

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA**



**“PRUEBAS OLFATOMETRICAS PARA EVIDENCIAR ATRAYENTES ESPECIFICOS
DE LA BROCA DEL FRUTO DEL CAFETO (*Hypothenemus hampei* Ferrari)”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

**MELVIN IVÁN LÓPEZ MÉNDEZ
JAIRO GALILEO MARROQUÍN ELÍAS**

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, JULIO DE 2007.

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA**



**“PRUEBAS OLFATOMETRICAS PARA EVIDENCIAR ATRAYENTES ESPECIFICOS
DE LA BROCA DEL FRUTO DEL CAFETO (*Hypothenemus hampei* Ferrari)”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

**MELVIN IVÁN LÓPEZ MÉNDEZ
JAIRO GALILEO MARROQUÍN ELÍAS**

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

ASESORES:

M.Sc. MARÍA OFELIA GONZÁLEZ _____

Dr. BERNARD PIERRE DUFOUR _____

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, JULIO DE 2007.

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA**



**“PRUEBAS OLFATOMETRICAS PARA EVIDENCIAR ATRAYENTES ESPECIFICOS
DE LA BROCA DEL FRUTO DEL CAFETO (*Hypothenemus hampei* Ferrari)”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

**MELVIN IVÁN LÓPEZ MÉNDEZ
JAIRO GALILEO MARROQUÍN ELÍAS**

PARA OPTAR AL GRADO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

JURADOS:

M.Sc. MARTHA NOEMÍ MARTÍNEZ DE ROSALES _____

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA _____

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, JULIO DE 2007.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTORA:

Dra. MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ

SECRETARÍA GENERAL:

Licda. ALICIA MARGARITA RIVAS DE RECINOS

FISCAL GENERAL:

Lic. PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

DECANO:

M.Sc. JOSÉ HECTOR ELÍAS

DIRECTORA ESCUELA DE BIOLOGÍA:

M.Sc. ANA MARTHA ZETINO CALDERÓN

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, JULIO DE 2007.

ASESORES Y JURADOS

**ASESORA:
M.Sc. MARÍA OFELIA GONZÁLEZ**

**ASESOR:
Dr. BERNARD PIERRE DUFOUR**

**JURADO EVALUADOR:
M.Sc. MARTHA NOEMÍ MARTÍNEZ DE ROSALES**

**JURADO EVALUADOR:
M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA**

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, JULIO DE 2007.

DEDICATORIA

Dedico la presente tesis a:

Mi tía; Sara Alicia Cruz, quien con su ejemplo y ayuda inapreciable permitió que mi vida cambiara.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas y entidades que de alguna manera hicieron posible la realización del presente trabajo.

A Dios; por darme la existencia y la inspiración.

A mis asesores.

M.Sc. María Ofelia González; por ser una maestra una guía y una amiga que siempre me oriento en la dirección correcta.

Dr. Bernard Pierre Dufour; Por enseñarme un estilo diferente de trabajo pensando y razonando con lógica y a girar bajo el impulso de la perfección en la vida...y en este trabajo.

Al Dr. Jean-Paul Morin; por toda su colaboración para que este trabajo se realizara.

A mis padres.

Maximiliano López Cruz y Francisca Méndez; por darme la vida, enseñarme el recto camino por la vida y demostrarme de modo reflejo, que no debe el título tener al hombre, sino el hombre tener al título.

A mis hermanos.

Mario, Oscar, Dina y Rosendo; todos ellos ejemplos de vida y fuentes inspirantes en mis estudios y valores.

A mi abuela.

María Olivia Cruz; por ser mi segunda madre y ayudarme incondicionalmente.

A mis sobrinas.

Helen y Marce; dulces retoños familiares.

A una persona en particular.

Heydi Benavides; por siempre apoyarme en las buenas y malas.

A mis amigos.

Especialmente a Franklin, Felipe, Raúl e Ing. Navarro; por motivarme siempre

A mi compañero de tesis

Por ser además, mi amigo y hermano de quien aprendo cada día.

A todo el personal de la UES y de PROCAFE por facilitarme las instalaciones y apoyarme para que este trabajo se realizara.

A Don David Valdez; por ayudarnos con los ensayos y brindarnos su amistad.

DEDICATORIA

A mis padres:

Elena Elías de Marroquín y Pedro Ángel Marroquín Hernández
Por el sacrificio y apoyo incondicional en mi superación.

A mis hermanos:

Pedro, Fátima y Cristhian Marroquín
Por el apoyo y motivación que me han brindado.

A mis sobrinos:

Michelle, Kevin, Diego Marroquín y Fernando Molina
Por ser motivo de mi inspiración

A una persona muy especial:

Doris Beltrán Sandoval
Por inspirarme, creer en mí y estar siempre a mi lado apoyándome en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Al Creador:

Por darme la fuerza necesaria y la oportunidad de concluir una de mis metas.

A mis asesores:

Dr. Bernard Pierre Dufour
M.Sc. María Ofelia González

Por ser los guías y colaboradores fundamentales en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al laboratorista:

David Valdez Rivas

Por darnos su amistad y todo el apoyo necesario durante el desarrollo de la investigación.

Dr. Jean-Paul Morin:

Por la ayuda y las observaciones objetivas a nuestra investigación.

A todo el personal de la Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café (PROCAFE):

Por su amistad y colaboración durante toda nuestra instancia.

A toda la Escuela de Biología:

Por darme la preparación académica y científica necesaria para realizar este trabajo.

A mi amigo y compañero de tesis:

Melvin Iván López Méndez

Por motivarme siempre a seguir adelante en todos los problemas y obstáculos que surgieron en el desarrollo de dicha investigación.

A todos mis compañeros y amigos de la U:

Por las vivencias compartidas, el apoyo y mas que todo, por su amistad.

¡¡GRACIAS!!

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN.....	1
1. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	3
1.1 Origen y clasificación taxonómica de la especie.....	3
1.1.1 Origen de la especie.....	3
1.1.2 Clasificación taxonómica.....	4
1.2 Biología.....	4
1.2.1 Ciclo Biológico.....	4
1.2.2 Descripción morfológica.....	5
1.3 Aspectos bioecológicos.....	6
1.3.1 Tropismo, selección del hospedero.....	6
1.3.2 Breve reseña sobre la migración y la comunicación aleloquímica de <i>Hypothenemus hampei</i>	7
1.3.3 Factores que afectan la atracción de la broca a los frutos de cafeto.....	9
2. OBJETIVOS.....	10
2.1 Objetivo General.....	10
2.2 Objetivos Específicos.....	10
3. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS.....	11
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
4.1 Lugar de la experimentación.....	12
4.2 Material experimental.....	12
4.2.1 Broca.....	12
4.2.1.1 Producción de broca a partir de frutos del campo.....	12
4.2.1.2 Cría de la broca en café pergamino o banco de broca.....	14
4.2.2 Frutos.....	14
4.2.3 Olfatómetros.....	16
4.2.3.1 Elección del modelo de olfatómetro.....	17
4.2.4 Atrayentes conocidos y compuestos aromáticos a probar.....	20
4.3 Métodos.....	21
4.3.1 Evaluación de los olfatómetros de 2 y 4 pozos en los	

bioensayos con los frutos de cafeto utilizados como fuente de olor.....	21
4.3.2 Evaluación de olfatómetros de 2 pozos con papel filtro como soporte de difusión de productos líquidos (mezcla etanol-metanol, terpenos, aceites esenciales y limpiador comercial).....	22
4.3.2.1 Diluciones de la mezcla etanol-metanol 30:70, para La difusión con papel filtro.....	22
4.3.2.2 Diluciones de los productos (terpenos, aceites esenciales y limpiador) a evaluar para la difusión con papel filtro.....	23
4.3.2.3 Procedimiento.....	24
4.3.3 Evaluación de olfatómetros de 2 pozos, con capilares para la difusión de productos aromáticos (mezcla etanol-metanol 30: 70 y cimeno).....	25
4.3.3.1 Diluciones de la mezcla etanol-metanol 30:70, para la difusión con capilares.....	25
4.3.3.2 Diluciones del cimeno para la prueba de difusión con capilares.....	26
4.3.3.3 Elaboración de los difusores con capilares.....	26
4.3.3.4 Evaluación.....	27
4.3.4 Calibración de los capilares para evaluar las tasas de difusión.....	27
5. RESULTADOS	29
5.1 Elaboración de una metodología para los estudios de olfatometría con la broca.....	29
5.1.1 Actividad de la broca en el transcurso del día.....	29
5.1.2 Atractividad de los frutos a diferentes tiempos después del corte.....	30
5.1.3 Preferencia de la broca hacia los frutos de cafeto en sus diferentes estados de maduración: verdes, maduros y secos.....	32
5.1.4 Respuesta de la broca en función del tipo de olfatómetro	

utilizado y el tiempo de prueba.....	33
5.2 Aplicación de la metodología en la evaluación de la preferencia de <i>H. hampei</i> por frutos de diferentes variedades de cafetos.....	37
5.2.1 Determinación de una escala de preferencia de la broca por diferentes variedades de cafetos, utilizando olfatómetros de cuatro pozos.....	37
5.2.2 Determinación de una escala de preferencia de la broca por diferentes variedades de cafetos, con el uso de olfatómetros de dos pozos.....	42
5.3 Aplicación de la metodología a compuestos aromáticos líquidos.....	51
5.3.1 Respuesta de la broca ante diferentes concentraciones de la mezcla etanol-metanol 30:70 - difusión con papel filtro.....	52
5.3.2 Respuesta de la broca ante la difusión de aceites esenciales limoneno y mezcla etanol-metanol 30:70 (10 µg/10 µl)- difusión con papel filtro.....	53
5.3.3 Respuesta de la broca ante la difusión de terpenos, aceites esenciales, producto de limpieza y mezcla etanol-metanol 30:70 (10 µg/10 µl) - difusión con papel filtro.....	54
5.3.4 Respuesta de la broca ante la difusión de otros terpenos, aceites esenciales y mezcla etano-metanol 30:70 (10 µg/10 µl) - difusión con papel filtro.....	55
5.3.5 Respuesta de la broca ante la difusión de terpenos y aceites esenciales asociados a la difusión etanol-metanol, en comparación con un testigo de etanol-metanol solo - difusión con papel filtro.....	56
5.3.6 Calibración de los capilares para la difusión de la mezcla etanol-metanol 30:70.....	57
5.3.7 Respuesta de la broca a diferentes tasas de difusión de la mezcla etanol-metanol 30:70, en el marco del método de difusión con capilares.....	58

5.3.8 Respuesta de la broca a diferentes tasas de difusión de un solo terpeno asociado en solución a la mezcla etanol-metanol 30:70 al 20%, en el marco del método de difusión con capilares.....	59
6. DISCUSIÓN GENERAL.....	60
7. CONCLUSIONES GENERALES.....	64
8. RECOMENDACIONES.....	65
9. LITERATURA CITADA.....	66
ANEXOS	

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Especies y variedades de cafeto utilizadas en la investigación.....	15
Cuadro 2. Atrayentes y compuestos aromáticos utilizados en la investigación.....	21
Cuadro 3. Diluciones de la mezcla etanol-metanol utilizadas en la difusión con papel filtro.....	23
Cuadro 4. Dilución general de los productos comerciales: terpenos, aceites esenciales y limpiador.....	24
Cuadro 5. Diluciones de la mezcla etanol- metanol 30:70 utilizadas en la difusión con capilares.....	25
Cuadro 6. Diluciones del Cimeno utilizadas en la difusión con capilares.....	26
Cuadro 7. Concentraciones de Cimeno utilizadas en los Difusores (capilares).....	27
Cuadro 8. Respuestas de la actividad de la broca a diferentes horas del día.....	30
Cuadro 9. Atractividad de los frutos a diferentes horas después del corte.....	31
Cuadro 10. Respuesta de la broca a 3 estados de maduración de los frutos.....	32
Cuadro 11a. Respuesta de la broca después de una hora, en olfatómetro de vidrio y olfatómetro de “cartoncillo” con diámetro de16cm.....	33
Cuadro 11b. Respuesta de la broca después de 2 horas, en olfatómetro de vidrio y olfatómetro de “cartoncillo” con diámetro de16cm	34
Cuadro 11c. Respuesta de la broca después de 3 horas, en olfatómetro de vidrio y olfatómetro de “cartoncillo” con diámetro de16cm.....	34
Cuadro 11d. Respuesta de la broca después de 4 horas, en olfatómetro de vidrio y olfatómetro de “cartoncillo” con diámetro de16cm.....	35
Cuadro 12. Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Eugenoides y Pache.....	37

Cuadro 13. Comparación de preferencias para las variedades: Bourbon “elite 33”, Moka y Canephora.....	38
Cuadro 14. Comparación de preferencias de la broca para las variedades: Bourbon “elite 33”, Catimor y Catisic.....	38
Cuadro 15. Comparación de preferencias de la broca para las variedades: Bourbon “elite 33”, Leroy y Mundo Novo.....	39
Cuadro 16. Comparación de preferencias de la broca para las variedades: Bourbon “elite 33”, Purpurascens y Maragogipe.....	40
Cuadro 17. Comparación de preferencias de la broca para las variedades: Bourbon “elite 33”, Caturra y Pacas.....	40
Cuadro 18. Comparación de preferencias de la broca para las Variedades Bourbon “elite 33” y Bourbon “Santa Ana”	42
Cuadro 19. Comparación de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Pacas.....	43
Cuadro 20. Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Catuaí rojo.....	43
Cuadro 21. Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Caturra.....	44
Cuadro 22. Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Robusta.....	45
Cuadro 23. Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Pacamara.....	45
Cuadro 24. Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Catisic.....	46
Cuadro 25. Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Tekisic.....	47
Cuadro 26. Comparación de preferencias de la broca para la variedad Bourbon “elite 33” y el híbrido T3.....	47
Cuadro 27. Comparación de preferencias de la broca para la variedad Bourbon “elite 33” y el híbrido T4.....	48

Cuadro 28. Comparación de preferencias de la broca para la variedad Bourbon “elite 33” y el híbrido T5.....	49
Cuadro 29. Comparación de preferencias de la broca para la variedad Bourbon “elite 33” y el híbrido T6.....	49
Cuadro 30. Respuesta de la broca a diferentes concentraciones de la mezcla etanol-metanol 30:70.....	52
Cuadro 31. Respuesta de la broca a la difusión de aceites esenciales, limoneno y mezcla etanol-metanol 30:70.....	53
Cuadro 32. Respuesta de la broca a la difusión de terpenos, aceites esenciales, producto de limpieza y mezcla etanol-metanol 30:70.....	54
Cuadro 33. Respuesta de la broca a la difusión de otros terpenos, aceites esenciales y mezcla etanol-metanol 30:70.....	55
Cuadro 34. Respuesta de la broca a la difusión de terpenos, aceites esenciales asociada a la difusión de etanol-metanol 30:70 en comparación con un testigo.....	56
Cuadro 35. Tasas de difusión en medio confinado (olfatómetros) de la mezcla etanol-metanol a diferentes concentraciones.....	57
Cuadro 36. Respuesta de la broca a diferentes tasas de difusión de etanol-metanol 30:70, con capilares.....	58
Cuadro 37. Respuesta de la broca a diferentes concentraciones de cimeno, con capilares, asociadas a la difusión de etanol-metanol.....	59

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1a. Representación de la respuesta de la broca en olfatómetro de vidrio en función del tiempo.....	35
Gráfico 1b. Representación de la respuesta de la broca en olfatómetro de “cartoncillo” en función del tiempo.....	36
Gráfico 2. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Eugenoides y Pache.....	37
Gráfico 3. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33” Moka y Canephora.....	38
Gráfico 4. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Catimor y Catisic.....	39
Gráfico 5. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Leroy y Mundo novo.....	39
Gráfico 6. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Purpurascens y Maragogipe.....	40
Gráfico 7. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite”, Caturra y Pacas.....	41
Gráfico 8. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33” y Bourbon “Santa Ana”.....	42
Gráfico 9. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Pacas.....	43
Gráfico 10. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Catuaí rojo.....	44
Gráfico 11. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Caturra.....	44
Gráfico 12. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Robusta.....	45
Gráfico 13. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Pacamara.....	46

Gráfico 14. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Catisic.....	46
Gráfico 15. Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “Santa Ana” y Tekisic.....	47
Gráfico 16. Preferencia de la broca entre la variedad Bourbon “elite 33” y el híbrido T3.....	48
Gráfico 17. Preferencia de la broca para la variedad Bourbon “elite 33” y el híbrido T4.....	48
Gráfico 18. Preferencia de la broca para la variedad Bourbon “elite 33” y el híbrido T5.....	49
Gráfico 19. Preferencia de la broca para la variedad Bourbon “elite 33” y el híbrido T6.....	50
Gráfico 20. Respuesta de la broca (%) a diferentes concentraciones de la mezcla etanol-metanol 30:70 respecto a un testigo.....	52
Gráfico 21. Respuesta de la broca (%) a aceites esenciales, mezcla etanol-metanol y limoneno.....	53
Gráfico 22. Respuesta de la broca (%) a terpenos, aceite esencial, producto de limpieza y mezcla etanol-metanol.....	54
Gráfico 23. Respuesta de la broca (%) a otros terpenos, aceite esencial y mezcla etanol-metanol.....	55
Gráfico 24. Respuesta de la broca (%) a terpenos, aceites esenciales asociados a etanol-metanol en comparación etanol-metanol solo.....	56
Gráfico 25. Respuesta de la broca (%) a diferentes concentraciones de la mezcla etanol-metanol 30:70 - difusión con capilares.....	58
Gráfico 26. Respuesta de la broca (%) a diferentes concentraciones de cimeno en presencia de etanol-metanol - difusión con capilares.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estado de desarrollo de <i>H. hampei</i> huevo, larva, ninfa y adulto.....	5
Figura 2. Ciclo anual de la broca en relación a la fenología del cultivo del cafeto.....	13
Figura 3. Olfatómetro de caída de dos pocillos de Pavis y Minost.....	17
Figura 4. Olfatómetro de caída de "cartoncillo" de 2 pozos ($\varnothing = 15$ cm.).....	18
Figura 5. Olfatómetro de caída de "cartoncillo" de 2 pozos ($\varnothing = 10$ cm.).....	18
Figura 6. Olfatómetro de 2 pozos (\varnothing de cámara = 10 cm.).....	19
Figura 7. Olfatómetro de vidrio para utilizarlo con capilares (\varnothing de cámara = 10 cm.)	19
Figura 8. Olfatómetro de 4 pozos (\varnothing de cámara = 10 cm.).....	20
Figura 9a. Soporte de difusión (papel filtro).....	24
Figura 9b. Olfatómetro de con papel filtro.....	24
Figura 10a. Difusores con capilares.....	26
Figura 10b. Olfatómetro con difusor y capilares.....	26
Figura 11. Escala de preferencia de la broca para diferentes variedades, en olfatómetros de 4 pozos, tomando el Bourbon "elite 33" como referencia.....	41
Figura 12. Escala de preferencia de la broca para diferentes variedades, en olfatómetros de 2 pozos, tomando los Bourbones "Santa Ana" y "elite 33" como referencias.....	50

RESUMEN

Se presentan los resultados obtenidos de la primera parte de esta investigación, que tuvo como finalidad iniciar estudios olfatométricos sobre diferentes fuentes de atrayentes específicos de la broca del café, para poder evidenciar y seleccionar nuevos productos que sean más poderosos que la mezcla actualmente utilizada como atrayente de la trampa BROCAP®. La investigación se desarrollo en dos etapas complementarias: en la primera se diseñó una metodología de laboratorio para evaluar el efecto de las diferentes fuentes de atrayentes sobre el comportamiento de la broca a partir de ensayos preliminares utilizando olfatómetros. En este contexto, se evaluó una serie de parámetros implicados en el comportamiento de la broca, la naturaleza de las fuentes aromáticas y las condiciones del laboratorio. Se diseñaron y evaluaron olfatómetros estáticos de caída con pocillos, como fuente de olor se ocuparon frutos rojos (maduros) de *Coffea excelsa* var. Arnoldiano y se utilizaron 50 insectos por olfatómetro. Los resultados demostraron que el olfatómetro más eficaz fue el que se elaboró con vidrio. También, se observo que la broca recién emergida es activa tanto por la mañana como por la tarde, que los frutos emiten efluvios hasta más de 24 horas después del corte y que los frutos maduros (rojos) son los más atractivos para la broca (rojos). En la segunda etapa de la investigación se evaluó la respuesta de la broca por frutos de diferentes especies y variedades de cafeto utilizando olfatómetros de 2 y 4 pozos. Por último, se evaluó la respuesta de la broca sobre algunos productos aromáticos líquidos puros (terpenos, aceites esenciales y un producto de limpieza) y asociados con el atrayente (etanol-metanol 30:70), mediante olfatómetros de caída de 2 pozos, adaptándoles dos sistemas de difusión: uno con papel filtro, otro con capilares.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de cafeto se considera de gran importancia en El Salvador, no solo por su influencia en el producto interno bruto, sino por su relevancia social al constituir la fuente de sustento de un amplio segmento de la población, principalmente en las zonas rurales. Además genera ventajas ecológicas para las regiones donde es cultivado porque conserva muchas especies de plantas y animales que se encuentran en vía de extinción (Baker, 1999).

