BROCA-DO-CAFÉ A PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS

Casos de resistência da broca a endosulfan, e outros ciclodienos, já foram constatados em Nova Caledônia (Oceania) após dez anos de uso (BRUN; SUCKLING, 1997). Esses autores constataram ainda que, apesar da resistência, a frequência da mesma foi reduzida depois do uso descontinuo do endosulfan.

No Brasil, no estado de São Paulo, o trabalho realizado por Takematsu et al. (2003) mostra que todas as populações de broca-do-café que foram testadas apresentaram baixa frequência de resistência ao endosulfan.

## IMPORTÂNCIA DO CONTROLE QUÍMICO NO MANEJO INTEGRADO DA BROCA-DO-CAFÉ

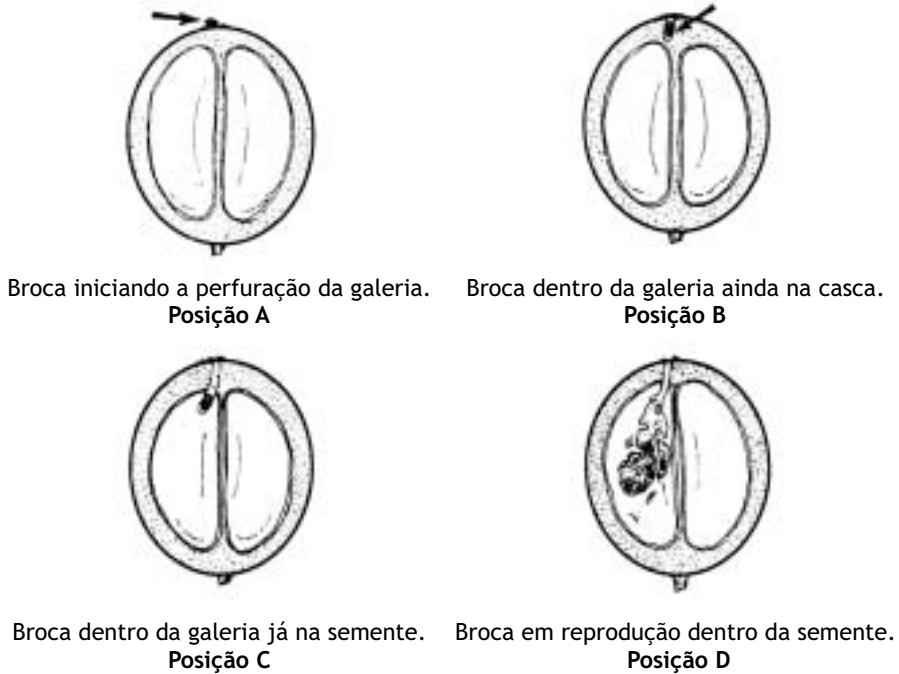
Apesar de apenas dois ingredientes ativos (endosulfan e chlorpyrifos-ethyl) terem registro para uso em cafeeiro no controle da broca-do-café no Brasil (AGROFIT, 2004), a tática do controle químico muitas vezes é a única disponível para manter a praga abaixo do nível de controle que é de 3% a 5% de frutos broqueados, se possível naqueles com a broca nas posições A e B, ou seja, sem que ainda tenham alcançado a semente (Fig. 1).

O manejo integrado da broca tem como base o uso de todas as táticas possíveis de controle, e o controle químico somente deve ser utilizado se após o monitoramento da praga for constatado 3% a 5% de frutos da primeira florada broqueados.

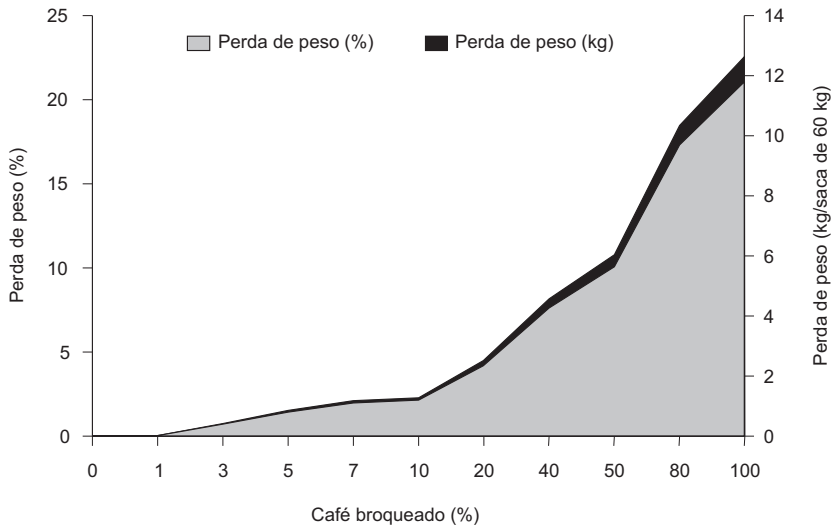
O controle químico não deve ser feito em todo o cafezal, mas somente nos talhões onde for constatado o nível de controle. Estas medidas evitam os prejuízos causados pela broca, reduzem o custo de produção e o desenvolvimento de resistência das mesmas aos inseticidas.

A constatação de que o nível de controle deve ser entre 3% e 5% fica clara ao ser analisada a Fig. 2, elaborada com os dados contidos na Tabela 3, confeccionada por Reis e Souza (1984), onde pode ser observada uma redução significativa no peso a partir de 3% de frutos broqueados.

Pimenta e Cunha (2000) também constataram que quanto maior a porcentagem de grãos broqueados maiores são os prejuízos, porém concluíram que até 20% de infestação não ocorre alteração significativa, tanto no rendimento quanto na qualidade do café. Embora isso possa ser eventualmente constatado, pois em geral o ataque ocorre em só uma das duas sementes, e a broca pode estar nas posições A e B, não se pode deixar um cafezal chegar a 20% de frutos atacados porque é um ataque muito intenso, principalmente se a broca estiver nas posições C e D, pois nessas condições a broca se torna incontrolável, mesmo com o uso de inseticidas.



**Figura 1.** Esquema mostrando a posição e desenvolvimento da boca em frutos de café.  
Fonte: Recomendaciones... (1994)



**Figura 2.** Perda de peso de café beneficiado em função da porcentagem de infestação pela broca-do-café, *Hypothenemus hampei*.  
Fonte: Reis (2002)

**Tabela 3.** Perda de peso, porcentagem de redução de produção em café beneficiado e alterações na classificação pelo tipo segundo o grau de infestação pela broca.

Infestação (%)	Peso médio de 1.200 sementes (g)		Porcentagem de redução da produção em peso		Perda de peso em café beneficiado (g/60 kg)		Tipo
	Observado	Esperado	Observada	Esperada	Observada	Esperada	
0	401,8	402,0	-	-	-	-	2
1	401,7	401,2	0,025	0,199	14,9	119,4	2
3	399,1	399,2	0,697	0,697	418,1	417,9	2
5	396,1	397,4	1,419	1,144	851,2	686,6	3
7	393,9	396,5	1,966	1,368	1.179,7	820,9	3
10	393,3	393,8	2,116	2,040	1.269,3	1.223,9	3
20	385,0	385,3	4,181	4,154	2.508,7	2.492,5	4
40	371,2	370,5	7,616	7,836	4.569,4	4.701,5	6
50	361,4	358,1	10,055	10,920	6.032,8	6.552,2	6
80	332,5	332,4	17,314	17,314	10.348,4	10.388,0	7
100	317,2	317,2	21,055	21,055	12.633,2	12.656,7	7

Fonte: Adaptado de Reis e Souza (1984)

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de terem sido testados no mínimo 269 tratamentos com inseticidas, citados nos trabalhos apresentados nos últimos 30 anos no CBPC, CBE e teses, apenas dois produtos, endosulfan e chlorpyrifos-ethyl, encontram-se registrados para uso no controle da broca-do-café em cafeeiro no Brasil.

O endosulfan foi sem dúvida o produto mais testado e eficiente. O número de pulverizações contra a praga não deve ser superior a três, devendo ser respeitada a carência em virtude da possibilidade de ocorrerem resíduos nos grãos.

Sempre deve ser considerado o nível de controle de 3% a 5% de frutos broqueados, que é obtido através do monitoramento da praga. Caso o nível de controle seja atingido, o uso de produtos químicos somente deve ser feito nos talhões onde ocorram essas infestações, deixando isentos de aplicações os demais, a fim de preservar os inimigos naturais bem como espécimens da broca suscetíveis aos produtos.

## REFERÊNCIAS

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Ministério da Agricultura. Disponível em <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 24 set. 2004.

- ALMEIDA, P. R. de; PIGATTI, A.; ARRUDA, H. V. de. Alguns novos produtos aplicados em ensaio de campo no controle à broca - *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867) - do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 5., 1977, Guarapari (Brasil). **Resumos...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC/GERCA, 1977. p. 67-69.
- ALVARENGA, G.; PAULINI, A. E. Comparação de inseticidas no controle à "broca do café", *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera - Scolytidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 3., 1975, Curitiba (Brasil). **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC, 1975. p. 253-255.
- ALVES, L.; NISHIDA, T. Controle da broca (*Hypothenemus hampei*) e do bicho mineiro (*Perileucoptera coffeella*) por inseticidas não sistêmicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 2., 1974, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1974. p. 47.
- ANGELI, C. M.; RIBAS, C.; PIGATI, P. Determinação de resíduos de inseticidas clorados usados no combate à "broca do café", em condições de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISAS CAFEIIRAS, 2., 1974, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1974. p. 364.
- AVILES, D. P. et al. Ação da nicotina sobre a broca do café (*H. hampei*) e bicho mineiro (*Perileucoptera coffeella*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 10., 1983, Poços de Caldas (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1983. p. 357-358.
- BARROS, U. V. et al. Estudo da ação do inseticida etofenprox (Trebon 300 CE) no controle da broca do cafeeiro *H. hampei*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 27., 2001, Uberaba (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): PROCAFÉ, 2001. p. 38-39.
- BRUN, L. O.; SUCKLING, D. M. Resistencia a la broca del fruto de cafeto al endosulfan. In: SIMPOSIO LATINOAMERICANO DE CAFICULTURA, 18., 1997, San José (Costa Rica). **Memorias...** San José: ICAFE: IICA, 1997. p. 65-79.
- BRUNELLI JR., H. C. et al. Tentativa de combate à broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) com sistêmicos incorporados ao solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 6., 1978, Ribeirão Preto (Brasil). **Resumos...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1978. p. 256-258.
- CARVALHO, G. A. de; RUIZ A., L. H.; SALGADO, L. O. Estudo da performance do chlorfenvinphos no controle da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera-Scolytidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 15., 1989, Maringá (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1989. p. 56.

COSTA, J. N. M.; SANTOS, J. C. F.; PEQUENO, P. L. de L. Avaliação de uma aplicação de fipronil em diferentes dosagens no controle da broca-do-café (*Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867) em Ouro Preto do Oeste, RO. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 19., 2002, Manaus (Brasil). **Resumos...** Manaus: SEB, 2002. p. 102.

COSTA, J. N. M. et al. Épocas de aplicação de endossulfan e controle de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) em Ouro Preto do Oeste - RO. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ E SAÚDE, 3., 2003, Porto Seguro (Brasil). **Anais...** Brasília (Brasil): EMBRAPA - Café, 2003b. p. 340.

\_\_\_\_\_. Performance de inseticidas químicos e biológicos no controle de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) em Rondônia. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ E SAÚDE, 3., 2003, Porto Seguro (Brasil). **Anais...** Brasília (Brasil): EMBRAPA - Café, 2003a. p. 347-348.

D'ANTÔNIO, A. M.; AGUIAR, J. C. Estudo de eficiência do inseticida fipronil, em quatro dosagens, para o controle da broca dos frutos do cafeeiro - *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 20., 1994, Guarapari (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): MARA - PROCAFÉ, 1994. p. 88-90.

DEPIERI, A. et al.. Efeito repelente do óleo, extato de sementes e de folhas de nim, *Azadirachta indica* A. Juss., sobre a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ E SAÚDE, 3., 2003, Porto Seguro (Brasil). **Anais...** Brasília (Brasil): EMBRAPA - Café, 2003. p. 337-338.

DIAS NETTO, N.; MARICONI, F. de A. M.; MEER, F. T. M. van der. Ensaio de combate à broca do café - *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867) - em condições de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PRAGAS E DOENÇAS DO CAFEIRO, 1., 1973, Vitória (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1973. p. 9-10.

DIONIZIO, M. et al. Atividade inseticida do mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) à broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL 1., 2000, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos Expandidos...** Brasília (Brasil): EMBRAPA - Café, 2000. p. 1256-1259.

FERREIRA, A. J.; D'ANTONIO, A. M.; PAULINI, A. E. Competição de inseticidas fosforados e clorofosforados no controle a broca do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 11., 1984, Londrina (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1984. p. 239-240.

\_\_\_\_\_. Competição de inseticidas no controle à broca do café - *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 5., 1977, Guarapari (Brasil). **Resumos...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC/GERCA, 1977. p. 174-176.

\_\_\_\_\_. Competição de inseticidas piretróides e granulados no controle à broca-do-café - *Hypothenemus hampei* (Ferr. 1867). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 8., 1980, Campos do Jordão (Brasil). **Resumos...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC/GERCA, 1980. p. 294-295.

\_\_\_\_\_. Estudo de concentração de óleo emulsionável em caldas inseticidas, aplicadas a médio volume no controle da broca do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 4., 1976, Caxambu (Brasil). **Resumos...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC/GERCA, 1976. p. 119-122.

FREIRE, J. A. H. et al. Seleção de inseticidas para o controle da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL, 1., 1973, Viçosa (Brasil). **Resumo dos Trabalhos...** Viçosa (Brasil): SEB, 1973. p. 16.

GALVAN, T. L. et al. Efeito de quatro inseticidas à broca-do-café *Hypothenemus hampei*. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos Expandidos...** Brasília (Brasil): EMBRAPA - Café, 2000. p. 1243-1246.

GITIRANA NETO, J. et al. Estudo do comportamento do produto Regent 300 CE (Fipronil), Thiodan CS (Endosulfan) e RPA 115782, no controle da praga *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae), na cultura do cafeeiro (*Coffea arabica*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 26., 2000, Marília (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** ENCONTRO DE CAFEICULTORES DE MARÍLIA. Rio de Janeiro (Brasil): MA/PROCAFÉ, 2000. p. 328-330.

JOCYS, T. et al. Eficiência de inseticidas no controle da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) em laboratório. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ E SAÚDE, 3., 2003, Porto Seguro (Brasil). **Anais...** Brasília (Brasil): EMBRAPA - Café, 2003. p. 339-340.

LIMA, J. O. G. de et al. Emprego de diferentes inseticidas no controle da "broca" do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera - Scolytidae), nas regiões cafeeiras do Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 2., 1974, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1974. p. 13-14.

LUCAS, M. B.; R. FILHO, S. J.; LUCAS, R. V. Estudo da eficiência biológica e praticabilidade agrônômica dos inseticidas Thiacloprid (Calypso 480 SC) e Methiocarb (Mensurol 500 SC) no controle da broca-do-café *Hypothenemus hampei*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 27., 2001, Uberaba (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): PROCAFÉ, 2001. p. 120-121.

MARICONI, F. A. M. et al. Combate experimental à "broca do café" *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) com diversos inseticidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 2., 1974, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1974. p. 54-55.

MATIELO, J. B. Atividade do inseticida fipronil contra a broca do café (*H. hampei*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 19., 1993, Três Pontas (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): MARA/SNPA/PROCAFÉ, 1993. p. 18-19.

\_\_\_\_\_. Ensaio de novos produtos no controle à broca do café (*H. hampei*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 17., 1991, Varginha (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): MARA/SNPA/EMBRAPA, 1991. p. 7-8.

MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R.; FERREIRA, R. A. Eficiência do fipronil no controle da broca do café e resultados preliminares no controle do bicho-mineiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 20., 1994, Guarapari (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): MARA - PROCAFÉ, 1994. p. 56-57.

MATIELLO, J. B.; COELHO, C. Observações sobre a eficiência do inseticida fipronil no controle à broca em café Conillon. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 21., 1995, Caxambu (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): MARA - PROCAFÉ, 1995. p. 6.

NAKANO, O. et al. Controle da "broca do café" *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867) com inseticidas em formulação oleosa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL. 1., 1973, Viçosa (Brasil). **Resumo dos Trabalhos...** Viçosa (Brasil): SEB, 1973. p. 23.

NAKANO, O.; SAZAKI, C. S. S.; GRAVA, M. W. R. Manejo do bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* do cafeeiro e da broca do café, *Hypothenemus hampei*, com o inseticida Curyom. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado (Brasil). **Resumos...** Gramado: SEB, 2004. p. 327.

PASSOS, H. R. et al. Combate químico à broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) em trabalho experimental. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., 1993, Piracicaba (Brasil). **Resumos...** Piracicaba: SEB, 1993. p. 479.

PAULINI, A. E. Endossulfan microencapsulado e Silaneophane no controle à broca do café - *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) em lavouras de café conilon. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 16., 1990, Espírito Santo do Pinhal (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1990. p. 95.

\_\_\_\_. Seleção de inseticidas para o controle à broca do café - *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) em lavouras de café Conilon. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 15., 1989, Maringá (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1989. p. 39-40.

\_\_\_\_. Testagem de inseticidas para o controle à broca do café (*H. hampei*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 18., 1992, Araxá (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): MARA/SNPA/PROCAFÉ, 1992. p. 27-28.

PAULINI, A. E.; FERREIRA, A. J. Seleção de inseticidas para controle à broca do café - *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) em lavouras de café Conilon. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 12., 1985, Caxambu (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1985. p. 20-21.

\_\_\_\_. Seleção de inseticidas para controle à broca do café - *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) em lavouras de café Conilon. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 13., 1986, São Lourenço (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro: IBC, 1986. p. 30.

PAZINI, M. R. et al. Ensaio de combate à broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) com endossulfan e clorpirifós. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA 13., 1991, Recife (Brasil). **Resumos...** Recife: SEB, 1991, p. 400.

PIMENTA, C. J.; CUNHA, K. M. Qualidade do café (*Coffea arabica* L.) com diferentes porcentagens de grãos brocados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 26., 2000, Marília, SP. **Trabalhos Apresentados...** e ENCONTRO DE CAFEICULTORES DE MARÍLIA, 6., Rio de Janeiro (Brasil): MA/PROCAFÉ, 2000. p. 243-244.

PIPAEMG. Efeito da aplicação de formulações de BHC e Lindane no controle da "broca" do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae), nas regiões cafeeiras do Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PRAGAS E DOENÇAS DO CAFEIIRO, 1., 1973, Vitória (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1973a. p. 87-88.

\_\_\_\_.Emprego de diferentes inseticidas no controle da “broca” do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) nas regiões cafeeiras do Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PRAGAS E DOENÇAS DO CAFEIEIRO, 1., 1973, Vitória (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1973b. p. 82-83.

RECOMENDACIONES para el manejo integrado de la broca del café. Chinchiná - Caldas - Colombia: Cenicafé, 1994. 4 p. (BROCARTA - **Boletim Informativo sobre la Broca del Café**, n. 18).

REIS, P. R. Prejuízo certo. **Cultivar**, Pelotas (Brasil), v. 4, n. 38, p. 10-13, 2002.

REIS, P. R. et al. Efeito de aplicação de formulações de BHC e Lindane no controle da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera - Scolytidae), nas regiões cafeeiras do estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 2., 1974, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1974. p. 10-11.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C.; MELLES, C. C. A. Pragas do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte (Brasil), v. 10, n. 109, 1984.

RIBAS, C. **Estudo a persistência de resíduos de lindane e endosulfan através de cromatografia a gás, em grãos de café.** 1976. 95 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba (Brasil), 1976.

RIBAS, C.; FERREIRA, M. da S.; ALMEIDA, P. R. de. Resíduos de Birlane, Endrin e Lindane, usados no controle à “broca do café”. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISAS CAFEIRAS, 2., 1974, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1974a. p. 361.

RIBAS, C.; FERREIRA, M. da S.; ANGELI, C. M. Resíduos de endosulfan usado no combate a broca do café (*Hypothenemus hampei*). In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISAS CAFEIRAS, 2., 1974, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos dos Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1974b. p. 381.

RIBAS, C. et al. Influência da época da aplicação de Lindane sobre os resíduos nos grãos de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS 4., 1976, Caxambu (Brasil). **Resumos...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC/GERCA, 1976a. p. 34-35.

\_\_\_\_.Efeito da torração sobre resíduos de Lindane e Endosulfan em grãos de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 4., 1976, Caxambu (Brasil). **Resumos...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC/GERCA, 1976b. p. 165-167.

RUIZ A., L. H.; GUERRA NETO, E. G. Estudo do comportamento de inseticidas no controle da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera-Scolytidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 15., 1989, Maringá (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): IBC, 1989. p. 100.

SAZAKI, C. S. S. et al. Efeito do inseticida Curyom 550 CE no desenvolvimento do bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* do cafeeiro e da broca do cafeeiro *Hypothenemus hampei*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado (Brasil). **Resumos...** Gramado: SEB, 2004. p. 374.

SOUZA, J. C. de; REIS, P. R. **Controle da broca-do-café com óleo de nim em pulverização costal motorizada e tratorizada.** (2004, não publicado).

\_\_\_\_.Eficiência dos inseticidas fipronil, ethiprole e endosulfan MC em pulverização no controle da broca-do-café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 26., 2000, Marília (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** e ENCONTRO DE CAFEICULTORES DE MARÍLIA, 6., Rio de Janeiro (Brasil): MA/ PROCAFÉ, 2000. p. 167-168.

STEVANATO, S. G. et al. Controle da broca do cafeeiro com diversos inseticidas e seus efeitos na qualidade do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 28., 2002, Caxambu (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** Rio de Janeiro (Brasil): MAPA/ SARC/ PROCAFÉ, 2002. p. 74-75.

TAKEMATSU, A. P. et al. Sensibilidade ao Endossulfan da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera, Scolytidae) coletadas em algumas regiões do estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ E SAÚDE, 3., 2003, Porto Seguro (Brasil). **Anais...** Brasília (Brasil): EMBRAPA - Café, 2003. p. 354.

YOKOYAMA, M. Avaliação de danos e controle químico da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera - Scolytidae). 1978. 93 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba (Brasil), ESALQ, 1978.



## CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ COM INSETICIDAS BOTÂNICOS: AVANÇOS E PERSPECTIVAS

Sueli S. Martinez

Área de Proteção de Plantas, Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR, Rodov. Celso Garcia Cid, km 375, C. postal 481, 86001-970 Londrina, PR, Brasil, suemart@iapar.br

### RESUMO

O nim, *Azadirachta indica* A. Juss., destaca-se entre as espécies botânicas com potencial de controle de pragas na agricultura por sua eficiência, baixo impacto ambiental ( $DL_{50} > 5000$  mg/g) e possibilidade de preparo na propriedade. Possui mais de trinta compostos com ação sobre os insetos, sendo o mais importante a azadiractina. O nim pode reduzir ou interromper o consumo de alimento, retardar o desenvolvimento do inseto, repelir os adultos e reduzir o número de ovos nas áreas tratadas e a germinação dos ovos. Em testes de laboratório realizados no IAPAR, Londrina-PR, a pulverização de extratos aquosos de sementes e de folhas e o óleo emulsionável de sementes de nim em diferentes concentrações, sobre frutos verdes de *Coffea arabica*, reduziu o ataque dos insetos aos frutos pulverizados de forma dose-dependente. Quando as fêmeas das brocas foram também pulverizadas, obteve-se a maior redução de infestação dos frutos. Estudos posteriores com outras pragas do café demonstraram mortalidade e repelência em bicho-mineiro, ácaro-da-leprose e cochonilha branca. Assim, de modo geral, os resultados demonstram o potencial dos produtos à base de nim na redução dos danos causado pela broca-do-café e outras pragas, em laboratório, devendo ser, melhor avaliados no campo. Sugere-se a associação com outros métodos para maior eficiência, porém evitando o uso simultâneo com o fungo entomopatogênico *Beuveria bassiana*, que se mostrou sensível ao nim.

Os registros de populações resistentes da broca ao inseticida endossulfam (BRUN et al., 1989, 1994) e os problemas causados pelo controle químico à saúde do agricultor e ao meio ambiente têm levado à busca de alternativas para o controle da broca, como o uso de extratos de plantas inseticidas.

Dentre as espécies botânicas com potencial de controle de pragas na agricultura, o nim, *Azadirachta indica* A. Juss., tem sido testado para o controle da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*. Árvore pertencente à família Meliaceae, que apresenta diversas espécies com ação inseticida e repelente, como a santa-bárbara e a triquília, o nim possui mais de trinta compostos com ação sobre os insetos, sendo o mais importante a azadiractina (SCHMUTTERER, 1995). O nim tem sido estudado por sua natureza biodegradável e pouco

prejudicial ao meio ambiente e ao homem ( $DL_{50} > 5000$  mg/g), sendo seus produtos mundialmente aceitos em agricultura orgânica (MARTINEZ, 2002).

Os extratos de nim não causam a morte imediata dos insetos, porém podem reduzir ou interromper o consumo de alimento, retardar ou interromper o desenvolvimento do inseto, repelir os adultos, reduzir o número de ovos nas áreas tratadas e a germinação dos ovos e prejudicar a reprodução. Os produtos mais conhecidos à base de nim são o óleo emulsionável extraído das sementes e os extratos aquosos de semente ou de folhas.

Vários trabalhos de campo e laboratório foram feitos avaliando a ação desses extratos sobre repelência e a sobrevivência da broca-do-café, buscando reduzir os danos causados à produção.

Em condições de campo, no Equador, Sponagel (1994) obteve 26% de mortalidade da broca-do-café após três pulverizações de solução aquosa de óleo de nim a 2,5% (0,04% de azadiractina), porém, não observou redução dos frutos brocados. O óleo de nim (2,5%) enriquecido com azadiractina a 0,2%, entretanto, reduziu o dano, sendo que 80% dos frutos atacados pela broca foram raspados apenas superficialmente. Após três pulverizações com essa solução, observou-se mortalidade média em torno de 65% (SPONAGEL, 1994), entretanto o autor não descreve a metodologia de avaliação. De forma semelhante, Rodríguez-Lagunes et al. (1998), no México, observaram que uma solução aquosa a 0,2% de uma fórmula comercial de óleo emulsionável de nim (azadiractina 0,4%) reduziu em 58% a quantidade dos frutos infestados pela broca-do-café.

Em testes de laboratório realizados no IAPAR, Londrina, PR, buscou-se compreender melhor a ação do nim sobre a broca do café, observados no campo. Extratos aquosos de sementes e de folhas e soluções aquosas do óleo emulsionável de sementes de nim foram pulverizados em diferentes concentrações sobre frutos verdes de *Coffea arabica* cv. IAPAR 59, e sua eficiência na proteção dos grãos do ataque pela broca-do-café foi avaliada em gaiolas (DEPIERI et al., no prelo). A pulverização dos grãos com os extratos de nim reduziram o ataque dos insetos de forma dose-dependente, provavelmente devido à ação deterrente de alimentação, já que as fêmeas da broca-do-café perfuram os grãos com as peças bucais para depositar ali os seus ovos. O extrato aquoso de sementes nas concentrações 1%, 2% e 4% p/w, reduziram em 30,9%, 38,3% e 70,2%, respectivamente, a quantidade de frutos brocados em relação ao tratamento controle. O extrato aquoso de folhas também se mostrou efetivo e, nas concentrações 0,15%, 1,5% e 15% p/w, reduziu a quantidade de frutos brocados em 16,5%, 38,5% e 56,9%, respectivamente. O óleo emulsionável de sementes foi o mais eficiente e, nas concentrações 0,5%, 1% e 1,5%, reduziu em 30,2%, 42,5% e 58,5%, respectivamente, a quantidade de frutos brocados.

Em outro estudo, soluções aquosas do óleo emulsionável de sementes de nim a 1% foram pulverizadas sobre os frutos de café e também sobre os insetos, mantidos em gaiolas (DEPIERI et al., no prelo). Observou-se a ação de mortalidade do óleo emulsionável, porém pouco pronunciada. Entretanto, a pulverização conjunta de frutos e fêmeas adultas produziu a maior mortalidade (2,7 x maior que no tratamento controle), e reduziu em 78,7% a porcentagem de frutos brocados. Assim, é provável que a redução na infestação de frutos pela broca-do-café observada no campo resulte da ação de mortalidade por contato sobre os adultos, somada à ação indireta através da contaminação dos frutos.

Estudos realizados também com o nim sobre o bicho-mineiro, que em algumas regiões produtoras alcança o status de principal praga do café, comprovaram a ação múltipla dos extratos, com repelência de postura, reduzindo a infestação, mortalidade dos ovos e das larvas e deformidades. A pulverização do óleo emulsionável (dose acima de 1,25 ml/L água) ou de extratos de sementes (acima de 15 g/L água) ou de extratos de folhas (acima de 40 g/L água) sobre folhas de café reduziu cerca de 50% o número de ovos colocados pelo bicho-mineiro, minador de folhas. O óleo emulsionável, na mesma concentração, também causou mortalidade dos ovos depositados. A pulverização do óleo emulsionável a 10 ml/L água causou a mortalidade das lagartas minadoras, reduzindo as áreas minadas. Além disso, algumas lagartas apresentaram deformidades e não conseguiram produzir pupário para se abrigar, prejudicando seu completo desenvolvimento (MARTINEZ; MENEGUIM, 2003).

Outras pragas do cafeeiro, como o ácaro-da-leprose e a cochonilha branca, também se mostraram sensíveis à ação do nim em laboratório. O óleo emulsionável a 5 ml/L água pulverizado sobre ninfas e adultos do ácaro-da-leprose causou cerca de 67% de mortalidade (MENEGUIM; MARTINEZ, 1998). Quando pulverizado sobre a cochonilha branca, o óleo emulsionável de nim causou repelência, inativação dos indivíduos, com posterior mortalidade. Em consequência, reduziu e atrasou o desenvolvimento de novas gerações. A concentração de 4,5 ml/L água causou cerca de 95% de mortalidade (DEPIERI; MARTINEZ, não publicado).

Assim, os resultados de ação do nim contra a broca-do-café e de outras pragas da cultura obtidos até o momento são positivos e devem ser melhor avaliados no campo. Esse método de controle é vantajoso por vários aspectos. Em primeiro lugar, os produtos de nim mostraram-se efetivos também a outras pragas economicamente importantes na cultura do café, possibilitando o uso de um produto para diversos problemas de pragas. Além disso, os extratos de frutos e folhas também tiveram ação contra a broca e outras pragas do café. Os extratos são facilmente preparados, pois os compostos inseticidas são solúveis em água e as estruturas são de fácil trituração e, portanto, podem ser

preparados na propriedade, com baixo custo, além de ser biodegradáveis e de baixo custo.

A pulverização com o nim poderia ser associada a outros métodos de controle, buscando aumentar sua eficiência. Por exemplo, o uso de armadilhas para a broca poderia possibilitar a identificação dos períodos de ocorrência da praga e assim otimizar as épocas de pulverização, além de, provavelmente, se obter um resultado melhor pela soma dos dois métodos de controle. Entretanto, sua associação com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, que tem sido indicado para o controle microbiológico da broca (ALVES et al., 1998), deve ser bem programada. Em estudos feitos no laboratório, em que se pulverizou o óleo de nim a 0,5% e a 1% sobre as placas com meio de cultura, obteve-se redução da viabilidade dos esporos produzidos pelo fungo de cerca de 7,3% e 7,9% e redução no número de esporos de 48,9% e 66,3%, respectivamente, indicando a utilização de ambos métodos deve ser feita em momentos independentes (OLIVEIRA et al., 2003; DEPIERI et al., 2005).

## REFERÊNCIAS

- ALVES, S. B.; MOINO JR., A.; ALMEIDA, J. E. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: S. B. Alves (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba (Brasil): FEALQ, 1998. p. 217-238.
- BRUN, L. O. et al. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, v. 82, p. 1311-1316, 1989.
- BRUN, L. A.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V. Cross resistance between insecticides in coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) from New Caledonia. **Bulletin of Entomological Research**, v. 84, p. 175-178, 1994.
- DEPIERI, R. A.; MARTINEZ, S. S.; MENEZES JR., A. O. Compatibility of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. **Neotropical Entomology**, Vacaria (Brasil), v. 34, n. 4, p. 601-606, 2005.
- MARTINEZ, S. S. (Ed.). 2002. **O nim. *Azadirachta indica* - natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina (Brasil): IAPAR, 2002. 142 p.
- MARTINEZ, S. S.; MENEGUIM, A. M. Redução da oviposição e da sobrevivência de ovos de *Leucoptera coffeella* causadas pelo óleo emulsionável de nim. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**, Costa Rica, v. 67, p. 30-34, 2003.

MENEGUIM, A. M.; MARTINEZ, S. S. Avaliação da eficiência de neem (*Azadirachta indica*) para o controle de ácaros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., Rio de Janeiro (Brasil). **Resumos...** Rio de Janeiro: SEB, 1998. p. 1053.

OLIVEIRA, C. N.; NEVES, P. M. O. J.; KAWAZOE, L. S. Compatibility between the entomopathogenous fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. **Scientia Agricola**, Piracicaba (Brasil), v. 60, p. 663-667, 2003.

RODRÍGUES-LAGUNES, D. A. et al. Extractos acuosos de nim para el combate de la broca de café. **Manejo Integrado de Plagas**, v. 49, p. 73-77, 1998.

SCHMUTTERER, H. (Ed.). **The neem tree *Azadirachta indica* A. Juss. and other meliaceous plants.** VCH, Weinheim, 1995. 696 p.

SPONAGEL, K. W. Eficacia del aceite de nim, extractos de AZT y acetona de nim en el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* en comparación con medidas químicas y biológicas. **CONGRESO LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE SOBRE NIM Y OTROS INSECTICIDAS VEGETALES**, 1994, Santo Domingo (República Dominicana): GTZ, 1994. p. 257-266.



## **CAPÍTULO 6**

# **MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ CONTROLE BIOLÓGICO ATRAVÉS DE PARASITÓIDES**



# PRODUCCIÓN MASIVA AUTOMATIZADA DE LA BROCA DEL CAFÉ, *Hypothenemus hampei* (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE) SOBRE LA DIETA ARTIFICIAL CENIBROCA MODIFICADA

**Maribel Portilla R. y Douglas Streett**

*United States Department of Agriculture, REE, ARS, MSA Biological Control and Mass Rearing Research Unit, 59 Lee Rd., 38732 Stoneville, MS, USA, m.portilla@ars.usda.gov*

## RESUMEN

Un sistema automatizado para la cría masiva de la broca del café, CBB, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) se desarrollo en el Laboratorio Nacional de Control Biológico, USDA-ARS, de los Estados Unidos. Se diseñó un nuevo contenedor de 32 celdas (30 x 14.6 x 1.1 cm) y un dosificador automático los cuales se adaptaron para la dieta artificial Cenibroca modificada. La fecundidad bruta de la broca fue de 49.06 machos y hembras/hembra, la fecundidad neta de 34.76 hembras/hembra, se obtuvo una tasa intrínseca de crecimiento de 1.07 y la tasa finita de crecimiento fue de 0.067. La colonia de broca se mantuvo por 70 generaciones continuas, sin afectar su actividad, fecundidad, peso y tamaño. Con este sistema de cría fue posible producir novecientas mil brocas machos y hembras en 20 litros de dieta.

## INTRODUCCIÓN

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) es una plaga importante de carácter mundial y difícil de controlar mediante aspersiones de insecticidas químicos, debido a que gran parte de su ciclo de vida transcurre en el interior del fruto de café (BENAVIDES et al., 2002). El control biológico mediante el uso de los parasitoides de origen africano parecen ser la alternativa mas obvia, puesto que al menos en cada país una de las especies liberadas se ha establecido (BAKER, 1999).

La producción masiva de parasitoides para el control biológico de la broca del café ha sido escasa, y los diferentes programas de control llevados a cabo en diferentes países no han tenido éxito (PORTILLA; STREETT, 2006). Esto es posiblemente debido a la falta de conocimiento y a la disponibilidad de un sistema de cría de la broca que se pueda adaptar fácilmente a las condiciones existentes en los países productores de café (PORTILLA; STREETT, 2006). El único sistema de cría masiva de estos parasitoides conocido hasta este momento

(PORTILLA; BUSTILLO, 1995; BUSTILLO et al., 1996) requiere su hospedero natural (grano pergamino), lo que implica la dependencia de frutos del café durante todo el año (PORTILLA, 1999a). El desarrollo de dietas artificiales para la cría de la broca del café es un paso crucial para el desarrollo de una tecnología de tipo comercial y para mantener continuidad en los programas de cría y liberación de controladores biológicos de los países productores de café.

Se han reportado varias dietas para la cría de la broca del café (BAUTISTA; ATKINSON, 1988; BRUN, et al., 1993; PORTILLA, 1999b; VILLACORTA, 1985; VILLACORTA; BARRERA, 1996), sin embargo ninguna de ellas está comercialmente disponible. Portilla (1999b) utilizó la dieta artificial Cenibroca para el desarrollo de la cría a mediana escala de la broca del café y del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis*, pero los costos de producción fueron altos y la mano de obra intensa. Por esta razón, esta investigación se enfocó en el desarrollo de un sistema de cría automatizado de broca del café utilizando la dieta artificial Cenibroca modificada, la cual ha sostenido mayores niveles de producción que cualquier otra dieta de broca. Esta dieta proporciona los requerimientos nutricionales que el insecto necesita para su desarrollo de huevo a adulto, con tasas de crecimiento, peso y tamaño constantes a través de generaciones continuas.

En este documento se describen las técnicas básicas que se deben tener en cuenta para el proceso general de producción de broca, además se presentan resultados de producción de este insecto a través de 70 generaciones continuas.

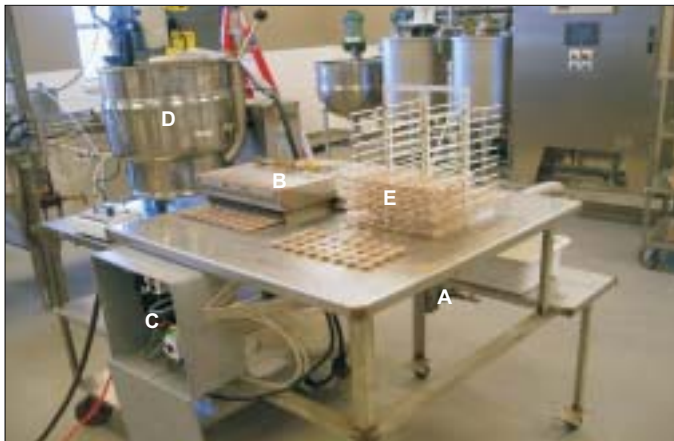
## **PROCESO GENERAL DEL SISTEMA DE CRÍA MASIVA**

**Preparación de la dieta.** La preparación de 20 litros de dieta consiste en la mezcla de 200 g de agar, 3,000 g de café molido (molino Bunn-o-Matic) del 12% de contenido de humedad y 15 L de agua. Esta mezcla se esteriliza en una autoclave por 15 min a 120°C y 15 lb de presión. Posteriormente, la mezcla esterilizada se lleva a una olla vaporizadora OM-TDB/7, GROEN con capacidad de 20 L y acoplada a un mezclador automático (Stir Pak Mixer Head 50002-02, BARNAT) en donde se le agrega el resto de los ingredientes: azúcar (200 g), caseína (300 g), levadura (300 g), ácido benzoico (20 g), Benomil (30 g), vitaminas de Vanderzan (10 g), sales de Wesson (16 g), formaldehído (20 ml) y alcohol (200 ml). La mezcla y los ingredientes se homogenizan por 15 min a una temperatura constante de 65°C.

La mezcla final (20 L) se dosifica en recipiente plásticos de 32 celdas. La elaboración de estos recipientes se basó en el diseño de un molde propio y con medidas y forma específica para la cría de la broca del café (PORTILLA; STRETT, 2006). Este molde se adaptó a la máquina formadora-selladora Modelo

655-BBS-9 (TILLMAN et al., 1997). Los recipientes se elaboran con plástico polivinilo calibre 20,0 con dimensiones 14,6 cm x 30 cm x 1.1cm con base perfectamente redondeada (American Mirrex Corp., Newcastle, DE). Para dosificar la dieta en las bandejas plásticas de 32 celdas se utiliza un dosificador automático adaptado para la dieta Cenibroca modificada, el cual fue elaborado por personal técnico de la USDA-ARS-BCPRU. La máquina la maneja un operario y consta de una bomba dosificadora (FILAMATIC-260-NATIONAL INSTRUMENTAL-LLC), una unidad dispensadora de 32 boquillas (modificada para productos viscosos), un control automático de tiempo de llenado que se puede fijar en 2 (mínimo) hasta 10 (máximo) segundos entre bandeja y bandeja, válvulas de control automático de requerimiento de llenado constante, cuya dosificación se puede fijar desde 0.8 (mínimo) hasta 2.0 (máximo) g de dieta/celda y mangueras de alta presión conectadas a la olla vaporizadora OM-TDB/7 (Fig. 1). Quince bandejas de 32 celdas/minuto, es el índice de producción de esta máquina dosificadora establecida en 4 segundos de control automático de tiempo y 1.4 g control automático constante de llenado. Las bandejas con dieta se almacenan hasta por 15 días en un cuarto frío ( $15 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

**Infestación de la dieta.** La infestación se realiza en dieta con un contenido de humedad de 60-65%, el cual se analiza con medidores de humedad (IR-50 P/N 901569-1 REV-A, Denver Instrument Company, Denver, CO). La dieta almacenada



**Figura 1.** Máquina dosificadora automática adaptada para dispensar la dieta Cenibroca modificada en bandejas plásticas de 32 celdas. A. Bomba dosificadora; B. Unidad dispensadora de 32 boquillas; C. Control automático de tiempo de llenado y válvulas de control automático de requerimiento de llenado; D. Mangueras de alta presión conectadas a la olla vaporizadora; E. Bandejas de cría de 32 celdas (PORTILLA; STREETT, 2006).

en el cuarto frío ( $15 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) se traslada a un cuarto con temperatura de  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$  dos a tres horas antes de la infestación. Bajo cámaras de flujo laminar, la dieta se infesta uniformemente con brocas hembras, las cuales se desinfectan previamente asperjando sobre ellas por aproximadamente un minuto, una solución de cloruro de benzalconio con una concentración del 0.5%, posteriormente estos insectos se enjuagan asperjando agua estéril por un minuto. Antes de la inoculación, las brocas desinfectadas se secan y se llevan a un cuarto frío ( $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) por aproximadamente 20 min con el fin de disminuir la actividad del insecto y facilitar así la infestación. La infestación se realiza utilizando dispensadores de broca, los cuales permiten colocar dos a tres brocas hembras por cada celda. Los dispensadores de broca consisten en tubos plásticos ( $4 \times 7$  cm de diámetro) con tapa perforada y cubierta con malla metálica # 25. Veinte litros de dieta (350 bandejas plásticas de 32 celdas) se infestan con 28.000 brocas (cuatro dispensadores de 7.000 brocas cada uno). Las bandejas de dieta infestadas con broca se sellan con papel adhesivo transparente perforado (American Mirrex Corp., Newcastle, DE) y se llevan a cámaras o cuartos climatizados en donde se mantienen bajo total oscuridad por 35 días a  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  y  $75 \pm 1\%$  de temperatura y humedad relativa, respectivamente.

**Cosecha de adultos.** Las bandejas de dieta de 35 días de infestadas y mantenidas a una temperatura de  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  se trasladan a cámaras climatizadas y se mantienen bajo condiciones de total oscuridad por 10 días a una temperatura de  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$  y  $75 \pm 1\%$  de humedad relativa. Posteriormente, a estas bandejas se les remueve el papel adhesivo y la dieta infestada se lleva a agitadores eléctricos (WS TYLER RX-812, Canadá) compuestos de cernidores metálicos de 45 cm x 15 cm de diámetro y con malla # 20, 25 y 30. La dieta se coloca en el cernidor con malla # 20 y se agita por aproximadamente 15 minutos. Los adultos colectados en el cernidor # 30 se trasladan a un cernidor metálico pequeño (15 cm x 7 cm de diámetro) con malla # 40 el cual se agita manualmente con el fin de remover pequeños residuos de dieta, machos y huevecillos de broca presentes que pasan a través de las mallas # 20 y 25. Las hembras de broca colectadas en el cernidor # 40 se desinfectan utilizando la metodología descrita anteriormente (infestación de la dieta) y se utilizan para mantener la colonia de insectos.

## PRODUCCIÓN DE BROCA SOBRE DIETA ARTIFICIAL

La fertilidad, fecundidad, longevidad y tiempos de desarrollo de la broca están directamente relacionados con su actividad, y este factor a su vez puede sufrir deterioro a través de generaciones debido a los factores físicos y químicos a los cuales este insecto se somete en producciones continuas en dietas

artificiales. Portilla et al. (2000) encontraron que la actividad y tiempo de vuelo de la broca disminuye a través de generaciones, debido posiblemente a las condiciones de confinamiento utilizadas en dicha metodología. Sin embargo, Portilla y Streett (2006) determinaron que este factor no afecta las tasas de crecimiento del insecto, por lo tanto para la cría masiva de la broca del café no sería necesario incluir el vuelo como un factor indispensable dentro de las medidas de control de calidad, pero sí es crítica la selección de broca activa (broca que camina y/o vuela) y se debe considerar como una medida para garantizar la calidad de las colonias.

Los promedios de producción de broca en la dieta Cenibroca modificada no son menores del 85% de huevos viables y sus tasas de reproducción son similares o mayores a las obtenidas en el campo en su hospedero natural. La broca del café a nivel de campo tiene una tasa intrínseca de crecimiento de 0.065 y una tasa finita de crecimiento de 1.065, valores equivalentes a 1.02 hembras/hembras/día y un tiempo doble de 10,7 días (BAKER, 1999; RUIZ, 1996). Si comparamos estos valores con los obtenidos en esta investigación (promedio total de 2.500,20  $\pm$  EE 28,51 individuos/bandeja de 32 celdas y los valores  $r_m = 0,067$  y  $\lambda = 1.07$ ) se observa que las tasas de crecimiento son mayores a las reportadas en nivel de campo, lo que equivale, a que utilizando este programa de cría, la tasa diaria de crecimiento de la broca es de 1.07 hembras/hembra y su población se duplica en 9.5 días. Estos valores demuestran la viabilidad de la dieta Cenibroca modificada.

En general, el proceso de producción masiva utilizando la dieta artificial Cenibroca modificada demuestra que las hembras de la broca del café pueden ser cosechadas del sustrato de cría relativamente fácil y en grandes cantidades. El mecanismo de selección y el control en la separación de machos durante el proceso de colección aseguran el mantenimiento de una colonia con un porcentaje bajo de individuos deformes (PORTILLA; STREETT, 2006). El programa de cría masiva automatizado desarrollado en este estudio involucra la cría de la broca por más de 70 generaciones (registros de producción de broca 1999-2006 en los laboratorios de la USDA-ARS-BCMRRU y NBCL) produciendo insectos relativamente de alta calidad. El objetivo de nuestra investigación como se menciona anteriormente, fue desarrollar un sistema automatizado efectivo para la cría masiva de *H. hampei* sin afectar sus tasas de crecimiento, fecundidad, estructura poblacional, peso, tamaño, producción total y actividad (efectividad). Mackauer (1972) define la cría masiva de insectos como "La cría, por ciclo por generación, de un millón de veces el número promedio de la progenie por hembra". Si tenemos en cuenta esta definición, el sistema de cría de broca requeriría una capacidad de producción de al menos 2.000.000 de individuos por día para clasificarla como un sistema de cría masiva. Por lo

tanto si se dispone de la infraestructura y las maquinas procesadoras y dosificadoras de dieta (modificadas para la dieta Cenibroca) de los laboratorios de la USDA-ARS-BCPRU de EEUU, se necesitaría entonces preparar diariamente 50 L de dieta para obtener una producción de aproximadamente 2.500.000 individuos (2.000.000 de hembras). Esto es suficiente para producir un número similar de machos y hembras del parasitoide *Phymastichus coffea* (La Salle) (Hymenoptera: Eulophyidae) o 1.000.000 de machos y hembras de los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* (Betrem) (Hymenoptera: Bethyridae) y *Prorops nasuta* (Waterston) (Hymenoptera: Bethyridae).

La producción de la broca obtenida en este programa de cría automatizado sirvió para desarrollar sistemas de cría masivo de los parasitoides *P. nasuta*, *P. coffea* y *C. stephanoderis* (50, 40, 25 generaciones, respectivamente) y métodos de liberación del parasitoide *P. coffea*, el cual se libero en nueve países productores de café (PORTILLA; STREETT, datos sin publicar). King y Leppla (1984) manifiestan que en la producción de parasitoides, la dieta determina si el hospedero esta tomando los requerimientos nutricionales que necesita para su desarrollo. Por lo tanto, el establecimiento del parasitoide *P. coffea* registrado en cinco países productores de café (PORTILLA; STREETT, datos sin publicar) demuestran la alta calidad de la dieta Cenibroca modificada utilizada en este sistema automatizado de cría masiva de la broca del café.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su reconocimiento a Luis Carlos Jojoa, Investigador Asociado del Departamento de Entomología y Fitopatología de la Universidad de Mississippi, EEUU por sus aportes para lograr los resultados aquí presentados. Al Dr. Alex Bustillo Pardey (Investigador Principal I, CENICAFE, Colombia) y Fannie Williams (Oficial de Cuarentena, USDA, ARS, BCPRU) por contribuir con la importación a EEUU de la especie estudiada. A Dan Harsh (Ingeniero Técnico, USDA-ARS-CSRL-BCMRRU) por las modificaciones realizadas a los dosificadores de dieta y moldes de las bandejas de 32 celdas. Un agradecimiento especial a dos Drs. Guadalupe Rojas y Carlos Blanco por sus sugerencias y revisión del manuscrito.

“Los nombres de las casas industriales y productos comerciales mencionados en esta publicación es únicamente con el propósito de suministrar información especifica el cual no implica ninguna aprobación o recomendación por parte de la Secretaria de Agricultura de Estados Unidos”.

## REFERENCIAS

BAKER, P. **La broca del café en Colombia:** Informe final del proyecto MIP para el café DFID - Cenicafé - CABI Bioscience, Ascot (UK). 1999.

BAUTISTA, M.; ATKINSON, M. Biología y respuesta a dietas semiartificiales de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae) bajo condiciones de laboratorio. **Revista Chapingo**, México, v. 8, n. 60-61, p. 26-30, 1988.

BENAVIDES, P. et al. Classical Biological Control of Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in Colombia with African Parasitoids. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF ARTHROPODS**, 2002. p. 430-434.

BRUN, L. O. et al. An artificial diet for continuous rearing of the Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Insect Science and Application**, v. 14, n. 5/6, p. 586-587, 1993.

BUSTILLO, A. et al. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café en Colombia. **Revista Cenicafé**, Colombia, v. 47, p. 215-230, 1996.

KING, E. G.; LEPLA, N. C. **Advances and challenges in insect rearing.** King and Leppla (Eds.). New Orleans (USA): ARS-USDA, 1984. 306 p.

MACKAUER, M. Genetic aspects of insect production. **Entomophaga**, v. 17, p. 27-48, 1972.

PORTILLA, M.; BUSTILLO, A. Nuevas investigaciones en la cría masiva de *Hypothenemus hampei* y de sus parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 21, p. 25-33, 1995.

PORTILLA, M. Mass rearing technique for *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethylinidae) on *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) developed using Cenibroca artificial diet. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 25, p. 57-66, 1999a.

\_\_\_\_\_. Desarrollo y evaluación de una dieta artificial para la cría masiva de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Revista Cenicafé**, v. 1, p. 24-38, 1999.

PORTILLA, M.; MUMFORD, J.; BAKER, P. Reproductive potential response of continuous rearing of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) developed using Cenibroca artificial diet. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 26, p. 99-105, 2000.

PORTILLA, M.; STREETT, D. Nuevas técnicas de producción masiva automatizada de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) sobre la dieta artificial Cenibroca modificada. **Revista Cenicafé**, v. 57, n. 1, p. 37-50, 2006.

RUIZ, C. R. Efectos de la fenología del fruto del café sobre los parámetros de la tabla de vida de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) Manizales (Colombia). 78 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Colombia, 1996.

TILLMAN, P. G. et al. Form-Fill-Seal machine for mass rearing noctuid species. **USDA Technical Bulletin**, n. 213, 1997. 4 p.

VILLACORTA, A. Dieta meridica para criação de sucessivas gerações de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 14, n. 2, p. 315-319, 1985.

VILLACORTA, A.; BARRERA, J. **Mass rearing, using a meridic diet, of *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyridae), parasitoid of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae).** Technical Article. ECOSUR. Tapachula (México), 1996. 7 p.

## PARASITÓIDES DA BROCA-DO-CAFÉ NO BRASIL: HISTÓRICO E PERSPECTIVAS

**Vera Lúcia Rodrigues Machado Benassi**

*Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural - INCAPER, Rod. BR 101, km 151, C. postal 62, 29.900-970 Linhares, ES, Brasil, benassi@bol.com.br*

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* foi descrita no ano de 1867 por Ferrari, a partir de amostras de sementes de café comercializadas na França, entretanto, sua ocorrência no campo somente foi constatada em 1901, no Congo (FLEAUTIAUX, 1901 apud COSTA LIMA, 1956). A partir daí, inúmeros relatos da sua presença foram feitos em várias regiões da África e em outros continentes.

Na América do Sul, o primeiro registro da presença da broca foi feito no Brasil, no município de Campinas, estado de São Paulo, em 1913 por Berthet, cujos exemplares foram obtidos de sementes de café provenientes do Congo Belga ou de Java. Entretanto, oficialmente, a presença da praga foi registrada no ano de 1924, ano em que a sua população elevou-se, causando grandes prejuízos (BERGAMIN, 1945). A partir daí, a broca foi-se expandindo, estando atualmente, presente em todas as regiões cafeeiras do país.

O Brasil é o maior produtor mundial da espécie *Coffeae arabica* L. e ocupa a segunda posição em relação à produção de *C. canephora* P. ex Fr., o que reforça a importância econômica e social da cultura para o país.

Embora em algumas regiões brasileiras a broca não chega a causar muitos prejuízos, em outras, principalmente nos cultivos de *C. canephora*, os danos são expressivos.

Logo após a constatação da praga no país, várias medidas foram adotadas para conter a sua disseminação à novas áreas, como o repasse, expurgo das sacarias, destruição dos cafezais abandonados e proibição do trânsito de café entre as fazendas, o que, entretanto não impediu o avanço da população a outras regiões.

Visando controlar biologicamente a broca, no ano de 1929, Adolph Hempel, importava para o estado de São Paulo, proveniente de Kampala, Uganda, o parasitóide *Prorops nasuta* (HEMPEL, 1934). A partir dessa data, vários estudos sobre a biologia, comportamento e metodologias para multiplicação do parasitóide foram realizados (LEITE, 1935; TOLEDO, 1943; FONSECA, 1937). Os primeiros exemplares foram liberados em fevereiro de 1930 nas fazendas do município de Campinas e, até setembro do mesmo ano, em quarenta e três propriedades de dez municípios paulistas (HEMPEL, 1934).

Os produtores foram incentivados a efetuarem a multiplicação do inseto em suas propriedades, através da construção de insetários. Verificava-se o estabelecimento da *P. nasuta* em muitas fazendas, entretanto, os primeiros resultados da sua ação somente foram constatados no ano de 1933, pois, o café das lavouras onde a vespa havia sido liberada apresentava um rendimento maior e um aspecto melhor em relação à safra anterior (HEMPEL, 1934).

Até o ano de 1938 os índices de infestação dos frutos pela broca eram elevados, principalmente devido às condições climáticas favoráveis. O controle do inseto baseava-se nesse período, somente no repasse e na ação da *P. nasuta*.

Em 1939, muitos produtores começaram a se desinteressar pela criação da vespa, alegando que a broca não mais ocorria em suas propriedades, e que o inimigo já existia em suas lavouras, assim, não havia necessidade de criá-lo.

Nos anos seguintes, a seca reduziu a população da broca em níveis muito baixos e em 1945, embora as chuvas tivessem voltado à normalidade, a população da praga manteve-se em um nível tão baixo que, em certas fazendas pensava-se que ela havia desaparecido. Dois anos depois, os índices de infestação voltavam a atingir níveis alarmantes (TOLEDO et al., 1947).

As multiplicações da *P. nasuta* foram aos poucos sendo abandonadas e o programa de controle biológico interrompido. Possíveis causas contribuíram para esse abandono: pensava-se que a broca estava sob controle e a falta de tecnologia para uma produção massal do inimigo, não permitia uma grande produção para a distribuição em larga escala. Além disso, em relação à vespa, alguns parâmetros não tinham sido considerados: a liberação deveria ser feita durante os vários meses do ano, tanto no período de safra como de entressafra; havia necessidade de uma adequação do número de exemplares da vespa com a densidade populacional da broca; o uso exclusivo do controle biológico, com o abandono de outras práticas de controle; o desconhecimento das condições indispensáveis para a aclimação da vespa (BERGAMIN, 1945; TOLEDO et al., 1947).

Com o descobrimento dos inseticidas organo-sintéticos, a broca passou a ser controlada quimicamente, e os estudos passaram a ser desenvolvidos especificamente nessa área (SAUER et al., 1947; SEIXAS, 1947, 1948; DUVAL, 1948).

Em 1965, Heinrich afirmou que, com o aparecimento de produtos químicos e seu uso indiscriminado, aliado às condições climáticas do Estado de São Paulo, não muito favoráveis ao parasitóide, além da falta de novas informações sobre o mesmo, levaram os técnicos e pesquisadores a admitir que *P. nasuta* não tivesse se adaptado ao novo ambiente e até mesmo havia se extinguido.

De 1945 a 1976 formou-se uma lacuna na literatura e não se tiveram mais informações sobre a *P. nasuta*.

No ano de 1977, Yokoyama et al. noticiaram a presença do parasitóide no município de Piracicaba, SP, relatando que, ao contrário do que se pensava, o inseto havia-se aclimatado, resistindo às secas e geadas ocorridas na região. No ano seguinte foi observada em Caratinga; em 1979 em Viçosa; em 1980, em São João de Manhuaçu e Lavras em 1990, municípios de Minas Gerais (FERREIRA, 1980; FERREIRA; BUENO, 1995). No Paraná, sua presença foi constatada em Cornélio Procópio (CARNEIRO FILHO, 1984).

Atualmente, as regiões brasileiras que apresentam os maiores índices de infestação da broca são principalmente aquelas onde se cultiva a espécie *C. canephora*. Nas áreas do norte do estado do Espírito Santo onde ela é plantada, as temperaturas e umidade relativa elevadas favorecem a multiplicação do inseto, aliada a desuniformidade na maturação dos frutos, o que proporciona uma maior oferta de alimento.

Devido à importância da praga nessa região e necessidade de alternativas para o seu controle, a partir do ano de 1986 iniciaram-se vários trabalhos relacionados a ela. Levantamentos dos inimigos naturais, obtidos a partir da coleta de amostras de café brocado, possibilitaram constatar a presença da *P. nasuta*, *Cephalonomia* sp. e de um proctotrupeídeo, parasitóide de adultos da broca (BENASSI; BERTI FILHO, 1989; BENASSI, 1995a).

Estudos em laboratório e campo permitiram determinar aspectos bioecológicos da praga e de *P. nasuta*. Uma metodologia de multiplicação para criação da broca-parasitóides, foi desenvolvida e repassada a uma cooperativa de cafeicultores do norte do Espírito Santo, a qual vem criando o parasitóide e liberando no campo.

A espécie pertencente ao gênero *Cephalonomia* que foi encontrada a partir do ano de 1986 em baixos índices foi enviada aos especialistas A.S. Menke (EUA) e C.O. Azevedo (UFES, Brasil). A princípio, não foi determinado o nome específico, pois de acordo com os taxonomistas, havia necessidade de uma revisão das espécies dos gêneros da família Bethyilidae.

Em 1994, introduziu-se a espécie *C. stephanoderis*, proveniente do CENICAFE, Colômbia, com o objetivo de incrementar o programa de controle biológico da broca no estado do Espírito Santo (BENASSI, 1995b). Após o período de quarentena no Laboratório de Quarentena "Costa Lima", os insetos foram criados em laboratório e posteriormente liberados em uma propriedade do INCAPER, na Fazenda Experimental de Marilândia, objetivando-se avaliar o seu estabelecimento. No mês de setembro do mesmo ano foi possível resgatar vários exemplares da vespa.

Levantamentos efetuados posteriormente, em dezenove municípios do Espírito Santo, onde não havia sido liberada a *C. stephanoderis*, constataram a presença da *Cephalonomia* sp., com índices de parasitismo chegando a 50%. Novos

exemplares dessas vespas foram encaminhados ao taxonomista C. O. Azevedo, e desta vez, após as análises, concluiu tratar-se da espécie *C. stephanoderis*.

Desta forma, pode-se concluir que, embora a importação da *C. stephanoderis* tenha sido feita oficialmente no país em 1994, sua introdução ocorreu antes dessa data, acidentalmente, provavelmente através de sementes de café; semelhante com o que aconteceu com a broca-do-café.

Com relação à espécie *Heterospilus coffeicola*, na década de trinta, pesquisadores brasileiros realizaram estudos em seu local de origem para avaliar a possibilidade da sua introdução no país, entretanto, chegaram a conclusão que o inseto não deveria ser trazido porque, para a sua sobrevivência havia necessidade da existência de cafeeiros com frutos durante todo o ano. Além disso, a sua multiplicação em cativeiro era extremamente difícil (FONSECA, 1935).

Quanto à espécie *Phymastichus coffea*, apesar dos esforços para a sua introdução no país, até o presente não foi possível efetivar a sua criação no Laboratório de Quarentena.

## PERSPECTIVAS FUTURAS

Devido à importância da cultura do café tanto econômica, como socialmente para o Brasil, os conhecimentos obtidos até o momento, a constatação do estabelecimento das espécies *P. nasuta* e *C. stephanoderis*, estudos deverão ser continuados, principalmente no que se refere à criação artificial da broca e seus parasitóides e inserção da tática do controle biológico no manejo integrado da praga.