Sin embargo, en las últimas décadas, la caficultura se ha visto afectada por factores tales como: el fenómeno de El Niño que provocó cuantiosas pérdidas en la cosecha en 1997 por efecto de sequía, la reducción del precio del grano a partir de 1998 que alcanzó niveles muy por debajo de los costos de inversión (PROCAFE, 2005), generando la disminución drástica de mano de obra y el abandono de numerosas plantaciones por limitaciones de insumos (PROCAFE, 2005).

Este contexto muy negativo para la caficultura y especialmente la parte agronómica, ha favorecido el desarrollo de las plagas del café, sobretodo la broca, *Hypothenemus hampei* Ferr. (Coleoptera: Scolytidae), la especie más dañina del cultivo (Baker, 1999). La broca perfora el grano, desarrolla galerías, se reproduce, generando daños irreversibles que reducen la calidad del grano y causan pérdidas de hasta un 30% de la producción (PROCAFE 2002).

Con el propósito de controlar las poblaciones de este insecto desde su aparición en el país en 1981, el caficultor optó por varias técnicas, las cuales incluían control cultural y químico. No obstante, el primero implica una fuerte inversión en mano de obra y el segundo presenta una serie de inconvenientes al producir efectos nocivos al medio ambiente y disminuir la calidad del café por efecto de los residuos que se acumulan en los granos.

Las tendencias actuales para el control de la broca están dirigidas a utilizar menos insecticidas y aplicar diferentes alternativas del manejo integrado, tal como el trapeo, que consiste en la captura de las brocas adultas emergentes de los frutos residuales que migran hacia la nueva fructificación. El trapeo se ha desarrollado en El Salvador a partir de los años 2000 (Dufour, 2004) y perfeccionado constantemente hasta llegar a una tecnología bastante elaborada. Para resolver el problema de las variaciones de eficacia de esta técnica, el trapeo ha sido asociado a otro componente del manejo integrado, especialmente la "repela" o colecta estricta de los frutos residuales abandonados sobre los cafetos después de la cosecha (Dufour, comunicación personal). Ahora, el último perfeccionamiento que queda pendiente es el reforzamiento del poder atractivo del atrayente que permitiría aumentar la capacidad de captura de las trampas.

Es en este marco que está inscrita la presente investigación y tiene como propósito identificar atrayentes específicos de la broca del café, evaluando el efecto de diferentes fuentes de atrayentes: frutos de diferentes especies y variedades de cafeto, compuestos aromáticos del café, naturales y sintéticos. Para alcanzar este propósito, es indispensable definir una estrategia adecuada a partir de diferentes métodos olfatométricos existentes, buscando la mejor forma de adaptarlas al comportamiento de la broca, a la naturaleza de las fuentes aromáticas y de las propias condiciones del laboratorio.

1. FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1 ORIGEN Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA ESPECIE

1.1.1 Origen de la especie

La broca del fruto de cafeto *Hypothenemus hampei* Ferr. fue descubierta por primera vez en Francia, en granos de cafeto importados. Ferrari hizo su descripción en 1867, le dio el nombre de *Cryphalus hampei* (Oliveira Filho, 1927). Eichhoff (1871); (Citado por Dufour, 1999), introdujo la especie dentro del género *Stephanoderes*, el cual fue rápidamente comparado con el género *Hypothenemus* descrito por Westwood (1836). Varias especies descritas fueron puestas en sinonimia con *Stephanoderes hampei* Ferrari (Oliveira Filho, 1927). *S. coffea* Hagedorn (1920), *Xyleborus coffeivorus* Van der Weele (1910) y *X. coffeicola*. Hubo que esperar hasta 1963, para que Browne demostrara que el género *Hypothenemus* es idéntico al género *Stephanoderes* (Koch, 1973). Según la regla de la anterioridad, es el género *Hypothenemus* que será retenido.

La mayoría de autores concuerdan en decir que la broca del café es originaria de África Ecuatorial (Bergamin, 1943; Le Pelley, 1968), que infesta especies nativas de cafetos. Tothill (1940), precisa, por ejemplo, que la plaga es abundante en Uganda en las formas silvestres de *Coffea canephora* que crecen en el bosque húmedo. Otros autores no descartan la teoría de un origen etíope, la misma que la de *C. arabica*, tomando en cuenta la anterioridad del cultivo de este *Coffea* con respecto al de *C. canephora* y más precisamente la importancia del comercio del café "arabica" al momento en que *H. hampei* fue descubierto (Murphy y Moore, 1990).

1.1.2 Clasificación taxonómica

La posición taxonómica del insecto establecida por Balachoswsky (1949), fue dada a la luz por Crowson en 1955 (Delvare y Aberlenc, 1989):

Orden	Coleoptera
Suborden	Polyphaga
Infragrupo	Curcujiformia
Super familia	Curculionoidea
Familia	Scolytidae
Sub familia	Ipinae
Super tribu	Ipini
Tribu	Cryphalina
Genero	<i>Hypothenemus</i> (Westwood, 1836)
Especie	<i>hampei</i> (Ferrari, 1867)

1.2 BIOLOGÍA

H. hampei pertenece a una familia y más precisamente a un género donde la mayoría de las especies sacan su alimento de la madera o de los frutos de numerosas plantas leñosas de importancia económica, en las regiones tropicales, subtropicales y templadas (Johanneson y Mansingh, 1984).

Como todos los escolítidos, *H. hampei* es entonces un barrenador cuyo ciclo biológico se mantiene invisible con excepción de su corta fase de dispersión (Rudinsky, 1962)

1.2.1 Ciclo biológico

Es un insecto de rápida reproducción, la hembra puede dar origen a un promedio de 35 individuos (Decazy, 1989) en una proporción de 10 hembras por 1 macho. Las hembras de *H. hampei* se encuentran fuera de los frutos de cafeto solamente durante un breve lapso de tiempo, periodo que emplea en la búsqueda de

sus hospederos (Fig. 2). Es éste tipo de hembra que se utiliza para el desarrollo de éste trabajo.

Varios autores han estudiado el ciclo biológico de *H. hampei* bajo diferentes condiciones de temperatura y humedad. Según González (1988), la duración del ciclo es de 35.8 días, a $23.3^{\circ}\text{C} \pm 2.5^{\circ}\text{C}$ de temperatura y $81.6\% \pm 12.4\%$ de humedad relativa, distribuidos en 9.4 días de incubación, 19.8 días en estado larval y 6.5 días en estado pupal. Según el mismo autor, bajo condiciones $22.4^{\circ}\text{C} \pm 1.8^{\circ}\text{C}$ de temperatura y $88.3\% \pm 8.5\%$ de humedad relativa, el estado adulto de broca tiene una duración que puede alcanzar 131 días.

Es importante mencionar que en condiciones de laboratorio algunas hembras de *H. hampei* Ferr., son capaces de producir huevos fértiles en forma partenogénica hasta una segunda generación (González, 1988).

1.2.2 Descripción morfológica

H. hampei es un insecto holometábolo, cuyo ciclo de desarrollo presenta 4 estados sucesivos: huevo, larva, ninfa y adulto (Fig.1)

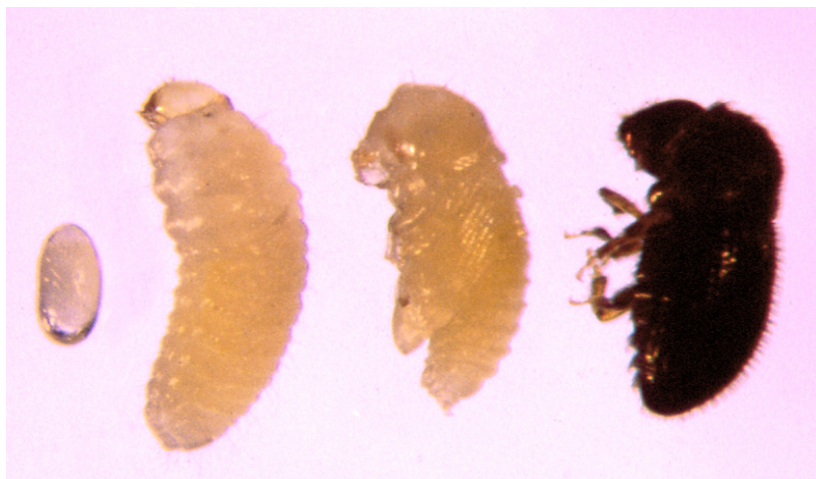


Fig.1: Estado de desarrollo de *H. hampei*: huevo, larva, ninfa y adulto

El adulto presenta al momento de la eclosión, una coloración marrón claro que se oscurece conforme pasan los días, para transformarse en negro brillante. El tamaño de las hembras es en promedio de 1.7 mm de largo (Sladden, 1934). Según Waterhouse y Norris (1989), las diferencias de tamaño observadas en numerosos especímenes habrían tenido una relación con su origen geográfico.

Para, Moore *et al.*, (1990) y Giordanengo (1992), se puede observar una disminución en el tamaño de los insectos cuando hay una sobrepoblación en el café en cereza infestado, y que las reservas alimenticias se agotan.

Finalmente, debe precisarse que el dimorfismo sexual es particularmente visible en la diferencia del tamaño ya que la hembra es 1.4 veces más grande que el macho (Sladden, 1934; Bergamin, 1943). Los ojos y las masas de las antenas están también más desarrollados en la hembra (Mbondji, 1974; López, 1993; Mathieu, 1995). Es importante también indicar que los machos llevan un par de alas atrofiadas que los hace no aptos para el vuelo y sus ojos llevan menos ommatidios que los de las hembras y sus antenas menos sensibles al olfato.

1.3 ASPECTOS BIOECOLÓGICOS

1.3.1 Tropismo, selección del hospedero

Según Ross (citado por Duarte, 1992), el término tropismo es la reacción de cada individuo a estímulos o a un conjunto de estímulos, lo cual induce al individuo a permanecer en un ambiente compatible con sus necesidades. Existen diversos tropismos describiéndolos como: tigmotropismo o respuesta al contacto, fototropismo o respuesta a la luz, también quimiotropismo o respuesta a los olores, termotropismo o reacción al calor y tropismos coordinados a la interrelación de los anteriores. En relación a *H. hampei*, las hembras colonizadoras presentan quimiotropismo positivo, mientras que las hembras no colonizadoras presentan un quimiotropismo negativo, incluso las más viejas. Según el mismo autor, la capacidad de selección de hospedero depende de la fisiología de este insecto más que de las condiciones en

las que se haya desarrollado. De la misma manera *H. hampei* responde a diferentes longitudes de onda y olores dependiendo de su estado fisiológico (Mathieu, 1995).

1.3.2 Breve reseña sobre la migración y la comunicación aleloquímica de *Hypothenemus hampei*

Las poblaciones de broca que sobreviven en los frutos residuales después de la cosecha, constituyen el principal inóculo que asegura la presencia de la plaga durante todo el año. La humedad generada por las lluvias esporádicas de la época seca, combinada con temperaturas altas, provoca su emergencia y su migración (Baker *et al.*, 1992, Dufour *et al.*, 2004). Después de percibir los estímulos olfativos emitidos por los frutos, la broca manifiesta un comportamiento de búsqueda hacia la fuente atractiva. La orientación y el acercamiento parecen responder a un gradiente de concentración y también a estímulos visuales en la fase terminal de acercamiento (Mathieu, 1995). Giordanengo *et al.*, (1993) encontraron que las hembras mostraban una preferencia por los frutos sazones sobre los frutos verdes y por frutos rojos sobre los frutos sazones. Adicionalmente, mostraron que las hembras respondieron a un extracto acetónico de frutos verdes evaluado en un olfatómetro tipo “Y”. Gutiérrez-Martínez y Ondarza (1996), realizando experimentos de laboratorio y de campo, concluyeron que extractos de cloruro de metileno y acetona de frutos maduros de café fueron los más atractivos a las hembras.

Warthen *et al.*, (1997) y Mathieu *et al.*, (1998), detectaron metanol y etanol en los volátiles emitidos por los frutos de café. Ortiz *et al.*, (2004) identificaron el etanol en los frutos verdes, verde-amarillo y rojos. El etanol atrae varias especies de escolítidos que atacan árboles (Moeck, 1970, Flechtmann *et al.*, 1999). En las especies forestales, el etanol es probablemente liberado por organismos presentes en tejidos de árboles en descomposición y en plantas con estrés; se arguye que este compuesto se convierte en una señal que le indica a los descortezadores qué árboles son más susceptibles de ser atacados (Byers, 1995).

La propiedad atractiva de la mezcla de los dos alcoholes metanol y etanol para la broca, ha sido demostrado por varios autores (Mendoza Mora, 1991; Gutiérrez-Martínez *et al.*, 1993; Mathieu, 1995; Dufour *et al.*, 2004.). Se ha comprobado que la mezcla de los dos alcoholes etanol-metanol (50:50) es más atractiva que el metanol solo (Dufour *et al.*, 1999). El metanol es una kairomona emitida por las cerezas y su difusión permite a la broca orientarse hacia el fruto de cafeto que constituye su lugar de reproducción y alimentación (Dufour, 1997).

En adición al etanol y metanol, otros compuestos volátiles pueden intervenir en la atracción de la broca. En los frutos rojos de *C. canephora* se han detectado 19 compuestos, mientras que en los frutos verdes solo 8 (Mathieu *et al.*, 1998). Los compuestos más abundantes liberados por los frutos rojos fueron α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, cariofileno y humuleno. En *C. arabica* solamente un compuesto fue encontrado en los frutos verdes y 10 fueron identificados en los frutos rojos, principalmente limoneno y linalol (Mathieu, *et al.*, 1998). Los compuestos más abundantes liberados por los frutos rojos de *C. arabica* variedad típica de la región de Blue Mountain fueron: hexanal, 2-(e)-hexanal, 3-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanal y 1-hexanol (Warthen *et al.*, 1997). Gomes de Lima *et al.*, (2004), identificaron 31 compuestos volátiles de *C. arabica* variedad *Conillon*. En pruebas con un olfatómetro, al evaluar algunos de los componentes identificados, ellos encontraron que el benzaldehido, el salicilato de metilo y el etilo de 2-heptanona, fueron los más atractivos para *H. hampei*, pero solo cuando fueron mezclados con una mezcla de metanol y etanol. El sinergismo entre el etanol y otros monoterpenos esta ampliamente documentado en otras especies de escolítidos (Byers, 1995). Pruebas de campo realizadas en Centroamérica muestran resultados contrastantes con respecto a la actividad del α -pineno. Por un lado, Borbón Martínez *et al.*, (2000), encontraron que la presencia de este compuesto no afecto la captura de brocas en trampas cebadas con metanol-etanol (3:1), mientras que González y Dufour (2000), reportan que trampas cebadas con metanol-etanol (1:1) y α -pineno-limoneno han disminuido en un 51% el nivel de infestación de la nueva fructificación con respecto a un testigo sin trampa, contra un 35% en trampas con la mezcla sin terpeno.

1.3.3 Factores que afectan la atracción de la broca a los frutos de cafeto

La emergencia de las hembras de broca de los frutos residuales responde a varios estímulos: humedad, temperatura (Baker, 1984; Baker *et al.*, 1992) y luz (Mathieu *et al.*, 1996). El rol del estado fisiológico de la broca sobre la respuesta a volátiles provenientes del fruto ha sido estudiado por Mathieu *et al.*, (2001). Encontraron que únicamente las hembras colonizadoras eran atraídas por los frutos, las hembras no colonizadoras (vírgenes y recién apareadas) no respondían, incluso las hembras más viejas (>15 días) eran repelidas por los olores de los frutos. Investigaciones recientes realizadas por Barrera *et al.*, (2005), con trampas funcionando con una mezcla metanol-etanol (3:1) mostraron que las brocas emergentes durante el periodo intercosecha (emergencia masiva desde los frutos residuales) tendían a volar mas alto que las brocas colonizadoras en el periodo productivo del cafeto.

2. OBJETIVOS

2.1 GENERAL

El objetivo general de este trabajo es iniciar estudios olfatométricos sobre diferentes fuentes de atrayentes de la broca del café, para poder evidenciar y seleccionar nuevos productos, más poderosos que la mezcla actualmente utilizada como atrayente de la trampa BROCAP®.

2.2 ESPECÍFICOS

1. Seleccionar un modelo de olfatómetro que más se adapte a la investigación con broca.
2. Elaborar una metodología olfatométrica para evaluar el efecto de diferentes fuentes de atrayentes sobre el comportamiento de la broca, en condiciones confinadas.
3. Aplicar la metodología a la primera fuente de atrayentes conocida que son los frutos de cafeto de diferentes especies y variedades y definir una escala de preferencia de los olores por la broca.
4. Adaptar la metodología a productos aromáticos naturales y sintéticos. Entre ellos se encuentran algunos terpenos ya identificados como elementos volátiles naturalmente emitidos por los frutos de cafeto.
5. Determinar si existe mayor efecto atractivo asociando la mezcla etanol-metanol con estos productos.

3. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS

1. Existe una metodología sencilla y válida para estudiar el comportamiento de la broca ante estímulos olfativos, utilizando un olfatómetro.
2. Se puede aplicar la metodología para evidenciar diferencias entre variedades de café por la atracción de la broca (*H. hampei*).
3. Se puede aplicar también esta metodología para evaluar compuestos volátiles naturales y sintéticos que tienen propiedades atractivas para la broca, que han sido identificados químicamente y que se pueden utilizar en el futuro como componente adicional a la mezcla de la trampa BROCAP®.
4. Existe mayor atracción de los productos aromáticos cuando están asociados a la mezcla etanol-metanol.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 LUGAR DE LA EXPERIMENTACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en un laboratorio propiedad de la Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café (PROCAFÉ), ubicado en final Avenida Manuel Gallardo, Ciudad de Santa Tecla, Departamento de La Libertad, El Salvador, con las siguientes coordenadas: 13º 41.2' Norte, 89º 17.3' Oeste (SNET, 2006).

El lugar se encuentra ubicado a la periferia de zonas cafetaleras que le proporcionan condiciones similares a las del campo.

La sala donde se realizaron los ensayos recibe luz natural difundida por seis láminas transparentes del techo. Los ensayos se realizaron principalmente por la tarde, para aprovechar la luz y el calor natural. En cada uno de los ensayos se registró la temperatura y la humedad relativa.

4.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

4.2.1 Broca

La broca que se utilizó en los experimentos son hembras recién emergidas de los frutos donde se desarrollaron. Presentan características similares, tales como: edad, estado fisiológico, comportamiento de búsqueda, etc. Para garantizar que siempre existieran lotes de broca de emergencia al momento de realizar los ensayos, fue necesario recolectar frutos brocados del campo y criar la broca en laboratorio. Esta cría de broca se hizo solamente cuando hubo escasez de frutos en el campo.

4.2.1.1 Producción de broca a partir de los frutos del campo

Los frutos brocados del campo, sazones, maduros y sobre maduros se ponen a secar unos días en zarandas y luego se colocan en cámaras de emergencia. Los

frutos secos, una vez recolectados, se colocan directamente en las cámaras. De manera general, la mayor cantidad de frutos secos se encuentra después de la cosecha (frutos residuales), los frutos en otros estados de madurez se cortan antes de la cosecha (nueva fructificación) (Fig. 2). Todas las cámaras se almacenan en una sala oscura con condiciones de temperatura y humedad relativa favorables al desarrollo de la broca (respectivamente $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 75%-80%). Cada vez que se necesita broca de emergencia, las cámaras se exponen a la luz para estimular la emergencia de la broca. Así, el buen control de la luz permite regular las emergencias y adaptarlas a las necesidades de los ensayos.