A avaliação da introdução de *P. coffea* também deverá ser feita, visando integrá-la no contexto do manejo.

## REFERÊNCIAS

BENASSI, V. L. R. M.; BERTI FILHO, E. Nota sobre a ocorrência de *Cephalonomia* sp. (Hymenoptera: Bethyridae), parasitando a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) no Estado do Espírito Santo. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, (Brasil), v. 64, p. 105-106, 1989.

BENASSI, V. L. R. M. Levantamento dos inimigos naturais da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867) (Coleoptera: Scolytidae) no norte do Espírito Santo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, n. 3, p. 635-638, 1995a.

\_\_\_\_\_. Introdução da espécie *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, 1961 (Hymenoptera: Bethyridae), parasitóide da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferr., 1867) (Coleoptera, Scolytidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., 1995b, Caxambu (Brasil), **Anais...** Caxambu: SEB, 1995, p. 336.

BERGAMIN, J. Broca-do-café. **Revista de Agricultura**, Piracicaba (Brasil), v. 20, n. 9-12, p. 427-430, 1945.

BERTHET, J. A. 1913. Caruncho do café. **Boletim de Agricultura**, São Paulo (Brasil), v. 14, n. 5, p. 312-313.

CARNEIRO FILHO, F. Constatação de *Prorops nasuta* Waters., 1923 - vespa de Uganda no Estado do Paraná - Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 9., 1984, Londrina (Brasil), **Resumos...** Londrina: SEB, 1984. p. 165.

COSTA LIMA, A. M. da. **Insetos do Brasil**. Rio de Janeiro (Brasil): ENA, 1956. Tomo 10, 373 p.

DUVAL, G. Progressos no combate à broca do café com hexacloro de benzeno. **O Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 15, p. 85-102, 1948.

FERREIRA, A. J. Observações sobre a ocorrência da vespa de Uganda *Prorops nasuta* Waterston em lavouras da Zona da Mata, infestadas pela broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 8., 1980, Campos do Jordão (Brasil), **Resumos...** Campos do Jordão: IBC, 1980. p. 194-196.

FERREIRA, A. J.; BUENO, V. H. P. Ocorrência da vespa de Uganda, *Prorops nasuta* Waterston, 1923 (Hymenoptera: Bethyridae) na região de Lavras - MG. **Ciência e Prática**, Lavras (Brasil), v. 19, n. 2, p. 226-227, 1995.

FONSECA, J. P. da. Alguns dados sobre a biologia do "*Heterospilus coffeicola*", parasita da broca-do-café. **O Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 1, n. 10, p. 347-357, 1935.

\_\_\_\_\_. Processo para a multiplicação da "vespa de Uganda" em viveiros. **O Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 3, n. 8, p. 220-229, 1937.

HEINRICH, W. O. Aspectos do combate biológico às pragas do café. **O Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 31, p. 57-62, 1965.

HEMPEL, A. O combate à broca-do-café por meio da Vespa de Uganda. **O campo**, Rio de Janeiro (Brasil), v. 5, n. 2, p. 41-44, 1934.

\_\_\_\_\_. *Prorops nasuta* Waterston no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 5, p. 188-212, 1934.

LEITE, A. C. Multiplicação da Vespa de Uganda. **Boletim Agrícola**, São Paulo (Brasil), v. 35, p. 648-654, 1935.

TOLEDO, A. A. de. Janela coletora de vespa de Uganda. **O Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 9, n. 4, p. 79-83, 1943.

TOLEDO, A. A. de; DUVAL, G.; SAUER, H. A broca do café. **O Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 13, n. 7, p. 113-118, 1947.

SAUER, H. F. G.; DUVAL, G.; FALANGHE, O. Combate a broca do café e possibilidade do emprego de inseticidas. **O Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 13, n. 7, p. 205-214, 1947.

SEIXAS, C. A. Controle químico da broca do café. **O Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 13, p. 215-228, 1947.

\_\_\_\_\_. A prática do combate químico à broca do café. **O Biológico**, v. 14, p. 71-89, 1948.

YOKOYAMA, M. et al. Situação atual da vespa de Uganda *Prorops nasuta* Waterston, 1923 (Hymenoptera: Bethylidae) no Brasil. **Científica**, Jaboticabal (Brasil), v. 5, n. 7, p. 394, 1978.

# LIBERACIONES, COMPORTAMIENTO Y DISPERSIÓN DE LOS PARASITOIDES DE LA BROCA DEL FRUTO DEL CAFETO, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea* PROCEDENTES DE COLOMBIA, EN COSTA RICA

Olger Borbón Martínez

Centro de Investigaciones de Café del Instituto del Café de Costa Rica - ICAFE. San Pedro de Barva, Heredia, Costa Rica

## INTRODUCCIÓN

La broca del fruto del café fue descubierta en Costa Rica en diciembre de 2000, en la zona cafetalera del Valle Central, a una altura de 1200 m.s.n.m., siendo esta el área más grande del país (45.000 ha).

En la Fig. 1 se puede observar la distribución de la broca del café desde diciembre de 2000 a julio de 2004.

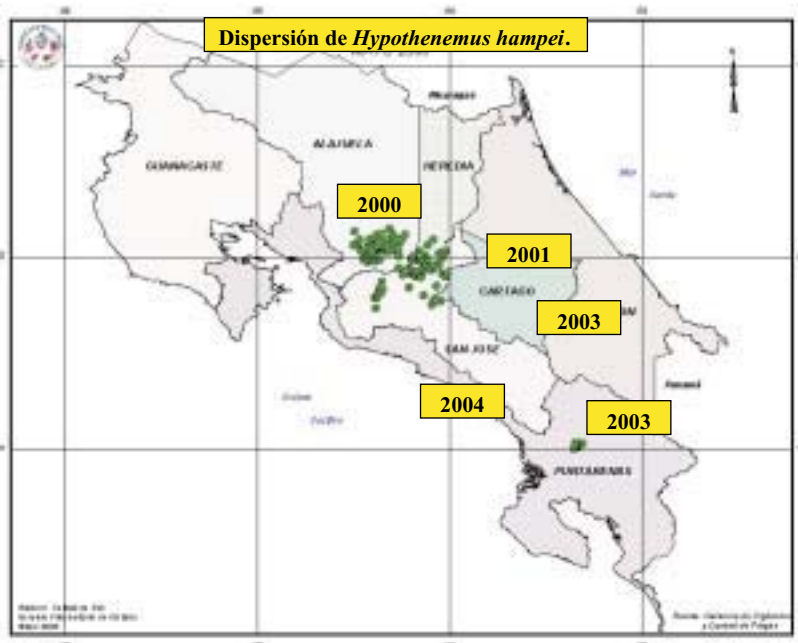


Figura 1. Dispersión de *H. hampei*. Costa Rica, julio, 2004.

La broca ha tenido una distribución normal, ayudada por los recolectores y principalmente por los camiones que transportan café en fruta hacia los beneficios. Del año 2000 que se detectaron 12 fincas a julio de 2004 se han podido detectar unas 3000 fincas con la presencia del insecto, en su mayoría ubicadas en la Meseta Central. Los niveles de ataque en un 75% de las fincas están por debajo de 2% y el otro 25% de las fincas tiene ataques entre un 10% y 30%.

Costa Rica actualmente tiene unas 100.000 hectáreas de *Coffea arabica*, de las variedades Caturra en un 80% y Catuai en un 15%. La broca está diseminada en un 12,4% del área nacional y abarca un 8,40% de los caficultores nacionales. En la Fig. 2 se puede observar el número de fincas y el área con presencia de broca.

Debido al avance de la broca y por no contar con un laboratorio para la cría masiva de parasitoides el Instituto del Café realizó una inversión de 116 mil dólares americanos, para la importación de los 50 millones de parasitoides, para que nos ayudara a bajar las poblaciones y disminuir la velocidad de diseminación de la broca. A continuación se presentarán los resultados de la liberación inundativa de los parasitoides *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea* para el control de la broca.

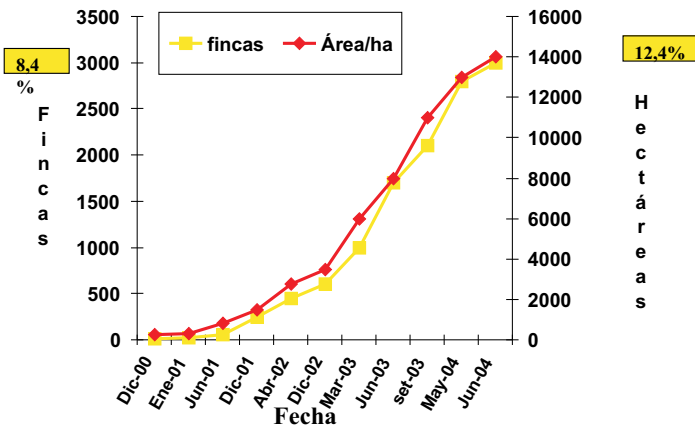


Figura 2. Número de fincas y área cafetalera con presencia de broca. Costa Rica, julio, 2004.

## I. LIBERACIÓN Y EVALUACIÓN DE CONTROL DE LOS PARASITOIDES *P. nasuta* y *P. coffea* SOBRE LA BROCA DEL FRUTO DEL CAFETO

Los parasitoides importados fueron liberados en tres zonas cafetaleras del país como son: Valle central Occidental, Valle Central y Boruca (Térraba de Buenos Aires). Se escogieron las fincas de acuerdo a los niveles de ataque de la broca, a los momentos de desarrollo del fruto y penetración de la broca

en los mismos. Los parasitoides se liberaban cuando en los campos se encontraban niveles igual o superiores al 2%, siendo éste el umbral económico de daño, de acción y control de la plaga para Costa Rica. El parasitoide *Phymastichus coffea* endoparasitoide de adultos, se liberaba en aquellas fincas donde la broca estaba penetrando o entrando en el canal de perforación del fruto, es decir unos 60 a 100 días después de la floración o después de las graneas o cosechas cuando esta ocurriendo reinfestaciones de broca.

En el caso de *Prorops nasuta* ectoparasitoide y depredador, se liberaba en fincas donde el fruto ya estaba más desarrollado, en estado sazón o maduro, esperando que éste insecto pudiera encontrar los estados de larvas adultas y pupas para su postura y desarrollo, mientras se alimentaba de los huevos, larvas pequeñas y adultos. En la Tabla 1 se observa el total de fincas y el total de parasitoides que fueron liberados de acuerdo a la región.

Se muestrearon 10 fincas donde se liberaron los parasitoides y en todas ellas se han podido encontrar. Los niveles de control que han ejercido éstos parasitoides muestran una buena eficiencia, así como una buena distribución y diseminación en las plantaciones de café.

En la Tabla 2, se puede observar el promedio de control de los dos parasitoides en las fincas donde fueron liberados.

Al analizar los porcentajes de ataque de la broca y los niveles de parasitismo encontrados en el campo por los parasitoides, éstos lograron evitar un aumento de los porcentajes de ataque de broca y que los granos no sufrieran daño, como se observó a medida que se disectaba los frutos.

En la Tabla 3, se observa el porcentaje de ataque, de infestación y el control real que ejercieron los parasitoides sobre la broca, disminuyendo significativamente el porcentaje de infestación.

**Tabla 1.** Total de fincas y total de parasitoides liberados. Noviembre, 2003.

Regional	Número de fincas	Total de parasitoides	
		<i>P. nasuta</i>	<i>P. coffea</i>
Regional del Valle Occidente	106	15.759.560	6.260.607
Regional Central	130	15.796.512	6.122.514
Regional de Pérez Zeledón	35	2.884.800	2.471.486
CICAFÉ	1	363.932	340.589
		34.804.804	15.195.196
<b>TOTAL</b>	<b>272</b>	<b>50.000.000</b>	

**Tabla 2.** Efecto de control de los parasitoides sobre la broca del fruto del cafeto. Noviembre, 2003.

Fincas	% de ataque de la broca en la finca	% de control de los parasitoides	
		<i>P. nasuta</i>	<i>P. coffea</i>
1) Finca Bariloche. Alajuela	9,46		33.75
2) Juan Bautista Campos. Atenas	4,93		32.66
3) Finca Torunes. Palmares	2,92		47.14
4) La Meseta. Sarchí (2)	7,0 5,0	37.33	36.13
5) La Laguna. Tres Ríos (2)	5,0 3,0	44.33	48.66
6) Marcos Jinesta. Curridabat	5,0	37.67	
7) Guardia Montealegre. Barreal. Heredia	75	52,00	
8) Finca Candelaria, Palmares	12	24.67	
9) CICAFFÉ	10 5,0	42.67	38.33
Promedios		39.78	39.45

**Tabla 3.** Porcentaje real de parasitismo y control de la broca con los parasitoides liberados. Noviembre, 2003.

Fincas	% de ataque de broca en (1)	% de infestación $1 \times 18\% - 1$	% de control del nivel de infestación de broca con los parasitoides	
			<i>P. nasuta</i>	<i>P. coffea</i>
1) Finca Bariloche. Alajuela	9,46	7,75		$(7,75 \times 33,75) - 7,75$ 5,13
2) Juan Bautista Campos. Atenas	4,93	4,04		$(4,04 \times 32,66) - 4,04$ 2,72
3) Finca Torunes. Palmares	2,92	2,39		$(2,39 \times 47,14) - 2,39$ 1,26
4) La Meseta. Sarchí (2)	6,0	4,92	$(4,92 \times 37,33) - 4,92$ 3,08	$(4,92 \times 36,13) - 4,92$ 3,14
5) La Laguna. Tres Ríos (2)	4,0	3,28	$(3,28 \times 44,33) - 3,28$ 1,83	$(3,28 \times 48,66) - 3,28$ 1,68
6) Marcos Jinesta. Curridabat	5,0	4,1	$(4,1 \times 37,67) - 4,1$ 2,55	
7) Guardia Montealegre. Barreal. Heredia	75,0	61,5	$(61,5 \times 52,00) - 61,5$ 29,52	
8) Finca Candelaria. Palmares	12,0	9,84	$(9,84 \times 24,67) - 9,84$ 5,43	
9) CICAFFÉ	7,5	6,15	$(6,15 \times 42,67) - 6,15$ 3,52	$(6,15 \times 38,33) - 6,15$ 3,79

\* Frutos promedios sin presencia de broca, para determinar el porcentaje de infestación.

## II. EVALUACIÓN DE LA DISPERSIÓN DE LOS PARASITOIDES *Prorops nasuta* y *Phymastichus coffea* LIBERADOS EN CAFETALES COSTARRICENSES

### INTRODUCCIÓN

Los parasitoides *P. nasuta* y *P. coffea* que fueron importados desde Colombia y se liberaron en 272 fincas, ubicadas en la Meseta Central, Puriscal y Boruca de la zona sur del país, tuvieron un buen control sobre la broca del fruto del cafeto.

En las fincas donde se realizó la evaluación de control de parasitismo de estos parasitoides sobre la broca, dieron excelentes resultados, encontrándose que *P. nasuta* tuvo un porcentaje de control general sobre la broca de 39.78% y en casos particulares redujo el porcentaje de infestación de un 61% a un 29%. En el caso de *P. coffea* que controló en un 39.45% la broca, en algunas fincas el porcentaje de infestación se redujo casi en 50%.

Para complementar el efecto de control de estos parasitoides sobre la broca del fruto del cafeto, se realizó también una evaluación de dispersión de los mismos para poder determinar su adaptabilidad a los ecosistemas de los cafetales costarricense.

### OBJETIVO

Evaluar la dispersión de *P. nasuta* y *P. coffea* en cafetales donde fueron liberados.

### METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN

Se escogieron 30 plantas al azar en el lote de liberación de los parasitoides y se recolectaban 100 frutos por planta atacados por broca o los que estuviesen presentes en el momento del muestreo. Luego se hicieron muestreos a los 100, 400 y 700 metros del lote de liberación, siguiendo el mismo muestreo de frutos en la planta.

Del total de frutos recolectados en el campo, en el laboratorio se abrieron 50 de ellos, anotándose si los parasitoides estaban presentes.

### RESULTADOS

En los siguientes Cuadros podremos observar las fincas y distancias de evaluación donde se encontraron los parasitoides.

De las 16 fincas evaluadas, el parasitoide fue encontrado en 14 de ellas, para un porcentaje de presencia del parasitoide de 87.50%.

En la Tabla 4 se puede observar que el parasitoide se desplazó en los cafetales donde fue liberado. En el lote de su liberación el parasitoide fue encontrado en un 93.33%, aquí se incluyen fincas donde no se liberaron pero se evaluó para comprobar su existencia, lo cual fue positivo.

A los 100 metros se evaluaron sólo 15 fincas donde se liberaron los parasitoides y se pudo encontrar en un 73.33%.

**Tabla 4.** Fincas evaluadas para la dispersión de *P. nasuta*.

Nº	Ubicación de la finca	Evaluación del lote de liberación	Evaluación a 100 metros	Evaluación a 400 metros	Evaluación a 700 metros
1	Marcos Jinesta. Curridabat	Sí	Sí	Sí	No
2	Quintas Montealegre. Barreal de Heredia	Sí	Sí	Sí	Sí
3	Finca Alfredo Montealegre. Barreal de Heredia	Sí	Sí	No	No se hizo
4	Inversiones La Lilliana (Finca San Carlos)	Sí	Sí	No	No
5	Finca del señor Gurdíán Barrial de Heredia	No	No	No	No
6	Familia Lehman Belén	Sí	Sí	No	No se hizo
7	Dora Zamora. Santa Rosa Santo Domingo	No	No	No	No
8	Ignacio Vargas. Santo Domingo	Sí	Sí	No se hizo	No se hizo
9	Fernando Vindas. San Joaquín	Sí	No	Sí	No se hizo
10	Finca Pla. Concepción Tres Ríos	Sí	Sí	Sí	No se hizo
11	Finca familia Sánchez San Joaquín	Sí	Sí	No	Sí
12	Cicafé	Sí	Sí	Sí	No
13	Finca El Hoyo Rosario de Naranjo	Sí	Sí	Sí	No se hizo
14	Carlos Gallegos. Rosario de Naranjo	No se hizo	No se hizo	Sí*	Sí*
15	Finca de La Meseta. Rincón Valverde Vega	Sí	Sí	Sí	Sí
16	Finca La Luisa. Valverde Vega	Sí	No	No	No se hizo

\*En estas fincas se evaluaron por la cercanía de liberación en fincas vecinas.

A los 400 metros sólo se evaluaron 15 puntos y se pudo encontrar en un 53.33%. Por último se realizó una evaluación a los 700 metros en 9 fincas y se pudo encontrar en un 44.44%.

El parasitoide *P. nasuta* va atacando a las brocas a medida que las va encontrando en los frutos, disminuyendo las poblaciones de la broca en sus diferentes estadios de desarrollo, como son los huevos, larvas, pupas y adultos, ya que debemos recordar que éste parasitoide se comporta también como depredador.

En la Tabla 5 podemos observar el comportamiento y distribución del parasitoide *P. coffea* en el control de la broca.

De las 10 fincas que se evaluaron para conocer la dispersión de *P. coffea*, éste fue encontrado en 8 de ellas para un porcentaje de presencia de un 80%, igual porcentaje para los lotes donde fue liberado el parasitoide.

A los 100 metros se encontró en 7 fincas de las 10 evaluadas, dando un 70% de presencia del insecto.

La evaluación a 400 metros sólo se realizó en 8 fincas, donde se encontró en un 12,50% y a los 700 metros solamente se evaluaron 5 fincas, encontrándose el insecto en un 20%.

Para *P. coffea* se deberá hacer un mayor número de muestras tanto de plantas como de frutos ya que este parasitoide va a la búsqueda de las hembras de la broca en el momento que esta está penetrando el fruto, por lo que en el campo existe un mayor número de frutos y el periodo de acción del mismo es muy corto, pero con una gran eficiencia en el control de la broca.

**Tabla 5.** Fincas evaluadas para la dispersión de *P. coffea*.

Nº	Ubicación de la finca	Evaluación del lote de liberación	Evaluación a 100 metros	Evaluación a 400 metros	Evaluación a 700 metros
1	Finca Alfredo. Montealegre	Sí	Sí	No	No
2	Finca Quinta. Montealegre	Sí	Sí	No hizo	No se hizo
3	Cicafé	Sí	Sí	No	No se hizo
4	Otto Kloti. Tuetal. Alajuela	Sí	Sí	No	No
5	Finca Bariloche. Alajuela	Sí	No	Sí	No se hizo
6	Las Marías. Santa Bárbara	No	No	No	No se hizo
7	Los Vargas Sabanilla Alajuela	Sí	Sí	No	No
8	La Meseta. Rincón de Valverde Vega Nº 1	Sí	Sí	No	Sí
9	La Meseta. Rincón de Valverde Vega Nº 2	No	No	No	No
10	Juan Bautista Campos. Atenas	Sí	Sí	No se hizo	No se hizo

## EFFECTOS DE LA BROCA EN LA PRODUCCIÓN DE CAFÉ EN LAS FINCAS, SINO SE HUBIERAN HECHO LAS LIBERACIONES DE LOS PARASITOIDES

**Dispersión de *H. hampei* en las plantaciones.** En plantaciones donde se hicieron las evaluaciones del parasitoides *P. nasuta* y *P. coffea*, se observó que la dispersión de la broca era bastante heterogénea, indicando que ya había empezado la dispersión en los cafetales.

**Daño de la producción sin ningún control de parasitoides.** Cuando no se realiza ningún control sobre la broca los índices de ataque de la broca se presentan de la siguiente manera antes de la cosecha.

1) 70 días después de la floración	15%
2) 130 días después de la floración	25%
3) 170 días después de la floración	28%
4) 220 días después de la floración	28%
5) después de la primera granea	40%

El productor empieza a entregar su pico de cosecha con un 40% y esta puede llegar hasta un 65% debido a la reinfestación de la broca después de cada recolecta, siendo la función de los parasitoides de disminución las poblaciones de adultos de broca y sus estadios de desarrollo.

De acuerdo a los estudios realizados el año 2003 sobre los efectos de la broca en los rendimientos de café, para un índice de ataque del 40%, el productor tiene una pérdida de peso del 21,25% en 258 kg de fruta fresca (pérdida de 9.01 kg por quintal de café oro producido).

**Pérdida monetaria por daños de la broca en las fincas estudiadas.** Las fincas donde se liberaron los parasitoides fueron 272, con un área de influencia de 816 hectáreas.

La productividad por hectárea era de 28 quintales de café oro (1 quintal de café oro es igual a una fanega, es decir 258 kg de fruta fresca).

El precio promedio de venta de la cosecha 2003 de acuerdo al reporte del Departamento de Estudios Económicos del Icafé fue de \$ 81.72/fanega.

Producción total = 816 ha x 28 fa = 22.848 fa.

Valor de la producción total = 22.848 fa x \$ 81.72 = \$ 1,867.138,56

Pérdida de producción por broca = 22.848 x 21.25% (pérdida de peso) =  
4855,20 Fanegas

$$\begin{aligned} \text{Pérdida monetaria por la broca} &= 4855,20 \text{ Fan} \times \$ 81,72 = \\ & \$ 396.766,94 \end{aligned}$$

Esta sería la pérdida monetaria en las 272 fincas, sino se hubieran liberado los parasitoides *P. nasuta* y *P. coffea* para el control de la broca, ya que en esas fincas no se desarrolló ningún otro control.

La inversión realizada fue de \$ 116.000 y el control ejercido por los parasitoides sobre los daños de la broca fue de \$ 87.882,54.

Podemos concluir que el margen de protección ejercido por los parasitoides fue bastante bueno y se pudieron evitar daños por más de \$ 280.766,94.

$$= \$ 396.766,94 \text{ posible pérdida sin hacer nada} - \$ 116.000 \text{ inversión}$$

Que aún eliminado el déficit que se tuvo al no recuperar toda la inversión hecha, ya que ningún control biológico e inclusive químico tiene una eficacia del cien por ciento sobre una plaga, quedando por tanto una gran ganancia de protección de la producción de \$ 252.649,48

$$= \$ 280.766,54 - \$ 28.117,46^{**} = \$ 252.649,48$$

$$^{**} \$ 28.117,46 = \$ 116.000 \text{ inversión} - \$ 87.882,54 \text{ efecto de los parasitoides.}$$

## CONCLUSIONES

1) Los parasitoides se han adaptado bien a los ecosistemas cafetaleros de zonas bajas y altas de Costa Rica.

2) Los parasitoides ejercieron un buen control de 32,66% a 52% sobre la broca, en las fincas donde se liberaron.

- a. El parasitoide *P. nasuta* se encontró en un 87,50% y *P. coffea* en un 80% en las fincas donde se liberaron.
- b. Se dio una buena dispersión de los parasitoides en las fincas evaluadas y fueron encontrados a distancias entre los 100 y 700 metros del punto de su liberación.
- c. *P. nasuta* tuvo un mayor porcentaje de dispersión que *P. coffea*, a las diferentes distancias evaluadas.
- d. Cuando se hizo la comparación de no realizar ningún control sobre la broca o liberar los parasitoides, se obtuvo una gran protección de la producción de café, debido al eficiente control ejercido por los enemigos naturales *P. nasuta* y *P. coffea* en las 272 fincas.



# MANEJO DO HABITAT PARA CONSERVAÇÃO DE INIMIGOS NATURAIS EM CAFEIROS ORGÂNICOS

**Luís Cláudio Paterno Silveira**

*Departamento de Entomologia, Campus Universitário, Universidade Federal de Lavras,  
C. postal 3037, 37200-000 Lavras, MG, Brasil, lcpsilveira@ufla.br*

## INTRODUÇÃO

Desde que o homem deixou de ser apenas coletor de alimentos e passou a cultivar a terra e armazenar recursos, observou-se uma crescente interferência deste sobre os processos naturais. Gradativamente os ambientes extremamente diversificados foram cedendo espaço à simplificação: o homem vem manejando os ecossistemas naturalmente diversificados para o exercício da agricultura, transformando-os nos chamados agroecossistemas, os quais diferem muito dos sistemas naturais (NICHOLLS et al., 1999).

A instabilidade dos agroecossistemas manifesta-se à medida que o agravamento de muitos problemas com pragas está cada vez mais relacionado à expansão das monoculturas, e à eliminação da vegetação natural, reduzindo assim a diversidade do habitat local (ALTIERI; LETOURNEAU, 1982).

Essa redução na biodiversidade de plantas e os efeitos resultantes afetam as funções dos ecossistemas, com conseqüências sobre a produtividade agrícola e a sustentabilidade dos agroecossistemas, uma vez que as características intrínsecas da auto-regulação dos ecossistemas naturais proporcionadas pela biodiversidade são perdidas em função das perturbações inerentes ao processo produtivo, as quais alcançam sua forma extrema nas monoculturas de larga escala e, assim, requerem intervenções humanas constantes. Portanto, uma estratégia-chave na agricultura sustentável é reincorporar a diversidade na paisagem agrícola e manejá-la de forma mais efetiva (GLIESSMAN, 2001; ALTIERI et al., 2003).

Hoje convivemos com os cultivos homogêneos, onde os insetos conseguem facilmente se estabelecer e multiplicar, pois se uma planta é hospedeira, todas serão. Devido a isso os organismos artrópodes que possuem seis pernas, quatro asas, duas antenas e corpo dividido em cabeça, tórax e abdome, chamados naturalmente de insetos, ganham novo status, e passam então a serem chamados de pragas. Por outro lado, os inimigos naturais, por estarem num nível trófico superior, têm menores chances de sobrevivência que as chamadas pragas, pois há menos opções alimentares, pior microclima para abrigo e menor número de hospedeiros e presas (LANDIS et al., 2000). Em suma, o ambiente

se tornou hostil para os inimigos naturais, principais responsáveis pela regulação natural dos insetos herbívoros.

É nesse sentido que as abordagens agro ecológicas procuram desenhos de sistemas agrícolas mais diversificados no tempo e no espaço, incluindo os consórcios e rotações de culturas, uso de adubos verdes, plantas de cobertura, “ilhas” de plantas espontâneas, quebra-ventos ou até desenhos complexos de natureza agro florestal. Através da diversificação dos cultivos, estimula-se a persistência de organismos benéficos como polinizadores, detritívoros, inimigos naturais, decompositores, biota do solo etc., que oferecem serviços ecológicos que vão além da produção de alimentos, fibras e energia, como o controle biológico de pragas e doenças, fixação biológica de nitrogênio, ciclagem de nutrientes, controle do microclima, regulação dos processos hídricos locais, conferindo aos sistemas diversificados maior estabilidade, resistência a perturbações e capacidade de recuperar-se de eventos de estresse (TILMAN et al., 1996; ALTIERI et al., 2003).

## FATORES QUE AFETAM OS INIMIGOS NATURAIS

Em ambientes hostis (monocultivos) diversos são os fatores que interferem na sobrevivência, permanência e multiplicação dos inimigos naturais (IN) das pragas. Por outro lado, diversos desses fatores podem ser mitigados quando se aumenta a diversidade vegetal na área.

- a) Inseticidas: aplicações de praguicidas, comuns nos monocultivos, são o principal fator de mortalidade de IN no campo. O uso de produtos seletivos (mas que realmente o sejam!), bem como a aplicação seletiva, ou seja, apenas no local onde as pragas sejam verificadas, pode ajudar a diminuir os efeitos deletérios, mas, mesmo bem manejados, os praguicidas constituem-se numa grande força contrária à sobrevivência de insetos benéficos;
- b) Microclima inadequado: a simplicidade estrutural dos monocultivos por vezes pode gerar climas localmente inadequados aos IN. Isso porque toda cultura tem sua maturação no mesmo tempo, o que faz com que grandes extensões plantadas venham a secar rapidamente e na mesma época, não havendo então microclima adequado para toda fauna benéfica que antes se abrigava nas plantas. O correto manejo da irrigação, das podas, o uso de cobertura vegetal sobre o solo nas entrelinhas, o plantio e colheita escalonados podem promover um microclima mais amigável para os organismos benéficos. Obviamente a diversificação vegetal favorecerá o surgimento de mais estruturas e microclimas diferentes num mesmo momento, funcionando como área de escape e sobrevivência para os IN;

- c) Falta de alimento para adultos: quanto mais simples a estrutura do habitat, menores as opções de alimento para adultos de IN. Sabemos que muitos predadores e parasitóides necessitam grandemente de pólen, néctar, exsudatos de plantas e outros líquidos para expressarem toda sua capacidade reprodutiva. A adição de substâncias atrativas e/ou nutritivas, como o "honeydew" artificial (hidrolisado de levedura + açúcar + água + triptofano), pulverizado na cultura principal, pode servir como alimento para estes organismos, mas isso implica em aumento dos custos. Outra alternativa, em sistemas pouco diversificados, é o polvilhamento de pólen sobre as plantas. Ao se alimentar de pólen os IN sofrem um significativo aumento em sua reprodução, mas o efeito indireto também é possível, ou seja, um herbívoro pode utilizar este recurso e, aumentando sua população, servir de hospedeiro ou presa alternativa para os IN. No entanto, estas estratégias podem fomentar o aumento de espécies-praga, sendo necessário grande cuidado em sua utilização através do conhecimento aprofundado das necessidades dos IN e dos herbívoros, e no que elas diferem. Uma estratégia mais segura é, sem dúvida, o aumento da diversidade de plantas na área agrícola, promovendo a disponibilização de alimento variado para adultos de IN;
- d) Falta de hospedeiro/presa alternativos: de maneira semelhante ao que foi citado acima, a permanência dos IN na área agrícola depende também da presença de hospedeiros ou presas. Se ocorrer grande diminuição da população da praga-alvo devido à ação dos IN, obviamente que sua permanência na cultura passa então a depender da existência de fontes alternativas de alimento não só para os adultos, mas também para as formas jovens (larvas e ninfas dos IN). Havendo diversidade vegetal sempre haverá maior chance de um IN encontrar algum recurso utilizável como presa ou hospedeiro;
- e) Assincronia de ciclos de vida: a presença de hospedeiros/presas alvo ou alternativos deve estar associada também à sincronia dos ciclos de vida destes organismos. Em ambientes pouco diversos ocorre freqüentemente que a disponibilidade destes recursos ocorra concentrada no tempo, ou seja, nem sempre um IN encontra a presa/hospedeiro na fase suscetível para que seja atacada. Ambientes diversos promovem maiores chances de que isto ocorra, ou seja, que os recursos para os IN estejam presentes em vários estádios de desenvolvimento no mesmo tempo;
- f) Poeira: ambientes devastados, sem microclima adequado, quebra ventos, manejo adequado de água etc., são muito acometidos por poeira. Sobretudo em cultivos perenes, observa-se com freqüência que em épocas secas as plantas fiquem cobertas com poeira, que é muito prejudicial a IN de pequeno porte, como os ácaros predadores, por exemplo. Testes em pomares, lavando-se as plantas na época

seca, demonstraram o efeito deletério da poeira sobre estes organismos. A manutenção de corretas práticas agrônômicas, como os quebra ventos, a cobertura do solo com palhadas ou plantas nas entrelinhas resolve facilmente este problema;

- g) Falta de abrigo: em muitos casos podem-se introduzir artificialmente abrigos para organismos benéficos, como no caso de pássaros, vespas (que nidificam em buracos) e outros. O aumento da diversidade vegetal nas áreas agrícolas aumenta grandemente as chances destes IN encontrarem algum abrigo disponível para se hospedarem;
- h) Fogo: evidentemente que o uso de fogo como prática agrícola é altamente condenável, pois seus efeitos adversos são muitos. Afeta grandemente a fauna benéfica tanto pela ação direta como pela eliminação de abrigos, de hospedeiros/presas/alimento alternativos, tornando o ambiente momentaneamente estéril.

## AUMENTO DA DIVERSIDADE VEGETAL

O aumento na diversidade de espécies de plantas no habitat pode ser usado para melhorar o manejo de pragas (ALTIERI; LETOURNEAU, 1982). Através de diferentes desenhos de arranjo espacial das plantas é possível regular as comunidades de artrópodes fitófagos, pois a manutenção e o aumento das populações de inimigos naturais irão impedir os herbívoros pragas de se alimentar, acasalar ou ovipositar (ALTIERI et al., 2003). Em função disso, as tentativas de se obter um bom manejo de pragas em sistemas agro ecológicos só serão viáveis através da incorporação de espécies vegetais com múltiplas funções, destacando-se a manutenção de recursos vitais para os inimigos naturais e a criação de barreiras físicas e/ou químicas que dificultem a localização das plantas hospedeiras pelas pragas (ALTIERI et al., 2003).

Segundo Landis et al. (2000), não são quaisquer tipos de plantas que devem ser preservadas ou introduzidas no ambiente. Esta escolha depende das necessidades dos inimigos naturais que pretendemos conservar, e portanto devemos conhecer quais os pontos-chave para estabelecer a correta diversidade. Estes pontos principais são os seguintes (GRAVENA, 1992; ALTIERI, 1994; VERKERK et al., 1998; LANDIS et al., 2000; CORTESERO et al., 2000): a) oferta de alimento alternativo para os adultos, como néctar, pólen e "honeydew", pois vários predadores e parasitóides importantes utilizam-se destas fontes complementares de alimento aumentando sua eficiência e fecundidade; b) disponibilidade de abrigo e microclima adequado para os inimigos naturais, que lançam mão destes refúgios quando as condições climáticas tornam-se estressantes, quando são aplicados inseticidas ou mesmo na presença de seus próprios inimigos naturais; c) promover condições no habitat

para que presas e hospedeiros alternativos para os inimigos naturais se estabeleçam e, quando da ausência ou diminuição da presa/hospedeiro principal, os entomófagos possam se utilizar destas espécies não-praga para se multiplicarem temporariamente; d) possibilidade de manipulação dos recursos para os inimigos naturais, através do manejo diferenciado de épocas de plantio e colheita, de podas e roçadas, etc., de modo a antecipar sua colonização no ambiente e, finalmente; e) arranjar espacialmente as plantas selecionadas de modo a favorecer a movimentação dos entomófagos na área. Diversos exemplos na literatura referem-se ao aumento de inimigos naturais em várias culturas de importância econômica utilizando-se a rotação de culturas, consorciação, cultivos em faixas e manejo de plantas nativas e espontâneas, entre outros métodos.

Diversas plantas que temos coletado têm sido identificadas como hospedeiras de IN em áreas orgânicas. Dentre as cultivadas destacam-se o cravo-de-defunto (*Tagetes patula* L.), a crotalária (*Crotalaria* sp.), o milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.], o milho (*Zea mays* L.), o sorgo (*Sorghum* spp.) e o nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.). Os principais grupos de IN encontrados habitando estas plantas são: *Orius* spp., *Geocoris* sp., *Phymata* spp., reduviídeos e nabídeos (percevejos predadores), aranhas, joaninhas, crisopídeos, parasitóides (de ovos, larvas, ninfas e adultos de diversas Ordens), *Franklinothrips* sp. e *Stomatothrips* spp. (tripes predadores) e sirfídeos. A presença destes IN representa em média, nestas plantas cultivadas, cerca de 10% de todos artrópodes presentes. No caso específico do milho, cujo pendão florido é altamente atrativo a parasitóides, esta proporção sobe para 40% de IN em comparação com os demais artrópodes coletados. Portanto, muitas plantas cultivadas podem ser utilizadas estrategicamente como reservatórios de biodiversidade em ambientes agrícolas.

Além das plantas cultivadas, podemos citar certas plantas espontâneas que, em nossas coletas em áreas sob sistema orgânico, contribuem grandemente na hospedagem de IN. São elas o assa-peixe (*Vernonia ferruginea* Less.), a braquiária (*Brachiaria decumbens* L.), o caruru (*Amaranthus* spp.), a crista-de-galo (*Heliotropium indicum* L.), a losna-branca (*Parthenium hysterophorus* L.), a maria-preta (*Solanum americanum* Mill.), o mentrasto (*Lepidium virginicum* L.) e o picão-preto. Em média 15% de todos os artrópodes presentes nestas plantas são inimigos naturais, sobretudo *Orius* spp., *Geocoris* sp., *Podisus* sp., *Phymata* spp. reduviídeos e nabídeos (percevejos predadores), aranhas, joaninhas, crisopídeos, parasitóides (de ovos, larvas, ninfas e adultos de diversas Ordens), elaterídeos, carabídeos, *Franklinothrips* sp., sirfídeos, mantídeos e ortópteros predadores.

Todas estas plantas podem ser úteis no aumento de diversidade de agroecossistemas, não só em cultivo orgânico, mas também convencional, desde

que estes sejam manejados adequadamente, ou seja, onde os fatores que afetam os IN estejam sendo controlados.

## ARRANJO ESPACIAL DAS PLANTAS

Uma vez identificadas as plantas que podem hospedar suficiente quantidade de IN, sem contudo serem excelentes hospedeiras de espécies potencialmente pragas, devemos observar como estas plantas devem ser dispostas no habitat. Dependendo dessa disposição, diferentes paisagens serão formadas, o que interferirá grandemente na eficiência dos IN, pois estes possuem também suas limitações de dispersão, capacidade de busca e localização das presas ou hospedeiros. Muitos arranjos são possíveis levando-se em conta o uso de plantas cultivadas ou espontâneas, e apenas algumas poucas possibilidades são relatadas abaixo, sobretudo aquelas que já foram testadas em algumas condições e que tiveram resultado positivo na regulação de artrópodes pragas em ecossistemas diversos.

**Cultivos em Faixas.** Podemos entender por cultivos em faixas áreas contíguas onde uma ou mais culturas são cultivadas. Quando se trata de uma única cultura, as faixas são representadas por plantios de idades diferentes ou colheitas em faixas selecionadas. Van den Bosch et al. (1982) verificaram que a colheita única em campos de alfafa levava à interrupção da fauna de artrópodes presentes e Summers (1976) comprovou que a colheita parcelada em faixas promoveu refúgio para inimigos naturais. Na mesma cultura outros exemplos existem demonstrando que a colheita alternada promove refúgio para crisopídeos, coccinelídeos e percevejos predadores (LANDIS et al., 2000).

Alguns esquemas de cultivos em faixas utilizando mais de uma cultura de interesse numa área contígua são considerados eficientes para a conservação de inimigos naturais. Gravena (1992) cita vários exemplos clássicos da utilização de faixas de culturas, como alfafa em algodão, milho em algodão e sorgo em algodão, onde o que se obteve foi a atração de joaninhas, crisopídeos, sirfídeos e percevejos predadores, dentre outros inimigos naturais, que controlaram as pragas das culturas principais. Intercalando-se faixas de sorgo de larguras variadas em campos de tomate, Gravena et al. (1984) demonstraram que, quanto maior a largura das faixas, tanto maior foi a atração de predadores de mosca-branca, e a transmissão de viroses ao tomateiro foi inversamente proporcional à largura das faixas de sorgo intercaladas na cultura.

**Manejo de Plantas Cultivadas.** Gravena (1990) refere-se ao manejo da própria cultura como meio de influenciar a colonização de inimigos naturais. Em cultura

de algodão este autor observou que a presença de pulgões como praga inicial pode ser benéfica, pois atrai para a cultura predadores generalistas que promovem o controle de outras pragas importantes, como as lagartas. Além disso, os pulgões produzem "honeydew" que atrai predadores e parasitóides. Gravena (1992) também considera que em cultivos perenes (café e citrus) a própria planta pode ser responsável pela colonização prévia e manutenção de inimigos naturais em uma área agrícola, desde que haja equilíbrio ecológico suficiente. Karban e Baldwin (1997) demonstrou haver correlação positiva entre a presença de domácias em plantas de algodão e o número de artrópodes predadores, como *Orius* sp. e *Geocoris* sp.

**Manejo de Plantas Nativas e Invasoras.** Gravena (1992) considera que a manutenção de ilhas ou faixas de vegetação nativa na área cultivada ou adjacências (em até 10% da área) é benéfica para a colonização da cultura principal por inimigos naturais. Segundo van Emden (1965) plantas invasoras com flores são importantes fontes de alimento para vários parasitóides e predadores. A pesquisa tem mostrado que o manejo destas plantas dentro ou às margens de cultivos afeta a ecologia de insetos-praga e de seus inimigos naturais, resultando em menores surtos de certas pragas em áreas com diversidade de plantas daninhas (PIMENTEL, 1961; WILLIAM, 1981; ALTIERI, 1994). Diversos autores verificaram quais características das plantas nativas e invasoras favorecem os IN.

Syme (1975) verificou que o parasitismo de *Ostrinia nubilalis* por taquinídeos aumenta quando plantas de erva-de-Santiago (*Ambrosia* spp.) estão presentes na área, pois hospedam brocas que são fontes alternativas de alimento dos parasitóides. Esta mesma planta é citada por van Emden (1965) como sendo favorável à multiplicação de vários outros parasitóides de pragas importantes.

Mantendo-se entre as plantas de couve-de-bruxelas a planta invasora *Spergula arvensis*, observou-se que as populações de lagartas e pulgões foram drasticamente reduzidas, pois aquela planta funciona como substrato de oviposição para predadores (THEUNISSEN; DEN OUDEN, 1980).

Idris e Grafius (1995) verificaram que flores selvagens servem como fonte de néctar para ichneumonídeos parasitóides de lepidópteros, no entanto a escolha das plantas deve ser cuidadosa, pois podem favorecer também as pragas. Baggen et al. (1999) verificaram em laboratório e em campo que certas plantas favoreciam, além dos parasitóides, também seus hospedeiros, enquanto outras apenas aumentavam as populações dos inimigos naturais. Päts et al. (1997) estudaram várias plantas nativas verificando que algumas delas (como o coentro, *Coriandrum sativum* L.) apresentavam flores compatíveis com os hábitos alimentares dos adultos de *Coleomegilla maculata* (Degeer) e

*Chrysoperla carnea* Stephens, que tiveram suas populações aumentadas em berinjela quando tais plantas foram mantidas no ambiente, diminuindo o número de massas de ovos e as lavas de *Leptinotarsa decemlineata* Say.

Altieri et al. (1981) estudaram um aspecto importante de plantas invasoras, que é a produção de substâncias atrativas aos IN. Os autores verificaram que o parasitismo de ovos de *Heliothis zea* por *Trichogramma* sp. foi maior em soja quando as plantas invasoras *Desmodium* sp., *Cassia* sp. e *Croton* sp., estavam próximas. Resultado semelhante foi obtido com cultivo de soja próxima ao milho se comparado à soja em monocultura. Os autores hipotetizaram que substâncias produzidas pelas plantas adjacentes à soja haviam sido responsáveis pelo maior parasitismo, por isso testaram também a pulverização da soja com extratos de plantas invasoras como *Amaranthus* sp. (caruru) e milho, observando diferença significativa no parasitismo. Deste modo confirmou-se a característica bastante interessante do ponto de vista prático de que certas plantas invasoras e cultivadas atraem IN para a cultura de interesse principal.

Em estudos de campo, Hickman e Wratten (1996) verificaram maior presença de sirfídeos em campos de cereais intercalados com faixas da planta anual americana *Phacelia tenacifolia*, que produz grandes quantidades de pólen e néctar. White et al. (1995) concluíram que, arranjando-se plantas desta espécie nas bordaduras de campos de repolho (*Brassica oleracea* L.) aumenta-se a população de sirfídeos, diminuindo-se a de afídeos. Orr et al. (1997) testaram o plantio de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) intercalado na cultura de milho e obtiveram redução da temperatura e aumento da UR na cultura, favorecendo a sobrevivência de *Trichogramma brassicae*.

Plantas invasoras servem como locais para oviposição, às vezes preferenciais em relação a plantas cultivadas. Por exemplo, a joaninha *C. maculata* prefere ovipositar em plantas de *Acalypha ostryaefolia* Ridell do que em milho, e mantendo-se bordaduras desta planta nos campos do cereal observou-se maior número de joaninhas na cultura principal (COTTRELL; YEARGAN, 1999).

A manutenção de plantas invasoras em pomares, por exemplo, favorece a presença de IN. Landis et al. (2000) citam que em laranjais, a manutenção de capim-de-rhodes (*Chloris gayana* L.) como cobertura do solo produz pólen que, carregado pelo vento, aumenta a população de ácaros fitoseídeos (predadores) na cultura perene que controlam ácaros fitófagos. Estes mesmos autores citam o exemplo inglês do "beetle banks", que são faixas de terra cultivadas com gramíneas para conservação de predadores de solo (Carabidae) em pomares. Ming-Dau et al. (1981) obtiveram resultado semelhante para

controle de ácaros em pomares mantendo-se plantas de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), conservando ácaros predadores do ácaro vermelho.

Em cultivos de crisântemo observa-se que a manutenção de plantas invasoras hospedeiras de *Orius* sp. nos arredores de casas-de-vegetação promove o controle biológico natural de tripses, reduzindo drasticamente a aplicação de inseticidas (L. C. P. Silveira e V. H. P. Bueno, informação pessoal). Segundo van Lenteren (2000) muitos parasitóides e predadores que ocorrem naturalmente no campo podem migrar para o interior de casas-de-vegetação e se estabelecerem nestes ambientes desde que condições adequadas estejam presentes.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vimos que a agricultura moderna, baseada na simplificação dos agroecossistemas, levou à eliminação de importantes fatores de regulação natural de artrópodes pragas. Em função disso, inúmeros insetos com os quais era possível conviver, transformaram-se em pragas de grande importância no meio agrícola. Felizmente, desde a década de 70 o homem tem sido alertado sobre os problemas advindos da agricultura moderna, quando desenvolvida de forma imediatista e inconseqüente. Assim, em várias partes do mundo vêm sendo desenvolvidas pesquisas que buscam resgatar o que foi perdido com a revolução verde, ou seja, há necessidade de reincorporar nos ambientes agrícolas um mínimo de diversidade.

A diversificação dos ambientes de cultivo é possível de diversas maneiras, mas sempre deve ser iniciada pela identificação de quais plantas podem ser fomentadas no agroecossistema. Sejam elas cultivadas ou espontâneas, devem atender às necessidades dos IN em detrimento das espécies potencialmente pragas. De posse dessa informação devemos testar, para cada sistema, individualmente, qual melhor disposição destas plantas de modo a criar desenhos de paisagem que maximizem a ação dos IN.

Adequando-se a diversidade dos agroecossistemas com espécies vegetais favoráveis aos IN, e dispendo-as harmonicamente na paisagem, é possível conviver com diversas espécies de artrópodes que, em monoculturas, seriam consideradas pragas. Sendo um dos países de maior diversidade de espécies em todo mundo, continuar desprezando a ajuda dos IN, que são o principal fator ecológico na regulação de pragas seria, no mínimo, insensato. Esperamos que a evolução das pesquisas neste sentido possa, cada vez mais, convencer mais agricultores a investir nos processos ecológicos naturais como a principal ferramenta para convivência harmônica não mais com as pragas, mas, simplesmente, com os insetos.

## REFERÊNCIAS

- ALTIERI, M. A. **Biodiversity and pest management in agroecosystems**. New York (USA): Haworth. 1994. 185 p.
- ALTIERI, M. A.; LETORNEAU, D. K. Vegetation management and biological control in agroecosystems. **Crop Protection**, Oxford (England), v. 1, p. 405-430, 1982.
- ALTIERI, M. A. et al. Chemical interactions between plants and *Trichogramma* wasps in Georgia soybean fields. **Protection Ecology**, v. 3, p. 259-263, 1981.
- ALTIERI, M. A.; SILVA, E. N.; NICHOLLS, C. I. **O papel da biodiversidade no manejo de pragas**. Ribeirão Preto (Brasil): Holos, 2003. 226 p.
- BAGGEN, L. R.; GURR, G. M.; MEATS, A. Flowers in tri-trophic systems: mechanisms allowing selective exploitation by insect natural enemies for conservation biological control. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxon (UK), v. 91, p. 155-161, 1999.
- CORTESERO, A. M.; STAPEL, J. O.; LEWIS, W. J. Understanding and manipulating plant attributes to enhance biological control. **Biological Control**, v. 17, p. 35-49, 2000.
- COTTRELL, T. E., YEARGAN, K. V. Factors influencing dispersal of larval *Coleomegilla maculata* from the weed *Acalypha ostryefolia* to sweet corn. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxon (UK), v. 23, p. 33-40, 1999.
- GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. 2. ed. Porto Alegre (Brasil): UFRGS, 2001. 653 p.
- GRAVENA, S. Controle biológico no manejo integrado de pragas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília (Brasil), v. 27, p. 281-299, 1992.
- GRAVENA, S. Estratégias e táticas de MIP algodoeiro no Brasil. In: SIMPÓSIO DE MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS, 1990, Jaboticabal (Brasil). **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1990. p. 1-14.
- GRAVENA, S. et al. Manejo integrado da mosca-banca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) em cultivares de tomateiro de crescimento determinado visando redução de virose do mosaico dourado. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 9, n. 1, p. 97-113, 1984.

- HICKMAN, J. M.; WRATTEN, S. D. Use of *Phacelia tanacetifolia* (Hydrophyllaceae) strips as a pollen source to enhance hoverfly (Diptera: Syrphidae) population in cereal fields. **Journal of Economic Entomology**, Lanham (USA), v. 89, n. 4, p. 832-840, 1996.
- IDRIS, A. B.; GRAFIUS, E. Wildflowers as nectar sources for *Diadegna insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of diamondback moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Environmental Entomology**, Lanham (USA), v. 24, p. 1726-1735, 1995.
- KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induced responses to herbivory**. Chicago (USA): University of Chicago Press, 1997.
- LANDIS, D. A.; WRATTEN, S. D.; GURR, G. M. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto (USA), v. 45, p. 175-201, 2000.
- MING-DAU, H.; SIU-WUI, M.; SHV-XIN, L. Biological control of citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) in Guangdong Province. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, Shimizu, v. 10, p. 643-646, 1981.
- NICHOLLS, C. I.; ALTIERI, M. A.; SANDEZ E., J. **Manual práctico de control biológico para una agricultura sustentable**. Berkeley (USA): University of California, 1999. 69 p.
- ORR, D. B. et al. Ground cover influence on the microclimate and *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) augmentation in seed corn production. **Environmental Entomology**, Lanham (USA), v. 14, p. 612-616, 1997.
- PÄTS, P.; EKBOM, B.; SKOVGARD, H. Influence of intercropping on the abundance, distribution and parasitism of *Chilo* spp. (Lepidoptera: Pyralidae). **Bulletim of Entomological Research**, n. 87, p. 507-513, 1997.
- PIMENTEL, D. Species diversity and insect population outbreaks. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham (USA), v. 54, p. 76-86, 1961.
- SUMMERS, C. G. Population fluctuations of selected arthropods in alfalfa: influence of two harvesting practices. **Environmental Entomology**, Lanham (USA), v. 5, p. 103-110, 1976.
- SYME, P. D. The effect of flowers on the longevity and fecundity of two native parasites of the European pine shoot moth in Ontario. **Environmental Entomology**, Lanham (USA), v. 4, p. 337-346, 1975.

THEUNISSEN, J.; DEN OUDEN, H. Effects of intercropping with *Spergula arvensis* on pests of Brussels sprouts. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxon (UK), v. 22, p. 260-268, 1980.

TILMAN, D.; WEDIN, D.; KNOPS, J. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. **Nature**, London (UK), v. 379, p. 718-720, 1996.

VAN DEN BOSCH, R.; MESSENGER, P. S.; GUTIERREZ, A. P. **An introduction to biological control**. New York (USA): Plenum Press, 1982. 247 p.

VAN EMDEN, H. F. The role of uncultivated land in the biology of crop pests and beneficial insects. **Scientific Horticulture**, Kent (UK), v. 17, p. 121-136, 1965.

VAN LENTEREN, J. C. Critérios de seleção de inimigos naturais a serem usados em programas de controle biológico. In: Bueno, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras (Brasil): E. UFLA. 2000b. p. 1-19.

VERKERK, R. H. J.; LEATHER, S. R.; WRIGHT, D. J. The potential for manipulating crop-pest-natural enemy interactions for improved insect pest management. **Bulletin of Entomological Research**, v. 88, p. 493-501, 1998.

WHITE, A. J. Habitat manipulation to enhance biological control of *Brassica* pests by hover flies (Diptera, Syrphidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham (USA), v. 88, n. 5, p. 1171-1176, 1995.

WILLIAM, R. D. Complementary interactions between weeds, weed control practices, and pests in horticultural crop systems. **Hortscience**, v. 16, p. 508-513, 1981.

## **CAPÍTULO 7**

# **MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ CONTROLE BIOLÓGICO ATRAVÉS DE FUNGOS**



## CONTROL BIOLÓGICO DE LA BROCA DEL CAFÉ EN COLOMBIA

**Alex Enrique Bustillo Pardey**

Centro Nacional de Investigaciones de Café - CENICAFÉ, km 4, Vía Antigua a Manizales, Manizales, Caldas, Colombia, alexe.bustillo@cafedecolombia.com

La broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytinae), es el insecto plaga más importante afectando la caficultura mundial. Este insecto fue introducido del África al continente americano a comienzos del siglo pasado y llegó sin sus enemigos nativos que regulan sus poblaciones en África. Los enemigos más importantes son cuatro parasitoides y el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. Las especies de la familia Bethyilidae: *Prorops nasuta* Waterston y *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, se han colonizado en laboratorio en Inglaterra, México, Ecuador y Colombia. En Colombia estos betílidos se introdujeron al principio de la década de los 90 y se desarrollaron procesos de producción masiva y liberación en cafetales colombianos (BUSTILLO et al., 1998).

En 1996 se introdujo también a Colombia, *Phymastichus coffea* La Salle, previa colonización en Togo y cuarentena en Inglaterra. A partir de esa época se han desarrollado estudios para su producción masiva y liberación en cafetales colombianos (OROZCO; ARISTIZÁBAL, 1996). Este parasitoides durante 1999 fue enviado de Colombia a Guatemala, Ecuador y la India a través de convenios internacionales para establecer colonias en esos países. En cuanto a *B. bassiana* los avances en la investigación son notables y el hongo a través de procesos sencillos de producción se ha distribuido en toda la zona cafetera colombiana infestada con *H. hampei* (BUSTILLO et al., 1998).

En Colombia el objetivo inicial del programa con parasitoides fue la introducción de las diferentes especies en las zonas cafeteras infestadas por la broca a manera de un control biológico clásico y un objetivo posterior fue determinar si los parasitoides pueden jugar un papel importante en un esquema de manejo integrado.

**Hongos en el control de la broca del café.** El hongo *Beauveria bassiana* se encuentra naturalmente infectando la broca en casi todas las regiones en donde la broca hace su aparición. Hasta el momento CENICAFÉ posee 102 aislamientos procedentes de diferentes países y colectados localmente, de los cuales aproximadamente la mitad han mostrado actividad contra broca. Los avances en los estudios con hongos entomopatógenos han sido muy importantes no solo para el control de la broca sino para aplicar estos conocimientos a otras situaciones de insectos- plagas en el país (POSADA; BUSTILLO, 1994).

La eficiencia de *B. bassiana* en el campo se ha experimentado ampliamente (BUSTILLO et al., 1991, 1995; BUSTILLO; POSADA, 1996; FLÓREZ et al., 1997). Los resultados son muy variables y están influenciados por condiciones climáticas y condiciones del cultivo, los niveles de control pueden fluctuar entre valores muy bajos, p. e. 20% hasta niveles del 75%. Las investigaciones sobre equipos para asperjar el hongo *B. bassiana* demostraron que este se puede aplicar eficientemente con todos los equipos disponibles para el cultivo del café, sin embargo el equipo motorizado de espalda Motax con una descarga de 60 litros/ha mostró ser muy eficiente y más económico (FLÓREZ et al., 1997).

El efecto patogénico de *B. bassiana* cepa Bb9295, se estudió bajo diferentes aspectos en condiciones de cafetales (ARCILA et al., 2006). Al evaluar el efecto de diferentes niveles de infestación de la broca se encontró que esta es independiente del porcentaje de infestación de broca. En relación con la sombra se encontró una tendencia a incrementarse la eficacia del hongo cuando se incrementa la sombra, esta posiblemente no fue más evidente debido al auto sombrío que normalmente tiene el café en altas densidades.

En cuanto a la posición de la rama en el árbol se observó un incremento en la mortalidad en las ramas bajas. Mediciones previas de la radiación fotosintética activa (RFA), mostraron que los dos tercios superiores reciben significativamente más RFA que el inferior. Al comparar la mortalidad entre la parte interna y externa de la rama no se encontraron diferencias significativas (ARCILA et al., 2006).

La permanencia ó residualidad de *B. bassiana* Bb9205 en una preparación sin formular en el cafetal, se evaluó infestando con broca las ramas del árbol el mismo día, 2, 4, 8 y 15 días después de la aspersión de Bb. El control obtenido con el hongo fue de 74%, 24%, 21%, 20% y 19% para cada caso respectivamente, mostrando una disminución en su eficacia a medida que transcurre el tiempo de su aspersión. La evaluación de cuatro dosis comprendidas entre  $1 \times 10^8$  y  $5 \times 10^9$  esporas/árbol de Bb9205 permitió encontrar que a medida que se incrementa la dosis la mortalidad sobre la broca es mayor (ARCILA et al., 2006). Se espera que el efecto de ese hongo sea mayor a medida que se desarrollen formulaciones que confieran una mayor longevidad en el ambiente a este entomopatógeno. Recomendaciones prácticas sobre su uso se presentan en Bustillo (2004).

Los avances logrados con el hongo *B. bassiana* han permitido que el mismo caficultor sea capaz de producir su propio hongo en la finca a costos muy reducidos. Este programa ha sido muy exitoso desde su inicio ya que se produjo suficiente hongo, que se distribuyó a los caficultores libre de costo durante tres años, para que pudieran inocular todas las fincas con el hongo tan pronto apareciera la broca.

El hongo *B. bassiana* se ha utilizado en casi toda la zona cafetera infestada con broca, a través de un programa de introducción patrocinado por la Federación Nacional de Cafeteros, convirtiéndose en el factor de mortalidad natural más importante de la broca en Colombia, durante 1995 se estimó que en promedio el 49% de la población total de broca murió a causa de este hongo (RUIZ, 1996).

Los desarrollos de estas investigaciones han permitido que muchos laboratorios particulares se dediquen a la producción de entomopatógenos especialmente dirigidos a la broca del café y que el hongo si no es producido en la finca, el agricultor pueda adquirirlo en alguno de estos laboratorios.

Las investigaciones actuales están dirigidas a mejorar la eficacia de estos hongos en el control de la broca. Para esto se han realizado estudios de selección y caracterización de aislamientos de *B. bassiana* y *M. anisopliae* teniendo en cuenta su morfología (PADILLA et al., 2000), su patogenicidad (JIMÉNEZ, 1992; BERNAL et al., 1994), sus características fisiológicas y de reproducción (VALDÉS et al., 1999; VÉLEZ et al., 1999, 2001) y utilizando técnicas moleculares (VALDERRAMA et al., 2000; GAITAN et al., 2002). Recientemente se está intentando la transformación genética de estos hongos con genes que incrementen su virulencia y puedan ser más eficaces en el control de la broca del café en el campo (GÓNGORA, 2000, 2005).

**Parasitoides contra la broca del café.** Con el fin de incrementar la fauna de enemigos biológicos de la broca se introdujeron tres especies de parasitoides desde África: *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, *Prorops nasuta* Waterston y *Phymastichus coffea* La Salle. La producción masiva de estas especies ha sido bien documentada (OROZCO, 1995; PORTILLA; BUSTILLO, 1995; OROZCO; ARISTIZÁBAL, 1996; BUSTILLO et al., 1996). Estos parasitoides se han liberado en los cafetales a través de actividades conjuntas con el servicio de Extensión de la Federación Nacional de Cafeteros, con el propósito inicial de establecerlos en el ecosistema cafetero y que se distribuyan a todos los cafetales infestados con la broca. Los métodos de producción aún no son lo suficientemente baratos para poder justificar su uso comercial.

Estudios de campo han mostrado la viabilidad de *C. stephanoderis* y *P. nasuta* para reducir los niveles de infestación de la broca pero utilizando relaciones altas de parasitoides que oscilan entre tres y diez parasitoides por fruto infestado (SALAZAR; BAKER, 2002; BACCA, 1999). Estos parasitoides atacan todos los estados de la broca cuando colonizan los frutos infestados. Primero matan el adulto de la broca y se alimentan de su hemolinfa, luego consumen los huevos y las larvas de primer instar y posteriormente paralizan las larvas de segundo instar, las prepupas y pupas sobre las cuales ovopositan y se desarrollan (BUSTILLO et al., 1996).