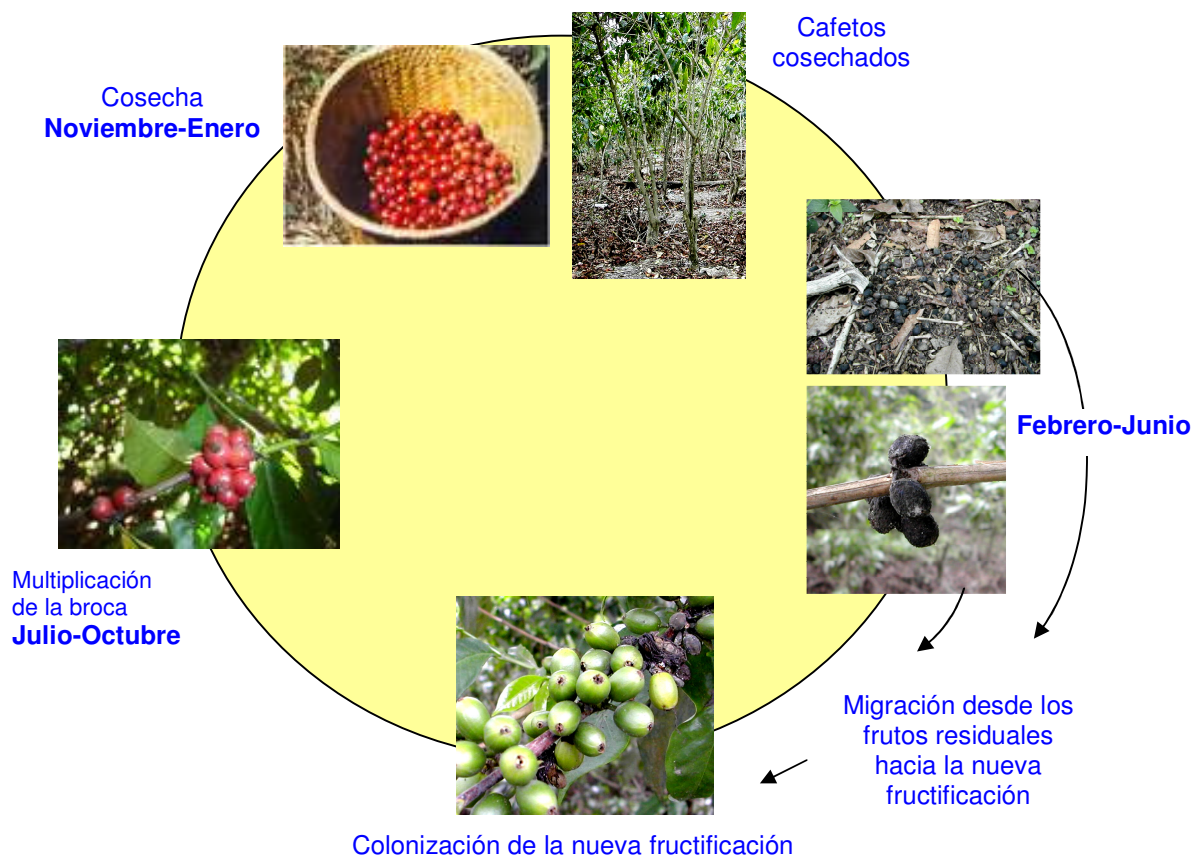


Fig. 2: Ciclo anual de la broca en relación a la fenología del cultivo del café

4.2.1.2 Cría de la broca en café pergamino o banco de broca

El banco de broca se realiza con café pergamino como principal medio nutritivo:

- a) Se preparan cámaras de crías con café pergamino donde se depositan brocas con la proporción de 2 brocas adultas de cualquier origen, por 1 grano.
- b) Las cámaras son trasladadas a una sala oscura a una temperatura de 27.9°C y humedad relativa de 77% a 80%.
- c) A las cámaras, se les da un mantenimiento exhaustivo diario, limpiando los residuos de la perforación de los granos, con el objetivo de reducir fuentes de agentes patógenos.
- d) Después de 20 días, se traslada el café pergamino perforado a las cámaras de emergencia que se manejan de la misma forma que las cámaras con frutos del campo.

4.2.2 Frutos

Los frutos son la primera fuente de olores que se utilizan en este estudio. La mayoría son maduros y provienen de cafetos de diferentes especies y variedades.

Los frutos provienen de la colección de cafetos del Jardín de especies y variedades de PROCAFE (ver anexo 1) y también, de la finca Malacara, ubicada en las faldas del volcán Ílamatepec, Departamento de Santa Ana.

En la mayoría de los casos, especialmente para los ensayos preliminares, se cortan las ramas y se colocan en un recipiente con agua para asegurarse que los frutos conserven sus propiedades biológicas durante el transporte del campo al laboratorio. Luego, los frutos son desgajados de las ramas al momento de realizar los ensayos.

Las especies y variedades de café utilizadas en este trabajo de investigación se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1: Especies y variedades de cafeto utilizadas en la investigación

Especie	Variedad	Línea	Origen
<i>Coffea arabica</i>	Bourbon "elite 33"	C-300	Est. Exp. PROCAFE*, Santa Tecla Jardín de Especies y Variedades, Bloque 54
	Bourbon "Santa Ana"	Anónimo	Finca "Malacara" Santa Ana
	Catimor	8600	Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Banco de Semilla, Autopolinización
	Catisic	C-435	Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla. Ensayo. Banco de Semilla
	Catuái		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades Bloque sin número
	Caturra		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque 39
	Leroy		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque 50
	Maragogype		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla. Jardín de Especies y Variedades, Bloque 45
	Moka		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque 49
	Mundo Novo		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque 33
	Pacas	C-300	Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Banco de Semilla Certificada
	Purpurascens		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque 42
	Tekisic		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla. Ensayo. Banco de Semilla Certificada
Pache		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque 47	
<i>Coffea excelsa</i>	Arnoldiano		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque
<i>Coffea eugenioides</i>	Eugenoides		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque 32
<i>Coffea canephora</i>	Canephora		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque 1
	Robusta		Est. Exp. PROCAFE, Santa Tecla, Jardín de Especies y Variedades, Bloque 2
<i>Hibrido T3</i>	Sarchimor x Rume Sudan (L ₁₃ A ₄₄)		Fincas San Jorge y San Antonio, Depto. Santa Ana
<i>Hibrido T4</i>	Sarchimor x Etiopie 15 (L ₄ A ₅)		Fincas San Jorge y San Antonio, Depto. Santa Ana
<i>Hibrido T5</i>	Sarchimor x Etiopie 25 (L ₅ A ₂₇)		Fincas San Jorge y San Antonio, Depto. Santa Ana
<i>Hibrido T6</i>	Sarchimor x Rume Sudan (L ₁₂ A ₂₈)		Fincas San Jorge y San Antonio, Depto. Santa Ana

* Est. Exp. PROCAFE = Estación experimental de PROCAFE

4.2.2 Olfatómetros

Los olfatómetros son aparatos sencillos que los entomólogos utilizan para medir la preferencia de los insectos hacia diversas fuentes de olor (Duarte, 1992). Existen diferentes tipos de olfatómetros y diferentes técnicas de aplicación dependiendo de las especies de insectos y las fuentes de olor. Cabello y Vargas (1985), estudiaron la influencia de la plantas y del insecto huésped sobre la actividad de búsqueda de *Trichogramma cordubensis* y *Trichogramma* sp. p. buesi con un olfatómetro en “T”. Un olfatómetro de “seis brazos” que funciona con flujo de aire fue diseñado por Turlings *et al.*, (2004), para estudiar el comportamiento de la avispa *Cotesia marginiventris*. Wakefield *et al.*, (2004), en investigaciones sobre atrayentes de *Ahasverus advena* utilizaron un olfatómetro de modelo simple consistiendo de un tubo recto de vidrio Pirex.

Pavis y Minost (1992), elaboraron un olfatómetro de caída de dos pozos que ha sido usado por otros investigadores en la evaluación del efecto de los volátiles de musáceas (planta hospedera) sobre el comportamiento del “gorgojo rayado” (*Cosmopolitus sordidus*).

En aplicación a la broca del café, Esquinca (1986) y Duarte (1992), utilizaron un olfatómetro en “T”. Giordanengo *et al.*, (1993) eligieron el olfatómetro en “Y”; los dos modelos se caracterizan por la presencia de un flujo de aire como vector de los olores. Mathieu (1995), realizó sus pruebas con un olfatómetro de “marcha” en ambiente estático, construido sobre el modelo de Akers y Wood (1989).

4.2.3.1 Elección del modelo de olfatómetro

En esta investigación se optó por utilizar el olfatómetro de caída de Pavis y Minost (1992), (Fig. 3), con dos y cuatro pocillos, el cual presenta una serie de ventajas. En primer lugar, esta hecho de un material de diseño más sencillo que el olfatómetro de "marcha" utilizado por Mathieu; su fabricación es simple y su uso es práctico, ya que permite montar pruebas simultáneas y en series.

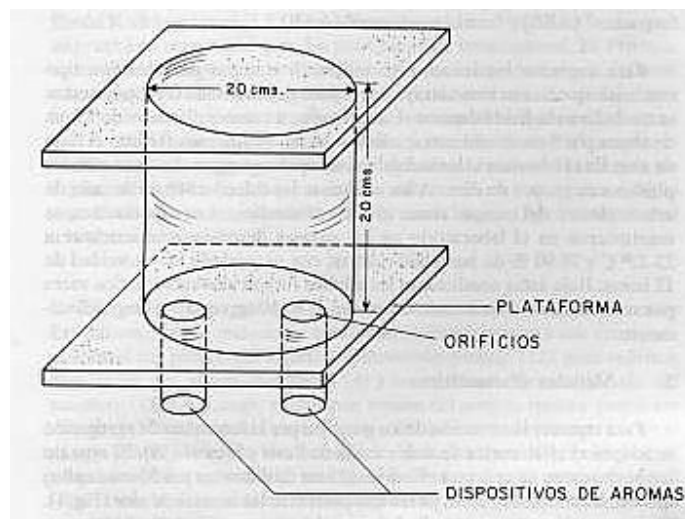


Fig. 3: Olfatómetro de caída de dos pocillos de Pavis y Minost (1992)

Para verificar la efectividad de este tipo de olfatómetro, se realizaron varias pruebas preliminares, en donde se evaluaron algunos parámetros tales como: dimensión para el desplazamiento de las brocas, cantidad óptima de insectos, hermeticidad del sistema, tiempo de montaje y desmontaje, fabricación y manejo. Los modelos elaborados fueron los siguientes:

Modelo 1: Olfatómetro de caída de “cartoncillo” de 2 pozos (\varnothing de cámara =15 cm.)

Fue construido con bases de "durapax" de 3 cm. de alto por 5 cm. de ancho, las cuales sujetan dos viales de vidrio de 75 ml (pozos) que sostienen una plataforma de “cartoncillo” cuadrada de 20 cm. de lado y 0.2 cm. de grosor, con orificios de 0.6

cm. de diámetro. Esta plataforma se conecta a los 2 pozos que se encuentran distantes 6 cm. uno del otro. Encima de la plataforma se coloca un cilindro de cartón de 15 cm. de diámetro y de 4 cm. de alto. Al final se pone una lamina de vidrio transparente de 14 cm. de lado y 0.2 cm. de grosor, sobre el cilindro de cartón, para sellar la cámara del olfatómetro y hacerla hermética. (Fig. 4)

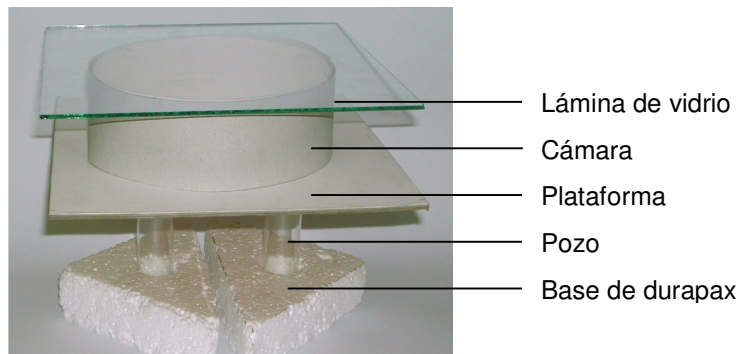


Fig. 4: Olfatómetro de caída de “cartoncillo” de 2 pozos (\varnothing de cámara = 15 cm.)

Modelo 2: Olfatómetro de caída de “cartoncillo” de 2 pozos (\varnothing de cámara = 10 cm.)

Fue construido con el mismo material que se utilizó en el primer prototipo, pero con dimensiones más pequeñas: plataforma de 14 cm. de lado y 0.2 cm. de grosor, el cilindro mide de 10 cm. de diámetro y 4 cm. de alto y los pozos distantes de 4 cm. (Fig. 5)



Fig. 5: Olfatómetro de caída de “cartoncillo” de 2 pozos (\varnothing de cámara = 10 cm.)

Modelo 3. Olfatómetro de caída de vidrio de 2 pozos con $\varnothing = 4.0$ cm. alto = 2.5 cm. (\varnothing de cámara = 10 cm.)

Este olfatómetro se elaboró con dos frascos de vidrio de 25 ml de capacidad, 4,0 cm. de diámetro y 2.5 cm. de alto, cubiertos por una plataforma cuadrada de Plexiglass® de 14.0 cm. de lado y 0.2 cm. de grosor, con orificios orientados hacia los dos pozos distantes de 4.5 cm. entre si. Sobre esta plataforma se ubica un cristalizador invertido de 300 ml (10 cm. de diámetro por 5 cm. de alto). Está invertido para que funcione como cámara hermética y evitar la entrada y salida de olores (Fig. 6).

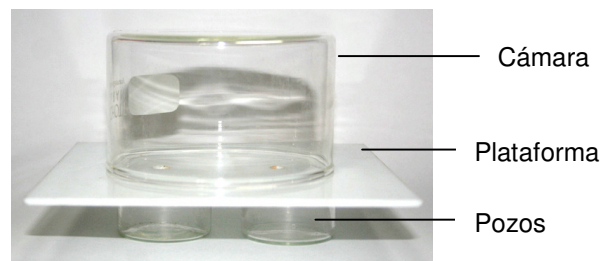


Fig. 6: Olfatómetro de 2 pozos (\varnothing de cámara = 10 cm.)

Modelo 4. Olfatómetro de caída de vidrio de 2 pozos con $\varnothing = 4.5$ cm. alto = 9.5 cm. (\varnothing de cámara = 10 cm.)

Una versión del olfatómetro de vidrio con dos pozos de 4.5 cm. de diámetro y 9.5 cm. de alto fue construida especialmente para el uso de capilares como medio de difusión. (Fig. 7).



Fig. 7: Olfatómetro de vidrio para utilizarlo con capilares (\varnothing de cámara = 10 cm.)

Modelo 5. Olfatómetro de caída de vidrio de 4 pozos con $\varnothing = 3$ cm. alto = 4 cm (\varnothing de cámara = 10 cm.)

Esta versión se presenta en la figura 8.

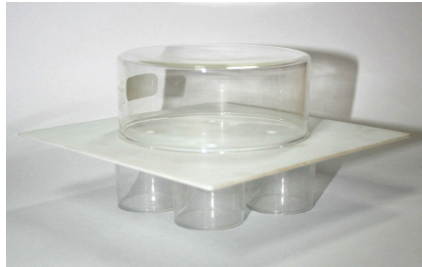


Fig.8: Olfatómetro de 4 pozos (\varnothing cámara = 10 cm.)

4.2.4 Atrayentes conocidos y compuestos aromáticos a probar.

Estos productos son la segunda fuente de olores que se utilizaron en este estudio (cuadro 2).

- La mezcla etanol-metanol (30:70) es el atrayente clásico de la trampa BROCAP[®].
- Los terpenos son los identificados por Mathieu (1998), como principales volátiles emitidos por los frutos de café.
- Los aceites esenciales elegidos son extractos naturales de plantas aromáticas que contienen por lo menos un terpeno presente en los efluvios emitidos por los frutos de cafeto.
- El limpiador comercial contiene también un terpeno común con los frutos del café (cuadro 2).

Cuadro 2: Atrayentes y compuestos aromáticos utilizados en la investigación

Tipo de producto	Nombre del producto	Referencia	Principales componentes	Marcas y origen
Alcoholes	Mezcla de la trampa BROCAP	MBT	Etanol y metanol	FALMAR (El Salvador)
Terpenos	Humuleno		Humuleno	Fluka (Francia)
	Copaeno		Copaeno	Fluka (Francia)
	(+) Limoneno	T2	(+) Limoneno 97%	Aldrich (USA)
	Cimeno	T6	Cimeno 99%	Aldrich (USA)
	Cariofileno	T9	Cariofileno	Fluka (Francia)
	Mirceno	T3	Mirceno	Aldrich (USA)
	(-) α Pineno	T1	(-) α Pineno	Sigma (USA)
Aceites Esenciales	<i>Canaga odorata</i>	HE1	Cariofileno, Farmaceno, Copaeno, Salicilato de benzilo.	Aroma France (Francia)
	<i>Revensara aromatica</i>	HE2	Limoneno, Cariofileno, Sabineno	Aroma France (Francia)
	<i>Citrus paradisii</i>	HE3	Limoneno (94%), Mirceno, α Pineno	Aroma France (Francia)
	<i>Gaulturia procubens</i>	HE4	Salicilato de Metilo	Aroma France (Francia)
	<i>Pinus silvestris</i>	HE5	α Pineno, β Pineno Mirceno, Limoneno	Aroma France (Francia)
Limpiador Comercial	Azistin		Eucalipto, Cítrico (Limoneno)	Colgate palmolive (El Salvador)

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Evaluación de los olfatómetros de 2 y 4 pozos en los bioensayos con frutos de cafeto utilizados como fuentes de olor

Se probaron sucesivamente olfatómetros de 2 y 4 pozos para evaluar la capacidad de cada uno de los modelos y diferenciar el potencial atractivo de las diferentes variedades.

Para un mismo tratamiento (especie o variedad), se utiliza de 7 a 14 olfatómetros. Cada uno corresponde a una repetición. El número de brocas utilizadas por olfatómetro es de 50 especímenes para todos los ensayos, tal como lo hicieron Duarte (1992) y Mathieu (1995).

El Bourbon fue elegido como la variedad testigo. Al inicio se utilizó la línea "elite 33" y luego "Santa Ana", cuando se agotaron los frutos de la primera línea.

Al inicio de las pruebas, se colocaron 2 frutos por variedad a evaluar en cada pozo prueba y 2 frutos de Bourbon en cada pozo testigo. Luego se observó como se orientaron los insectos hacia los pozos. Después de tres horas se contaron las brocas que eligieron los pozos testigos, los pozos pruebas y las que no eligieron nada y quedaron en la superficie.

Estos resultados se analizaron con las pruebas no paramétricas: Wilcoxon para los olfatómetros de 2 pozos y Friedman, para los olfatómetros de 4 pozos.

4.3.2 Evaluación de olfatómetros de 2 pozos con papel filtro como soporte de difusión de productos líquidos (mezcla etanol-metanol, terpenos, aceites esenciales y limpiador comercial)

El método con papel filtro utiliza mezclas etanol-metanol y soluciones de terpenos y otros productos, altamente diluidas ya que la cantidad a probar se aplica una sola vez. De hecho, la difusión de las soluciones a probar es rápida. No se controla su duración. Con el método de papel filtro, se conoce exactamente la cantidad de ingrediente activo introducida en cada pozo. Sin embargo, no es posible medir la tasa de difusión del producto.

4.3.2.1 Diluciones de la mezcla etanol-metanol 30:70, para la difusión con papel filtro

Antes de preparar las diluciones de la mezcla etanol-metanol (30:70), se evaluó la relación peso-volumen con una balanza analítica. En un vial de 5 ml se depositaron gotas de 200 μ l con una micropipeta Fisherbrand de 20 μ l – 200 μ l, hasta que la mezcla pesó 1 g. La relación es de 7.5 gotas o 1.5 ml por 1 g. Luego se aforó la mezcla con agua hasta 10 ml. De esta manera cada μ l de solución contiene 100 μ g de la mezcla etanol-metanol 30:70.

Para hacer todas la serie de diluciones se tomó 1 ml de esta solución y se le agregó 9 ml de agua destilada y así sucesivamente se utilizó el mismo procedimiento para las siguientes diluciones (Cuadro 3).

Cuadro 3: Diluciones de la mezcla etanol-metanol utilizadas en la difusión con papel filtro

Volumen	Cantidad	Concentración	Referencia
--	--	Producto puro	C0
10 ml	1 g	100 µg/µl	C1
10 ml	100 mg	10 µg/µl	C2
10 ml	10 mg	1 µg/µl	C3
10 ml	1 mg	100 ng/µl	C4
10 ml	0.1 mg	10 ng/µl	C5

4.3.2.2 Diluciones de los productos (terpenos, aceites esenciales y limpiador) a evaluar para la difusión con papel filtro

Para realizar la primera dilución, se pesó 20 mg de cada producto comercial: terpenos, aceites esenciales y limpiador (Azistín), luego se colocaron en viales de 5 ml y se aforaron con aceite de parafina, para los terpenos y aceites esenciales, y con agua destilada para el limpiador (Azistín), hasta completar un volumen de 2 ml en cada producto. De esta forma cada µl de solución contiene 10 µg de producto comercial puro.

De esta solución madre se tomaron 0.2 ml y se aforó hasta 2 ml, para obtener una nueva concentración de 1 µg/µl y así sucesivamente, se aplicó el procedimiento para las siguientes diluciones (Cuadro 4).

Cuadro 4: Dilución general de los productos comerciales: terpenos, aceites esenciales y limpiador (Azistín)

Volumen	Cantidad / μ l	Concentración	Referencia
2 ml	20 mg	10 μ g/ μ l	C2
2 ml	2 mg	1 μ g/ μ l	C3
2 ml	0.2 mg	100 ng/ μ l	C4
2 ml	0.02 mg	10 ng/ μ l	C5
2 ml	0.002 mg	1 ng/ μ l	C6

4.3.2.3 Procedimiento

Se cortaron rectángulos de papel filtro de 3 cm. de largo x 1 cm. de ancho. Con una micropipeta Fisherbrand de 0.1 μ l - 20 μ l, se tomaron 10 μ l de líquido a evaluar (diferentes diluciones) y se depositaron en cada papel filtro del pozo prueba (Fig. 9 a y b). En el pozo testigo se depositó la misma cantidad del líquido de dilución, si los productos a probar eran terpenos o aceites esenciales, se utilizó aceite de parafina y agua destilada cuando los productos a probar eran el limpiador o la mezcla etanol-metanol 30:70. Posteriormente, se colocó la plataforma de Plexiglass sobre los pozos, seguidamente se depositó la broca y por último se colocó la cámara hermética (cristalizador).

Se hicieron 2 repeticiones por tratamiento en cada sesión experimental y se necesitaron de 4 a 5 sesiones, para cumplir con una prueba.

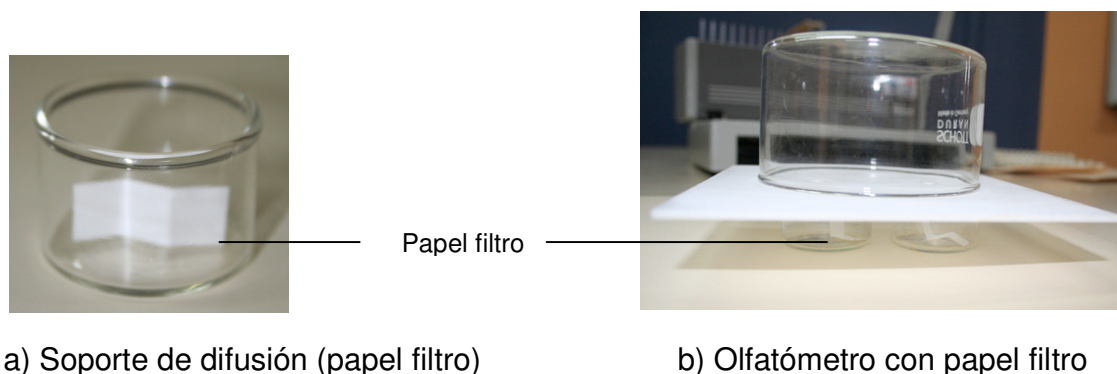


Fig. 9 a y b: Soporte (Papel filtro) y olfatómetro respectivamente

4.3.3 Evaluación de olfatómetros de 2 pozos, con capilares para la difusión de productos aromáticos (mezcla etanol-metanol 30:70 y cimeno)

El método con capilares permite realizar una difusión continua y muy leve, gracias al tamaño de los capilares. Por lo tanto, se reduce el grado de dilución de la mezcla etanol-metanol y del cimeno, con respecto a los que se aplican en el método con papel filtro.

Con capilares, se controla la tasa de difusión pero no es posible conocer con precisión la concentración del ingrediente activo.

4.3.3.1 Diluciones de la mezcla etanol-metanol 30:70, para la difusión con capilares

Se prepararon 5 pares de viales de 2.5 ml de volumen (con difusor de 1 mm de diámetro). En el primer par se coloca 0.5 ml de la mezcla etanol-metanol 30:70 equivalente a una concentración de 100%, en el segundo se coloca 0.4 ml de la mezcla etanol-metanol 30:70 más 0.1 ml de agua destilada, para obtener una concentración de 80% y así sucesivamente hasta la concentración de 20%. (Cuadro 5).

Cuadro 5: Diluciones de la mezcla etanol- metanol 30:70 utilizadas en la difusión con capilares

Concentración de la mezcla etanol-metanol	Tipo de dilución
100%	0.5 ml de mezcla etanol-metanol
80%	0.4 ml de mezcla + 0.1 ml de agua destilada
60%	0.3 ml de mezcla + 0.2 ml de agua destilada
40%	0.2 ml de mezcla + 0.3 ml de agua destilada
20%	0.1 ml de mezcla + 0.4 ml de agua destilada

4.3.3.2 Diluciones del cimeno para la prueba de difusión con capilares

Las diluciones del cimeno se realizaron con etanol 90°, según las indicaciones del cuadro 6.

Cuadro 6: Diluciones del Cimeno utilizadas en la difusión con capilares

Concentraciones	Compuestos
Solución a 10%	1 ml de Cimeno + 9 ml de etanol
Solución a 1%	1 ml de solución a 10% + 9 ml de etanol
Solución a 0.1%	1 ml de solución 1% + 9 ml de etanol
Solución a 0.01%	1 ml de solución 0.1% + 9 ml de etanol
Solución a 0.001%	1 ml de solución 0.01% + 9 ml de etanol

4.3.3.3 Elaboración de los difusores con capilares

Se hicieron 2 modelos de difusores: un modelo para la difusión de la mezcla etanol-metanol 30:70, con segmentos finos de pipetas "Pasteur" de 1 mm de diámetro insertados en las tapaderas de viales de 2.5 ml y el otro modelo para la difusión de las soluciones de cimeno, con segmentos de micropipetas de 0.25 mm de diámetro, insertos en el extremo superior de los segmentos de pipetas "Pasteur" (Fig. 10).

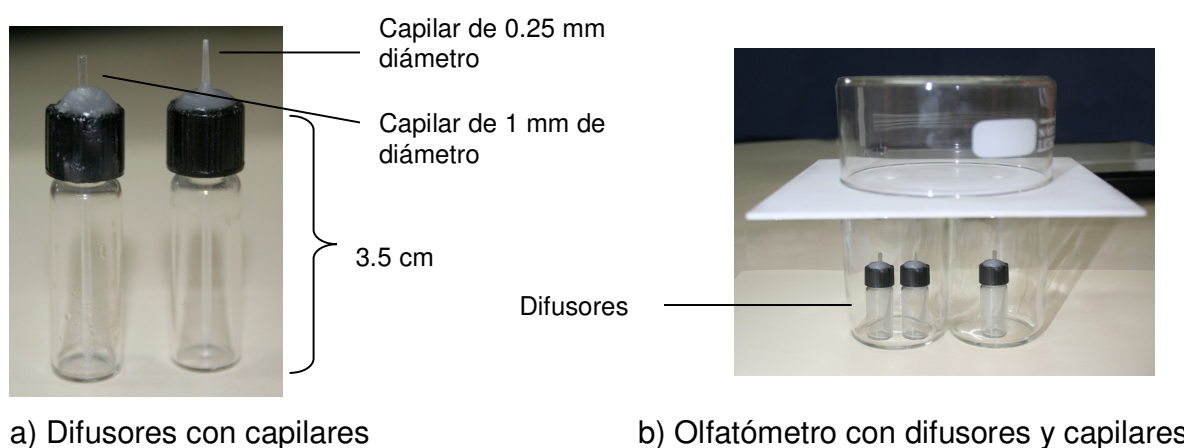


Fig. 10 a y b: Difusores con capilares y su ubicación en el olfatómetro

4.3.3.4 Evaluación

En los olfatómetros de 2 pozos, dos difusores que contienen 0.5 ml de la mezcla etanol-metanol 30:70 se colocaron, uno en el pozo testigo y otro en el pozo prueba. Un difusor que contiene 0.5 ml de solución de cimeno se colocó en el pozo prueba a la par del difusor con mezcla etanol-metanol 20%

Se realizaron 5 pruebas con diferentes concentraciones de cimeno de 5 repeticiones de cada una (cuadro 7).

Cuadro 7: Concentraciones de Cimeno utilizadas en los difusores (capilares)

Difusores	Volumen	Concentración
1	0.5 ml	mezcla 10% (cimeno + etanol)
2	0.5 ml	mezcla 1% (cimeno + etanol)
3	0.5 ml	mezcla 0.1% (cimeno + etanol)
4	0.5 ml	mezcla 0.01% (cimeno + etanol)
5	0.5 ml	mezcla 0.001% (cimeno + etanol)

4.3.4 Calibración de los capilares para evaluar las tasas de difusión

La calibración de los capilares es una operación necesaria para conocer las cantidades de producto que se escapan de los difusores durante las pruebas de atracción en olfatometría, especialmente las cantidades de mezcla etanol-metanol 30:70. En este caso, los capilares tienen un diámetro de 1 mm.

Tal como se hizo anteriormente, la mezcla etanol-metanol 30:70 se diluyó en agua destilada para obtener concentraciones de 100%, 80%, 60%, 40% y 20% (Cuadro 5) y se tomaron 2 ml por difusor. Se prepararon 5 repeticiones de cada dilución. Con una balanza analítica se pesaron los difusores que contienen las soluciones para obtener el peso inicial. Se depositó cada difusor en los pozos de olfatómetros por un periodo de 10 días, en condiciones de temperatura promedio de 27°C. Después de este tiempo se pesaron nuevamente los difusores, para obtener el

peso final. La diferencia de peso corresponde a la cantidad de producto evaporado durante 10 días. De esta forma se puede evaluar la difusión de la mezcla etanol-metanol 30:70 de cada dilución, por día, hora o minuto.

5. RESULTADOS

5.1 ELABORACIÓN DE UNA METODOLOGÍA PARA LOS ESTUDIOS DE OLFATOMETRÍA CON LA BROCA

Para la experimentación sobre la metodología de olfatometría, se utilizaron frutos de cafeto como fuente de atrayentes de la broca ya que son fuentes naturales y específicas, disponibles en el campo a poca distancia del laboratorio y por otro lado, es un material fácil de manipular. La especie escogida fue *Coffea excelsa* Var. Arnoldiano.

La experimentación se desarrolló en 5 etapas:

1. Verificar a que momento del día, la broca esta activa.
2. Comprobar que los frutos cortados sigan atractivos, para la broca durante un tiempo suficientemente largo, por lo menos el tiempo de cada prueba.
3. Identificar el estado más atractivo de maduración de los frutos.
4. Determinar el modelo de olfatómetro más eficiente.
5. Definir la duración óptima de las pruebas.

5.1.1 Actividad de la broca en el transcurso del día

Los resultados se presentan en el cuadro 8. De acuerdo a la prueba no paramétrica de Wilcoxon ($P < 0.05$), los resultados indican que la “broca” responde a los efluvios emitidos por los frutos de cafeto desde las 9:00 a.m. hasta las 4:00 p.m., lo que corresponde a una gran parte del día.

Cuadro 8: Respuestas de la actividad de la broca a diferentes horas del día

Hora	Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon		
		Superfi- cie	Pozo testigo	Pozo prueba		Testigo	Prueba
9:00 a.m.	1	2	18	30			
	2	3	14	33			
	3	11	20	19	Promedio	16.57	29
	4	4	19	27	Pares	7	
	5	7	10	33	T. Wilcoxon	1	
	6	3	14	33	Umbral 5%, 1%	2	-1
	7	1	21	28	P<0.05		
12:00 a.m.	1	5	15	30			
	2	5	24	21			
	3	10	14	26	Media	15.71	24.71
	4	9	16	25	Pares	7	
	5	10	15	25	T. Wilcoxon	1.50	
	6	21	13	16	Umbral 5%, 1%	2	-1
	7	7	13	30	P<0.05		
4:00 p.m.	1	17	17	16			
	2	24	11	15			
	3	22	9	19	Media	13.57	18.43
	4	20	11	19	Pares	7	
	5	19	14	17	T. Wilcoxon	1	
	6	13	17	20	Umbral 5%, 1%	2	-1
	7	11	16	23	P<0.05		

Fecha: 6 de Mayo de 2005; Pozo "Testigo" sin fruto; Pozo "Prueba" con *C. excelsa* Arnoldiano; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de dos pocillos de cartoncillo; Temperatura: 30° C; Humedad Relativa: 60%

5.1.2 Atractividad de los frutos a diferentes tiempos después del corte

Los resultados se presentan en el cuadro 9. La prueba no paramétrica de Wilcoxon ($P<0.05$ y $P<0.01$) indica que la broca responde al olor emitido por los frutos a diferentes tiempos de corte: 0 h, 6 h, 18 h y 24 h. Sin embargo la respuesta a 12 h no es significativa debido al resultado de una repetición incorrecta (Repetición 5). A pesar de este dato, se puede considerar que los frutos siguen emitiendo olores por lo menos hasta 24 h (Cuadro 9).

Cuadro 9. Atractividad de los frutos a diferentes horas después del corte

Hora de corte de los frutos	Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon		
		Super- ficie	Pozo Testigo	Pozo Prueba		Testigo	Prueba
0 h (3:00 p.m.)	1	28	12	10			
	2	29	9	12			
	3	29	9	12			
	4	20	10	20	Promedio	9.25	17.63
	5	30	3	17	Pares	8	
	6	11	17	22	T. Wilcoxon	1	
	7	11	7	32	Umbral 5%,1%	4	0
	8	27	7	16	P<0.05		
6 h (9:00 p.m.)	1	35	5	10			
	2	37	3	10			
	3	24	6	20			
	4	27	9	14	Promedio	9.38	18.88
	5	11	8	31	Pares	8	
	6	13	8	29	T. Wilcoxon	4	
	7	14	22	14	Umbral 5%,1%	4	0
	8	13	14	23	P < 0.05		
12 h (3:00 a.m.)	1	25	8	17			
	2	26	6	18			
	3	4	5	41			
	4	29	5	16	Promedio	11.50	20.38
	5	12	24	14	Pares	8	
	6	12	18	20	T. Wilcoxon	6	
	7	13	11	26	Umbral 5%,1%	4	0
	8	23	15	11	No significativo		
18 h (9:00 a.m.)	1	14	10	26			
	2	16	10	24			
	3	11	15	24			
	4	8	8	34	Promedio	10.25	22.5
	5	19	15	16	Pares	8	
	6	23	4	23	T. Wilcoxon	0	
	7	25	11	14	Umbral 5%,1%	4	0
	8	22	9	19	P < 0.01		
24 h (3:00 p.m.)	1	6	17	27			
	2	14	12	24			
	3	16	3	31			
	4	20	9	21	Promedio	11.38	21.63
	5	13	16	21	Pares	8	
	6	28	10	12	T. Wilcoxon	0	
	7	22	12	16	Umbral 5%,1%	4	0
	8	17	12	21	P < 0.01		

Fecha: 2 y 3 de Mayo de 2005; Pozo "Testigo" sin fruto; Pozo "Prueba" con *C. excelsa* Arnoldiano; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de dos pocillos de cartoncillo; Temperatura: 27.5° C; Humedad Relativa: 73%

5.1.3 Preferencia de la broca hacia los frutos de cafeto en sus diferentes estados de maduración: verdes, maduros y secos.

Los resultados se presentan en el cuadro 10. La prueba no paramétrica de Wilcoxon ($P < 0.01$) indica que la broca responde a los olores emitidos por los frutos de cafeto, maduros y secos. Sin embargo, los frutos verdes son los menos atractivos. Tomando en cuenta el nivel de significado de la prueba de Wilcoxon, los frutos maduros, son más atractivos que los frutos secos.

Cuadro 10. Respuesta de la broca a 3 estados de maduración de los frutos

Estado de maduración	Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon		
		Super- ficie	Pozo testigo	Pozo prueba		Testigo	Prueba
VERDES	1	2	33	15			
	2	14	13	33			
	3	1	26	23			
	4	6	26	14			
	5	4	22	24			
	6	14	5	31			
	7	9	4	26			
	8	5	6	39			
	9	27	8	16			
					Promedio	15.89	24.86
					Pares	9	
					T. Wilcoxon	11	
					Umbral 5%, 1%	6	2
					No significativo		
MADUROS	1	5	15	30			
	2	5	4	41			
	3	7	17	26			
	4	3	4	43			
	5	4	3	43			
	6	8	2	40			
	7	2	9	39			
	8	13	5	32			
	9	4	3	43			
	10	11	6	35			
	11	6	14	30			
	12	8	10	32			
	13	26	10	14			
	14	9	9	32			
					Promedio	7.93	34.29
					Pares	14	
					T. Wilcoxon	0	
					Umbral 5%, 1%	21	13
					P < 0.01		
SECOS	1	4	10	36			
	2	6	20	24			
	3	11	14	25			
	4	7	7	36			
	5	3	6	41			
	6	13	23	14			
	7	9	8	33			
	8	14	5	31			
	9	9	11	30			
					Promedio	11.56	30
					Pares	9	
					T. Wilcoxon	2	
					Umbral	6	2
					P < 0.01		

Fecha: 2, 24 y 28 de Junio de 2005; Pozo "Testigo" sin fruto; Pozo "Prueba" con *C. excelsa* Arnoldiano; Olfatómetro: de caída de dos pocillos de cartoncillo; Temperatura: 25.5° C; Humedad Relativa: 80%

5.1.4 Respuesta de la broca en función del tipo de olfatómetro utilizado y el tiempo de prueba

Con los olfatómetros de vidrio desde la primera hora de ensayo, la broca responde a los olores de los frutos de cafeto, de manera significativa (Wilcoxon, $P < 0.01$). Con los olfatómetros de cartoncillo se obtiene el mismo resultado con una probabilidad más baja: $P < 0.05$. (Cuadro 11 a, b y c)

Con los olfatómetros de vidrio, la caída de la broca en los pozos, casi no aumenta a partir de 3 horas de ensayo (Gráfico 1a). En cambio, hay que esperar más tiempo con los olfatómetros de cartoncillo para observar el mismo fenómeno (Gráfico 1b).

Cuadro 11a. Respuesta de la broca después de 1 hora, en olfatómetro de vidrio y olfatómetro de "cartoncillo" con diámetro de 16cm

Modelo de olfatómetro	Repeti-ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon		
		Super-ficie	Pozo testigo	Pozo prueba		Testigo	Prueba
VIDRIO	1	8	5	37			
	2	17	2	31			
	3	16	8	26			
	4	12	5	33	Promedio	5.38	32.6
	5	14	5	31	Pares	8	
	6	17	5	28	T. Wilcoxon	0	
	7	7	7	36	Umbral 5%, 1%	4	0
	8	5	6	39	P < 0.01		
CARTÓN-CILLO (Diámetro: 16 cm)	1	25	8	17			
	2	15	22	13			
	3	19	7	24			
	4	23	6	21	Promedio	7.88	25.88
	5	17	6	27	Pares	8	
	6	11	12	27	T. Wilcoxon	1.5	
	7	14	1	35	Umbral 5%, 1%	4	0
	8	6	1	43	P < 0.05		
Fecha: 20 de Junio de 2005; Pozo "Testigo" sin fruto; Pozo "Prueba" con <i>C. excelsa</i> Arnoldiano; Estado de maduración de los frutos: maduros; Temperatura: 23.2° C; Humedad Relativa: 92.7%							

Cuadro 11b. Respuesta de la broca después de 2 horas, en olfatómetro de vidrio y olfatómetro de "cartoncillo" con diámetro de 16cm

Modelo de olfatómetro	Repeti-ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon		
		Super-ficie	Pozo testigo	Pozo prueba		Testigo	Prueba
VIDRIO	1	4	6	40			
	2	5	4	41			
	3	5	15	30			
	4	5	6	39	Promedio	8	37
	5	9	5	36	Pares	8	
	6	4	11	35	T. Wilcoxon	0	
	7	4	7	39	Umbral 5%, 1%	4	0
	8	4	10	36	P < 0.01		
CARTÓN-CILLO (Diámetro: 16 cm)	1	18	9	23			
	2	13	24	13			
	3	21	5	24			
	4	16	7	27	Promedio	8.75	29
	5	10	7	33	Pares	8	
	6	6	11	33	T. Wilcoxon	1	
	7	10	2	38	Umbral 5%, 1%	4	0
	8	4	5	41	P < 0.05		

Fecha: 20 de Junio de 2005; Pozo "Testigo" sin fruto; Pozo "Prueba" con *C. excelsa* Arnoldiano; Estado de maduración de los frutos: maduros; Temperatura: 23.2° C; Humedad Relativa: 92.7%

Cuadro 11c. Respuesta de la broca después de 3 horas, en olfatómetro de vidrio y olfatómetro de "cartoncillo" con diámetro de 16cm

Modelo de olfatómetro	Repeti-ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon		
		Super-ficie	Pozo testigo	Pozo prueba		Testigo	Prueba
VIDRIO	1	3	6	41			
	2	2	5	43			
	3	3	16	31			
	4	3	7	40	Promedio	8.5	37.63
	5	8	6	36	Pares	8	
	6	4	11	35	T. Wilcoxon	0	
	7	4	7	39	Umbral 5%, 1%	4	
	8	4	10	36	P < 0.01		
CARTÓN-CILLO (Diámetro: 16 cm)	1	14	11	25			
	2	10	26	14			
	3	14	2	34			
	4	12	7	31	Promedio	10	30.63
	5	9	9	32	Pares	8	
	6	5	17	27	T. Wilcoxon	2	
	7	6	3	41	Umbral 5%, 1%	4	0
	8	4	5	41	P < 0.05		

Fecha: 20 de Junio de 2005; Pozo "Testigo" sin fruto; Pozo "Prueba" con *C. excelsa* Arnoldiano; Estado de maduración de los frutos: maduros; Temperatura: 23.2° C; Humedad Relativa: 92.7%

Cuadro 11d. Respuesta de la broca después de 4 horas, en olfatómetro de vidrio y olfatómetro de "cartoncillo" con diámetro de 16cm

Modelo de olfatómetro	Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon		
		Super- ficie	Pozo testigo	Pozo prueba		Testigo	Prueba
VIDRIO	1	3	6	41			
	2	2	5	43			
	3	3	16	31			
	4	3	6	41			
	5	8	6	36	Promedio	8.5	37.88
	6	3	12	35	Pares	8	
	7	4	7	39	T. Wilcoxon	0	
	8	3	10	37	Umbral 5%, 1%	4	0
					P < 0.01		
CARTÓN- CILLO (Diámetro: 16 cm)	1	14	12	24			
	2	9	26	15			
	3	13	2	35			
	4	5	7	38	Promedio	10.3	32.1
	5	9	7	34	Pares	8	
	6	1	20	29	T. Wilcoxon	2	
	7	6	3	41	Umbral 5%, 1%	4	0
	8	4	5	41			
					P < 0.05		

Fecha: 20 de Junio de 2005; Pozo "Testigo" sin fruto; Pozo "Prueba" con *C. excelsa* Arnoldiano; Estado de maduración de los frutos: maduros; Temperatura: 23.2° C; Humedad Relativa: 92.7%

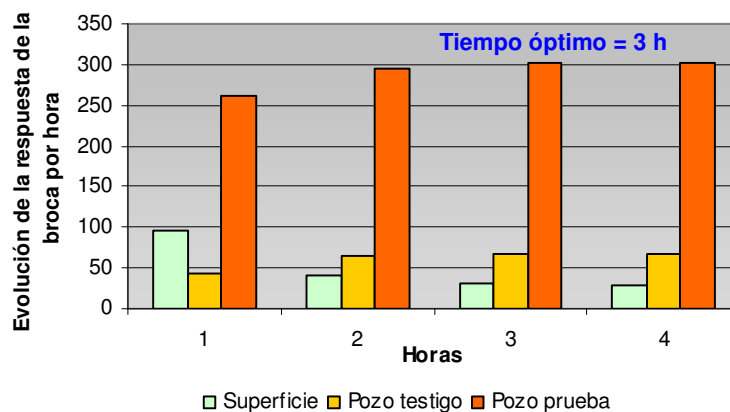


Gráfico 1a. Representación de la respuesta de la broca en olfatómetro de vidrio en función del tiempo

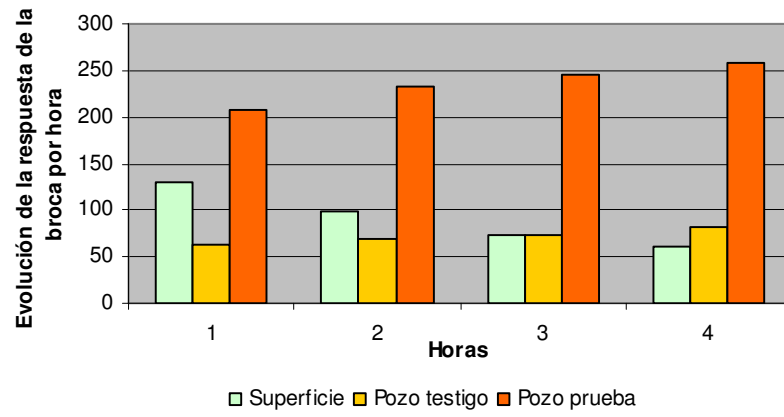


Gráfico 1b. Representación de la respuesta de la broca en olfatómetro de “cartoncillo” en función del tiempo

5.2 APLICACIÓN DE LA METODOLOGÍA EN LA EVALUACIÓN DE LA PREFERENCIA DE *H. hampei* POR FRUTOS DE DIFERENTES VARIEDADES DE CAFETO

5.2.1 Determinación de una escala de preferencia de la broca por diferentes variedades de cafeto, utilizando olfatómetros de cuatro pozos

Los cuadros 12, 13, 14, 15, 16 y 17 presentan los resultados de 6 pruebas olfatométricas, que permiten comparar simultáneamente 2 variedades seleccionadas al azar, con 1 testigo de variedad Bourbon "elite 33" en presencia de un testigo absoluto (pozo vacío). La comparación entre variedades se analiza con la prueba no paramétrica de Friedman. Los niveles de preferencia de la broca por estas variedades son definidos en los gráficos 2, 3, 4, 5, 6 y 7.