Debido a este comportamiento *C. stephanoderis* y *P. nasuta* están dirigidos a los frutos maduros, sobremaduros y secos que no fueron recolectados y se quedaron en el árbol. Por tanto, las épocas más oportunas para liberar las avispidas son al terminar la cosecha principal y después de la mitaca. Los parasitoides se liberan en los "focos" de la finca donde los niveles de infestación son más altos. No se recomienda su aplicación en forma generalizada debido a los altos costos de producción de los parasitoides (ARISTIZÁBAL et al., 1998b).

El establecimiento de los parasitoides es evidente en todas las zonas donde se han liberado. El parasitismo ocasionado por *C. stephanoderis*, es dependiente de las densidades de *H. hampei* y aumenta cuando las poblaciones de la broca son mayores (BENAVIDES et al., 1994). En estudios de campo se ha determinado que *C. stephanoderis* disminuyó significativamente el número de estados biológicos de la broca, tanto en frutos recolectados en árboles como en frutos del suelo (ARISTIZÁBAL et al., 1997).

Observaciones en Nariño después de cuatro años de realizar liberaciones de las especies *P. nasuta* y *C. stephanoderis* en cafetales del Departamento, se comprobó su establecimiento en la región. Sin embargo, *P. nasuta* demostró más adaptación al medio ya que se encontró en mayor proporción y en más lugares que *C. stephanoderis* (QUINTERO et al., 1998).

Tanto para *C. stephanoderis* como para *P. nasuta* se ha encontrado que realizan una acción depredadora sobre los adultos que se encuentran colonizando los frutos. El nivel de ataque se ha encontrado que puede variar entre un 48% hasta un 65% para *C. stephanoderis* (ARISTIZÁBAL et al., 1998a) y en el caso de *P. nasuta* estos niveles se han registrado entre el 60% y 70% de predación (BACCA, 1999).

Un programa similar se adelanta con *P. coffea*, parasitoide de adultos de la broca. Para esta especie también se ha desarrollado un proceso de producción masiva (OROZCO; ARISTIZÁBAL, 1996; OROZCO, 2002) y después de comprobar su selectividad a especies de Scolytinae (LÓPEZ-VAAMONDE et al., 1997) se autorizó su liberación en cafetales colombianos. *P. coffea* parasita el adulto de la broca que está penetrando los frutos, siendo un complemento ideal para las otras dos especies. En condiciones de campo se ha comprobado una alta capacidad de búsqueda y adaptación de *P. coffea* sobre poblaciones de la broca (VERGARA et al., 2001a; ECHEVERRY, 1999). Los estudios sobre dispersión han mostrado una buena capacidad para establecerse en el campo, aún en presencia de poblaciones de broca inferiores al 5% de infestación (VERGARA et al., 2001b).

Jaramillo et al. (2002, 2005) determinaron la capacidad de parasitismo de *P. coffea* sobre poblaciones de *H. hampei* en frutos de café de diferentes edades, la cual es mayor cuando la broca se encuentra en posiciones de

penetración en el fruto y la edad de estos esta entre los 70 y 170 días después de la floración del fruto. Por otra parte Aristizábal et al. (2004) a través de investigación participativa con caficultores demostró que estos parasitoides pueden convertirse en reguladores importantes de las poblaciones de broca en cafetales y establecerse en el ecosistema cafetero colombiano.

**Compatibilidad de los parasitoides con otros métodos de control.** Los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae*, bajo condiciones de campo, cuando se expusieron a adultos de *C. stephanoderis* y *P. nasuta* causaron mortalidades muy bajas. Los entomopatógenos y los parasitoides se pueden emplear en un programa de manejo integrado de la broca del café, donde el intervalo de tiempo entre aplicación de los hongos y liberación de los parasitoides sea de ocho días para disminuir los riesgos de infección en el parasitoide los cuales de acuerdo con este estudio fueron inferiores al 7%. El riesgo de la infección en los parasitoides se reduce si éstos se liberan antes de asperjar los hongos (REYES et al., 1995; MEJÍA et al., 2000).

En relación con el uso de insecticidas para el control de la broca se demostró que todos los productos con licencia del ICA, causan altas mortalidades a los parasitoides introducidos en los cafetales. Solo se recomienda la aspersión cuando han transcurrido como mínimo 30 días después de la liberación de los parasitoides. Si los insecticidas se asperjan primero, se deben esperar 21 días para liberar los parasitoides (GUZMÁN, 1996; BUSTILLO et al., 1998).

Para la producción masiva de parasitoides de la broca se desarrolló una metodología que permite la producción de millones de avispitas mensuales en los laboratorios de CENICAFÉ de las especies *C. stephanoderis*, *P. nasuta* y *P. coffea*. Esta información ha sido puesta a prueba y en marcha con 11 laboratorios particulares con los cuales se contrató la producción masiva para poder iniciar liberaciones masivas de avispitas en fincas cafeteras infestadas con la broca. Hasta el momento se han liberado más de 1600 millones de parasitoides en los departamentos cafeteros infestados con la broca del café. El objetivo final de este programa se ha cumplido con el establecimiento de estos parasitoides en la zona cafetera infestada con broca, incrementando así sus enemigos en los cafetales (BUSTILLO et al., 1998).

## REFERENCIAS

ARCILA, A.; BUSTILLO; A. E.; CHAVES, B. Estudio de la cepa Bb9205 de *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. **Revista CENICAFÉ**, en prensa, 2006. 20 p.

ARISTIZÁBAL, L. F. et al. Parasitismo de *Cephalonomia stephanoderis* Betrem sobre una población de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) con niveles bajos de infestación en campo. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 23, n. 3-4, p. 157-164, 1997.

\_\_\_\_\_. Efecto depredador del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyridae) sobre los estados inmaduros de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) en condiciones de campo. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 24, n. 1-2, p. 35-42, 1998a.

\_\_\_\_\_. Efecto del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyridae) sobre las poblaciones de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) durante y después de la cosecha. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 4, n. 3-4, p. 149-155, 1998b.

\_\_\_\_\_. Introducción y evaluación de *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae) en fincas de pequeños caficultores a través de investigación participativa. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 30, n. 2, p. 219-224, 2004.

BACCA, R. T. Efecto del parasitoide *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera: Bethyridae) sobre poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). 1999. 186 p. Tesis (Maestría en Ciencias Agrarias) - Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá, (Colombia), 1999.

BENAVIDES, P.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C. Avances sobre el uso del parasitoide *Cephalonomia stephanoderis* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 20, n. 4, p. 247-253, 1994.

BERNAL, M. G.; BUSTILLO, A. E.; POSADA, F. J. Virulencia de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* y su eficacia en campo sobre *Hypothenemus hampei*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 20, n. 4, p. 225-228, 1994.

BUSTILLO, A. E.; POSADA, F. J. El uso de entomopatógenos en el control de la broca del café en Colombia. **Manejo Integrado de Plagas**, Costa Rica, v. 42, p. 1-13, 1996.

\_\_\_\_\_. Un nuevo modelo de trampa para la captura de adultos de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari). **Entomólogo**, Colombia, v. 32, n. 97, p. 2-4, 2004.

BUSTILLO, A. E. et al. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 14., 1991, San Francisco (EE.UU), **Proceedings...** Paris (France): ASIC, 1991. p. 679-686.

\_\_\_\_\_. Integrated pest management to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 16., 1995, Kyoto (Japan), **Proceedings...** Paris (France): ASIC, 1995. p. 671-680.

\_\_\_\_\_. **Manejo integrado de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia.** Chinchina (Colombia): CENICAFÉ, 1998. 134 p.

\_\_\_\_\_. Producción masiva y uso de parasitoides para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*, en Colombia. **CENICAFÉ**, Colombia, v. 47, n. 4, p. 215-230, 1996.

ECHEVERRY, O. A. Determinación del impacto de *Phymastichus coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) sobre poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), en la zona cafetera. 1999. 113 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, (Colombia), 1999.

FLÓREZ, E.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C. Evaluación de equipos de aspersión para el control de *Hypothenemus hampei* con el hongo *Beauveria bassiana*. **CENICAFÉ**, Colombia, v. 48, n. 2, p. 92-98, 1997.

GAITAN, A et al. Genetic variability of *Beauveria bassiana* associated with the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. **Mycological Research**. UK, v. 106, Part 11, p. 1307-1314, 2002.

GONGORA C. E. et al. Chitinolytic enzymes from *Streptomyces albidoflavus* expressed in tomato plants: effects on *Trichoplusia ni*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxon (UK), In press, 2000.

GONGORA, C. E. 2005. Avances en conocimiento y mejoramiento del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei*. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA, 32., 2005, Ibagué (Colombia), **Memorias...** SOCOLEN, 2005. p. 27-32.

GUZMÁN, D. B. Efecto de varios insecticidas sobre el parasitoide de la broca del café *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyilidae). 131 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales (Colombia), 1996.

JARAMILLO, J.; BUSTILLO, A. E.; MONTOYA, E. C. Parasitismo de *Phymastichus coffea* sobre poblaciones de *Hypothenemus hampei* en frutos de café de diferentes edades. **Revista CENICAFÉ**, Colombia, v. 53, n. 4, p. 317-326, 2002.

JARAMILLO, J. et al. Biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) by *Phymastichus coffea* LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) in Colombia. **Bulletin of Entomological Research**, v. 95, p. 1-6, 2005.

JIMÉNEZ, J. A. Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. **Revista Cenicafé**, Colombia, v. 43, n. 3, p. 84-88, 1992.

LÓPEZ-VAAMONDE, C. et al. **Dossier on *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae, Tetrastichinae), a potential biological control agent for *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), in Colombia.** Chinchiná, (Colombia): CABI, IIBC, Ascot, (UK)/CENICAFÉ (Colombia), 1997. 23 p.

MEJÍA, J. W. et al. Efecto de cuatro insecticidas y de *Beauveria bassiana* sobre *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyilidae), parasitoide de la broca del café. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 26, n. 3-4, p. 117-123, 2000.

OROZCO, J. Uso de parasitoides de origen Africano para el control de la broca en Colombia. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIA DE ENTOMOLOGIA, 22., 1995, Bogotá (Colombia). **Memorias...** Bogotá: SOCOLEN, 1995. p. 102-108.

OROZCO, J.; ARISTIZÁBAL, L. F. Parasitoides de origen Africano para el control de la broca del café. **Avances Técnicos de Cenicafé**, Chinchina (Colombia), n. 223, 1996.

OROZCO, J. **Guía para la producción del parasitoide *Phymastichus coffea* para el control de la broca del café.** CFC -CENICAFÉ - Cabi Commodities, ICO, 2002. 19 p.

PADILLA, G. N. et al. Caracterización patogénica y morfológica de aislamientos de *Metarhizium anisopliae* obtenidos de diferentes órdenes insectiles. **CENICAFÉ**, Colombia, v. 51, n. 1, p. 28-40, 2000.

PORTILLA, M.; BUSTILLO, A. E. Nuevas investigaciones en la cría masiva de *Hypothenemus hampei* y de sus parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 21, n. 1, p. 25-33, 1995.

POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E. El hongo *Beauveria bassiana* y su impacto en la caficultura Colombiana. **Agricultura Tropical**, Colombia, v. 31, n. 3, p. 97-106, 1994.

QUINTERO, C. et al. Evidencias del establecimiento de *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae) en cafetales del departamento de Nariño, Colombia. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 24, n. 3-4, p. 141-147, 1998.

REYES, I. C.; BUSTILLO, A. E.; CHAVES, B. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* sobre el parasitoide de la broca del café, *Cephalonomia stephanoderis*. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 21, n. 4, p. 199-204, 1995.

RUIZ, R. Efecto de la fenología del fruto del café sobre los parámetros de la tabla de vida de la broca del café; *Hypothenemus hampei* (Ferrari). 1996. 87 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales (Colombia), 1996.

SALAZAR, H. M.; BAKER, P. S. Impacto de liberaciones de *Cephalonomia stephanoderis* sobre poblaciones de *Hypothenemus hampei*. **Revista Cenicafé**, Colombia, v. 53, n. 4, p. 306-316, 2002.

VALDERRAMA, A. M.; CRISTANCHO, M. A.; CHAVES, B. Análisis de la variabilidad genética del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* con marcadores RAPD. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 26, n. 1-2, p. 25-30, 2000.

VALDÉS, B. E.; VÉLEZ, P. E.; MONTOYA, E. C. Caracterización enzimática y patogenicidad de aislamientos de *Beauveria bassiana* sobre la broca del café. **CENICAFÉ**, Colombia, v. 50, n. 2, p. 106-118, 1999.

VÉLEZ, P. E. et al. Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de la colección de CENICAFÉ. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 25, n. 3-4, p. 191-207, 1999.

\_\_\_\_\_. Caracterización de aislamientos de *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café. **Manejo Integrado de Plagas**, Costa Rica, v. 62, p. 38-53, 2001.

VERGARA, J. D. et al. Biología de *Phymastichus coffea* en condiciones de campo. **Revista Cenicafé**, Colombia, v. 52, n. 2, p. 97-103, 2001a.

\_\_\_\_\_. Dispersión de *Phymastichus coffea* en un lote de café infestado de *Hypothenemus hampei*. **Revista Cenicafé**, Colombia, v. 52, n. 2, p. 104-110, 2001b.



## UTILIZAÇÃO DE *Beauveria bassiana* NO MANEJO DA BROCA-DO-CAFÉ NO BRASIL

Pedro M. O. J. Neves

Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina - UEL, C. postal 6001, 86051-970 Londrina, PR, Brasil, pedroneves@uel.br

### INTRODUÇÃO

Dentre os diferentes problemas fitossanitários do cafeeiro destaca-se a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (FERRARI, 1867), que é uma das principais pragas da cultura em praticamente todas as regiões produtoras e que, em elevadas populações, provoca reduções quantitativas e qualitativas na produção (SOUSA; REIS, 1997).

O controle da broca é realizado, principalmente, através do uso de produtos químicos contendo como ingrediente ativo o endossulfam. Porém, o contínuo uso destes produtos possibilita o aparecimento de resistência (BRUN et al., 1989), além de provocar problemas de contaminação ambiental, dos alimentos, do produtor e a eliminação de inimigos naturais da broca e de outras pragas. O controle biológico da broca é feito por predadores, parasitóides e por doenças. Entretanto, hoje no Brasil somente o fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. está disponível para o controle deste inseto. Assim, principalmente nos sistemas de produção orgânicos, esta é a única alternativa de controle biológico a ser inserida no manejo das populações de broca. Este fungo ocorre naturalmente controlando as populações da praga. Estudos, principalmente de laboratório e alguns de campo, têm mostrado e confirmado o seu potencial como agente de controle de populações da broca-do-café, principalmente quando inserido no manejo das populações (FERNANDES et al., 1985; BUSTILLO et al., 1991; NEVES; HIROSE, 2005).

Entretanto, na maioria das vezes, *B. bassiana* é utilizado como simples substituto do controle químico, esperando-se que o fungo sozinho tenha níveis de eficiência semelhantes aos obtidos pelos inseticidas, com uma simples substituição do produto químico pelo biológico. Também, na maioria dos casos, não se leva em consideração que o fungo é um organismo vivo e que pode ser eliminado ou perder sua viabilidade. Assim, é primordial que o fungo seja utilizado como mais uma ferramenta no manejo das populações de broca-do-café num sentido holístico e não linear considerando que qualquer ação dentro do manejo fitossanitário e cultural vai influenciar em maior ou menor grau todos os agentes de controle biológico, pragas e doenças e que a sua utilização deve ser mais um componente no manejo de pragas do cafeeiro. Também, é

importante que o técnico e o produtor considerem, entre outras coisas, que a presença da praga na lavoura, quando em baixos níveis, não significa necessariamente perda econômica, pois possibilita “alimento” para o fungo ou outros inimigos naturais que se mantém controlando o inseto.

### **MODO DE AÇÃO DE *B. bassiana***

O fungo *B. bassiana* tem um estágio de desenvolvimento, os conídios, específico para disseminação e para início da infecção (ALVES, 1998). Na maioria dos casos o fungo penetra nos insetos por contato. Quando viável germina sobre o inseto e por ação química e física atravessa a cutícula e penetra na cavidade geral do corpo. Posteriormente, com o objetivo de se reproduzir, o fungo atravessa o corpo do inseto e produz conídios em grande quantidade que vão ser responsáveis pela disseminação e infecção completando o ciclo. Pelo modo de ação do fungo pode-se observar que a fase mais exposta e vulnerável é a de formação de conídios. No período entre sua produção e a germinação sobre um novo hospedeiro podem ser desativados por diferentes fatores como os agroquímicos, a radiação solar, a temperatura, a umidade e a chuva entre outros (ALVES; LECUONA, 1998). Assim, os conídios do fungo, tanto aplicados como os de ocorrência natural devem ser protegidos da ação deletéria desses agentes desativadores o que é chamado de controle biológico conservativo.

As brocas mortas pelo fungo, que esporulou, ficam geralmente na coroa do fruto e com o corpo branco. Uma broca morta dessa forma pode produzir mais de um milhão de conídios (NEVES; HIROSE, 2005), que devem ser mantidos vivos para que façam o controle sem custos para o produtor. Para que ocorra esporulação é necessário que o ambiente esteja úmido. Assim, a observação do número de insetos com sintomas de morte pelo fungo (coloração branca) nem sempre é um bom parâmetro para avaliar a sua eficiência de controle, que é melhor avaliada através da quantificação do dano por amostragem de frutos atacados e com presença de broca.

### **VANTAGENS E DESVANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DO FUNGO E DO INSETICIDA**

A única vantagem importante que se pode atribuir ao uso de inseticidas é que são produtos relativamente eficientes para matar os insetos. Entretanto, têm “efeitos colaterais” muito prejudiciais, como a toxicidade ao homem e ao meio ambiente. Matam os insetos benéficos predadores e parasitóides e muitas vezes desativam e diminuem a eficiência dos entomopatógenos que estão controlando as pragas “gratuitamente” para o produtor.

Já os fungos em geral, como *B. bassiana*, têm a desvantagem de apresentar níveis de eficiência menores que os inseticidas quando utilizados como simples substitutos destes. Por outro lado não são tóxicos ao produtor, ao consumidor e ao meio ambiente. Seu impacto sobre os agentes de controle biológico das pragas é praticamente nulo, podendo ser utilizados juntamente com estes agentes de controle. Mantém-se na lavoura controlando o inseto mesmo após a aplicação e não contaminam os alimentos. Finalmente, são tecnologias sustentáveis energeticamente e ambientalmente e podem ser facilmente produzidos inclusive em propriedades e cooperativas de agricultores, agregando valor em cultivos orgânicos e na produção integrada.

### ***B. bassiana* NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ**

**Ocorrência.** As primeiras citações sobre fungos entomopatogênicos atacando a broca-do-café no Brasil datam de 1930, quando Neiva e Avena-Saccá (1930) citaram a ocorrência natural de um entomopatógeno que foi inicialmente descrito como *Botrytis stephanoderes*. Estes autores observaram até 50% de parasitismo natural pelo fungo. Recomendaram aos agricultores deixar nos ramos os grãos com brocas parasitadas pelo fungo.

Posteriormente, com o advento e uso intensivo de produtos químicos sintéticos como os organoclorados, somente a partir da década de 1980 o fungo volta a ser estudado e pesquisado para o controle da broca, sendo observada a sua ocorrência no litoral e norte do Paraná (VILLACORTA, 1984), região serrana do Estado da Bahia (MATIELLO; FERNANDES, 1989), no Espírito Santo (BENASSI, 1995), em Minas Gerais (SOUSA; REIS, 1997), e mais recentemente em Rondônia (COSTA et al., 2000). Entretanto, este fungo ocorre provavelmente em todas as regiões produtoras de café no Brasil.

Fora do Brasil, Bustillo (1990) cita que *B. bassiana* é encontrada parasitando a broca em Java, Sri-Lanka, Uganda, Camarões, Jamaica, México, Equador e Colômbia. A sua ocorrência é também citada em Honduras, Guatemala e Nicarágua (BARRIOS, 1992).

**Manutenção da viabilidade do fungo.** A manutenção dos conídios viáveis, ou seja, vivos é essencial para a eficiência de controle. Assim, o produtor ou técnico deverá adotar todas as medidas possíveis para conservar o fungo vivo. Estas medidas podem ser de dois tipos:

### **MANUTENÇÃO DA VIABILIDADE DO PRODUTO COMERCIAL**

Somente devem ser adquiridos produtos com qualidade (registrados). Deve-se observar se o rótulo é completo e está dentro das normas legais. O

transporte deve ser em condições refrigeradas (5°C) e nunca transportar o produto quando a temperatura for superior a 25°C e recebendo luz direta. O armazenamento na propriedade também deverá ser feito sempre em ambiente de geladeira (abaixo de 5°C). Se isto não for possível, deve-se utilizar locais sombreados e arejados, onde a temperatura ambiente não seja muito elevada. Nestes casos o produto deve ser aplicado o mais rápido possível, evitando a queda da viabilidade devendo o fungo ser adquirido somente próximo à época de aplicação.

## MANUTENÇÃO DA VIABILIDADE DO INÓCULO NA LAVOURA (CONSERVAÇÃO)

Mesmo em situações onde o produto não é aplicado, mas está presente na lavoura, estas medidas devem ser sempre adotadas, pois o fungo permanece no campo multiplicando-se sobre os insetos infectados. A conservação no campo pode ser realizada pela manipulação do ambiente, procurando minimizar a ação dos fatores que matam o fungo, como a radiação e a temperatura elevadas (ALVES; LECUONA, 1998) como pelo cultivo adensado e pelo sombreamento ou arborização. Outro aspecto importante na manutenção do inóculo na lavoura é a utilização de produtos fitossanitários que não diminuam a viabilidade de *B. bassiana*, principalmente quando pulverizados, pois vão atingir a parte aérea da planta onde a broca e os conídios estão presentes. Na cultura do cafeeiro os produtos mais utilizados são os fungicidas, principalmente para o controle de doenças como a ferrugem *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola*. Estes produtos são importantes fatores de redução da viabilidade de *B. bassiana*. Além dos fungicidas, os inseticidas e herbicidas eliminam também os fungos entomopatogênicos. Isto é válido tanto para os produtos utilizados em agricultura convencional como em orgânica, em que caldas empregadas com diferentes objetivos podem também ser deletérias para os conídios do fungo. Além da escolha de produtos compatíveis, a seletividade pode ser conseguida evitando-se o contato dos produtos com o fungo ou espaçando a aplicação do fungo da aplicação destes produtos. Por exemplo, a aplicação de produtos inseticidas e fungicidas granulados de solo, tem um pequeno impacto sobre o fungo (D'ANTONIO et al., 1994; ALVES et al., 1995). A diminuição do uso de fungicidas pode também ser conseguida utilizando variedades resistentes à ferrugem como IAPAR 59, IPR 98, Obatan, Oeiras e Tupi (MATIELLO; ALMEIDA, 2004). Nunca se deve misturar o fungo e outro produto na mesma aplicação. Outra alternativa é aplicar os produtos não compatíveis somente nas áreas em que realmente exista necessidade e não em área total. É também importante lembrar que os equipamentos para aplicação do fungo não devem conter resíduos de produtos que possam diminuir a sua viabilidade. Na Tabela 1 estão

listados os principais inseticidas, fungicidas, herbicidas, espalhantes e outros produtos utilizados na cultura do cafeeiro no Brasil e o seu efeito na germinação dos conídios de *B. bassiana*.

**Modos de utilização do fungo no MIP-BROCA.** É importante que o produtor e o técnico tenham em mente que existem talhões e áreas de maior incidência da broca. O nível de infestação dos diferentes talhões pode ser avaliado por amostragens seguindo as recomendações de Sousa e Reis (1997). Assim, o produtor deve concentrar seus esforços de controle nestas áreas empregando todos os métodos e técnicas disponíveis, além das aplicações do fungo. Pode-se também, aumentar o número de aplicações do fungo e a concentração de conídios nas caldas de pulverização bem como, em áreas convencionais, aplicar inseticida sintético para diminuição da população antes de iniciar o manejo da broca utilizando o fungo. Geralmente, os talhões mais velhos, em baixadas mais úmidas, mais adensadas são mais infestados por broca (SOUSA; REIS, 1997). Estas são também as condições mais favoráveis à ocorrência do fungo facilitando a sua eficiência e estabelecimento após as aplicações.

**Apliação direta na lavoura.** Na aplicação do fungo a campo é importante que o produtor consiga que a calda atinja os locais da planta com maior concentração de broca. Estes locais são os mais internos e mais baixos na planta, justamente por serem os mais sombreados e úmidos e preferidos pelo inseto (SILVA et al., 2004). Assim, deve-se utilizar uma pressão de pulverização que possibilite atingir o interior da planta. Neste caso, os pulverizadores costais motorizados são mais eficientes, sendo empregado um volume de calda suficiente para molhar, principalmente os frutos da parte interna, sem ocorrer escorrimento. É muito importante também que a calda fique sob agitação. Assim, evita-se a deposição dos conídios no fundo do tanque de pulverização. O tanque do pulverizador deverá ser muito bem lavado para evitar a morte dos conídios por resíduos de produtos prejudiciais ao fungo, principalmente fungicidas.

No preparo da calda pode ser necessário fazer uma pré-mistura em balde ou outro recipiente, devendo-se seguir as recomendações do fabricante. No caso de haver necessidade de se utilizar um espalhante, óleo mineral ou vegetal deve-se escolher produtos compatíveis com o fungo (Tabela 1). A aplicação via líquida deverá ser feita logo após o preparo da calda, pois a partir daí pode iniciar-se a germinação dos conídios, comprometendo a eficiência do controle.

Com relação às doses a serem utilizadas a campo, estas devem ser as recomendadas pelo fabricante do produto, pois dependem da concentração de conídios por mL/grama de formulação, da viabilidade e da virulência da raça do fungo. Entretanto, deve-se sempre utilizar a dose por litro de calda, e

não por área, uma vez que diferentes lavouras poderão ter diferentes números de plantas em função de espaçamento, idade, cultivar, etc. Entretanto, dependendo da infestação da área e da recomendação do fabricante, doses maiores podem ser empregadas. Assim, por exemplo, para o Produto X que tem 100.000.000 conídios viáveis/grama ( $1 \times 10^8$ ) devemos utilizar, no mínimo, 10 gramas/L ( $1 \times 10^9$ )  $\Rightarrow$  1 Kg/100 L ou 2Kg/200 L. Mesmo existindo dados publicados e recomendações de produtos comerciais são necessários mais

**Tabela 1.** Efeito de diferentes produtos (inseticidas/acaricidas, fungicidas, herbicidas e espalhantes) na germinação de conídios do fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

Nome comercial/ formulação	Ingrediente ativo	Grupo químico	Porcentagem de germinação*
Inseticidas/Acaricidas			
Actara 10 GR	Tiametoxan	Neonicotinóide	++
Baytroid 50 CE	Ciflutrina	Piretróide	+++
Citrex 240 SC	Clorfenapir	Análogo de pirazol	--
Decis 50 SC	Deltametrina	Piretróide	-
Dimetoato 400 CE	Dinetoato	Organofosforado	---
Dissulfan 350 CE	Endossulfan	Clorociclodieno	---
Fastac 100 EC	Alfa-cipermetrina	Piretróide	+++
Hosthation 400 BR	Triazofós	Organofosforado	---
Karate Zeon CS	Lambda-cialotrina	Piretróide	--
Kendo 50 SC	Fenproximoato	Ácido ariloxialcanóico	-
Lorsban 480 BR	Clorpirifós	Organofosforado	---
Meotrin300	Fenpropatrina	Piretróide	+
Microsol 520 SC	Enxofre	Inorgânico	---
Ofunack 400 SE	Piridafentiona	Organofosforado	--
Parsec 200 EC	Amitraz	Bis(arilformamidina)	--
Partner 500 SC	Oxido de fenbutatina	Organoestânico	--
Peropal 250 PM	Azociclotina	Organoestânico	--
Rufast 50 SC	Acrinatrina	Piretróide	++
Sanmite 200 EC	Piridabem	Piridazinona	--
Savey 500 PM	Hexitiazoxi	tiazolidinacarboxamida	-
Sipcatin 500 SC	Tiazolidinacarboxamida	Organoestânico	--
Thiodan 350 CE	Endossulfan	Clorociclodieno	---
Tracer 480 SC	Espinosade	Espinosinas	+++
Turbo 50 CE	Beta-ciflutrina	Piretróide	--
Vertimec 18 CE	Abamectina	Avermectinas	+++

\* (---) 0% ; (--) até 25%; (-) 26-50%; (+) 51-60%; (++) 61-79%; (+++) 80-100%.

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome comercial/ formulação	Ingrediente ativo	Grupo químico	Porcentagem de germinação*
Fungicidas			
Amistar 500 WG	Azoxistrobina	Estrobilurina	---
Bayfidan 250 CE	Triadimenol	Triazol	---
Cobre Sandoz BR	Oxido cuproso	Inorgânico	---
Dithane 800 PM	Mancozebe	Ditiocarbamato	---
Folicur 250 PM	Tebuconazole	Triazol	---
Hokko Cupra 500	Oxicloreto de cobre	Inorgânico	--
Monceren PM	Pencicuron	Feniluréia	-
Tilt CE	Propiconazole	Triazol	---
Rovral SC	Iprodiona	Dicarboximida	+
Herbicidas			
Ametron WP	Ametrina+ Diuron (155/240 g/l)	Triazina + uréia	---
Aminol SL	2,4 - D	Ac. ariloxialcanóico	+++
Atrazinax	Atrazina	Triazina	-
Dessecan	MSMA	Organoarsênico	+++
Devrinol PM	Napronamida	Alcanamida	--
DMA 806 BR	2,4 - D	Ac. ariloxialcanóico	---
Fortex SC	Diuron+Msma	Uréia + organoarsênico	---
Fusilade 125 EC	Fluazifop-P-Butílico	ácido ariloxifenoxipropiônico	-
Gesapax 500	Ametrina	Triazina	-
Goal	Oxifluorfen	Éter difenílico	+++
Gramocil	Diuron + dicloreto de paraquate	Uréia + biperidílio	---
Gramoxone	Dicloreto de paraquat	Biperidílio	--
Herbi-D	2,4 - D	Ac. ariloxialcanóico	---
Herbipak 500 BR	Ametrina	Triazina	+++
Herburon 500 BR	Diuron	Uréias	++
Karmex	Diuron	Uréias	-
Reglone	Dibrometo de diquate	Biperidílio	++
Roundup SL	Glifosato	Glicina substituída	--
Sencor 480	Metribuzin	Triazinona	++
Zapp SL	Glifosato sal de potássio	Glicina substituída	+++

\*(-- --) 0% ; (--) até 25%; (-) 26-50%; (+) 51-60%; (++) 61-79%; (+++) 80-100%.

Continua.

Tabela 1. Continuação.