Cuadro 12: Comparación de preferencias de la broca para las variedades: Bourbon "elite 33", Eugenoides y Pache

Repeti- Ciones	Distribución de la broca					Prueba de Friedman			
	Super- ficie	Pozo sin fruto	Bourbon elite 33	Eugenoi- des	Pache		Bourbo	Eugen.	Pache
1	1	0	16	17	16				
2	1	0	7	20	22	Promedio	9.38	20.75	18.75
3	2	1	10	22	20	Orden	3	1	2
4	2	0	9	25	15	Suma Rangos	9.5	19.5	19
5	1	2	3	28	16	P. Friedman	B	A	AB
6	2	0	16	15	17	Chi ² = 7.94			
7	2	1	3	22	22	DGL = 2			
8	0	0	11	17	22	Bourbon ≠ Eugenoides (P < 0.05)			

Fecha: 10 de Enero de 2006; Pozo "Testigo": sin fruto; Pozos "Prueba": Bourbon "elite 33", Eugenoides y Pache; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 4 pocillos de vidrio; Temperatura 29°C; Humedad Relativa: 46.5%

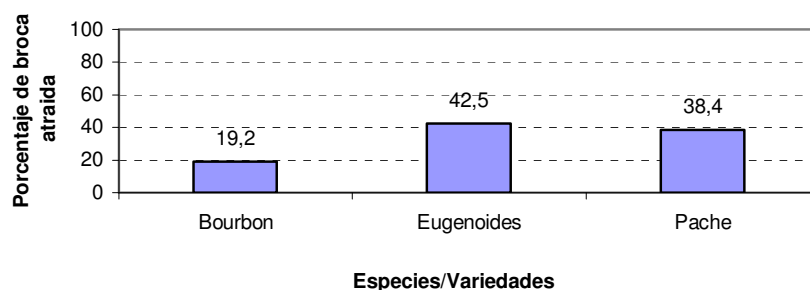


Gráfico 2: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "elite 33", Eugenoides y Pache

Cuadro 13 Comparación de preferencias para las variedades: Bourbon “elite 33”, Moka y *Canephora*

Repeti- ciones	Distribución de la broca					Prueba de Friedman				
	Super- ficie	Pozo sin fruto	Bourbon elite 33	Moka	<i>Canephora</i>					
1	1	0	23	20	6	Promedio Bourbo Moka Canep. Orden 2 1 3 Suma Rangos 18.5 21 8.5 P. Friedman A A B Khi ² =10.94 DGL = 2 (Bourbon= Moka) ≠ Canephora (P < 0,05)				
2	11	0	23	12	4					
3	0	0	22	26	4					
4	0	1	16	24	9					
5	1	1	16	25	7					
6	2	0	28	11	9					
7	3	3	13	30	1					
8	7	3	21	17	2					

Fecha: 12 de Enero de 2006; Pozo Testigo: sin fruto; Pozos Prueba: Bourbon “elite 33”, Moka y *Canephora*;
 Estado de maduración los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 4 pocillos de vidrio; Temperatura 26° C;
 Humedad Relativa: 48%

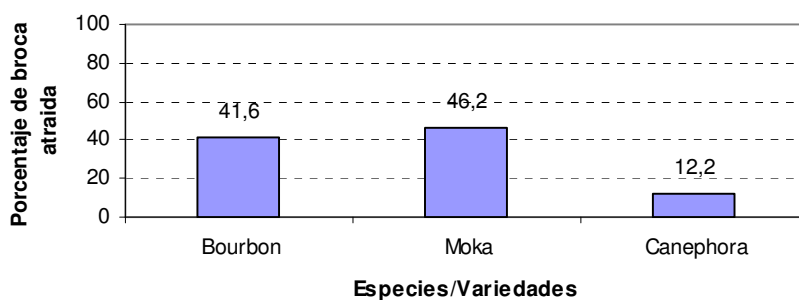


Gráfico 3: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Moka y *Canephora*

Cuadro 14: Comparación de preferencias de la broca para las variedades: Bourbon “elite 33”, Catimor y Catisic

Repeti- ciones	Distribución de la broca					Prueba de Friedman				
	Super- ficie.	Pozo sin fruto	Bourbon elite 33	Catimor	Catisic					
1	6	3	12	14	15	Promedio Bourbon Catim. Catisic Orden 2 3 1 Suma Rangos 15 14 19 P. Friedman A A A Khi ² = 1.75 DGL = 2 Bourbon= Catimor = Catisic (NS)				
2	9	1	16	10	14					
3	10	3	10	13	14					
4	9	2	14	7	18					
5	5	6	15	15	9					
6	9	5	13	13	10					
7	8	2	14	6	20					
8	1	4	8	10	17					

Fecha: 13 de Enero de 2006; Pozo Testigo: sin fruto; Pozos Prueba: Bourbon “elite 33”, Catimor y Catisic;
 Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 4 pocillos de vidrio; Temperatura 27°C;
 Humedad Relativa: 47%

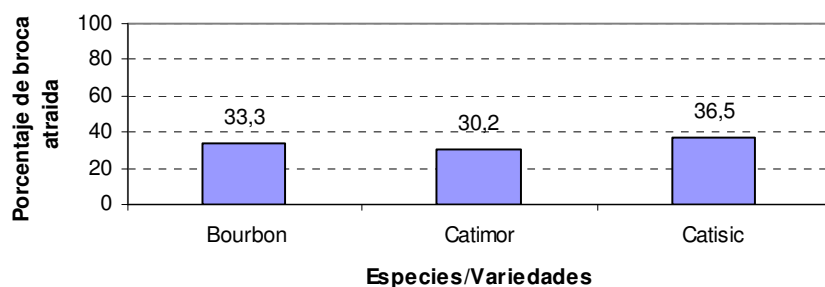


Gráfico 4: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Catimor y Catisic

Cuadro 15: Comparación de preferencias de la broca para las variedades: Bourbon “elite 33”, Leroy y Mundo Novo

Repeti- ciones	Distribución de la broca					Prueba de Friedman			
	Super- ficie	Pozo sin fruto	Bourbon elite 33	Leroy	Mundo Novo				
1	8	0	17	40	15				
2	4	1	34	25	16	Promedio	Bourbon 21.63	Leroy 33.63	Mdo N. 17.5
3	8	3	19	29	21	Orden	2	1	3
4	4	4	29	29	14	Suma Rangos	14.5	22.5	11
5	1	2	16	45	16	P. Friedman	AB	A	B
6	2	4	22	43	12	Chi ² = 8.69			
7	6	2	21	30	21	DGL = 2			
8	9	3	15	28	25	Leroy ≠ Mundo Novo (P < 0,05)			

Fecha: 17 de Enero de 2006; Pozo Testigo: sin fruto; Pozos Prueba: Bourbon “elite 33”, Leroy y Mundo novo; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 4 pocillos de vidrio; Temperatura 28.5° C; Humedad Relativa: 52.7%

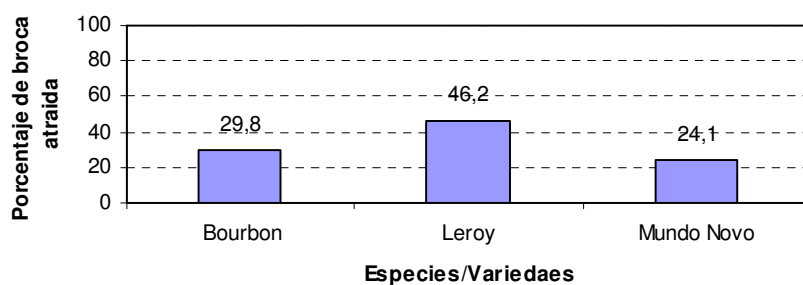


Gráfico 5: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Leroy y Mundo novo

Cuadro 16: Comparación de preferencias de la broca para las variedades: Bourbon “elite 33”, Purpurascens y Maragotype

Repeti- ciones	Distribución de la broca					Prueba de Friedman			
	Super- ficie	Pozo sin fruto	Bourbon elite 33	Purpura scens	Marago type		Bourbo	Purpur.	Marag.
1	8	1	18	10	13				
2	2	5	10	10	23	Promedio	12.75	12.88	18.63
3	4	2	11	9	24	Orden	2	3	1
4	5	7	7	20	11	Suma Rangos	13.5	13.5	21
5	4	0	10	12	24	P. Friedman	A	A	A
6	2	2	12	14	20	Chi ² = 4.69			
7	3	5	11	13	18	DGL = 2			
8	4	2	23	15	16	Bourbon= Purpurascens= Maragotype (P <0.001)			

Fecha: 18 de Enero de 2006; Pozo "Testigo": sin fruto; Pozos "Prueba": Bourbon “elite 33”, Purpurascens y Maragotype; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 4 pocillos de vidrio; Temperatura 26.7° C; Humedad Relativa: 51.7%

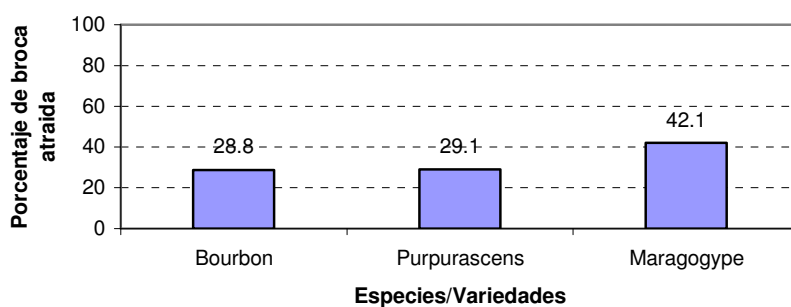


Gráfico 6: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Purpurascens y Maragotype

Cuadro 17: Comparación de preferencias de la broca para las variedades: Bourbon “elite 33”, Caturra y Pacas

Repeti- ciones	Distribución de la broca					Prueba de Friedman			
	Super- ficie	Pozo sin fruto	Bourbon elite 33	Caturra	Pacas		Bourbo	Caturra	Pacas
1	1	4	10	9	26				
2	2	0	11	8	29	Promedio	13.75	8.63	22.00
3	6	5	9	9	21	Orden	2	3	1
4	2	4	21	9	14	Suma Rangos	18	10	20
5	3	5	16	11	15	P. Friedman	AB	B	A
6	1	3	8	6	32	Chi ² = 6.75			
7	2	7	14	14	13	DGL = 2			
8	2	0	19	3	26	Caturra ≠ Pacas (P < 0,05)			

Fecha: 15 de Diciembre de 2006; Pozo "Testigo": sin fruto; Pozos "Prueba": Bourbon “elite 33”, Caturra y Pacas; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 4 pocillos de vidrio; Temperatura 29° C; Humedad Relativa: 53%

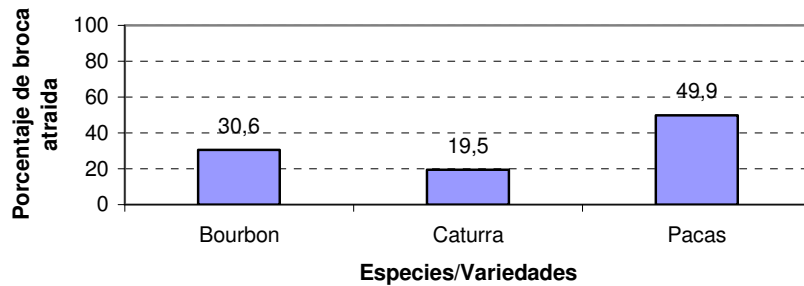


Gráfico 7: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon “elite 33”, Caturra y Pacas

Los niveles de preferencia definidos en el marco de estas 6 pruebas y ajustados en función de los valores de la variedad Bourbon "elite 33", se pueden ordenar sobre un eje. De esta forma, se definen variedades más o menos atractivas que el Bourbon "elite 33" (Fig. 11).

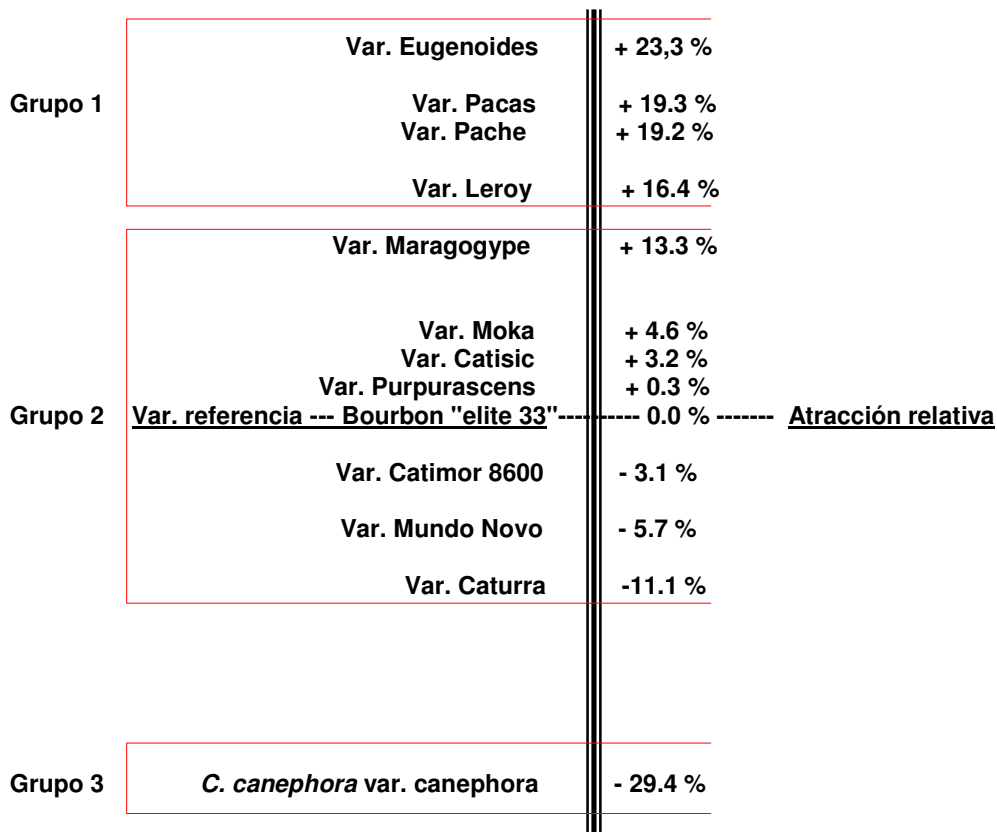


Fig. 11: Escala de preferencia de la broca para diferentes variedades, en olfatómetros de 4 pozos, tomando el Bourbon "elite 33" como referencia

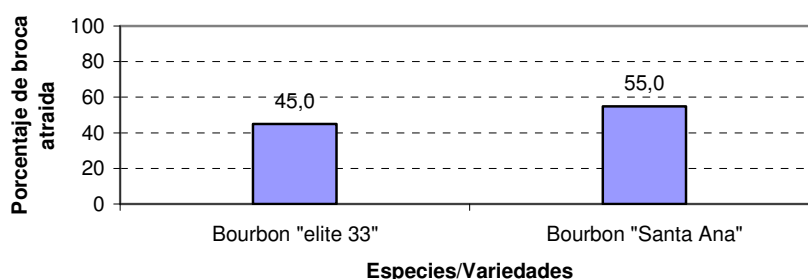
5.2.2 Determinación de una escala de preferencia de la broca por diferentes variedades de cafetos, con el uso de olfatómetros de dos pozos

Por falta de frutos maduros, la variedad testigo Bourbon "elite 33" se cambió por la variedad Bourbon "Santa Ana" en algunas pruebas.

Del cuadro 18 al 25 se presentan los resultados de pruebas olfatométricas, que comparan simultáneamente 1 variedad a probar con la variedad testigo Bourbon "Santa Ana". Del cuadro 26 al 29 se presentan los resultados obtenidos con variedades híbridas y la variedad testigo Bourbon "elite 33". La comparación entre variedades se analiza con la prueba no paramétrica de Wilcoxon. Los niveles de preferencia de la broca por estas variedades son definidos en los gráficos del 8 al 19.

Cuadro 18: Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon "elite 33" y Bourbon "Santa Ana"

Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon		
	Super- ficie	Bourbon elite 33	Bourbon Sta Ana			
1	5	20	25			
2	6	17	27			
3	3	20	27			
4	7	17	26			
5	7	20	23			
6	11	21	18			
7	8	21	21			
8	4	21	25			
					Bourbon 33	Bourbon SA
				Media	19.63	24.00
				Pares	7	
				T. Wilcoxon	1.5	
				Umbral 5%,1%	2	-1
				Bourbon 33 ≠ Bourbon SA(P < 0.05)		
Fecha: 8 de Febrero de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "elite 33"; Pozo "Prueba": Bourbon "Santa Ana"; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 28° C; Humedad Relativa: 43.9%						



Gráfica 8: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "elite 33" y Bourbon "Santa Ana"

Cuadro 19: Comparación de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Pacas

Repeti- ciones	Distribucion de la broca			Prueba de Wilcoxon																		
	Super- ficie	Bourbon Sta Ana	Pacas																			
1	6	12	32	<table border="0"> <tr> <td></td> <td>Bourbon SA</td> <td>Pacas</td> </tr> <tr> <td>Media</td> <td>10.38</td> <td>29.75</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td>8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T. Wilcoxon</td> <td>0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td>4</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Bourbon SA≠ Pacas (P < 0.01)</td> </tr> </table>		Bourbon SA	Pacas	Media	10.38	29.75	Pares	8		T. Wilcoxon	0		Umbral 5%,1%	4	0	Bourbon SA≠ Pacas (P < 0.01)		
	Bourbon SA	Pacas																				
Media	10.38	29.75																				
Pares	8																					
T. Wilcoxon	0																					
Umbral 5%,1%	4	0																				
Bourbon SA≠ Pacas (P < 0.01)																						
2	12	7	31																			
3	8	12	30																			
4	10	12	28																			
5	9	11	30																			
6	13	8	29																			
7	12	10	28																			
8	9	11	30																			

Fecha: 9 de Febrero de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "Santa Ana"; Pozo "Prueba": Pacas; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 29° C; Humedad Relativa: 40.45%

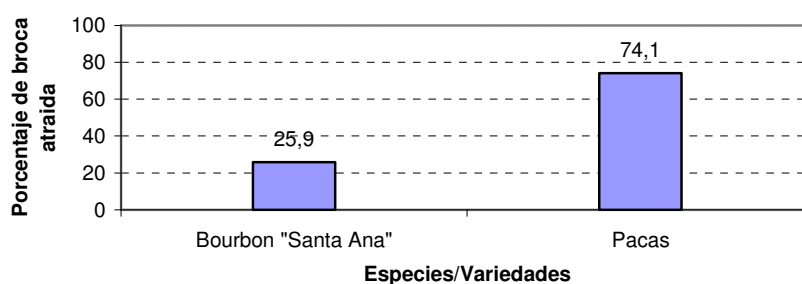


Gráfico 9: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Pacas

Cuadro 20: Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Catuaí rojo

Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon																		
	Super- ficie	Bourbon Sta Ana	Catuaí rojo																			
1	3	26	21	<table border="0"> <tr> <td></td> <td>Bourbon SA</td> <td>Catuaí R</td> </tr> <tr> <td>Media</td> <td>21.88</td> <td>23.88</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td>8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T. Wilcoxon</td> <td>21</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td>4</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Bourbon SA= Catuaí (NS)</td> </tr> </table>		Bourbon SA	Catuaí R	Media	21.88	23.88	Pares	8		T. Wilcoxon	21		Umbral 5%,1%	4	0	Bourbon SA= Catuaí (NS)		
	Bourbon SA	Catuaí R																				
Media	21.88	23.88																				
Pares	8																					
T. Wilcoxon	21																					
Umbral 5%,1%	4	0																				
Bourbon SA= Catuaí (NS)																						
2	8	16	26																			
3	5	24	21																			
4	1	25	24																			
5	4	24	22																			
6	2	26	22																			
7	7	18	25																			
8	4	16	30																			

Fecha: 10 de Febrero de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "Santa Ana"; Pozo "Prueba": Catuaí rojo; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 31° C; Humedad Relativa: 38.1%

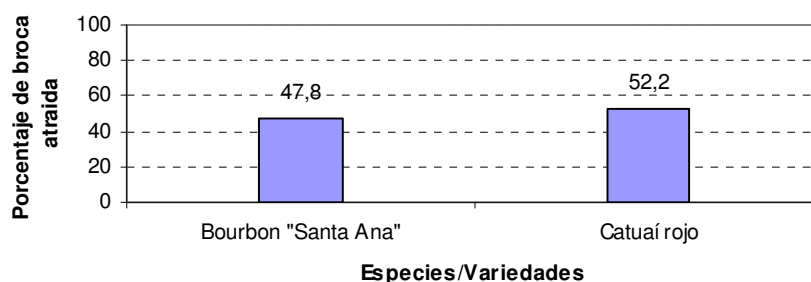


Gráfico 10: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Catuaí rojo

Cuadro 21: Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Caturra

Repeti- Ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon		
	Super- ficie	Bourbon Sta Ana	Caturra		Bourbon SA	Caturra
1	7	23	20			
2	9	22	19			
3	3	28	19			
4	8	22	20			
5	8	19	23			
6	4	21	25			
7	7	25	18			
8	7	18	25			
				Media	22.25	21.13
				Pares	8	
				T Wilcoxon	15.5	
				Umbral 5%,1%	4	0
				Bourbon SA= Caturra (NS)		

Fecha: 10 de Febrero de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "Santa Ana"; Pozo "Prueba": Caturra; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 28° C; Humedad Relativa: 52%

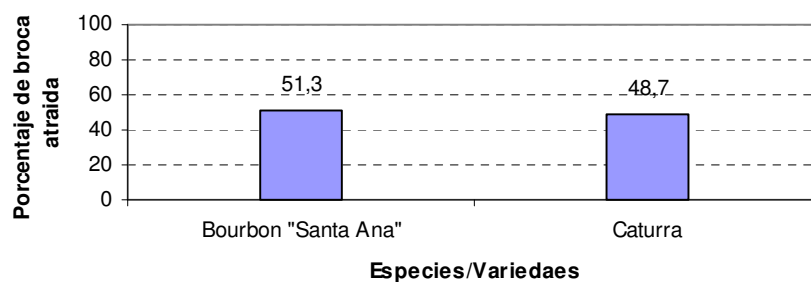


Gráfico 11: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Caturra

Cuadro 22: Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Robusta

Repeti- Ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon																		
	Super- ficie	Bourbon Sta Ana	Robusta																			
1	2	35	13	<table border="0"> <tr> <td></td> <td>Bourbon SA</td> <td>Robusta</td> </tr> <tr> <td>Media</td> <td>29.50</td> <td>16.63</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td>8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T. Wilcoxon</td> <td>0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td>4</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Bourbon SA ≠ Robusta (P < 0.01)</td> </tr> </table>		Bourbon SA	Robusta	Media	29.50	16.63	Pares	8		T. Wilcoxon	0		Umbral 5%,1%	4	0	Bourbon SA ≠ Robusta (P < 0.01)		
	Bourbon SA	Robusta																				
Media	29.50	16.63																				
Pares	8																					
T. Wilcoxon	0																					
Umbral 5%,1%	4	0																				
Bourbon SA ≠ Robusta (P < 0.01)																						
2	4	24	22																			
3	4	31	15																			
4	2	29	19																			
5	5	30	15																			
6	6	31	13																			
7	4	30	16																			
8	4	26	20																			

Fecha: 21 de Febrero de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "Santa Ana"; Pozo "Prueba": Robusta; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 29.5° C; Humedad Relativa: 46.8%

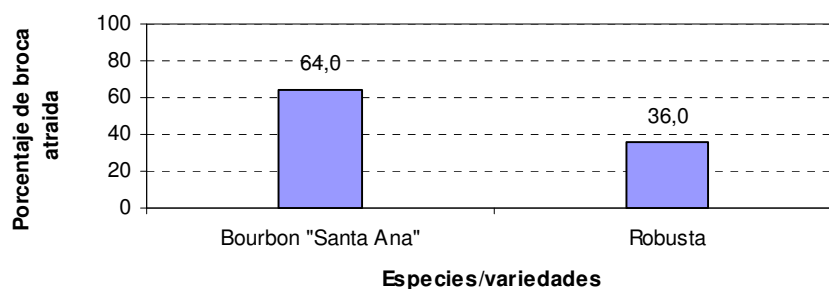


Gráfico 12: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Robusta

Cuadro 23: Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Pacamara

Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon																		
	Super- ficie	Bourbon Sta Ana	Pacamara																			
1	1	22	27	<table border="0"> <tr> <td></td> <td>Bourbon SA</td> <td>Pacam.</td> </tr> <tr> <td>Media</td> <td>21.25</td> <td>27.50</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td>8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T. Wilcoxon</td> <td>0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td>4</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Bourbon SA ≠ Pacamara (P < 0.01)</td> </tr> </table>		Bourbon SA	Pacam.	Media	21.25	27.50	Pares	8		T. Wilcoxon	0		Umbral 5%,1%	4	0	Bourbon SA ≠ Pacamara (P < 0.01)		
	Bourbon SA	Pacam.																				
Media	21.25	27.50																				
Pares	8																					
T. Wilcoxon	0																					
Umbral 5%,1%	4	0																				
Bourbon SA ≠ Pacamara (P < 0.01)																						
2	2	21	27																			
3	2	21	27																			
4	2	21	27																			
5	4	15	31																			
6	1	24	25																			
7	0	21	29																			
8	2	23	25																			

Fecha: 2 de Marzo de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "Santa Ana"; Pozo "Prueba": Pacamara; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 31° C; Humedad Relativa: 55%

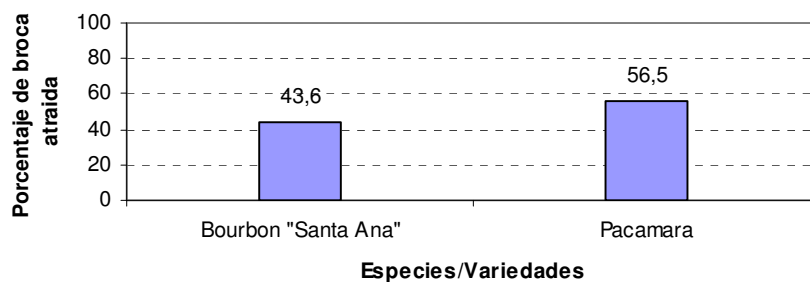


Gráfico 13: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Pacamara

Cuadro 24: Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Catisic

Repeti- Ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon																				
	Super- ficie	Bourbon Sta Ana	Catisic																					
1	1	13	36	<table border="0"> <tr> <td></td> <td>Bourbon SA</td> <td>Catisic</td> </tr> <tr> <td>Media</td> <td>24.00</td> <td>23.25</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td>8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T. Wilcoxon</td> <td>17</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td>4</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;">Bourbon SA= Catisic (NS)</td> </tr> </table>				Bourbon SA	Catisic	Media	24.00	23.25	Pares	8		T. Wilcoxon	17		Umbral 5%,1%	4	0	Bourbon SA= Catisic (NS)		
	Bourbon SA	Catisic																						
Media	24.00	23.25																						
Pares	8																							
T. Wilcoxon	17																							
Umbral 5%,1%	4	0																						
Bourbon SA= Catisic (NS)																								
2	1	24	25																					
3	2	33	15																					
4	3	28	19																					
5	1	19	30																					
6	3	25	22																					
7	4	31	15																					
8	7	19	24																					

Fecha: 3 de Marzo de 2006; Pozo Testigo: Bourbon "Santa Ana"; Pozo Prueba: Catisic; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 28° C; Humedad Relativa: 51.1%

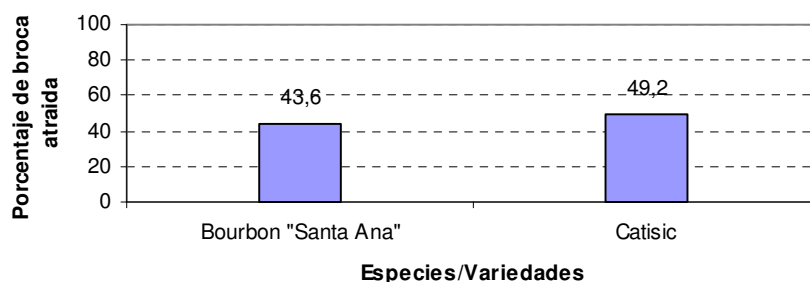


Gráfico 14: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Catisic

Cuadro 25: Comparación de preferencias de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Tekisic

Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon																		
	Super- ficie	Bourbon Sta Ana	Tekisic																			
1	5	28	17	<table> <thead> <tr> <th></th> <th>Bourbon SA</th> <th>Tekisic</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Media</td> <td>23.25</td> <td>22.00</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td>7</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T Wilcoxon</td> <td>15.5</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td>2</td> <td>-1</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Bourbon SA= Tekisic (NS)</td> </tr> </tbody> </table>		Bourbon SA	Tekisic	Media	23.25	22.00	Pares	7		T Wilcoxon	15.5		Umbral 5%,1%	2	-1	Bourbon SA= Tekisic (NS)		
	Bourbon SA	Tekisic																				
Media	23.25	22.00																				
Pares	7																					
T Wilcoxon	15.5																					
Umbral 5%,1%	2	-1																				
Bourbon SA= Tekisic (NS)																						
2	6	21	23																			
3	5	22	23																			
4	6	22	22																			
5	2	29	19																			
6	5	20	25																			
7	4	24	22																			
8	5	20	25																			

Fecha: 3 de Marzo de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "Santa Ana"; Pozo "Prueba": Tekisic; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 31° C; Humedad Relativa: 50.6%

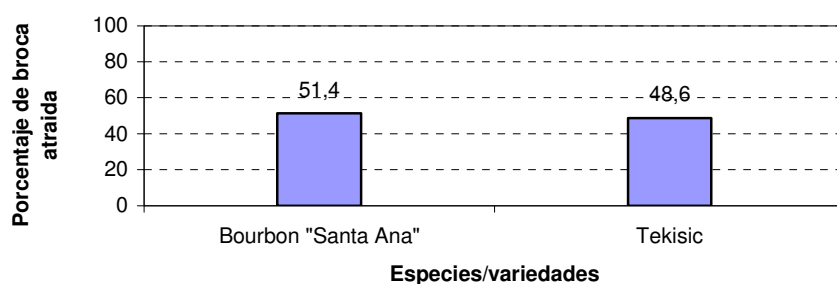


Gráfico 15: Nivel de preferencia de la broca para las variedades Bourbon "Santa Ana" y Tekisic

Cuadro 26: Comparación de preferencias de la broca para la variedad Bourbon "elite 33" y el híbrido T3

Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon																		
	Superfi- Cie	Bourbon elite 33	T3																			
1	8	19	23	<table> <thead> <tr> <th></th> <th>Bourbon 33</th> <th>T3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Media</td> <td>18.38</td> <td>23.75</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td>8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T. Wilcoxon</td> <td>0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td>4</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Bourbon SA≠ T3 (P < 0.01)</td> </tr> </tbody> </table>		Bourbon 33	T3	Media	18.38	23.75	Pares	8		T. Wilcoxon	0		Umbral 5%,1%	4	0	Bourbon SA≠ T3 (P < 0.01)		
	Bourbon 33	T3																				
Media	18.38	23.75																				
Pares	8																					
T. Wilcoxon	0																					
Umbral 5%,1%	4	0																				
Bourbon SA≠ T3 (P < 0.01)																						
2	7	21	22																			
3	9	15	26																			
4	6	20	24																			
5	9	20	21																			
6	7	19	24																			
7	10	17	23																			
8	7	16	27																			

Fecha: 24 de Enero de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "elite 33"; Pozo "Prueba": T3; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 25.5° C; Humedad Relativa: 48.5%

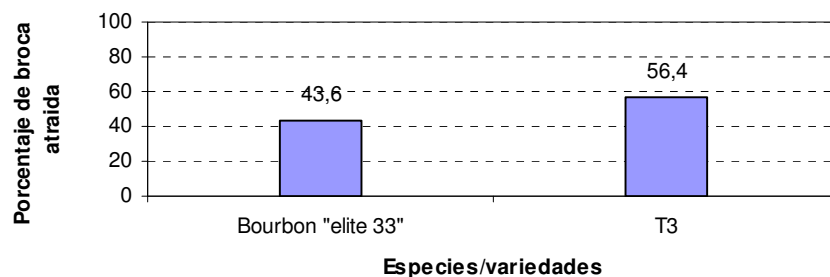


Gráfico 16: Preferencia de la broca entre la variedad Bourbon "elite 33" y el híbrido T3

Cuadro 27: Comparación de preferencias de la broca para la variedad Bourbon "elite 33" y el híbrido T4

Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon																		
	Super- ficie	Bourbon elite 33	T4																			
1	3	20	27	<table border="0"> <tr> <td></td> <td>Bourbon 33</td> <td>T4</td> </tr> <tr> <td>Media</td> <td>20.13</td> <td>26.25</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td>8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T. Wilcoxon</td> <td>2</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td>4</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td colspan="3">Bourbon 33 ≠ T4 (P < 0.05)</td> </tr> </table>		Bourbon 33	T4	Media	20.13	26.25	Pares	8		T. Wilcoxon	2		Umbral 5%,1%	4	0	Bourbon 33 ≠ T4 (P < 0.05)		
	Bourbon 33	T4																				
Media	20.13	26.25																				
Pares	8																					
T. Wilcoxon	2																					
Umbral 5%,1%	4	0																				
Bourbon 33 ≠ T4 (P < 0.05)																						
2	3	23	24																			
3	1	19	30																			
4	9	17	24																			
5	4	18	28																			
6	7	23	20																			
7	2	18	30																			
8	0	23	27																			

Fecha: 25 de Enero de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "elite 33"; Pozo "Prueba": T4; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 27° C; Humedad Relativa: 48%

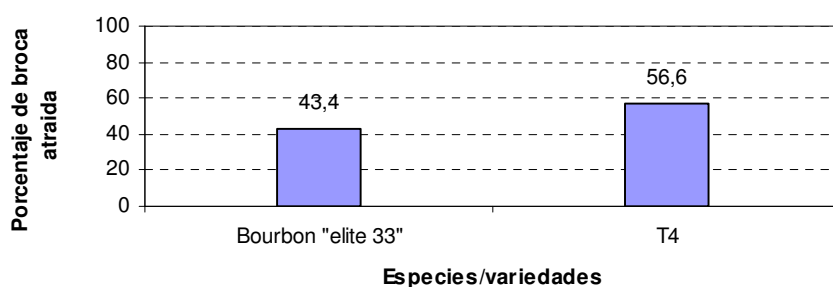


Gráfico 17: Preferencia de la broca para la variedad Bourbon "elite 33" y el híbrido T4

Cuadro 28: Comparación de preferencias de la broca para la variedad Bourbon "elite 33" y el híbrido T5

Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon																		
	Super- ficie	Bourbon elite 33	T5																			
1	8	27	15	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Bourbon 33</td> <td style="text-align: center;">T5</td> </tr> <tr> <td>Media</td> <td style="text-align: center;">24.75</td> <td style="text-align: center;">15.75</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td style="text-align: center;">8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T. Wilcoxon</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td style="text-align: center;">4</td> <td style="text-align: center;">0</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;">Bourbon 33 ≠ T5 (P < 0.01)</td> </tr> </table>		Bourbon 33	T5	Media	24.75	15.75	Pares	8		T. Wilcoxon	0		Umbral 5%,1%	4	0	Bourbon 33 ≠ T5 (P < 0.01)		
	Bourbon 33	T5																				
Media	24.75	15.75																				
Pares	8																					
T. Wilcoxon	0																					
Umbral 5%,1%	4	0																				
Bourbon 33 ≠ T5 (P < 0.01)																						
2	13	20	17																			
3	6	35	9																			
4	12	20	18																			
5	14	20	16																			
6	10	30	10																			
7	4	25	21																			
8	9	21	20																			

Fecha: 25 de Enero de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "elite 33"; Pozo "Prueba": T5; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 26° C; Humedad Relativa: 48%

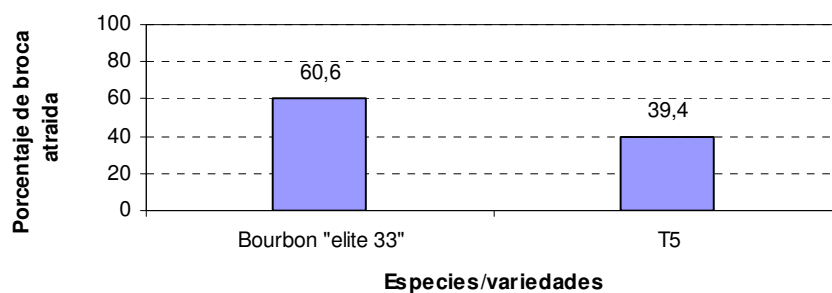


Gráfico 18: Preferencia de la broca para la variedad Bourbon "elite 33" y el híbrido T5

Cuadro 29: Comparación de preferencias de la broca para la variedad Bourbon "elite 33" y el híbrido T6

Repeti- ciones	Distribución de la broca			Prueba de Wilcoxon																		
	Super- ficie	Bourbon elite 33	T6																			
1	5	34	11	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Bourbon 33</td> <td style="text-align: center;">T6</td> </tr> <tr> <td>Media</td> <td style="text-align: center;">31.75</td> <td style="text-align: center;">11.88</td> </tr> <tr> <td>Pares</td> <td style="text-align: center;">8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>T Wilcoxon</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Umbral 5%,1%</td> <td style="text-align: center;">4</td> <td style="text-align: center;">0</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;">Bourbon 33 ≠ T6 (P < 0.01)</td> </tr> </table>		Bourbon 33	T6	Media	31.75	11.88	Pares	8		T Wilcoxon	0		Umbral 5%,1%	4	0	Bourbon 33 ≠ T6 (P < 0.01)		
	Bourbon 33	T6																				
Media	31.75	11.88																				
Pares	8																					
T Wilcoxon	0																					
Umbral 5%,1%	4	0																				
Bourbon 33 ≠ T6 (P < 0.01)																						
2	2	22	13																			
3	4	27	19																			
4	9	29	12																			
5	9	32	9																			
6	2	37	11																			
7	6	33	11																			
8	1	40	9																			

Fecha: 25 de Enero de 2006; Pozo "Testigo": Bourbon "elite 33"; Pozo "Prueba": T6; Estado de maduración de los frutos: maduros; Olfatómetro: de caída de 2 pocillos de vidrio; Temperatura 32° C; Humedad Relativa: 38%

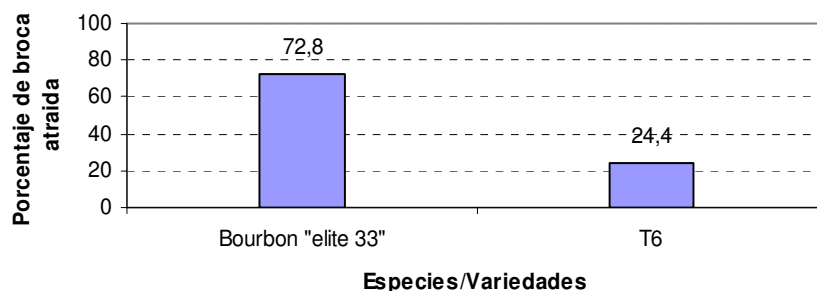


Gráfico 19: Preferencia de la broca para la variedad Bourbon "elite 33" y el híbrido T6

Los niveles de preferencia definidos en el marco de estas 12 pruebas y ajustados en función de los valores de las variedades Bourbon "Santa Ana" y Bourbon "elite 33", se pueden ordenar sobre dos ejes. De esta forma, se definen variedades más o menos atractivas con respecto al los dos Bourbones (Fig. 12).