Nome comercial/ formulação	Ingrediente ativo	Grupo químico	Porcentagem de germinação*
Espalhantes e óleos minerais/Vegetais			
Assist EC	Hidrocarboneto alifático	Acaricida/Adjuvante /Inseticida	+++
Attach EC	Hidrocarbonetos alifáticos saturados provenientes da destilação do petróleo	Adjuvante	+++
AgniqueCSO 40-B	Óleo Vegetal Etoxilado	Tensoativo	+++
Agnique ESO 81-B	Óleo Vegetal Epoxilado	Tensoativo	+++
Agral	Nonil Fenoxi Poli etanol	Espalhante adesivo	+++
Dash HC EC	Mistura de ésteres, hidrocarboneto, ácido graxo insaturado e tensoativo	Adjuvante	+++
Dyrol EC	Hidrocarboneto alifático	Adjuvante/inseticida	+++
Extravon	Alquil-fenol-poliglicoléter	Espalhante adesivo	+++
Iharol EW	Hidrocarboneto alifático	Acaricida/Adjuvante /Inseticida	+++
Joint Oil EC	Mistura de hidrocarbonetos	Adjuvante	+++
Max Óleo EC	Ésteres de ácidos graxos com glicerol	Espalhante adesivo	+++
Natur Óleo EW	Ésteres de ácidos graxos	Espalhante adesivo /Inseticida	+++
Nimbus EC	Óleo mineral parafínico	Adjuvante	
Óleo Vegetal Nortox EC	Ésteres de ácidos graxos	Adjuvante/inseticida	++
OPPA-BR -CE EC	Hidrocarbonetos alifáticos	Inseticida	++
Veget Oil EC	Ésteres de ácidos graxos (óleo vegetal)	Espalhante adesivo /Inseticida V	+++
Outros produtos			
EM - 4	Fundação Mokiti Okada - MOA	Microrganismos	+++
Óleo de nim	Sementes de <i>Azadirachta indica</i>	azadiractina	+
Supermagro	IBD**	Calda fermentada	+++
Multibion	Mistura de ervas de ação inseticida	Calda de ervas	++

\*(-- ) 0% ; ( - ) até 25%; ( - ) 26-50%; ( + ) 51-60%; ( ++ ) 61-79%; ( +++ ) 80-100%.

\*\* Instituto Biodinâmico de Desenvolvimento Rural - IBD

Obs. Produtos inseticidas e fungicidas sistêmicos utilizados como granulados de solo apresentam seletividade ecológica por não entrarem em contato com a superfície das diferentes estruturas da parte aérea da planta.

estudos de validação da tecnologia a campo, principalmente dentro de um MIP-BROCA. Um aspecto importante na utilização do fungo é que a avaliação da eficiência de controle deve sempre ser feita amostrando-se os frutos atacados ou perfurados, ou seja, o dano nos frutos, pois nem sempre os insetos que morreram pelo fungo vão apresentar o principal sinal da doença que é a esporulação sobre o inseto morto. Isto somente vai ocorrer se as condições de umidade forem favoráveis. Nas aplicações a campo é importante considerar que existe uma dose mínima, mas doses maiores, e maior número de aplicações podem ser empregadas em áreas ou talhões mais infestados. Assim, fica evidente a importância de se conhecer a ocorrência da broca nos diferentes talhões da propriedade.

**Utilização das armadilhas de cairomônio.** As armadilhas de cairomônio (VILLACORTA et al., 2001) podem ser utilizadas na lavoura e no terreiro, neste último caso na colheita, para o controle e contaminação da broca pelo fungo.

Para captura massal recomenda-se colocar água e detergente líquido, na parte de baixo da armadilha onde as brocas cairão e morrerão afogadas. Para renovação da água com detergente basta retirar a tampa da garrafa. As armadilhas podem ser modificadas para utilização com o fungo com o objetivo de contaminar e liberar os insetos. Neste caso a armadilha é construída do mesmo modo, entretanto, na parte interna da região inferior da armadilha "gargalo" até ao início da abertura, que ficaria com água para a captura massal, deve-se passar uma lixa grossa (N<sup>o</sup> 80 para pinturas). A região lixada deve então ser impregnada com os conídios do fungo utilizando um pedaço de esponja limpo e seco. Assim, os insetos atraídos ao caírem no fundo da armadilha entram em contato com o fungo e são contaminados. Neste caso também, a tampa deverá ser retirada quando da colocação da armadilha no campo para que os insetos sejam liberados e venham a morrer na lavoura. Ocorrendo esporulação sobre os insetos o fungo estará sendo disseminado, aumentando o inoculo no campo. Estudos mostraram que de 99% a 100% dos insetos capturados e contaminados em armadilhas morrem pela ação do fungo (BATISTA FILHO et al., 1988). No caso de chuvas ou renovação do fungo, que tem de ser feita semanalmente, a armadilha deverá ser limpa de preferência com álcool, na região onde é aplicado o fungo, e após completamente seca, deverá ser passado o fungo novamente, como descrito. Poucos estudos existem sobre o número de armadilhas a ser utilizado por hectare. Entretanto, Villacorta et al. (2001) recomendam o uso de 25 armadilhas/ha espaçadas 20 metros na linha e entre ruas.

**Armadilhas na lavoura.** Na lavoura as armadilhas podem ser utilizadas durante

toda a safra fazendo parte de um sistema de manejo para o controle da broca. Na entressafra, após a colheita, elas também são eficientes na coleta dos insetos que permaneceram nos frutos caídos ou que ficaram nas plantas. Nesta época as armadilhas têm maior poder de atração, pois não têm “concorrência” com os frutos que estão presentes durante a safra. Poderíamos fazer uma analogia com uma lâmpada acesa durante o dia (armadilha na safra) e durante a noite (armadilha na entre safra). Assim, as armadilhas podem, parcialmente, fazer as vezes do repasse que é uma das principais praticas culturais de controle da broca como citado por Quezada e Urbina (1987) e Sousa e Reis (1997). Benassi (2000) constatou em *Coffea canefora* cv. Conilon que, em média, 91% dos frutos deixados na planta e 58,8% dos frutos caídos ao solo estavam brocados. Constatou também que o número médio foi de 12,8 e 5,3 brocas adultas vivas por fruto, nos frutos deixados nos ramos e no solo, respectivamente. Entretanto, as capturas na entressafra somente ocorrem quando existe umidade e temperatura adequadas para o vôo das fêmeas. Geralmente, dependendo da região, esta é a época mais seca do ano. No caso de utilização do fungo, as armadilhas podem ser montadas como descrito acima, não se coletando os insetos, mas contaminando-os com o fungo e deixando-os morrer no campo, aumentando o inóculo e a disseminação de patógeno. É importante que as armadilhas sejam colocadas no campo logo após a colheita e ali fiquem até ao início da safra seguinte. Em áreas muito grandes, o produtor pode movimentar as armadilhas a cada três a quatro dias “varrendo” toda a lavoura. Após cobrir toda a área, volta em sentido contrário “varrendo” até ao final da lavoura, repetindo esse vai-vem até aos 90 dias após a principal florada.

**Armadilhas no terreiro.** A colheita pode retirar do campo até 74% dos diferentes estágios da broca (MORENO, 1998). Quando no terreiro de secagem, pela ação do calor e pela diminuição da umidade no grão, muitas brocas morrem, principalmente nos estágios imaturos. Entretanto, uma grande quantidade de fêmeas adultas pode deixar os frutos e voltar para a lavoura. Assim, a colocação das armadilhas no terreiro visa evitar que elas voltem para a lavoura, capturando e matando as fêmeas adultas ou contaminando-as para que morram na lavoura e disseminem o fungo, como descrito no item anterior. Estudos mostraram que a broca é capturada em grandes quantidades no terreiro (OKUMURA et al., 2003; PASSAGNOLO, 2004). Em alguns experimentos de captura de adultos em terreiro de secagem, nas primeiras 24 horas, foram capturados em média 2.248 adultos por armadilha, sendo a maior captura de 6.938 adultos em uma única armadilha (PASSAGNOLO, 2004). Estas armadilhas devem ser mantidas no terreiro, na tulha, no secador e no lavador até ao final da colheita. Nos dias mais quentes e úmidos as coletas são maiores (OKUMURA et al., 2003). Poderão

ser utilizadas armadilhas para captura e morte dos insetos e para inoculação e disseminação do fungo. Neste ultimo caso o fungo deverá ser passado na parte inferior das armadilhas onde as brocas depois de contaminadas serão liberadas morrendo na lavoura e disseminando o fungo. As armadilhas com fungo deverão ser lavadas, como descrito no item anterior, a cada três dias ou sempre que chover. Se protegidas contra a radiação solar e chuva, por algum tipo de cobertura, poderão ser limpas semanalmente.

**Quando iniciar o controle da broca.** Este é um assunto ainda não totalmente definido pela pesquisa. Entretanto, com base nos conhecimentos atuais, recomenda-se que as armadilhas devam ser empregadas durante todo o ciclo da cultura ou nos terreiros, com maior atenção ao seu uso na entressafra. A aplicação do fungo na lavoura em pulverização ou polvilhamento deve ser iniciada quando 1% a 2% dos frutos estiverem atacados pela broca, em amostragens realizadas quinzenalmente a partir dos 40 a 60 dias após a principal florada. Murillo (1998) recomenda o início do controle também neste nível de infestação, mas somente a partir dos 90 a 100 dias após a florada. Sousa e Reis (1997) recomendam que as amostragens, para a avaliação do nível de controle, sejam feitas dividindo a lavoura em talhões de 1.000 a 5.000 covas. Iniciando-se pela bordadura são coletados, no terço médio e inferior da planta, até 100 frutos por cova, de preferência os frutos maiores "chumbões". O número de covas a serem amostradas varia de acordo com o tamanho do talhão, sendo de no mínimo 30 para talhões de até 1.000 covas, 50 de 1.000 a 3.000 covas, 75 de 3.000 a 5.000 covas e 1,5% das covas para talhões acima de 5000 covas. Após a amostragem, misturar os frutos e retirar até 3.500 observando a porcentagem de broqueados.

A partir da segunda amostragem os frutos deverão ser abertos e anotados como atacados somente quando tiverem insetos vivos. A divisão dos talhões deve considerar grupos de plantas homogêneas quanto ao espaçamento, variedade, idade das plantas, face de exposição, partes mais baixas da lavoura. Entretanto, esta metodologia é para grandes áreas e para utilização do controle químico. Para o uso do fungo o produtor poderá dividir sua área de acordo com diferentes níveis de infestação e concentrar as medidas de controle em algumas áreas mais atacadas.

Preventivamente, as aplicações podem ser realizadas a cada 30 dias até os frutos começarem a entrar no estágio cereja, mas em áreas mais infestadas deve-se aplicar a cada 15 dias. Em lavouras ou talhões mais velhos e mais infestados deve-se aumentar o número de aplicações, bem como colocar maior número de armadilhas para captura ou disseminação. Também nestas áreas pode-se utilizar o controle químico para baixar as populações da broca e depois implementar o MIP-BROCA. Os estudos para determinação da melhor época de

aplicação e dos níveis de controle devem ser melhor investigados a campo, pois são poucos os experimentos de validação destas informações.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pelas informações apresentadas e discutidas anteriormente observa-se que existe a necessidade de muita pesquisa para o desenvolvimento de tecnologia de utilização de *B. bassiana* no controle da broca-do-café *H. hampei*. Os estudos mostram que o fungo atua de forma bastante eficiente em laboratório, mas sua eficiência a campo é bastante variável e ainda pouco estudada. Assim, com as informações disponíveis a tecnologia de uso do fungo deverá ser inserida numa estratégia de manejo como mais uma ferramenta juntamente com as outras práticas que têm o objetivo de diminuir a população da praga a níveis economicamente aceitáveis. São necessários estudos para validação a campo deste manejo integrado. Entretanto, o produtor deve, juntamente com o técnico, observar e testar em sua propriedade quais as técnicas que têm melhores resultados na diminuição das populações. Devem também considerar que a lavoura não é homogênea devendo ser dividida em glebas e estas em talhões homogêneos sendo cada um monitorado e manejado de forma específica. Dessa forma, os recursos serão otimizados e os gastos minimizados. Também é importante que exista uma visão global e não simplista do manejo da cultura e do manejo fitossanitário em que se consideram as doenças e as pragas, e no qual está incluído o controle da broca-do-café. Resumidamente, podemos listar como as principais práticas a serem utilizadas no MIP-BROCA as seguintes:

- controle cultural através de colheitas bem feitas com repasse e varrição, sombreamento e arborização;
- controle direto ou inoculação e disseminação da broca através de armadilhas com cairomônio na safra e principalmente na entressafra e no terreiro;
- pulverização do fungo, utilizando produtos registrados e armazenados de forma adequada, visando atingir a parte interna das plantas, e na entressafra nos frutos remanescentes nas plantas e caídos ao solo após a colheita;
- utilização de variedades resistentes a doenças, principalmente a ferrugem, diminuindo a necessidade de aplicação de fungicidas que matam o fungo entomopatogênico;
- utilização de produtos, inseticidas, fungicidas e herbicidas compatíveis ou de baixo impacto na viabilidade do fungo. Quando possível utilizar

- produtos sistêmicos granulados, que aplicados no solo são menos prejudiciais à sobrevivência do fungo;
- colheita seletiva, deixando na planta os frutos com brocas que apresentem os sintomas de parasitismo pelo fungo;
  - iniciar a colheita pelas áreas mais atacadas pela broca.

A adoção de uma ou de várias destas recomendações vai depender da viabilidade econômica bem como das condições de cada um dos talhões. Nos talhões com maiores infestações deve-se utilizar maior número de medidas de controle bem como maior número de aplicações do fungo.

É também importante ressaltar que a cultura do cafeeiro é cultivada desde o Paraná até Rondônia, passando por regiões edafoclimáticas muito diferentes e utilizando cultivares e até espécies de cafeeiro diferentes como *C. canephora* e *Coffea arabica* que têm diferentes níveis de susceptibilidade a broca. Esta diversidade de regiões e de cultivos mostra a necessidade de serem testadas as medidas de controle em nível regional e até de propriedade.

## REFERÊNCIAS

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano dos insetos** 2. ed. Piracicaba (Brasil): FEALQ, 1998. p. 289-381.

ALVES, S. B. et al. Eficiência de alguns produtos químicos e do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no controle da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) e da ferrugem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 21., 1995, Caxambu (Brasil). **Resumos...** Caxambu, 1995, p. 107-109.

ALVES, S. B.; LECUONA, R. E. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano dos insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 97-169.

BATISTA-FILHO, A.; ABRAHAO, J.; CRUZ, B. P. B. Contribuição ao estudo de *Hypothenemus hampei*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo (Brasil), v. 55, p. 37-41, 1988.

BARRIOS, A. M. Producción y virulencia de algunas cepas del hongo entomopatogeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. contra la broca del cafeto *Hypothenemus hampei* (Ferrari). In: SIMPOSIO SOBRE CAFICULTURA LATINOAMERICANA, 16., 1992. **Memorias...** Manágua (Nicarágua), 1992. p. 25-29.

- BENASSI, V. L. R. M. Levantamento dos inimigos naturais da Broca-do-Café *Hypothenemus hampei* Ferr. (Coleoptera: Scolytidae) no Norte do Espírito Santo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, p. 635-638, 1995.
- BENASSI, V. L. R. M. Avaliação da população de broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) no período pós-colheita, em cultura de *Coffea canefora* cv. Conilon. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DE CAFÉS DO BRASIL, 2000. **Resumos...** Poços de Caldas (Brasil), 2000. p. 1189-1192.
- BRUN, L. O. et al. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, v. 82, p. 1311-1316, 1989.
- BUSTILLO, A. E. Uso potencial del entomopatogeno *Beauveria bassiana* en el control de la broca del café. In: SEMINARIO SOBRE LA BROCA DEL CAFÉ, 1990. (Miscelánea n.18.), Medellín (Colombia), 1990. p. 91-105.
- BUSTILLO, A. E. et al. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café, *Hypothenemus hampei* en Colombia. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 14., 1991, San Francisco (EE.UU), **Proceedings...** Paris (Francia): ASIC, 1991. p. 679-686.
- COSTA, J. N. M. et al. Ocorrência de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., em broca-do-café no estado de Rondônia. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DE CAFÉS DO BRASIL, 2000. **Resumos...** Poços de Caldas (Brasil), 2000. p. 1271-1272.
- D'ANTONIO, A. M. et al. Influência da mistura triadimenol/dissulfoton (Baysiston) e de fungicida cúprico (óxido cuproso) na ação de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. aplicada sobre a população de broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 20., 1994. **Resumos...** Guarapari (Brasil), 1994. p. 136-140.
- FERNANDES, P. M.; LECUONA, R. E.; ALVES, S. B. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867)(Coleoptera: Scolytidae). **Ecosistema**, v. 10, p. 176-186, 1985.
- MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R. As variedades de café: características para escolher e modo de plantio. **Revista Brasileira de Tecnologia Cafeeira "Coffea"**, v. 1, p. 27-29, 2004.
- MATIELLO, J. B.; FERNANDES, D. R. Ocorrência de *Beauveria* spp. parasitando a broca de café na Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 15., 1989. **Resumos...** Maringá (Brasil), 1989, p. 10.

- MORENO, V. D. P. Evaluación del escape y la mortalidad de la broca, / *Hypothenemus hampei*/, durante la recolección y el beneficio húmedo tradicional del café. Chinchina (Colombia), CENICAFE, 1998. 1 p.
- MURILLO, A. Experiencia comercial en el control de la broca del café con *Beauveria bassiana*. In: REUNION INTERCONTINENTAL SOBRE BROCA DEL CAFE, 2., 1998. **Resúmenes...** Tapachula (México), 1998. p. 37.
- NEIVA, A.; AVERNA-SACCÁ, R. Os entomofagos cryptogâmicos na broca do cafeeiro (*Stephanoderes hampei* Ferr.) encontrados em S. Paulo. Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de São Paulo. 1930.
- NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, Vacaria (Brasil), v. 34, p. 77-88, 2005.
- OKUMURA, A. S. et al. Controle de *Hypothenemus hampei* (FERRARI) em terreiros de secagem de café. **Semina**, Londrina (Brasil), v. 24, p. 277-282, 2003.
- PASSAGNOLO, A. F. Controle da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) utilizando armadilhas com semioquímicos. 2004. 52 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina (Brasil), 2004.
- QUEZADA, J. R.; URBINA, N. E. La broca del fruto del cafeto/*Hypothenemus hampei*/ y su control. In: **Plagas y enfermedades de carácter epidémico en cultivos frutales de la region Centroamericana**. Panamá: CATIE, 1987. p. 48-59. (Informe Técnico, 110).
- SILVA, R. Z. da et al. Desenvolvimento e distribuição da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) em relação à fenologia da Planta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004. **Resumos...** Gramado (Brasil), 2004. v. 1, p. 404.
- SOUSA, J. C.; REIS, P. R. **Broca-do-café**. Histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos, monitoramento e controle. Belo Horizonte (Brasil): EPAMIG, 1997. 40 p. (EPAMIG. Boletim Técnico, 50).
- VILLACORTA, A. Ocorrência de *Beauveria* sp. infectando a broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) em lavouras do Estado do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 13, p. 177-178, 1984.

VILLACORTA, A. et al. Um modelo de armadilha com semioquímicos para o manejo da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) no Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001. **Resumos...** Vitória (Brasil), 2001. p. 141.

## PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE *Beauveria bassiana* PARA O CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ NO BRASIL

**Rogério Biaggioni Lopes**

*Itaforte Industrial de BioProdutos AgroFlorestais Ltda., Rod. Raposo Tavares, km 167, C. postal 808, 18201-970 Itapetininga, SP, Brasil, rogeriolopes@itafortetbioprodutos.com.br*

### A BROCA-DO-CAFÉ NO BRASIL

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), é uma das principais pragas do cafeeiro, provocando importantes perdas de produção. Esse coleóptero ocasiona sérios prejuízos e afeta a economia de milhões de famílias em todo mundo (VEGA et al., 2003). No Brasil, encontra-se amplamente disseminada em grande parte das regiões de plantio do café. A praga foi identificada no país na década de 1920, na região cafeeira de Campinas. Foi criada então uma comissão de investigação sobre o assunto que posteriormente foi transformada no Instituto Biológico de Defesa Sanitária Animal e Vegetal. Atualmente, diversas universidades e centros de pesquisa estaduais, como IAPAR, EPAMIG, INCAPER, entre outros, possuem linhas de pesquisas relacionadas ao controle da broca.

A praga é bastante prejudicial à produção, pois ataca o fruto nos vários estágios da maturação, refletindo diretamente na perda dos grãos e/ou qualidade do café. Além disso, o inseto tem até sete gerações no ano, podendo desenvolver, em condições favoráveis, altas populações no campo. O controle da praga tem sido feito exclusivamente por meio de agrotóxicos, em especial o endossulfan. O uso constante desse produto pode ocasionar o desenvolvimento da resistência em populações da praga no campo (BRUN et al., 1989, GONGORA et al., 2001) e a eliminação de inimigos naturais da broca e de outras pragas importantes da cultura, como o bicho-mineiro (SOUSA et al., 1998). Devem ser considerados também os problemas relacionados à contaminação do ambiente, do produtor e do café a ser comercializado.

### O CONTROLE BIOLÓGICO DA BROCA-DO-CAFÉ

Uma das grandes preocupações do agricultor moderno é adotar técnicas que possam dar sustentação à sua cultura. Assim, alternativas biológicas de controle da broca-do-café estão sendo estudadas, que incluem o uso ou a preservação dos inimigos naturais na praga. Alguns parasitóides são importantes controladores de adultos da broca, como *Phymastichus coffea* que é empregado na Colômbia em liberações massais desde 1996. Mais detalhes sobre as espécies

de parasitóides com potencial de controle biológico da broca-do-café podem ser encontrados em uma revisão recente de Jaramillo et al. (2006).

No Brasil, o destaque é o fungo *Beauveria bassiana*. As primeiras referências sobre fungos atacando a broca-do-café no país foram feitas por Neiva e Aversa-Saccá (1930), que descreveram um fungo, inicialmente identificado como *Botrytis stephanoderes*, ocorrendo naturalmente sobre a praga. Anos mais tarde, referências sobre a ocorrência natural desse patógeno em populações de campo foram feitas por Mesquita (1944) no Rio de Janeiro, por Alves em 1970 em São Paulo (ALVES, 1986), por Villacorta (1984) no Paraná, por Matiello e Fernandes (1989) na Bahia, por Benassi (1995) no Espírito Santo, por Sousa e Reis (1997) em Minas Gerais e por Costa et al. (2000) em Rondônia. Diversos estudos comprovam a patogenicidade de *B. bassiana* a insetos adultos diretamente inoculados ou expostos a folhas ou frutos contaminados com o fungo (FERNANDES et al., 1985; BUSTILLO et al., 1991; OKUMURA et al., 2003; NEVES; HIROSE, 2005).

As aplicações do fungo podem ser feitas pulverizando toda a planta, durante o período de “trânsito da broca”, ocasião em que os insetos provenientes dos frutos remanescentes da safra anterior atacam os frutos novos, e quando o índice de infestação atingir entre 1% e 2% de frutos atacados (NEVES et al., 2006). Deve-se usar entre  $1 \times 10^{12}$  e  $2 \times 10^{12}$  conídios por hectare, em 200 a 400 litros de calda, sempre em agitação. A concentração da calda deve variar entre  $2 \times 10^9$  e  $5 \times 10^9$  conídios por litro. Os insetos são infectados durante o caminhar sobre os ramos e a folhagem ou quando iniciam a perfuração do fruto. É importante que o fungo atinja os locais da planta com maior concentração de broca. Estes locais são os mais internos e mais baixos na planta, justamente por serem os mais sombreados e úmidos, preferidos pelo inseto (SILVA et al., 2004). O polvilhamento, para produtos na forma de pó, é outro modo de aplicação que pode ser empregado. Nesse caso pode-se associar aos conídios do fungo talco ou outro inerte que seja compatível com o patógeno. A morte do inseto ocorre muitas vezes antes da sua penetração no fruto, quando ocorre a esporulação do patógeno sobre o mesmo. Este patógeno ocorre enzooticamente em diversas regiões do Brasil, causando infecção natural em uma pequena parte da população de adultos da praga.

Antes das aplicações é indispensável o monitoramento da população do inseto no campo. A broca, como para a maioria das pragas, distribui-se na lavoura de forma irregular, podendo ocorrer talhões de maior incidência do inseto. Talhões velhos, adensados e em locais mais úmidos, como baixadas, são geralmente mais infestados. São também as condições ótimas para o uso de *B. bassiana*. Esses focos da praga são importantes fontes de infestação de novas áreas e devem ser controlados rapidamente.

Um aspecto importante no manejo da broca, onde se utiliza o controle biológico, está relacionado ao efeito dos agrotóxicos sobre o entomopatógeno. O uso de fungicidas para o controle da ferrugem e da cercosporiose, de herbicidas e inseticidas na cultura do cafeeiro convencional é inevitável e freqüente. Esses produtos químicos afetam diretamente o inóculo natural de *B. bassiana* no campo ou o bioproduto a ser aplicado. Mesmo produtos naturais utilizados pelos cafeicultores orgânicos podem afetar o desempenho do entomopatógeno no campo. Desse modo, é importante que o cafeicultor busque, em centros de pesquisa e no fornecedor do produto biológico, informações sobre agrotóxicos compatíveis. Mesmo para agrotóxicos pouco seletivos, existem outras formas de evitar o efeito negativo desses produtos sobre o fungo. O uso de inseticidas e fungicidas granulados de aplicação no solo e respeitar intervalos de pelo menos 15 dias entre aplicações do bioproduto e do agrotóxico fazem com que não ocorra o contato direto entre o produto químico e o fungo (D'ANTÔNIO et al., 1994; ALVES et al., 1995).

Além das aplicações do fungo na época pré-determinada, outras estratégias podem auxiliar na redução de populações da broca no campo. Uma delas consiste no uso de variedades resistentes a doenças, reduzindo-se a aplicação de fungicidas na lavoura e, conseqüentemente, beneficiando a ação do fungo. Outra estratégia é o uso de armadilhas de cairomônio (3 partes de metanol: 1 parte de álcool), na lavoura e no terreiro de secagem. Na entressafra, quando não existe a concorrência dos frutos pela atração dos adultos, as armadilhas coletam um grande número de insetos que ficam nos frutos remanescentes ou caídos. O mesmo ocorre no terreiro, onde brocas deixam os frutos que estão sendo secos e voltam para a lavoura. As armadilhas, nessa fase, também têm boa atração e em testes de campo capturaram nas primeiras 24 horas uma média de 2248 insetos por armadilha, chegando até a quase 7000 insetos em apenas uma armadilha (PASSAGNOLO, 2004).

## ASPECTOS SOBRE A PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DO FUNGO NO BRASIL

Apesar das pesquisas com fungos entomopatogênicos, o emprego desses microrganismos na cafeicultura nacional é ainda incipiente. Apenas a partir de 1995, com o início da produção industrial em larga escala de *B. bassiana*, iniciou-se em algumas áreas produtoras de café o uso desse fungo para o controle da broca. A produção segue um processo de fermentação sólida já conhecido (ALVES; PEREIRA, 1989) e semelhante ao utilizado em outros países. A fase inicial de seleção de linhagens para o alvo é imprescindível para o desenvolvimento do bioproduto. A matriz de alta pureza do fungo selecionado é inoculada em grãos de cereais e passa pelas fases vegetativa e reprodutiva

em condições controladas, em um ciclo que dura entre oito e 10 dias. A massa de grãos passa posteriormente por um processo de secagem e o produto pode então ser formulado.

Atualmente, o fungo é comercializado, principalmente, na forma de pó molhável (WP) e utilizado principalmente em lavouras orgânicas e a área tratada vem aumentando a cada ano, com boa aprovação dos cafeicultores. Nessa modalidade de cultivo, o produtor rural tem disponível poucas ferramentas para o controle de pragas, e o fungo *B. bassiana* passa a ser indispensável. A adoção de outras práticas culturais e a não utilização de produtos fitossanitários que possam afetar negativamente o patógeno, como descrito anteriormente, contribuem para o sucesso do controle biológico. Cabe ressaltar, que esse fungo têm um grande potencial de ser explorado em cultivos convencionais e já pode ser disponibilizado ao mercado consumidor em grandes quantidades. Contudo, a adoção dessa prática no café não-orgânico deve ser melhor estudada, empregando-se estratégias de manejo de pragas melhor definidas, avaliando-se as condições e áreas favoráveis ao patógeno e utilizando-se produtos fitossanitários seletivos aos inimigos naturais.

Além de ser uma tecnologia econômica e ambientalmente sustentável, o controle da broca com fungos apresenta uma série de vantagens ao cafeicultor. O bioproduto não é tóxico ao agricultor, não deixa resíduo e não altera a qualidade ou sabor do produto final, sendo melhor aceito pelo mercado consumidor nacional e internacional. Seu impacto sobre o ambiente e outros agentes de controle biológico das pragas é muito pequeno, podendo ser associado com outros métodos de controle. Pode manter-se na lavoura naturalmente, controlando o inseto mesmo após a aplicação.

Contudo, o cafeicultor não deve entender essa modalidade de controle como uma simples substituição do produto químico convencional pelo biológico. Trata-se de uma mudança mais profunda e que deve ser encarada com uma visão mais ampla, dentro de um contexto de manejo integrado. Deste modo, qualquer ação dentro do manejo fitossanitário na cultura pode influenciar positiva ou negativamente no sucesso do uso do produto biológico.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba (Brasil): Editora Manole Ltda., 1986. 407 p.
- ALVES, S. B. et al. Eficiência de alguns produtos químicos e do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no controle da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) e da ferrugem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 21., 1995, Caxambu (Brasil). **Resumos...** p. 107-109, 1995.

- ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M. P. Produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em bandejas. **Ecosistema**, v. 14, p. 188-192, 1989.
- BENASSI, V. L. R. M. Levantamento dos inimigos naturais da broca-do-café *Hypothenemus hampei* Ferr. (Coleoptera: Scolytidae) no norte do Espírito Santo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, p. 635-638, 1995.
- BRUN, L. O. et al. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economical Entomology**, v. 82, p. 1311-1316, 1989.
- BUSTILLO, A. E. et al. Evaluaciones de campo con el hongo *Beauveria bassiana* para el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* en Colombia. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 14., 1991, San Francisco (EE.UU), **Proceedings...** Paris (Francia): ASIC, 1991. p. 679-686.
- COSTA, J. N. M. et al. Ocorrência de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., em broca-do-café no estado de Rondônia. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DE CAFÉS DO BRASIL, 2000, Poços de Caldas (Brasil). **Resumos...** p.1271-1272.
- D'ANTONIO, A. M. et al. Influência da mistura triadimenol/dissulfoton (Baysiston) e de fungicida cúprico (óxido cuproso) na ação de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. aplicada sobre a população de broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 20., 1994, Guarapari (Brasil). **Resumos...** p.136-140.
- FERNANDES, P. M.; LECUONA, R. E.; ALVES, S. B. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae). **Ecosistema**, v. 10, p. 176-181, 1985.
- GONGORA, C. E.; POSADA, F. J.; BUSTILLO, A. E. Detección molecular de un gen de resistencia al insecticida endosulfan en una población de broca *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) en Colombia. In: CONGRESO DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGIA, 28., 2001, Pereira (Colombia). **Memorias...** p.47-48.
- JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, C.; BAKER, P. Coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae): searching for sustainable control strategies. **Bulletin of Entomological Research**, v. 96, p. 1-12, 2006.
- MATIELLO, J. B.; FERNANDES, D. R. Ocorrência de *Beauveria* spp. parasitando a broca de café na Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 15., 1989, Maringá (Brasil). **Resumos...** p. 10.