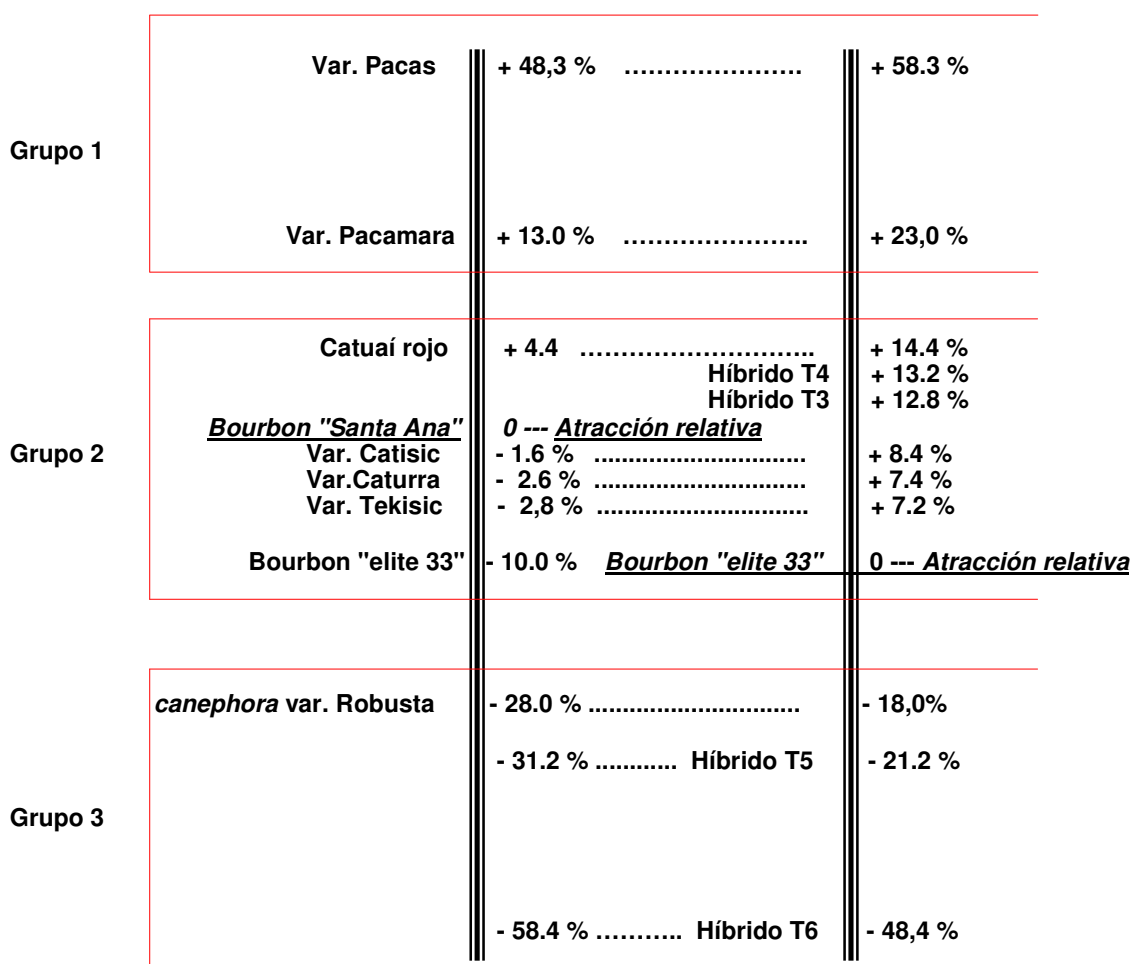


Fig. 12: Escala de preferencia de la broca para diferentes variedades, en olfatómetros de 2 pozos, tomando los Bourbones "Santa Ana" y "elite 33" como referencias

5.3 APLICACIÓN DE LA METODOLOGÍA A COMPUESTOS AROMÁTICOS LÍQUIDOS

La identificación de nuevos compuestos aromáticos atractivos para la broca implica la realización de varias pruebas.

Tres pruebas se experimentaron con varios olfatómetros de 2 pozos, colocados en serie, utilizando cuadros de papel filtro como soporte de difusión:

1. Respuestas de la broca ante diferentes concentraciones del único atrayente conocido: la mezcla etanol-metanol 30:70, en comparación con un testigo, agua.
2. Respuestas a la difusión de productos aromáticos solos, incluyendo la mezcla etanol-metanol 30:70, en comparación con testigos totalmente neutros tales como aceite de parafina o agua.
3. Respuestas a la difusión de productos asociados a la mezcla etanol-metanol 30:70, en comparación con la mezcla etanol-metanol 30:70 sola.

Otras pruebas con olfatómetros de 2 pozos se realizaron, esta vez utilizando el sistema de difusión hecho con capilares introducidos en los líquidos a probar. El objetivo era:

1. Evaluar respuestas de la broca a diferentes tasas de difusión de la mezcla etanol-metanol 30:70.
2. Evaluar respuestas a diferentes tasas de difusión de un solo terpeno (cimeno) diluido en etanol a 90°.

5.3.1 Respuesta de la broca ante diferentes concentraciones de la mezcla etanol-metanol 30:70 - difusión con papel filtro

A concentraciones extremas C0 (10 mg/10 µl) y C4 (1 µg/10µl), no hay respuesta significativa de la broca con respecto a testigos con agua (Cuadro 30 y gráfico 20). Sin embargo, la broca reacciona a las concentraciones C1 (1 mg/10 µl), C2 (100 µg/10 µl) y C3 (10 µg/10 µl).

Cuadro 30: Respuesta de la broca a diferentes concentraciones de la mezcla etanol-metanol 30:70

Fecha	Repeti- ciones	Mezcla etanol- metanol C0			Mezcla etanol- metanol C1			Mezcla etanol- metanol C2			Mezcla etanol- metanol C3			Mezcla etanol- metanol C4			
		Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	
08/03/06	1	7	21	22	4	33	13	1	39	10	10	25	15	4	27	19	
	2	3	22	25	10	27	13	1	39	10	9	23	18	2	20	28	
	3	26	23	1	8	26	16	12	26	12	17	17	16	19	24	7	
	4	9	38	3	8	26	16	18	25	7	34	12	4	21	17	12	
09/03/06	5	7	29	14	7	31	12	7	25	18	12	30	8	24	11	15	
	6	13	33	4	2	37	11	9	36	5	10	24	16	18	16	16	
14/03/06	7	25	10	15	18	19	13	22	20	8	26	17	7	25	10	15	
	8	32	8	10	4	32	14	19	27	4	17	15	18	27	12	11	
20/03/06	9	7	16	27	12	24	14	11	23	16	12	19	19	25	15	10	
	10	10	15	25	6	25	19	8	28	14	10	17	23	8	21	21	
PRUEBA DE WILCOXON		Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Tratamiento 4		Tratamiento 5		Tratamiento 6		Tratamiento 7		Tratamiento 8	
Media		21.5	14.6		28.0	14.1		28.8	10.4		19.9	14.4		17.3	15.4		
Pares		10			10			10			9			8			
T. Wilcoxon		34			0			0			6			12.5			
Umbral 5%, 1%		8	3		8	3		8	3		6	2		4	0		
Probabilidad		No Significativo		P<0.01		P<0.01		P<0.01		P<0.05		No Significativo		No Significativo		No Significativo	

Prueba: número de brocas que eligieron el pozo prueba. **Testigo:** número de brocas que eligieron el pozo testigo. **Sup.:** superficie, número de brocas restantes en la superficie del olfatómetro, después de terminado el ensayo.

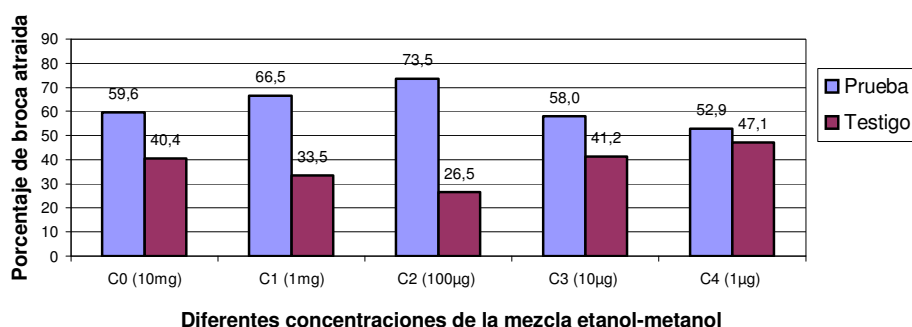


Gráfico 20: Respuesta de la broca (%) a diferentes concentraciones de la mezcla etanol-metanol 30:70 respecto a un testigo

5.3.2 Respuesta de la broca ante la difusión de aceites esenciales, limoneno y mezcla etanol-metanol 30:70 (10 µg/10 µl) - difusión con papel filtro

La broca reacciona con ningún aceite probado, HE1, HE2, HE3 a la concentración C6 (10 ng/10 µl), ni con el limoneno a la concentración C5 (100 ng/10 µl) (Cuadro 31 y grafico 21), en comparación con sus respectivos testigos (solvente neutro: aceite de parafina). Responde solamente a la mezcla etanol-metanol 30:70 a la concentración C3 (10 µg/10 µl), en comparación con un testigo con agua.

Cuadro 31: Respuesta de la broca a la difusión de aceites esenciales, limoneno y mezcla etanol-metanol 30:70

Fecha	Repeti- ciones	Canaga odorata (HE1) - C6			Ravensara aromatica (HE2) - C6			Citrus paradisi (HE3) - C6			Limoneno C5			Etanol-metanol C3			
		Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	
13/03/06	1	27	9	14	25	16	9	24	12	14	20	16	14	22	18	10	
	2	27	9	14	22	14	14	29	9	12	35	12	3	24	15	11	
21/03/06	3	29	10	11	32	12	6	39	5	6	33	5	12	40	7	3	
	4	36	9	5	28	12	10	43	6	1	44	3	3	28	15	7	
27/03/06	5	28	11	11	26	18	6	26	11	13	21	16	13	16	32	2	
	6	30	9	11	19	13	18	19	17	14	19	13	18	25	22	3	
07/04/06	7	30	13	7	12	18	20	7	15	28	40	6	4	24	20	6	
	8	26	11	13	13	18	19	28	8	14	35	7	8	24	19	7	
PRUEBA DE WILCOXON		Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Tratamiento 4		Tratamiento 5		Tratamiento 6		Tratamiento 7		Tratamiento 8	
Media		10.0	10.7		15.5	12.8		10.0	12.3		9.5	9.3		18.5	6.0		
Pares		8			7			8			7			8			
T. Wilcoxon		13			7.5			10.5			12			0			
Umbral 5%, 1%		4	0		2	-1		4	0		2	-1		4	0		
Probabilidad		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		P<0.01			

Prueba: número de brocas que eligieron el pozo prueba. **Testigo:** número de brocas que eligieron el pozo testigo. **Sup.:** superficie, número de brocas restantes en la superficie del olfatómetro, después de terminado el ensayo.

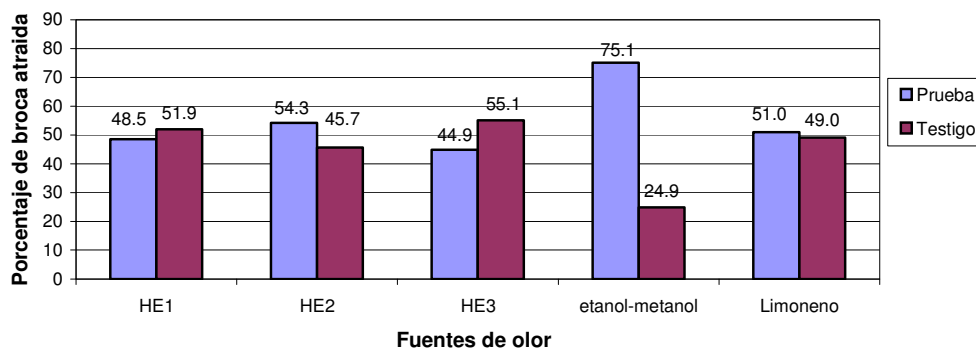


Gráfico 21: Respuesta de la broca (%) a aceites esenciales, mezcla etanol-metanol y limoneno

5.3.3 Respuesta de la broca ante la difusión de terpenos, aceites esenciales, producto de limpieza y mezcla etanol-metanol 30:70 (10 µg/10 µl) - difusión con papel filtro

Nuevamente, la broca responde solamente a la mezcla etanol-metanol 30:70 a la concentración C3 (10 µg/10 µl) en comparación con un testigo con agua (Cuadro 32 y grafico 22).

Cuadro 32: Respuesta de la broca a la difusión de terpenos, aceites esenciales, producto de limpieza y mezcla etanol-metanol 30:70

Fecha	Repeti- ciones	Cimeno C6			Cariofileno C6			<i>Gaulturia procu- bens</i> (HE4 - C6)			Azistín C5			etanol-metanol C3		
		Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo
14/03/06	1	21	19	10	13	18	19	9	15	22	24	16	12	21	24	5
	2	14	19	17	31	10	9	31	11	8	19	17	11	13	24	13
22/03/06	3	40	7	3	36	10	4	29	12	9	35	11	4	20	18	12
	4	36	6	8	42	5	3	34	4	12	40	4	6	22	15	13
31/03/06	5	31	8	11	29	9	12	24	11	15	8	19	23	37	11	12
	6	31	8	11	25	14	11	35	5	10	18	17	15	35	12	3
05/04/06	7	19	19	12	21	18	11	33	10	7	21	14	15	16	26	8
	8	24	19	7	14	21	15	27	12	11	16	18	16	14	30	6
PRUEBA DE WILCOXON		Tratamiento 1			Tratamiento 2			Tratamiento 3			Tratamiento 4			Tratamiento 5		
Media		13.1	9.8		13.1	10.5		10.0	11.7		14.5	12.7		20.0	9.0	
Pares		8			8			8			8			8		
T. Wilcoxon		8.5			6			26			9.5			1		
Umbral 5%, 1%		4	0		4	0		4	0		4	0		4	0	
Probabilidad		No Significativo			No Significativo			No Significativo			No Significativo			P<0.01		

Prueba: número de brocas que eligieron el pozo prueba. **Testigo:** número de brocas que eligieron el pozo testigo. **Sup.:** superficie, número de brocas restantes en la superficie del olfatómetro, después de terminado el ensayo.

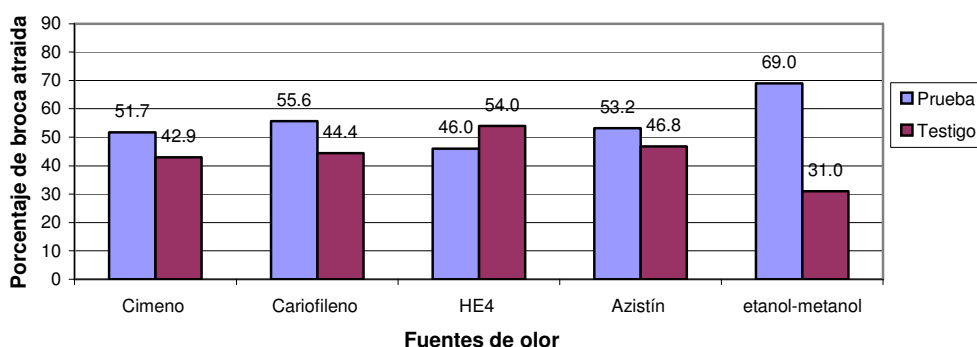


Gráfico 22: Respuesta de la broca (%) a terpenos, aceite esencial, producto de limpieza y mezcla etanol-metanol

5.3.4 Respuesta de la broca ante la difusión de otros terpenos, aceites esenciales y mezcla etanol-metanol 30:70 (10 µg/10 µl) - difusión con papel filtro

Nuevamente, la broca responde solamente a la mezcla etanol-metanol 30:70 a la concentración C3 (10 µg/10 µl) en comparación con un testigo con agua (Cuadro 33 y grafico 23).

Cuadro 33: Respuesta de la broca a la difusión de otros terpenos, aceites esenciales y mezcla etanol-metanol 30:70

Fecha	Repeti- ciones	Humuleno C6			Mirceno C6			α-Pineno C6			Pinus silvestris (HE5) - C3			etanol-metanol C3			
		Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	
15/03/06	1	33	12	5	25	12	13	37	9	4	37	10	3	31	14	5	
	2	32	10	8	26	12	12	22	15	13	23	9	18	28	13	9	
23/03/06	3	36	9	5	8	17	25	20	15	15	24	13	13	24	21	5	
	4	24	16	10	25	15	10	12	18	20	23	14	13	24	22	4	
03/04/06	5	13	11	26	14	20	16	11	18	21	9	17	23	7	39	4	
	6	14	15	21	28	11	11	6	17	27	2	28	20	10	22	18	
03/04/06	7	26	9	15	24	17	9	34	11	4	24	16	10	5	43	2	
	8	30	8	13	30	13	7	28	10	12	22	11	17	15	31	4	
PRUEBA DE WILCOXON		Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Tratamiento 4		Tratamiento 4		Tratamiento 5		Tratamiento 5		Tratamiento 5	
Media		11.2	12.8		14.6	12.8		14.1	14.5		14.7	14.6		25.6	6.3		
Pares		8			6			7			7			8			
T. Wilcoxon		21			6.5			13			13			0			
Umbral 5%, 1%		4	0		0	-1		2	-1		2	-1		4	0		
Probabilidad		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		P<0.01			

Prueba: número de brocas que eligieron el pozo prueba. **Testigo:** número de brocas que eligieron el pozo testigo. **Sup.:** superficie, número de brocas restantes en la superficie del olfatómetro, después de terminado el ensayo.

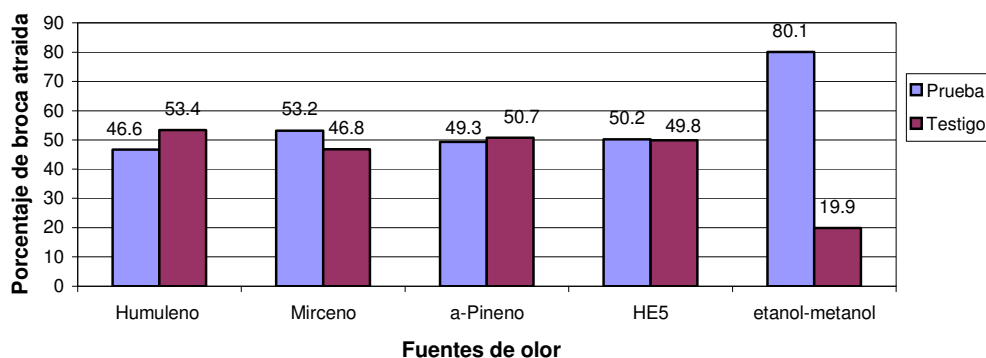


Gráfico 23: Respuesta de la broca (%) a otros terpenos, aceite esencial y mezcla etanol-metanol

5.3.5 Respuesta de la broca ante la difusión de terpenos y aceites esenciales asociada a la difusión de etanol-metanol, en comparación con un testigo de etanol-metanol solo - difusión con papel filtro

La broca responde de la misma forma a la difusión de terpeno o aceite esencial asociada con la mezcla etanol-metanol que con la mezcla etanol-metanol sola (Cuadro 34 y gráfico 24)

Cuadro 34: Respuesta de la broca a la difusión de terpenos, aceites esenciales asociada a la difusión de etanol-metanol 30:70 en comparación con un testigo

Fecha	Repeti- ciones	Humuleno C6 + etanol-metanol C3			Ravensara aromatica C6 + etanol-metanol C3			Limoneno C6 + etanol-metanol C3			α-Pineno C6 + etanol-metanol C3			Cimeno C6 + etanol-metanol C3			
		Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	
16/03/06	1	17	14	19	23	14	13	22	17	11	17	7	26	16	16	18	
	2	18	11	21	7	19	24	34	9	7	24	13	13	22	16	12	
08/05/06	3	11	17	22	10	26	14	15	15	20	8	25	17	10	15	25	
	4	10	15	25	14	20	16	18	11	21	9	29	12	6	22	22	
09/05/06	5	9	23	18	14	18	18	8	23	19	11	27	12	5	20	25	
	6	13	11	26	10	22	18	9	25	16	14	20	16	8	28	14	
10/05/06	7	5	20	25	4	34	12	5	20	25	6	22	22	8	18	24	
	8	9	15	26	5	17	28	9	29	12	6	25	19	7	20	23	
10/05/06	9	10	25	15	8	18	24	21	17	12	12	15	23	10	19	21	
	10	12	13	25	12	20	18	38	8	4	12	18	20	15	15	20	
PRUEBA WILCOXON		Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Tratamiento 4		Tratamiento 5		Tratamiento 6		Tratamiento 7		Tratamiento 8	
Media		16.4	22.2		20.8	18.5		17.5	14.7		20.1	18.0		18.9	20.4		
Pares		10			9			18			8			9			
T. Wilcoxon		8.5			18			18.5			13.5			13			
Umbral 5%, 1%		8	3		6	2		8	3		4	0		6	2		
Probabilidad		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo		No Significativo	

Prueba: número de brocas que eligieron el Pozo Prueba. **Testigo:** número de brocas que eligieron el Pozo Testigo. **Sup.:** superficie, Número de brocas restantes en la superficie del olfatómetro después de terminado el ensayo.