- MESQUITA, F. C. A broca-do-café no estado de Rio de Janeiro. **Boletim Fitossanitário**, v. 1, n. 3-4, p. 247-253, 1944.
- NEIVA, A.; AVERNA-SACCÁ, R. **Os entomophagos cryptogâmicos na broca do cafeeiro (*Stephanoderes hampei* Ferr.) encontrados em São Paulo**. Secretaria da Agricultura, Industria e Comércio do Estado de São Paulo. 1930.
- NEVES, P. M. J. O.; SANTORO, P. H., DA SILVA, R. Z. Utilização de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill no manejo integrado da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). In: VEZON, M.; DE PAULA JR., J.T.; PALLINI, A. (Eds.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa (Brasil): EPAMIG, 2006. p. 137-158.
- NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, Vacaria (Brasil), v. 34, p. 77-88, 2005.
- OKUMURA, A. S. et al. Controle de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) em terreiros de secagem de café. **Semina**, Londrina (Brasil), v. 24, n. 2, p. 277-282, 2003.
- PASSAGNOLO, A. F. Controle da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) utilizando armadilhas com semioquímicos. 2004. 52 p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina (Brasil), 2004.
- SILVA, R. Z. da et al. Desenvolvimento e distribuição da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) em relação à fenologia da planta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado (Brasil), **Resumos...** p. 404.
- SOUSA, J. C.; REIS, P. R. **Broca-do-café: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos, monitoramento e controle**. Belo Horizonte (Brasil): EPAMIG, 1997. 40 p. (EPAMIG. Boletim Técnico, 40).
- SOUSA, J. C.; REIS, P. R.; REGITANO, R. L. O. **Bicho-mineiro do cafeeiro: biologia, danos e manejo integrado**. Belo Horizonte (Brasil): EPAMIG, 1998. 43 p. 48 p. (EPAMIG. Boletim Técnico, 54).
- VEGA, F. E.; ROSENQUIST, E.; COLLINS, W. Global project needed to tackle coffee crisis, **Nature**, v. 435, p. 343, 2003.
- VILLACORTA, A. Ocorrência de *Beauveria* sp. infectando a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) em lavouras no estado do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 13, n. 1, p. 177-178, 1984.

## ERRADICAÇÃO DA BROCA-DO-CAFÉ: É POSSÍVEL?

**Amador Villacorta**

Área de Proteção de Plantas, Instituto Agrônomo do Paraná - IAPAR, Rod. Celso Garcia Cid, km 375, C. postal 481, 86001-970 Londrina, PR, Brasil, villa@iapar.br

### RESUMO

A broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) causa perdas na produção e afeta a qualidade do grão e da bebida. No Paraná existem 125.000 ha de café, dos quais 60.000 são de café adensado; ressalte-se que o adensamento dificulta a aplicação de inseticidas para o controle da broca via pulverizações. No presente trabalho é apresentada uma proposta que embora não leve à erradicação da broca, em curto prazo, poderia fazer com que a broca deixasse de ser considerada uma praga de importância econômica no Paraná. A proposta considera o uso de práticas ecológicas, como repasse, armadilha-IAPAR, uso do fungo *Beauveria bassiana* em formulação granulada de fácil implementação pelos agricultores.

### INTRODUÇÃO

A broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) causa perdas na produção e afeta a qualidade do grão e da bebida. A produção mundial do café na safra 2002-2003 vendida ao consumidor, gerou 70 bilhões de dólares, sendo que os países produtores receberam somente 5,5 bilhões. Esse quadro pode ser revertido caso o produtor passe a produzir café orgânico. O mercado de café orgânico brasileiro tem se restringido quase exclusivamente à exportação, pois o mercado interno ainda não valoriza esse produto. A produção orgânica exige manejo ecológico de pragas e doenças e uma fonte barata de adubação orgânica nitrogenada, assim como um tratamento especial na colheita para cumprir as exigências do mercado comprador. O estado do Paraná é a fronteira sul do Brasil para o cultivo do café, delimitada pelas frequentes geadas de diferentes graus de intensidade, que também se apresenta como fator de mortalidade da broca. Neste trabalho tentaremos expor alguns fatores que poderiam levar, ao longo do tempo, a uma provável erradicação da broca-do-café, que poderia servir de modelo para o Brasil.

## BASES PARA O MANEJO DA BROCA NO ESTADO DO PARANÁ

No Paraná existem 125.000 ha de café, dos quais 60.000 ha são de café adensado, utilizando em sua maioria variedades resistentes à ferrugem do café. O adensamento dificulta a aplicação de inseticidas para o controle da broca via pulverizações.

Lavouras de café bem conduzidas apresentam infestação média de broca de 15%, que é relativamente baixa se comparada a de outros países da América Latina. Em áreas de cultivo convencional de café a maioria dos produtores está aceitando um dano menor, 10% de infestação causada pela broca, na colheita. Com o objetivo de obter um melhor preço na qualidade da bebida, muitos produtores atualmente estão procurando obter um dano menor que 4% na colheita, a um custo baixo.

Para que o produtor tenha lucro, ele deve pensar em formar parte de uma Cooperativa de produtores de café orgânico ou optar pelo cultivo de café sem agrotóxicos (SAT). Entre os requisitos para produção de café SAT, pode-se mencionar: o plantio de café adensado (8-10 mil plantas ha), o uso de variedades resistentes à ferrugem do café, a utilização de táticas ecológicas no manejo de pragas, principalmente para o manejo da broca-do-café, e finalmente, o uso de práticas de colheita e pós-colheita para obtenção de café com boa qualidade de bebida.

As táticas ecológicas propostas para o manejo da broca-do-café são: uso de armadilhas modelo IAPAR para a captura das brocas, uso do fungo *B. bassiana* em formulação granulada produzida artesanalmente, colheita no pano e repasse dos frutos remanescentes na planta e o uso do endoparasitóide *Phymastichus coffea* que parasita as brocas adultas. Esta última tática proposta pode ser considerada como de difícil implementação pelos agricultores por ser muito onerosa, dependendo grandemente da ajuda do Governo do Estado do Paraná.

A armadilha modelo IAPAR, com pequenas modificações para os diferentes agroecossistemas de produção na América Latina está sendo adotada no Peru, México, Venezuela e América Central, principalmente na Guatemala, pela sua simplicidade e economia. No Paraná estima-se que existam cerca de 400.000 armadilhas instaladas no campo, porém, deveriam existir no mínimo três milhões de armadilhas. Os resultados de trabalho realizado em parceria com a EMATER, onde foram instaladas 25 armadilhas/ha no município de Lidianópolis, são apresentados na Tabela 1. Observou-se uma redução de frutos brocados no terreiro da ordem de 50% em áreas onde se utilizaram as armadilhas.

O fungo *B. bassiana* recomendado pelo IAPAR, vem do isolamento do fungo de frutos atacados pela broca nos campos de produção de semente de café localizados na Estação Experimental de Morretes, PR. Foi desenvolvida

**Tabela 1.** Porcentagem de infestação de *H. hampei* em cafezal (*C. arabica* cv. Mundo Novo) com e sem o uso de armadilhas. Lidianópolis, PR, Brasil.

Safra	Com armadilha		Sem armadilha		F
2000/01	4,4	1,49*	8,2	3,33*	0,0004***
2002/03	2,4	1,95**	7,3	2,37**	0,031***

\*Desvio padrão da média, n = 20 amostras de 100 grãos avaliados.

\*\*Desvio padrão da média, n = 30 amostras de 100 grãos avaliados.

\*\*\*Efeito significativo ( $F \leq 0,05$ ).

uma técnica artesanal de produção em formulação granulada, que consiste no uso de arroz quirera, bem lavado, com esterilização em banho Maria em sacos de polipropileno, inoculação do arroz com uma suspensão de esporos de *Beauveria* sp. e armazenagem dos sacos em local com temperatura ambiente e luz artificial contínua. Em aproximadamente 22 dias a produção esta pronta para ser utilizada no campo, com uma dose única de 20-25 kg por ha. Teoricamente a corrente de vento eleva os esporos do fungo e a água de orvalho consegue a distribuição do fungo na lavoura. Observações realizadas em Morretes, PR, indicaram que existe uma media 15-20% de mortalidade natural da broca causada pelo fungo. Quando o fungo foi testado em colaboração com EMATER, na região de Lidianópolis, PR, juntamente com a instalação de 25 armadilhas por ha, na colheita no terreiro foi observada a infestação media de 1% de frutos brocados.

É muito importante após a colheita do café, realizar o repasse para retirada dos frutos remanescentes na lavoura assim como também instalar armadilhas IAPAR no terreiro.

O endoparasitóide da broca-do-café *Phymastichus coffea* é considerado um agente biológico no manejo da broca-do-café. Esta vespa ataca a broca-do-café adulta no momento em que a broca ataca o fruto, colocando os ovos dentro do corpo da broca, impedindo maiores danos da praga ao grão. Porém, sua multiplicação e liberação no campo depende de criação massal da broca no laboratório, para dar sustentação a criação massal do parasitoide para liberações anuais, este tipo de inversão só pode ser realizado pelo governo estadual, o qual significa um custo/benefício alto para ser realizado pelos produtores de café.

## CONCLUSÕES

- 1- A combinação de ações de manejo ecológico com o uso das armadilhas IAPAR e da formulação granulada do fungo *B. bassiana* pode ser adotada facilmente pelos produtores de café no Paraná. A difusão dessa

estratégia deveria ser amplamente difundida pela EMATER-PR com apoio técnico do IAPAR.

2- O repasse logo após a colheita, assim como o uso das armadilhas IAPAR no terreiro, são muito importantes na redução gradual das populações da broca no Paraná.

3- O uso das armadilhas IAPAR, do fungo *B. bassiana* e repasse, juntamente com o uso de variedades de café resistentes a ferrugem do café, podem a curto prazo levar a não se considerar mais a broca-do-café como PRAGA DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO CAFÉ NO PARANA.

## REFERÊNCIAS

ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba (Brasil): Editora Manole Ltda., 1986. 407 p.

BENASSI, V. L. R. M. Resultados preliminares da flutuação populacional da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) na região norte do Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 16., Espírito Santo do Pinhal (Brasil). **Trabalhos Apresentados...** p. 83.

BORBON-MARTINEZ, O. et al. Proyecto de trampas, atrayentes y repelentes para el control de la broca del fruto de cafeto, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). SIMPOSIO LATINOAMERICANO DE CAFICULTURA, 19., 2000, San José (Costa Rica). **Memorias...** p. 331-348.

CARDENAS, R. Trampas y atrayentes para monitoreo de poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). SIMPOSIO LATINOAMERICANO DE CAFICULTURA, 19., 2000, San José (Costa Rica). **Memorias...** p. 360-379.

DE LA ROSA, W. et al. Virulence of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes) strains against the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 6, p. 1534-1538, 1997.

ESQUINCA-AVILA, H. A.; BARRERA, J. F. Presencia de un atrayente en los frutos infestados, desechos alimenticios y fecales de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). In: CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGÍA, 20., 1985, SME, Ciudad Victoria (México). **Resúmenes...** p. 34.

GONZALEZ, M. T. **Evolución de la patogenicidad de deferenes aislamientos de *Beauveria bassiana* de la colección de entomopatogenos**. Chinchina (México): CENICAFE, 1994. (CENICAFE. Informe anual de actividades/Entomologia).

GONZALEZ, M. O.; DUFOUR, B. P. Diseño, desarrollo y evaluación del trampeo en el manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferr. en El Salvador. SIMPOSIO LATINOAMERICANO DE CAFICULTURA, 19., 2000, San José (Costa Rica). Memorias... p. 381-396.

MENDOZA-MORA, J. R. Resposta da broca-do-café *Hypothenemus hampei*, a estímulos visuais e semioquímicos. 1991. 44 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (Brasil), 1991.

MORALES, E. et al. Una aplicación de la biotecnología para el control de la broca del café. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE, 14., 1991, San Francisco (EEUU). **Proceedings...** Paris (Francia): ASIC p. 521-526, 1991.

PRATES, H. S. Observações preliminares da atração da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) a extratos de frutos de cafeeiro (cereja e verde). O solo, v. 61, n. 2, p. 13-14, 1969.

VILLACORTA, A. Técnica para cultura maciça do fungo entomófono *Metarhizium anisopliae* (Metch.) em forma granulada. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 5, n. 1, p. 102-104, 1976.

\_\_\_\_\_. Ocorrência de *Beauveria* sp. infectando a broca-do-café - *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) em lavouras no estado do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 13, n. 1, p. 177-178, 1984.

VILLACORTA, A.; POSSAGNOLO, A. F.; PERINI, P. Produção artesanal em formulação granulada do fungo *Beauveria bassiana*-isolado de Morretes-PR, para o manejo da broca-do-café *Hypothenemus hampei*. SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro (Brasil). **Anais...** Brasília (Brasil): EMBRAPA-Café, 2003.



## **CAPÍTULO 8**

# **RESISTÊNCIA DE PLANTAS E CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ**



## RESISTÊNCIA À BROCA EM ESPÉCIES E VARIEDADES DE CAFÉ

Gustavo H. Sera<sup>1</sup>, Tumoru Sera<sup>2</sup>, Dhalton S. Ito<sup>3</sup>, José A. de Azevedo<sup>2</sup>, Claudionor Ribeiro Filho<sup>3</sup>, João S. da Mata<sup>3</sup>, Vinícius M. Cotarelli<sup>4</sup> e Deisy S. Doi<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação, Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Londrina - UEL, Doutorado, Bolsista Capes, C. postal 6001, 86051-970 Londrina, PR, Brasil, gustavosera@uol.com.br

<sup>2</sup>Área de Melhoramento e Genética Vegetal, Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR, Rod. Celso Garcia Cid, km 375, C. postal 481, 86001-970 Londrina, PR, Brasil, tsera@iapar.br

<sup>3</sup>Bolsistas do Consórcio Brasileiro de P & D Café/Embrapa Café

<sup>4</sup>Biólogo, Centro de Estudos Superiores de Londrina - UNIFIL, Londrina, PR

<sup>5</sup>Engenheira agrônoma, Universidade Estadual de Londrina - UEL, Bolsista do CNPq, Londrina, PR

### RESUMO

A broca-do-café, *Coffea* spp., (*Hypothenemus hampei*) é uma das principais pragas da cafeicultura brasileira, provocando perdas na produção e na qualidade da bebida. Existem muitos estudos sobre o controle químico, biológico e cultural desta praga, entretanto, o controle genético não tem sido pesquisado por falta de fontes de resistência genética. O objetivo deste trabalho foi identificar fontes de resistência genética a *H. hampei* em diferentes espécies de café do banco de germoplasma do IAPAR, Londrina, PR. Foram realizadas avaliações preliminares de campo, sem repetição, e testes de confinamento e de livre escolha, em laboratório, com repetições, onde foi colocado um fruto por broca em placas de Petri. No teste de confinamento, utilizou-se como variável a porcentagem de frutos sem brocas sendo estas analisadas pelo teste de médias Scott-Knott. No de livre escolha, as comparações entre os genótipos foram realizadas através do teste de  $\chi^2$ , usando como variável a porcentagem de frutos brocados. Os genótipos avaliados possuem genes das espécies de café, *C. arabica*, *C. canephora*, *C. dewevrei*, *C. congensis*, *C. kapakata* e *C. eugenioides* e de *Psilanthus bengalensis*. Foi observado que *C. eugenioides*, *C. kapakata* e *P. bengalensis* constituem importantes fontes de resistência à broca. Os dois primeiros podem apresentar substâncias voláteis repelentes à broca na casca e a resistência de *P. bengalensis* pode estar também no grão. É necessário transferir os genes destes três genótipos para as cultivares comerciais. Estes três genótipos precisam ser estudados nas diversas áreas de pesquisa do café para analisar: as substâncias voláteis, o uso dos genes de resistência para realizar transgenia, o uso das substâncias antagonicas como

inseticidas ou repelentes botânicos, a possibilidade de usar genótipos mais atrativos em armadilhas de broca e a taxa de reprodução da broca.

**Palavras-chave:** *Hypothenemus hampei*, *Coffea*, *Psilanthus*, cultivares, melhoramento genético

## INTRODUÇÃO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) é conhecida como uma das mais importantes pragas do cafeeiro em vários países produtores, sendo que conforme Matiello et al. (2002), este inseto é, atualmente, a segunda praga em importância para lavouras de café arábica no Brasil, porém, é a principal no café robusta (Conillon).

*H. hampei*, na sua forma adulta, é um pequeno besouro de coloração escura e brilhante. Os machos possuem os mesmos caracteres morfológicos das fêmeas, sendo, entretanto, menores e com asas rudimentares, e por isso, não voam e nunca deixam os frutos de onde se originaram. Cada macho copula com dez fêmeas ou mais, dentro do fruto. A fêmea fecundada perfura o fruto na região da coroa, fazendo uma galeria através da polpa e em seguida perfura as sementes (grãos), onde no interior delas coloca seus ovos. Ao eclodirem, as larvas se alimentam das sementes, destruindo-as total ou parcialmente. A multiplicação deste inseto é maior em ambientes de ar úmido (LIMA et al., 2003).

As perdas quantitativas, ou dano direto na produção, decorrem da queda de frutos imaturos atacados pela broca-do-café, da destruição das sementes que se quebram no beneficiamento por estarem brocadas resultando redução de grãos comerciais. Por outro lado, as perdas qualitativas, ou dano indireto, decorrem de sementes brocadas, que mesmo quando não se quebram no beneficiamento, contribuem para a depreciação na qualidade da bebida (BATISTA, 1986).

Existem muitos estudos sobre o controle químico, biológico e cultural desta praga, entretanto, o controle genético não tem sido pesquisado por falta de fontes de resistência genética dentro do gênero *Coffea* e espécies afins. Le Chevalier (1947) apud Le Pelley (1968), classificou as espécies avaliadas por ele em ordem crescente de atratividade pela broca, sendo: *C. liberica* (praticamente imune), *C. excelsa*, *C. dybowskii*, *C. dewevrei*, *C. canephora* e *C. arabica*. Le Pelley (1968) relatou que no geral é encontrado que *C. arabica* é mais suscetível, seguido por *C. canephora*, sendo *C. excelsa* e *C. liberica* menos atacados, porém ele relatou que a ordem de preferência é aparentemente variável. Ele citou que há relativa suscetibilidade das variedades

de café, podendo os níveis de resistência e suscetibilidade ser diferentes, dependendo das condições ambientais. Matiello et al. (2002), relataram que não se conhece nenhum cafeeiro em cultivo comercial que não seja atacado pelo inseto, sabendo-se, apenas, que há uma certa preferência da broca pelo café robusta.

A transferência de genes de resistência à broca está sendo tentada a partir de genes de outras espécies distantes, por engenharia genética, como os genes de *Bacillus thuringiensis* e uso de genes inibidores de  $\alpha$ -amilases.

No banco de germoplasma de café do IAPAR, foi observada em condições de campo que algumas espécies de café apresentavam menor incidência de *H. hampei* do que *C. arabica* e *C. canephora*.

O objetivo deste trabalho foi identificar fontes de resistência genética a *H. hampei* em diferentes espécies e genótipos de café do banco de germoplasma do IAPAR, através de avaliações de campo e de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram instalados no laboratório de Genética do Café do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) em Londrina, PR, em temperatura ambiente (em torno de 20°C), sem incidência de luz direta, no dia 10 de agosto de 2004 e avaliados em 25 de agosto de 2004.

Para testar a resistência dos cafeeiros à broca coletaram-se frutos sem broca no IAPAR dos genótipo que apresentavam baixa ocorrência nas avaliações de campo. Estes foram mergulhados em parafina derretida para evitar a entrada da broca pelo pedúnculo ou por ferimentos causados na base do fruto no momento da coleta. Foi protegido do pedúnculo até a metade do comprimento do fruto. Após ter protegido com parafina, os frutos foram colocados em placas de Petri (8,5cm de diâmetro e 1,1 cm de altura) com 20 g de areia esterilizada por placa.

Os testes de resistência foram realizados com apenas um genótipo por placa (teste de confinamento) e outro teste com dois genótipos, um resistente e outro suscetível, na mesma placa (teste de livre escolha). Nos dois testes foi colocada uma broca por fruto. Depois de colocado os frutos e as brocas dentro das placas de Petri, esta foi fechada. A maioria dos frutos (95%) utilizados nos dois testes estava no estágio de maturação verde ou cereja, com poucos frutos no estágio passa.

Primeiramente, foi realizado o teste de confinamento para identificar os cafeeiros suscetíveis e resistentes para, posteriormente, fazer o teste de livre escolha. No teste de livre escolha foram colocados na placa de petri 20 frutos de um material suscetível e 20 de um resistente, instalado no

delineamento inteiramente causalizado (DIC) com 3 repetições. Nos testes de confinamento foram colocados em torno de 35 frutos por genótipo com três repetições no DIC.

Os tratamentos utilizados no teste de confinamento foram os genótipos do banco de germoplasma do IAPAR, a maioria recebida da Seção de Genética do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), sendo: *Coffea eugenoides* x *C. dewevrei* (T1), "*C. eugenoides* 18-6" (T2), "*C. eugenoides* LAB" (T3), "*C. eugenoides* duplicado o nº de cromossomos (4x)" x "Mundo Novo" (T4), *C. congensis* (T5), *C. kapakata* (T6), *Psilanthus bengalensis* (T7), 'Pacas' x 'Maragogipe' (T8), "Catuaí Semperflorens" (T9), (*C. dewevrei* x *C. arabica*) 4x = "Piatã" (T10), "Mundo Novo" (T11) e *C. canephora* cv. Nemaya (T12).

Os testes de livre escolha realizados foram: T1 vs T5, T2 vs T5, T4 vs T5, T3 vs T12, T6 vs T12 e T7 vs T12. O T5 e o T12 foram utilizados como padrões suscetíveis.

Antes destas inoculações também foi realizada uma avaliação de campo, em 5 de agosto de 2004, pela contagem de frutos brocados nos tratamentos: T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T12, "*C. dewevrei*" (T13) e *C. arabica* x *C. canephora* var. *robusta* (4x) = "Arabusta" (T14) para identificar preliminarmente as fontes de resistência de campo. Nesta avaliação, a maioria dos frutos (90%) estavam no estágio de maturação verde ou cereja.

No teste de confinamento, foi utilizada como variável a porcentagem de frutos sem brocas (%FSB) para realizar a análise de variância e em seguida o teste de médias Scott Knott a 1% de probabilidade utilizando o software Genes (CRUZ, 2001). Foi feito o teste de Cochran (G máximo) para verificar a homogeneidade das variâncias da variável %FSB a 1%.

No teste de livre escolha, as comparações entre os genótipos foram realizadas através do teste de  $\chi^2$  a 1%, usando como variável a quantidade de frutos brocados (QFB).

Foram considerados frutos sem brocas aqueles em que não ocorreu penetração na casca do fruto e naqueles que ocorreu penetração na casca, porém não penetrou no grão, pois em muitos tinha perfuração na casca, mas sem perfuração no grão ou a broca morreu antes de penetrar no grão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Avaliações de campo.** A avaliação de campo com a porcentagem de frutos brocados nos diferentes genótipos avaliados está apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1.** Porcentagem de frutos brocados em germoplasmas de *Coffea* nas avaliações de campo realizadas em agosto de 2004 no IAPAR (Londrina - PR).

Genótipos	Nº de frutos avaliados	Porcentagem de frutos brocados
<i>Coffea eugenioides</i> x <i>C. dewevrei</i> (T1)	538	0%
“ <i>C. eugenioides</i> 18-6” (T2)	576	7,29%
“ <i>C. eugenioides</i> LAB” (T3)	284	1,41%
“ <i>C. eugenioides</i> (4x)” x “Mundo Novo” (T4)	450	4,00%
<i>C. congensis</i> (T5)	1084	17,53%
<i>C. kapakata</i> (T6)	463	0%
<i>Psilanthus bengalensis</i> (T7)	995	0,10%
<i>C. canephora</i> cv. Nemaya (T12)	408	12,01%
“ <i>C. dewevrei</i> ” (T13)	600	25,33%
“ <i>C. arabica</i> x <i>C. canephora</i> (4x)” (T14)	600	55,83%

Com esta avaliação preliminar foi possível indicar que os tratamentos T1, T2, T3, T4, T6 e T7 apresentaram maior resistência de campo do que os tratamentos T5, T12, T13 e T14, sendo este último o mais suscetível. A espécie *C. dewevrei* apresentou suscetibilidade nas condições de campo em Londrina, PR, discordando com Fazuoli (2004), o qual supôs a possibilidade de que esta espécie poderia apresentar maior dificuldade de penetração pela broca devido ao endocarpo mais espesso.

**Teste de confinamento.** A partir dos dados das avaliações de campo, foram realizados os testes de resistência de confinamento utilizando os genótipos que apresentaram maior resistência de campo e outros considerados suscetíveis. O teste do G máximo indicou que existe homogeneidade das variâncias para a variável %FSB. A análise de variância da variável %FSB é apresentada na Tabela 2 e o teste de médias Scott Knott para a variável %FSB na Tabela 3.

**Tabela 2.** Análise de variância da variável porcentagem de frutos sem brocas (%FSB) em genótipos de cafeeiros, avaliados em confinamento em agosto de 2004, no Laboratório de Genética do Café do IAPAR.

F. V.	G. L.	S. Q.	Q. M.	F
Blocos	2	286,748	143,374	
Tratamentos	11	10287,453	935,223	8,7161*
Resíduo	22	2360,557	107,298	
Total	35	12934,758		

\* significativo pelo teste F a 1% de probabilidade.

**Tabela 3.** Resultados do teste de confinamento e porcentagem média de frutos sem brocas (%FSB) dos genótipos de café avaliados 15 dias após a inoculação.

Tratamento (Genótipo)	% FSB
<i>Psilanthus bengalensis</i> (T7)	100 a
“ <i>C. eugenioides</i> (4x)” x “Mundo Novo” (T4)	100 a
“ <i>C. eugenioides</i> 18-6” (T2)	100 a
<i>C. eugenioides</i> x <i>C. dewevrei</i> (T1)	97,14 a
“ <i>C. eugenioides</i> LAB” (T3)	95,07 a
<i>C. kapakata</i> (T6)	90,39 a
“Catuaí Semperflorens” (T9)	75,24 b
<i>C. congensis</i> (T5)	73,34 b
<i>C. dewevrei</i> x <i>C. arabica</i> (T10)	73,33 b
“Mundo Novo” (T11)	67,62 b
<i>C. canephora</i> cv. Nemaya (T12)	61,28 b
‘Pacas’ x ‘Maragogipe’ (T8)	48,01 b

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott a 1%.

O teste F foi significativo a 1% para a variável estudada. O coeficiente de variação experimental para a variável %FSB foi de 12,67%, indicando boa precisão experimental.

Pelo teste de médias da variável %FSB separou-se os tratamentos em dois grupos (a e b), sendo um resistente (a) e o outro suscetível (b). No grupo dos resistentes estão os genótipos: *Coffea eugenioides* x *C. dewevrei*, “*C. eugenioides* 18-6”, “*C. eugenioides* LAB”, “*C. eugenioides* (4x)” x “Mundo Novo”, *C. kapakata* e *P. bengalensis*.

Os mesmos genótipos que apresentaram resistência de campo também se mostraram resistentes no teste de confinamento. A resistência à broca dos tratamentos 1 e 4 é proveniente de genes da espécie *C. eugenioides*, já que o *C. dewevrei* x *C. arabica* e o “Mundo Novo” se mostraram suscetíveis no teste de confinamento e *C. dewevrei* nas avaliações de campo.

*C. eugenioides* é uma espécie diplóide ( $2n = 2x = 22$  cromossomos) e *C. arabica* var. Mundo Novo é tetraplóide ( $2n = 4x = 44$  cromossomos), assim, pelo cruzamento de espécies diplóides e tetraplóides seriam obtidas progênies estéreis. Essas somente seriam férteis se *C. eugenioides* fosse  $4x = 44$  cromossomos, então, o tratamento 4 (“*C. eugenioides* (4x)” x “Mundo Novo”) é muito valioso, pois além de produzir progênies férteis, ele apresenta cerca de 50% de genes do “Mundo Novo”, o qual apresenta muitas vantagens como alta produção e melhor qualidade de bebida. Para tanto, é necessário realizar

diversos retrocruzamentos com o T4 visando incorporar genes de cultivares de *C. arabica*. O T5 (*C. congensis*) e o T12 (*C. canephora* cv. Nemaya) confirmaram a suscetibilidade de campo neste teste sendo, respectivamente, 27% e 39% de frutos brocados.

A *Psilanthus bengalensis* não apresentou nenhum fruto com grão brocado, entretanto, em 33,34% dos frutos avaliados foi observado que a broca perfurou a casca, porém não penetrou no grão. Assim, a resistência da *P. bengalensis* pode estar também no grão de café, possivelmente um outro gene.

As herdabilidades estimadas para a variável %FSB foi de 88,53% indicando que existe alta possibilidade de sucesso na seleção de genótipos resistentes à broca e que a resistência deve ser controlada por poucos genes.

**Teste de livre escolha.** Os dados obtidos referentes às avaliações do teste de livre escolha para comparar os diferentes genótipos de café, se encontram na Tabela 4.

**Tabela 4.** Teste de  $\chi^2$  (P = 1%), para a variável quantidade de frutos brocados (QFB) em 20 frutos de cada no teste de livre escolha, avaliados 15 dias após inoculação.

Comparações	QFB	$\chi^2$
“ <i>C. eugenioides</i> x <i>C. dewevrei</i> ” (T1) vs <i>C. congensis</i> (T5)	3 vs 5	0,500 n.s.
“ <i>C. eugenioides</i> 18-6” (T2) vs <i>C. congensis</i> (T5)	4 vs 3	0,142 n.s.
“ <i>C. eugenioides</i> (4x)” x “M. Novo” (T4) vs <i>C. congensis</i> (T5)	1 vs 4	1,800 n.s.
“ <i>C. eugenioides</i> LAB” (T3) vs <i>C. canephora</i> cv. Nemaya (T12)	16 vs 12	0,571 n.s.
“ <i>C. kapakata</i> ” (T6) vs <i>C. canephora</i> cv. Nemaya (T12)	14 vs 14	0,000 n.s.
“ <i>P. ben galensis</i> ” (T7) vs <i>C. canephora</i> cv. Nemaya (T12)	0 vs 9	9,000**

Com os dados da Tabela 4 é possível verificar que somente o teste T7 vs T12 apresentou diferença significativa a 1% para QFB, indicando que o *P. bengalensis* apresentou resistência à broca neste teste de livre escolha e, igualmente ao teste de confinamento, a broca não conseguiu penetrar no grão, já que se observou neste experimento que em 45% dos frutos ocorreu a penetração na casca, porém sem perfuração do grão.

Os tratamentos T1, T2, T3, T4 e T6, os quais apresentaram resistência nas avaliações de campo e no teste de confinamento, se mostraram igualmente

suscetíveis aos T5 e T12 no teste de livre escolha. Substâncias voláteis dos frutos do *C. congensis* e da cultivar Nemaya podem ter mudado a reação de resistência dos T1, T2, T3, T4 e T6, induzindo-as a penetrarem nos frutos. Uma vez atravessado a casca de frutos verdes ou cerejas, a broca penetrou livremente nos grãos. Assim, os genes de resistência à broca das espécies *C. kapakata* e *C. eugenioides* está expressando somente na casca.

Por outro lado, substâncias voláteis de *C. eugenioides* e de *C. kapakata* inibiram grandemente a penetração da broca nos frutos de *C. congensis* (de 15% a 25%) quando comparado com *C. canephora* cv. Nemaya (contra 60% a 70%). Neste caso, os voláteis de *C. eugenioides* e de *C. kapakata* foram mais fortes do que os voláteis do *C. congensis*, inibindo a penetração nos frutos.

A espécie *P. bengalensis*, apesar de infestada com as brocas, junto com os mesmos genótipos suscetíveis modificadores de resistência, não foi observado nesta espécie a perfuração dos grãos. Em alguns frutos foi observada a morte da broca e em outros a casca foi perfurada, porém nenhuma broca estava no grão. Isto pode indicar a presença ou a ausência alguma substância muito importante à broca nos grãos de *P. bengalensis*. É possível que *H. hampei* não se alimente dos grãos deste genótipo, pois este é ausente de cafeína, já que Ondarza e Gutierrez (1996) relataram que a cafeína é de grande importância na atração da broca.

É provável, que *C. eugenioides* e *C. kapakata* apresentem alguma substância volátil antagonica ou repelente à broca somente na casca e ausência de substância antagonica no grão, já que no teste de livre escolha com *C. canephora* cv. Nemaya se observou a penetração da broca nos grãos destes genótipos. Giordanengo et al. (1993), mostraram em testes em olfátometro que os voláteis eliminados pelos frutos cereja influenciam a escolha da broca. Ondarza e Gutierrez (1996) verificaram que a broca-do-café é atraída pelos cairomônios liberados pelo fruto e outros voláteis. Costa (2002) encontrou atratividade do composto volátil  $\beta$ -pineno sobre as fêmeas da broca-do-café e sinais de repelência do composto volátil limoneno sobre *H. hampei*. Estes dois compostos estão presentes mais em frutos cereja de café conforme Mathieu et al. (1998). Estes autores encontraram diferenças na composição de voláteis em *C. canephora* e *C. arabica*.

É necessário transferir o gene ou os genes de resistência de *C. eugenioides*, *C. kapakata* e *P. bengalensis* para as cultivares comerciais. É possível que o gene de resistência de *P. bengalensis* seja diferente ao das espécies *C. eugenioides* e *C. kapakata*, pois um deve apresentar substâncias antagonicas no grão e os outros nas substâncias voláteis.

Lima et al. (2003) relataram a possibilidade de usar substâncias voláteis como o  $\beta$ -pineno para confeccionar armadilhas mais atrativas do que as usadas atualmente com mistura de etanol:metanol, ou mesmo usar repelentes como o limoneno em pulverizações. A substância antagônica do fruto de *P. bengalensis* tem potencial para ser usado como inseticida botânico contra a broca e, provavelmente, devem existir diferenças na atratividade ou estimulação à penetração da broca, como no caso de *C. canephora* cv. Nemaya, nos diferentes genótipos estudados neste trabalho.

Estes genótipos resistentes devem ser melhores estudados em diversas áreas de pesquisa visando analisar: quais substâncias voláteis do fruto afetam a resistência destes cafeeiros e qual gene ou quais genes são responsáveis pela resistência de *C. eugenoides*, *C. kapakata* e *P. bengalensis*. O gene deste último tem potencial para ser clonado e usado para transgenia, já que esta espécie é muito diferente de *C. arabica*. Deveria ser estudada também a possibilidade de usar os frutos e folhas do *P. bengalensis* como um inseticida botânico e verificar se existem genótipos mais atraentes para a broca para utilizar as substâncias destes genótipos em armadilhas de broca. Nestes três genótipos é necessário avaliar a taxa de reprodução da broca, já que nos testes realizados neste trabalho só foi avaliada a quantidade de frutos brocados.

## CONCLUSÕES

- a) As espécies *Coffea eugenoides*, *C. kapakata* e *Psilanthus bengalensis* constituem importantes fontes de resistência à broca.
- b) *C. eugenoides* e *C. kapakata* podem apresentar substâncias voláteis repelentes à broca na casca e a resistência de *P. bengalensis* pode estar também no grão.
- c) É necessário transferir os genes destes três genótipos para as cultivares comerciais.
- d) Estes genótipos resistentes e suscetíveis precisam ser estudados nas diversas áreas de pesquisa do café para analisar: as substâncias voláteis dos frutos, os genes responsáveis pela resistência, a possibilidade de clonagem dos genes, o uso das substâncias antagônicas como inseticidas ou repelentes botânicos, a possibilidade de usar genótipos mais atrativos em armadilhas de broca e a taxa de reprodução da broca.

## REFERÊNCIAS

- BATISTA, M. Efeitos de diferentes índices de infestação pela broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) no peso e na classificação do café pelo tipo e pela bebida. 1986. 67 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras (Brasil). 1986.
- COSTA, F. G. Avaliação de semioquímicos do café para seu emprego em programas de controle e monitoramento da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Monografia - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (Brasil).
- CRUZ, C. D. **Programa Genes**: versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa (Brasil): UFV, 2001. 648 p.
- FAZUOLI, L. C. Melhoramento genético do cafeeiro. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 10., 2004, Mococa (Brasil). **Anais ...** Mococa: Instituto Biológico, 2004. p. 2-28.
- GIORDANENGO, P.; BRUN, L. O.; FREROT, B. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by coffee berries. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, p. 763-769, 1993.
- LE PELLEY, R. H. **Collembola and Coleoptera**. Pests of coffee. 1968. Cap. 4. p. 99-178.
- LIMA, E. R. et al. Emprego de semioquímicos no manejo de pragas do café. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Produção integrada de café**. Viçosa (Brasil): UFV, 2003. p. 47-66.
- MATIELLO, J. B. et al. **Cultura de café no Brasil**: novo manual de recomendações. Rio de Janeiro e Varginha (Brasil): MAPA/PROCAFÉ, 2002. 387 p.
- MATHIEU, F.; MALOSSE, C.; FREROT, B. Identification of the volatile components released by fresh coffee berries at different stages of ripeness. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 46, p. 1106-1110, 1998.
- ONDARZA, R. N.; GUTIERREZ, M. A. Kairomone effect of extracts from *Coffea canephora* over *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Environmental Entomology**, v. 25, n. 1, p. 96-100, 1996.

## INIBIDORES DE $\alpha$ -AMILASE E SUAS APLICAÇÕES NO CONTROLE DA BROCA-DO-CAFÉ (*Hypothenemus hampei*)

Aulus E.A.D. Barbosa, Railene de Azevedo Pereira, Érika V.S.A. de Barros, Maria C.M. da Silva, Edson L.Z. Figueira, Osmundo B. Oliveira Neto, M.J. Chrispeels, Arnubio Valencia e Maria F. Grossi-de-Sá

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - PqEB, Av. W5 - Norte final, 707770-900 Brasília, DF, Brasil, fatimasa@cenargen.embrapa.br

### RESUMO

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, é uma das principais pragas do cafeeiro (*Coffea* spp.) no Brasil, alcançando dimensões epidêmicas que afetam a quantidade e a qualidade dos grãos. Considerável atenção tem sido dada aos problemas causados por este inseto-praga e pesquisas vêm sendo conduzidas, explorando os mecanismos de defesa das plantas contra o ataque de insetos, em particular, o uso de compostos anti-metabólicos, incluindo os inibidores de enzimas hidrolíticas digestivas (inibidores de  $\alpha$ -amilases e proteinases), os quais possuem potencial para serem incluídos junto aos programas de melhoramento genético, por meio da transgenia. Estudos prévios demonstraram a presença de duas  $\alpha$ -amilases no intestino larval da broca-do-café que foram fortemente inibidas por dois inibidores de  $\alpha$ -amilases, provenientes de sementes de feijão selvagem (*Phaseolus coccineus*) e feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) (VALENCIA et al., 2000). Visando a utilização destes inibidores ( $\alpha$ Al-I e  $\alpha$ Al-Pc) como estratégia no controle da broca-do-café, os genes para esses inibidores foram utilizados na transformação de plantas de café. O gene  $\alpha$ Al-Pc contém 669pb, codificando para um inibidor com 223 aminoácidos, que apresenta 97% de identidade de sequência com o inibidor  $\alpha$ Al-I. A atividade *in vitro* do inibidor  $\alpha$ Al-Pc recombinante, expresso em planta de fumo, foi avaliada contra as  $\alpha$ -amilases da broca-do-café, confirmando sua elevada atividade inibitória, como demonstrada anteriormente com o inibidor purificado diretamente das sementes. As plantas de fumo mostraram níveis de expressão, variando de 0,02 a 0,05%, quando quantificadas por ensaio imunoenzimático (ELISA). O gene  $\alpha$ Al-Pc foi subclonado no vetor de expressão de plantas, pCAMBIA2300, sob controle do promotor PHA-L e experimentos de transformação em plantas de café, *C. Arábica*, estão sendo conduzidos. Paralelamente, esforços foram concentrados na regeneração e transformação de plantas de café (*C. arabica* e *C. canephora*) com o gene  $\alpha$ Al-I e, dados recentes mostraram eficiência na transformação de plantas de *C. arabica*, utilizando a técnica de transformação via biobalística. As plantas

transformantes, analisadas por PCR e *Southern blot*, mostraram a inserção do gene no genoma das plantas de café. Estas plantas transformadas estão em fase de florescimento e os níveis de expressão na semente, bem como a eficiência do inibidor  $\alpha$ AI-I no controle da broca-do café serão avaliados nos próximos meses.

## INTRODUÇÃO

O café é uma importante fonte de renda para a economia do Brasil, tendo uma produção estimada para 2006 de 2.535.768 toneladas, sendo os estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná e Bahia, os maiores produtores nacionais (IBGE, 2006). Essa produção corresponde a 36% do mercado mundial e faz do Brasil o principal produtor, país que também é o segundo em consumo de café, atrás apenas dos Estados Unidos (MAPA, 2003).

As espécies, *C. arabica* e *C. canephora* são as mais cultivadas correspondendo, respectivamente, a 65% e 35% do mercado internacional. *C. arabica* é uma espécie alotetraplóide ( $2n = 4x = 44$ ), originada de dois ancestrais diplóides, *C. canephora* e *C. eugenioides*, e é caracterizada por uma baixa diversidade genética. *Coffea canephora* é uma espécie diplóide ( $2n = 2x = 22$ ), assim como todas as outras 80 espécies conhecidas do gênero *Coffea*, e possui uma variabilidade genética considerável (BERTRAND et al., 2003). Ambas espécies são atingidas por pragas, incluindo insetos-praga e nematóides endoparasíticos, que causam milhões de dolares em prejuízos, anualmente. Um dos insetos-praga, considerado de maior importância, é a broca-do-café, *H. hampei* (FERRARI, 1867).

As infestações da cafeicultura pela broca-do-café chegaram a causar prejuízos de até 80% (LE PELLEY, 1968). No estado do Espírito Santo, por exemplo, a broca-do-café causa, em termos quantitativos, a destruição de aproximadamente 154 mil sacas de café/ano, totalizando cerca de R\$ 40 milhões, que deixam de circular anualmente na economia deste estado (INCAPER, 2000). A espécie *C. canephora* é a mais susceptível ao ataque da broca, provavelmente porque apresenta uma floração irregular durante todo o ano, sempre com frutos em diferentes estágios de desenvolvimento e seu plantio é realizado em regiões quentes, características que favorecem o ciclo do inseto (FILHO; MAZZAFERA, 2003).

Diferentes proteínas inseticidas foram identificadas com potencial uso no controle de insetos-praga para o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos. Entre estas, estão incluídas, as toxinas Cry, os inibidores de enzimas digestivas, as quitinases, as lectinas, etc (BURGUSS

et al., 1994; GROSSI DE SA et al., 1997; BISHOP, 2000; SALES et al., 2000; CARLINI; GROSSI DE SA, 2002; BELLINCAMPI et al., 2004; HAQ et al., 2004).

Valencia e colaboradores (VALENCIA et al., 2000) demonstraram, em experimentos *in vitro*, que o inibidor  $\alpha$ -AI1, isolado de sementes de *P. vulgaris*, inibe a atividade das duas  $\alpha$ -amilases, presentes na broca-do-café, *H. hampei*. Recentemente, um outro inibidor de  $\alpha$ -amilase, isolado de sementes de um acesso do feijão selvagem, *P. coccineus*, mostrou-se também bastante eficiente em inibir as  $\alpha$ -amilases da broca-do-café (PERREIRA et al., 2006). Visando o controle dessa importante praga da cafeicultura, o objetivo deste trabalho é a utilização dos genes para os dois inibidores de  $\alpha$ -amilases ( $\alpha$ AI-I e  $\alpha$ AI-Pc) no desenvolvimento de plantas de café transgênicas. Os estudos existentes envolvendo transformação de café (HATANAKA et al., 1999; DUFOUR et al., 2000; OGITA et al., 2002; ROSILLO et al., 2003) e o recente estabelecimento da técnica de transformação genética de café, pelo nosso grupo (CUNHA et al., 2006) contribuíram para a obtenção de plantas de café resistente a *H. Hampei*, aqui apresentada.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Construção dos Vetores.** O DNA genômico extraído de folhas jovens de *P. coccineus* foi utilizado como molde para a amplificação do gene  $\alpha$ AI-Pc, que codifica para um inibidor de  $\alpha$ -amilase. Devido à alta identidade de seqüências de aminoácidos entre os inibidores isolados de sementes de feijão, foi utilizado oligonucleotídeos iniciadores específicos para as extremidades 5' e 3' da seqüência gênica do  $\alpha$ AI-1 de *P. vulgaris*. O produto de PCR (669pb) foi clonado no vetor PGEMt-easy (Promega). Após sequenciamento, novos oligonucleotídeos foram desenhados, de forma a adicionar na extremidade 5' do gene  $\alpha$ AI-Pc um sítio de restrição para a enzima de restrição *Bsm* I e o peptídeo sinal do inibidor  $\alpha$ AI-1 e na extremidade 3', um sítio de restrição para *Xba* I e o códon de terminação. O produto de PCR (cerca de 750 pb) foi subclonado no vetor PUC8 contendo um fragmento de 536pb do promotor semente específico da fitohemaglutinina, PHA-L (ALTABELLA; CHRISPEELS, 1990). Finalmente o cassete  $\alpha$ AI-Pc + promotor PHA-L foi inserido no vetor pCAMBIA1309 que continha o terminador NOS.

Outros dois vetores estão sendo utilizados nas transformações de plantas de café, no qual, um deles foi construído subclonando o gene  $\alpha$ AI-Pc no vetor pCAMBIA 2300, sob o controle do promotor PHA-L e o terminador NOS. O outro foi a subclonagem do gene para o inibidor  $\alpha$ AI-1 no vetor pBIN19, também sob controle do promotor e terminador PHA-L.

**Transformação de plantas de fumo.** O vetor pCAMBIA1390  $\alpha$ Al-Pc foi introduzido em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum*) via *Agrobacterium tumefaciens* EHA 105. Explantes foliares foram transformados utilizando o método descrito por Horsh et al. (1985).

**Transformação das plantas de café.** A metodologia de transformação do café utilizada variou de acordo com a espécie transformada. A transformação de *C. arabica* foi feita por meio da técnica de biobalística. Cerca de 50 mg de calos embriogênicos, produzidos de co-cultivo de fragmentos foliares, foram utilizados em cada um dos seis experimentos de bombardeamento, realizados com cada vetor. Após o bombardeamento, os calos foram transferidos para meios seletivos e regeneração, até o desenvolvimento de plântulas, as quais foram transferidas para casa de vegetação. A transformação de plantas de *C. canephora* foi feita através de co-cultivo de calos embriogênicos com *A. tumefaciens*. Aproximadamente 50 mg de calos foram co-cultivados com o *Agrobacterium* por dois dias, a 26°C, na ausência de luz, sendo então transferidos para meios de seleção e regeneração até o aparecimento de embriões e plântulas.

**Extração protéica.** Proteínas totais contendo o inibidor recombinante,  $\alpha$ Al-Pc, foi extraída de sementes de plantas de fumo geneticamente modificada, utilizando o método descrito por Grossi de Sa et al. (1997). A concentração de proteína foi determinada de acordo com Bradford (1976).

**Imunodeteção das proteínas por ELISA e Western blot.** Utilizando extrato protéico de sementes de plantas de fumo, eletroforese em gel de poliacrilamida em condições desnaturantes (13% SDS-PAGE) foi realizado como descrito por Shagger e von Jagon (1987). A presença da proteína  $\alpha$ Al-Pc foi identificada por *western blot* como descrito por Grossi de Sa et al. (1997). Anticorpo policlonal anti- $\alpha$  Al-1 (cedido pelo Dr. Marteen Chrispeels, ver GROSSI-DE-SA et al., 1997) foi utilizado, seguido do anticorpo secundário goat anti-Rabbit IgG conjugada a peroxidase (BioRad). Para quantificar a expressão da proteína recombinante foi utilizado o método ELISA (ENGVALL; PERLMAN, 1971), microplacas foram sensibilizadas com 100 mg de proteínas total. Anticorpo policlonal de soro de coelho contra  $\alpha$ Al-1 foi utilizado como anticorpo primário e goat anti -Rabbit IgG conjugado a fosfatase alcalina como anticorpo secundário. Como substrato foi utilizado o p-nitrofenil fosfato (Sigma). Uma curva com concentrações definidas da proteína purificada extraída do gel SDS-PAGE foi utilizada como padrão.

**Atividade inibitória do inibidor recombinante.** A atividade do inibidor recombinante  $\alpha$ Al-Pc sobre as  $\alpha$ -amilases da broca-do-café foi medida utilizando o método de DNS (dinitrosalicylic acid) adaptado por Bernfeld (1955). O ensaio contém uma unidade da atividade da  $\alpha$ -amilase do extrato total da broca-do-café e 200 mg de proteína do extrato total de sementes de fumo. A reação ocorreu por 20 min a 37°C.

**Análise molecular das plantas de café transformadas.** As potenciais plantas de café transformadas foram analisadas via PCR e *Southern Blot*. Foram realizadas PCRs para verificar a presença do gene de resistência ao antibiótico canamicina e *Southern Blot* para identificar as plantas que integraram em seu genoma os respectivos genes de inibidores de  $\alpha$ -amilases.

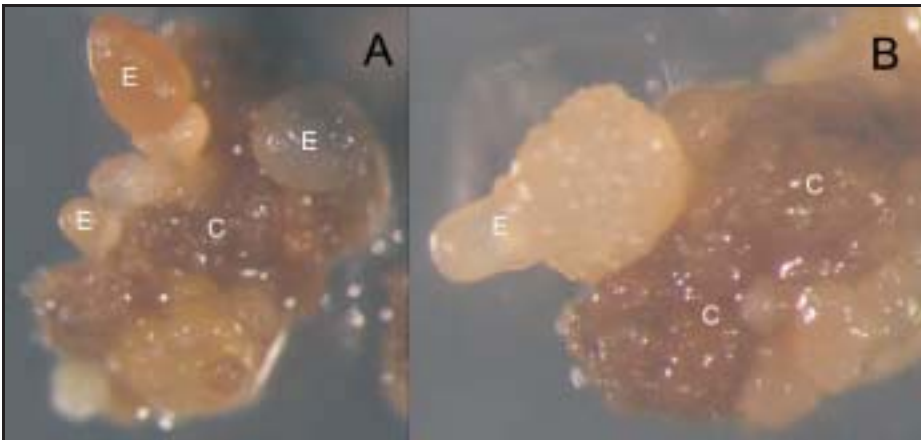
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gene  $\alpha$ Al-Pc contendo 669 pb, isolado do acesso selvagem de *P. coccineus*, codifica para um inibidor de  $\alpha$ -amilase com 223 aminoácidos. O valor estimado do pl desta proteína madura é de 5.02 e a massa molecular (Mw) de 24.8 kDa. A seqüência de aminoácidos possui alta identidade com os inibidores de  $\alpha$ -amilase de *P. vulgaris*, apresentando 97% de identidade com inibidor  $\alpha$ Al-1 e 68% com o  $\alpha$ Al-2 (PEREIRA et al., 2006). O gene  $\alpha$ Al-Pc, sobre o controle do promotor PHA-L foi inicialmente introduzido em plantas de fumo visando confirmar a eficiência do inibidor sobre as  $\alpha$ -amilases da broca-do-café. O processo de transformação resultou em 14 plantas transformantes, cuja presença do gene no genoma da planta foi confirmada pela amplificação por PCR. Experimentos de *western blot*, utilizando extrato protéico das sementes dos transformantes mostrou que o inibidor  $\alpha$ Al-Pc foi corretamente processados em plantas de café, liberando duas subunidades com massa molecular de aproximadamente 10 e 19 kDa. Esta variação na massa molecular das subunidades do inibidor expresso ocorreu devido as diferentes glicosilações que ocorrem naturalmente com os  $\alpha$ Als encontrados em feijão comum, os quais são processados a partir de uma pro-proteína precursora de 35 kDa (MORENO; CHRISPEELS, 1986). Este processo é essencial para a atividade biológica da proteína (PUEYO et al., 1993). O nível de expressão da proteína recombinante foi quantificado por meio de teste ELISA, mostrando níveis variáveis de 0,02 a 0,05 % de proteína solúvel. O nível de expressão pode ser considerado bastante baixo, quando comparado com a expressão do inibidor  $\alpha$ -Al obtida em sementes de plantas de fumo transgênicas (ALTABELLA; CHRISPEELS, 1990), de feijão azuki (ISHIMOTO et al., 1996) e de ervilhas (SCHROEDER et al., 1995; MORTON et al., 2000), que variaram de 0,08% a 3%. A atividade *in vitro* do inibidor  $\alpha$ Al-Pc em

folhas de fumo foi avaliada para as  $\alpha$ -amilases da broca-do-café. A proteína presente em todos os transformantes, embora expressa em baixa quantidade, inibiu fortemente a atividade da enzima digestiva do inseto. Os resultados obtidos mostraram que o inibidor recombinante foi expresso e processado corretamente nas sementes de plantas de fumo e com atividade.

Cunha e colaboradores (CUNHA et al., 2006) transformaram plantas de *C. arabica* com eficiência, via biobalística. Neste protocolo, aproximadamente 50 mg de calos embriogênicos foram bombardeados com vetor contendo o gene repórter GUS em micropartículas de tungstênio.

Os experimentos de transformação dos calos de *C. Arabica* (com o vetor pCAMBIA1390 $\alpha$ AI-Pc), utilizando este mesmo protocolo, via biobalística e *C. canephora*, via *Agrobacterium*, gerou calos resistentes ao antibiótico canamicina, que posteriormente se diferenciaram em embriões (Fig. 1). O mesmo protocolo de bombardeamento de Cunha e colaboradores (CUNHA et al., 2006) foi também utilizado para transformar calos de *C. arabica* com o inibidor  $\alpha$ AI-1. Este último experimento gerou 15 plantas transformantes, que após a análise por *Southern blot*, seis delas mostraram ser positivas para a presença do gene no genoma das plantas de fumo (Fig. 2). Cinco das seis diferentes plantas apresentam uma única cópia do gene  $\alpha$ AI-1 inserido no genoma da planta, enquanto uma destas apresentou duas cópias (Fig. 2, linha 2). Duas destas plantas, positivas no *Southern blot*, estão em fase de floração, cujas sementes serão brevemente desafiadas contra a broca-do-café (Fig. 3).



**Figura 1.** Embriões de *C. arabica* que foram transformados com o inibidor de  $\alpha$ -amilase do feijão selvagem *P. coccineus* e o gene de resistência ao antibiótico kanamicina. Na fotos A e B estão indicados alguns embriões primários (E) e região com calos embriogênicos indiferenciados (C).



**Figura 2.** Análise por *Southern blot* de plantas de *C. arabica* transformadas. P: fragmento  $\alpha$ AI-1 como controle positivo; 1 - 4: plantas de café tranformadas.



**Figura 3.** (A) Plantas de café positivas em *Southern blot* para a presença do gene  $\alpha$ AI-1 no genoma da planta (B) Floração de umas das plantas positivas.

## PERSPECTIVAS

As perspectivas para os estudos futuros incluem a análise molecular das plantas de *C. arabica* transformadas contendo o gene para o inibidor  $\alpha$ AI-1, o desafio das sementes quanto a eficiência no controle da broca-do-café e a continuidade nos experimentos para a obtenção de plantas geneticamente modificadas de *C. arabica* e *C. canephora* com o gene para o novo inibidor de  $\alpha$ -amilase do *P. coccineus*,  $\alpha$ AI-Pc.

## REFERÊNCIAS

ALTABELLA, T.; CHRISPEELS, M. J. Tobacco plants transformed with the bean AAI gene express an inhibitor of insect  $\alpha$ -amylase in their seeds. *Plant Physiology*, v. 93, p. 805-810, 1990.

AZEVEDO PEREIRA, R. et al. An alpha-amylase inhibitor gene from *Phaseolus coccineus* encodes a protein with potential for control of coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). *Phytochemistry*, v. 67, p. 2009-2016, 2006.

BELLINCAMPI, D. et al. Potential physiological role of plant glycosidase inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1696, p. 265-274, 2004.

BERNFELD, P. Amylases, alpha and beta. In: COLOWICK, S. P.; KAPLAN, N. O. (Eds.) *Methods in enzymology*. New York (USA): Academic Press., 1955, v. 1, p. 149-158.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, p. 248-254, 1976.

BERTRAND, B. et al. Impact of the *Coffea canephora* gene introgression on beverage quality of *C. arabica*. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 107, p. 387-394, 2003.

BISHOP, J. G.; DEAN, A. M.; MITCHELL-OLDS, T. Rapid evolution in plant chitinases: molecular targets of selection in plant-pathogen coevolution. *PNAS*, v. 97, p. 5322-5327, 2000.

BURGUESS, E. P. J. et al. Effects of protease inhibitor concentration and combination on the survival growth and gut activities of the black field cricket, *Teleogryllus commodus*. *Journal of Insect Physiology*, v. 40, p. 803-811, 1994.

CARLINI, C. R.; GROSSI DE SÁ, M. F. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. *Toxicon*, v. 40, p. 1515-1539, 2002.

CUNHA, W. G. et al. ***Coffea arabica* plants genetically modified through bombardment**. *Plant Cell Reports*, 2006. (In Press).

DUFOUR, M. et al. Coffee (*Coffea* sp.) Genetic transformation for insect resistance. *Coffee Biotechnology and Quality*, p. 209-217, 2000.

ENGVALL, E.; PERLMAN, P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Imunochemistry*, v. 8, n. 9, p. 871-4, 1971.

FILHO, O. G.; MAZZAFERA, P. Caffeine and resistance of coffee to the berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 51, p. 6987-6991, 2003.

GROSSI-DE-SA, M. F. et al. Molecular characterization of a bean  $\alpha$ -amylase inhibitor that inhibits the  $\alpha$ -amylase of the Mexican bean weevil *Zabrotes subfasciatus*. *Planta*, v. 203, p. 295-303, 1997.

HAQ, S. K.; ATIF, S. M.; KHAN, R. H. Protein proteinase inhibitor genes in combat against insects, pests, and pathogens: natural and engineered phytoprotection. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 431, p. 145-159, 2004.

HATANAKA, T. et al. Transgenic plants of coffee *Coffea canephora* from embryogenic callus via *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. **Plant Cell Reports**, v. 19, p. 106-110, 1999.

HORSH, R. B. et al. A simple and general method for transferring genes into plants, **Science**, v. 227, p. 1229-1231, 1985.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2006). <http://www.ibge.gov.br>

INCAPER - INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENÇÃO RURAL. <http://www.incaper.es.gov.br/incaper.htm>. 2000.

ISHIMOTO, M. et al. Bruchid resistance of transgenic azuki bean expressing seed  $\alpha$ -amylase inhibitor of common bean. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 79, p. 309-315, 1996.

LE PELLEY, R. H. **Pests of coffee**. London (England): Longmans Green and Co., 1968. 590 p.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. <http://www.agricultura.gov.br/>. 2003.

MORENO, J.; CHRISPEELS, M. J. A lectin gene encodes the  $\alpha$ -amylase inhibitor of the common bean. **PNAS**, v. 86, p. 7885-7889, 1989.

MORTON, R. L. et al. Bean  $\alpha$ -amylase inhibitor 1 in transgenic peas (*Pisum sativum*) provides complete protection from pea weevil (*Bruchus pisorum*) under field conditions. **PNAS**, v. 97, p. 3820-3825, 2000.

OGITA, S. et al. Genetic modification of coffee plants. **Journal of Plant Biotechnology**, v. 4, p. 91-94, 2002.

PEREIRA, R. A. et al. An alpha-amylase inhibitor gene from *Phaseolus coccineus* encodes a protein with potential for control of coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). **Phytochemistry**, v. 67, p. 2009-2016, 2006.

PUEYO, J. J.; HUNT, D. C.; CHRISPEELS, M. J. Activation of bean (*Phaseolus vulgaris*)  $\alpha$ -amylase inhibitor requires proteolytic processing of the pro-protein. **Plant Physiology**, v. 101, p. 1341-1348, 1993.

ROSILLO, A. G. et al. Optimized DNA delivery into *Coffea arabica* suspension culture cells by particle bombardment. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 74, p. 45-49, 2003.

SALES, M. P. et al. 2000. Do legumes storage proteins play a role in defending seeds against bruchids? **Plant Physiology**, v. 124, p. 515-522, 2000.

SCHAGGER, H.; VON JAGOW, G. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. **Analytical Biochemistry**, v. 166, p. 368-379, 1987.

SCHROEDER, H. E. et al. Bean  $\alpha$ -amylase inhibitor confers resistance to the pea weevil, *Bruchus pisorum*, in genetically engineered peas (*Pisum sativum* L.), **Plant Physiology**, v. 107, p. 1233-1239, 1995.

VALENCIA, A. et al.  $\alpha$ -Amylases of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) and their inhibition by two plant amylase inhibitors. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 30, p. 207-213, 2000.

## Patrocínio



COFERCATU



**STIHL**®



## Apoio

Ministério da Agricultura  
Pecuária e Abastecimento



**FUNDAÇÃO  
ARAUCÁRIA**

Consórcio  
Brasileiro de  
Pesquisa  
e Desenvolvimento  
do Café



**EMATER**

CIRAD - França

**FAEP** Federação da Agricultura  
do Estado do Paraná



**INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ**

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO

Rod. Celso Garcia Cid, km 375 - C. Postal 481 - 86001 970 - Londrina - PR - Brasil

Fone: 55 43 3376 2000 - Fax: 55 43 3376 2101 - [www.iapar.br](http://www.iapar.br) - [iapar@iapar.br](mailto:iapar@iapar.br)