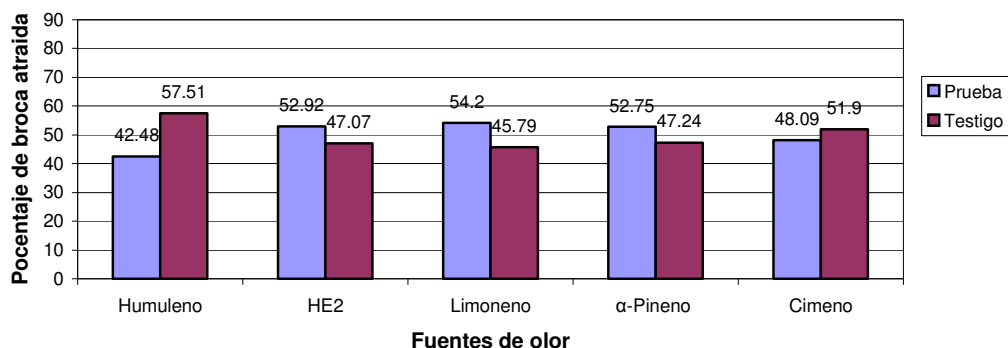


Gráfico 24: Respuesta de la broca (%) a terpenos, aceites esenciales asociados a etanol-metanol en comparación etanol-metanol solo.

5.3.6 Calibración de los capilares para la difusión de la mezcla etanol-metanol 30:70

Los resultados de la calibración están resumidos en el cuadro 35.

Cuadro 35: Tasas de difusión en medio confinado (olfatómetros) de la mezcla etanol-metanol a diferentes concentraciones

Etanol metanol	Rep.	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferencia (g)	Tasa de difusión (g/día)	Tasa de difusión (g/hora)
E.M.=0.5 ml agua=0.0 ml 99.9%	1	3.738	3.590	0.148		
	2	3.714	3.358	0.356		
	3	3.733	3.481	0.252		
	4	3.682	3.426	0.256		
	5	3.690	3.551	0.139		
Promedio				0.230	0.026	0.00107
Etanol metanol	Rep.	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferencia (g)	Tasa de difusión (g/día)	Tasa de difusión (g/hora)
E.M.=0.4 ml agua=0.1 ml 80%	1	3.761	3.588	0.173		
	2	3.761	3.556	0.205		
	3	3.714	3.601	0.113		
	4	3.804	3.713	0.091		
	5	3.699	3.545	0.154		
Promedio				0.147	0.016	0.00068
Etanol metanol	Rep.	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferencia (g)	Tasa de difusión (g/día)	Tasa de difusión (g/hora)
E.M.=0.3 ml agua=0.2 ml 60%	1	3.795	3.678	0.117		
	2	3.726	3.629	0.097		
	3	3.726	3.647	0.079		
	4	3.700	3.614	0.086		
	5	3.797	3.692	0.105		
Promedio				0.097	0.011	0.00045
Etanol metanol	Rep.	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferencia (g)	Tasa de difusión (g/día)	Tasa de difusión (g/hora)
E.M.=0.2 ml agua=0.3 m 40%	1	3.767	3.689	0.078		
	2	3.737	3.670	0.067		
	3	3.798	3.704	0.094		
	4	3.828	3.690	0.138		
	5	3.793	3.754	0.039		
Promedio				0.083	0.009	0.00039
Etanol metanol	Rep.	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferencia (g)	Tasa de difusión (g/día)	Tasa de difusión (g/hora)
E.M.=0.1 ml agua=0.4 ml 20%	1	3.761	3.604	0.157		
	2	3.878	3.850	0.028		
	3	3.830	3.785	0.045		
	4	3.717	3.647	0.070		
	5	3.828	3.789	0.039		
Promedio				0.068	0.008	0.00031

5.3.7 Respuesta de la broca a diferentes tasas de difusión de la mezcla etanol-metanol 30:70 en el marco del método de difusión con capilares

En los olfatómetros, la broca responde a las diferentes tasas de difusión de etanol-metanol 30:70 probadas: de 1.01 µg /h a 0.31 µg /h. Sin embargo las mejores respuestas suceden cuando la tasa es inferior a 0.73 µg /h (Cuadro 36 y gráfico 25).

Cuadro 36: Respuesta de la broca a diferentes tasas de difusión de etanol-metanol 30:70 con capilares

Fecha	Repeti- ciones	Tasas de difusión de las mezclas etanol-metanol															
		Mezcla pura 100% Difusión = 1.01 µg /h			Solución mezcla 80% Difusión = 0.73 µg /h			Solución mezcla 60% Difusión = 0.42 µg /h			Solución mezcla 40% Difusión = 0.37 µg /h			Solución mezcla 20% Difusión = 0.31 µg /h			
		Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	
28/04/06	1	12	28	10	15	28	7	16	31	3	10	21	19	27	20	3	
	2	6	34	10	5	30	15	10	31	9	7	29	14	10	28	12	
02/05/06	3	2	30	18	4	28	18	2	28	20	1	40	9	1	37	12	
	4	11	21	18	1	36	13	5	34	11	0	46	4	2	44	4	
03/05/06	5	20	15	15	12	19	19	10	22	18	11	24	15	13	29	8	
	6	17	25	8	26	19	5	11	25	14	15	18	17	18	24	8	
04/05/06	7	15	20	15	28	12	10	34	15	1	19	18	13	19	22	9	
	8	12	28	10	6	22	22	12	24	14	20	17	13	22	20	8	
Prueba de Wilcoxon		Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Tratamiento 4		Tratamiento 5		Tratamiento 5		Tratamiento 5		Tratamiento 5	
Media		25.1	13.0		24.2	13.6		26.2	11.2		26.6	13.0		28.0	8.0		
Pares		7			6			8			8			8			
T. Wilcoxon		0			0			0			0			0			
Umbral 5%, 1%		2	-1		0	-1		4	0		4	0		4	0		
Probabilidad		P<0.05		P<0.05		P<0.01		P<0.01		P<0.01		P<0.01		P<0.01		P<0.01	

Prueba: Número de brocas que eligieron el Pozo Prueba. **Testigo:** Número de brocas que eligieron el Pozo estigo. **Sup. :** Número de brocas restantes en la superficie del olfatómetro después de terminado el ensayo.

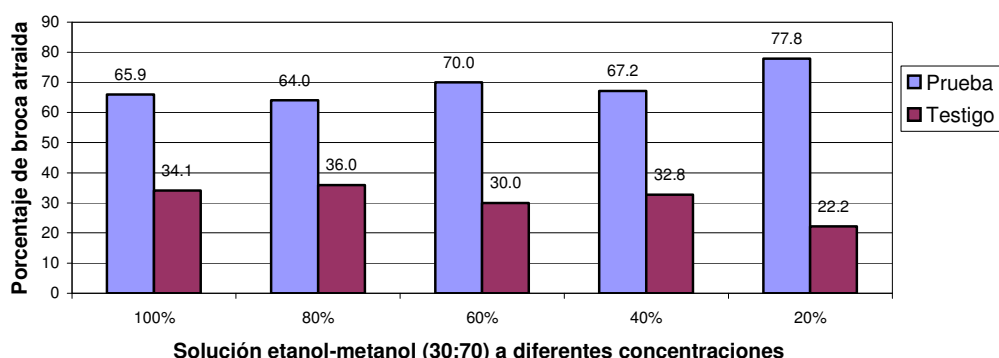


Gráfico 25: Respuesta de la broca (%) a diferentes concentraciones de la mezcla etanol-metanol 30:70 - difusión con capilares

5.3.8 Respuesta de la broca a diferentes tasas de difusión de un solo terpeno asociado en solución a la mezcla etanol-metanol 30:70 a 20% en el marco del método de difusión con capilares

En los olfatómetros, la tasa de difusión de la mezcla etanol-metanol 30:70 a 20% es de 0.31 µg /h, en promedio (Cuadro 35). Sin embargo la tasa de difusión del cimeno en solución en etanol a 90° no se conoce exactamente, pero varía en función de su propia concentración en solución con etanol a 90°. La comparación se hace con un testigo etanol-metanol 30:70 a 20%. La concentración de cimeno en etanol a 90° por la cual responde la broca es de 0.1% (Cuadro 37 y gráfico 26).

Cuadro 37: Respuesta de la broca a diferentes concentraciones de cimeno, con capilares, asociadas a la difusión de etanol-metanol

Fecha	Repeti- ciones	Tasas de difusión de las mezclas etanol-metanol + concentraciones de cimeno																													
		etanol-metanol 20% Difusión= 0.31 µg /h + Cimeno 10%			etanol-metanol 20% Difusión= 0.31 µg /h + Cimeno 1%			etanol-metanol 20% Difusión= 0.31 µg /h + Cimeno 0.1%			etanol-metanol 20% Difusión= 0.31 µg /h + Cimeno 0.01%			etanol-metanol 20% Difusión= 0.31 µg /h + Cimeno 0.001%																	
		Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo	Sup.	Prueba	Testigo															
15/05/06	1	9	17	24	5	27	18	10	22	18	8	28	14	8	12	30															
	2	6	28	16	10	15	25	12	32	6	8	13	29	9	26	15															
16/05/06	3	15	18	17	15	23	12	30	16	4	18	18	14	22	14	14															
	4	10	21	19	13	25	12	23	21	6	4	21	25	13	17	20															
17/05/06	5	26	14	10	3	24	23	5	32	13	12	14	24	10	22	18															
	6	8	21	21	7	30	13	5	26	19	6	31	13	8	21	21															
22/05/06	7	10	27	13	26	16	8	13	17	20	8	29	13	36	8	6															
	8	23	12	15	11	20	19	9	21	20	9	26	15	24	6	20															
Prueba de Wilcoxon		Tratamiento 1			Tratamiento 2			Tratamiento 3			Tratamiento 4			Tratamiento 5																	
Media		19.7			16.8			22.5			16.2			23.3			13.2			22.5			18.3			15.7			18.0		
Pares		7						8						8						8						6					
T. Wilcoxon		8						5						2						11						13					
Umbral 5%, 1%		2			-1			4			0			4			0			4			0			0			-1		
Probabilidad		No Significativo			No Significativo			P<0.05			No Significativo			No Significativo			No Significativo														

Prueba: Número de brocas que eligieron el Pozo Prueba. **Testigo:** Número de brocas que eligieron el Pozo Testigo.
Sup.: Número de brocas restantes en la superficie del olfatómetro después de terminado el ensayo.

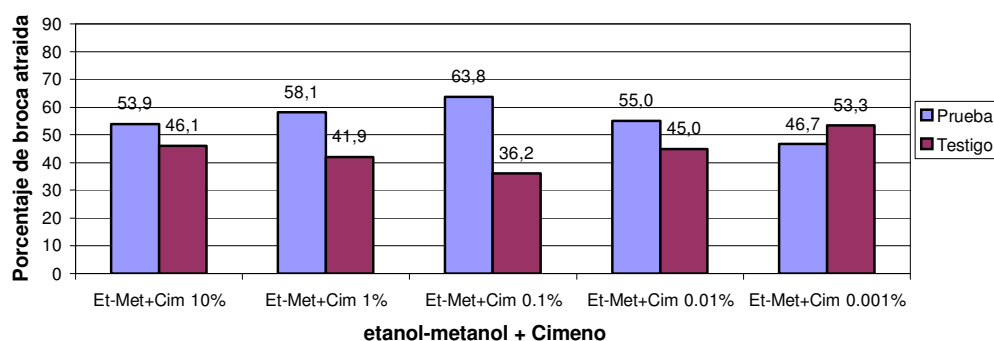


Gráfico 26: Respuesta de la broca (%) a diferentes concentraciones de cimeno en presencia de etanol-metanol - difusión con capilares

6. DISCUSIÓN GENERAL

En la búsqueda de una metodología de olfatometría para estudiar la respuesta de la broca a distintas fuentes de olor, especialmente los olores emitidos por los frutos de cafeto, varios aspectos biológicos fueron observados. En primer lugar, se ha determinado que la mayoría de las hembras de *H. hampei*, una vez emergidas de los frutos donde nacieron, manifiestan una actividad de colonización durante todo el foto periodo del día o de los días siguientes facilitando así, la realización de los ensayos. Según Giordanengo (1993), estas hembras tienen un estado fisiológico adecuado que les permiten colonizar nuevos frutos. Por otro lado, se ha confirmado que, entre las diferentes categorías de frutos, los residuales traídos del campo son excelentes reservorios de hembras colonizadoras. En este sentido se ha comprobado que la broca es capaz de discriminar entre los distintos estados fonológicos de los frutos, prefiriendo los maduros sobre los frutos secos y verdes. Estas observaciones concuerdan con las de varios autores (Ticheler, 1961; Giordanengo *et al.*, 1993; Mathieu, 1995), en experimento de olfatometría con variedades de cafetos.

Se ha determinado también que los frutos tomados como fuente de atracción, especialmente los frutos maduros, siguen emitiendo efluvios hasta 24 horas después del corte, lo que facilita su uso en el desarrollo de las pruebas olfatométricas.

En el marco más técnico de la elaboración de un olfatómetro, se ha privilegiado el principio de “caída” en un ambiente estático, por ser a la vez sencillo y eficaz. Entre los modelos probados, el olfatómetro de vidrio resultó más efectivo, con una duración óptima por ensayo de tres horas contra cuatro horas con los modelos de cartón, lo que permite la realización de un mayor número de pruebas por día, además es más práctico en su montaje y desmontaje para cada ensayo, así como su descontaminación después del uso. Por otro lado, a partir de numerosas pruebas realizadas en un mismo periodo que no sobrepasó dos meses, se ha podido definir que el sistema de dos pozos tenía una mayor precisión que el de cuatro pozos.

Las escalas que se elaboraron con el fin de clasificar los niveles de preferencia de la broca por los frutos maduros de diferentes variedades y especies

de cafetos, confirman la existencia de verdaderas diferencias entre sí, considerando el grado de similitud en las respuestas obtenidas con los olfatómetros de dos y cuatro pozos. De acuerdo con los resultados de Duarte (1992), la variedad Pacas es más atractiva que los Bourbones y mucho más que los Robusta. Cada una de estas tres variedades representa un grupo que reúne otras variedades con propiedades atractivas bastante similares. Así, el grupo de los Bourbones asocia los Caturra, Catuaí y Tekisic que tienen en común el mismo origen genético. En cambio, el Pacas que se originó de una mutación natural del Bourbon, se ha alejado de él, expresando nuevas características morfológicas y biológicas, lo que justifica sus diferencias de atractividad. En este sentido, Mathieu (1995), ha demostrado que los efluvios de Arábica tenían una composición química diferente de la de Robusta especialmente para el caso de los terpenos. Los resultados de análisis de los efluvios de los *arabica* var. Típica (Warthen *et al.*, 1997) y var. Colombia (Ortiz *et al.*, 2004) presentaron también diferencias. Hasta la fecha, ningún estudio comparativo sobre la química de los efluvios ha reunido más de dos variedades. La vía genética podría ser una de las alternativas a explorar para identificar nuevos atrayentes.

La realidad, es que para desarrollar este tipo de investigación, nunca se encuentra en el mismo lugar y el mismo tiempo, el material genético a estudiar y el laboratorio químico adecuado.

Las pruebas de preferencia realizadas con los cuatro híbridos llamados T3, T4, T5 y T6, son totalmente novedosas ya que se trata de material genético nuevo en proceso de evaluación. Los resultados indican que, a nivel de atracción, T3 y T4 pertenecen al grupo de los Bourbones y que T5 y T6 se ubican en el grupo de los Robusta. Estos dos últimos se revelan pocos atractivos. Es una ventaja que se podría tomar en cuenta como criterio de selección de este material genético.

Tal como se estudiaron la atractividad de los frutos de diferentes variedades y especies de cafeto, se evaluaron varios productos aromáticos líquidos puros o mezclados mediante olfatómetros de caída con el sistema de dos pozos. Esta vez,

ha sido necesario adaptar la metodología, probando dos sistemas de difusión: el sistema con papel filtro y el sistema con capilares.

Entre las pruebas con papel filtro como soporte de difusión, se demostró que la broca responde a las concentraciones C1, C2 y C3 de la mezcla etanol-metanol 30:70. En el caso de C0, puede ser que el ambiente interno de los olfatómetros sea saturado por la difusión de los alcoholes, afectando la capacidad de respuesta de la broca. En el caso de C4, la broca no pudo detectar la mezcla por ser muy diluida. Por consiguiente, se utilizó una de las 3 concentraciones de etanol-metanol C1, C2, C3 como concentración de referencia en los otros ensayos con difusión con papel filtro. Sin embargo se demostró también que la broca no responde a los diferentes terpenos, aceites esenciales y producto de limpieza cuando se utilizan solos, tampoco la broca responde a productos asociados a la mezcla metanol etanol, por lo tanto se pueden considerar cuatro respuestas: 1. Ninguno de los productos probados tiene un efecto atractivo, 2. Ninguno tiene un efecto atractivo cuando está utilizado solo, 3. Ninguno es atractivo a la concentración aplicada, 4. La difusión de cada producto es muy fugaz y por lo tanto, la broca no tiene tiempo para dirigirse hacia el pozo adecuado. En el marco de ensayos de campo, la broca ha respondido a la difusión de limoneno y del α -pineno asociados a la mezcla etanol-metanol, y no a estos dos terpenos utilizados solos (Dufour, comunicación personal). Por otro lado, se ha observado que una difusión excesiva de estos productos generaba un efecto de repelencia. Por lo tanto, se arguye que la rapidez de la difusión con el método del papel filtro, puede ser la principal causa de la no elección de los pozos de prueba por la mayoría de las brocas. Por lo anterior se asume que las sustancias no fueron evaluadas adecuadamente y tendrán que ser probadas nuevamente en el marco de otros estudios, utilizando un sistema de difusión diferente.

Entre las pruebas con capilares como medio de difusión, se demostró que la broca responde a todas las tasas de difusión probadas de la mezcla etanol-metanol 30:70 (1.01 $\mu\text{g} /\text{h}$, 0.73 $\mu\text{g} /\text{h}$, 0.42 $\mu\text{g} /\text{h}$, 0.371 $\mu\text{g} /\text{h}$ y 0.31 $\mu\text{g} /\text{h}$). Por consiguiente,

para evitar riesgos de saturación del ambiente interno de los olfatómetros, se prefiere la tasa más baja: 0.31 µg /h.

También se evaluó una sustancia asociada a la mezcla etanol-metanol a 20%: el cimeno por el cual la broca había respondido de manera positiva, en algunos ensayos de campo (Dufour, comunicación personal). A la concentración 0.1%, el cimeno muestra una pequeña atracción por la broca. Esta ventaja de los capilares se debe, sin duda, a la difusión continua de los productos volátiles en los olfatómetros, lo que da mucho más tiempo a la broca para elegir el pozo con la sustancia más atractiva. Por otro lado, demuestra que el sistema con capilares puede asegurar una difusión permanente tal como lo hacen los frutos de café.

El 0,1% de concentración podría ser la concentración estándar de los productos aromáticos que se aplicará en los futuros ensayos de olfatometría, especialmente los ensayos dedicados a la búsqueda de respuestas de la broca a diferentes volátiles seleccionados.

En la metodología de olfatometría de caída con dos pozos, asociado al sistema de difusión con capilares, se facilitara mas los estudios sobre las sustancias aromáticas se realizarán en el marco de nuevos estudios.

7. CONCLUSIONES GENERALES

1. La broca ya emergida de los frutos de cafeto, es activa todo el día (mañana y tarde)
2. Los frutos siguen atractivos para la broca, por lo menos durante 24 horas después del corte.
3. Los frutos maduros son más atractivos que los frutos secos y verdes
4. Los olfatómetros de vidrio son más efectivos que los olfatómetros de cartón.
5. El método de olfatometría con 2 pozos de caída es un poco más preciso que el de 4 pozos.
6. La precisión del método es suficiente para poder clasificar las variedades de cafetos en función del grado de atracción de sus frutos, de los muy atractivos como la variedad Pacas, hasta los menos atractivos como las variedades Canephora y Robusta.
7. El método ha permitido clasificar cuatro nuevos híbridos moderadamente atractivos (T3 y T4) y pocos atractivos (T5 y T6).
8. En la aplicación del método de olfatometría a productos aromáticos líquidos, el soporte de difusión hecho de papel filtro no fue efectivo ya que la difusión de los productos aromáticos en dicho material es muy fugaz, lo que no da tiempo al insecto para orientarse.
9. El método de olfatometría utilizando capilares como soporte de difusión, funciona mejor ya que la difusión de los productos aromáticos es constante tal como sucede en los frutos de cafeto. Tomando el cimeno como posible atrayente para la broca, se ha determinado que la broca responde a una concentración de 0.1%.

8. RECOMENDACIONES

1. Utilizar los resultados de esta investigación para realizar nuevas pruebas de olfatometría, haciendo las adaptaciones necesarias para su optimización.
2. Explorar diferentes fuentes aromáticas (naturales o artificiales), manejando distintos parámetros tales como, la concentración, la tasa de difusión de los atrayentes y la asociación de sustancias.
3. Validar en el campo, los resultados de las pruebas olfatométricas de laboratorio.
4. Caracterizar químicamente las sustancias volátiles emitidas por los frutos de las especies y variedades de cafeto que son muy o poco atractivas para la broca, con el propósito de identificar los compuestos atractivos.

9. LITERATURA CITADA

- Baker, P.S. 1984. Some aspects of the behavior of the coffee berry borer in relation to its control in southern Mexico (Coleoptera: Scolytidae). *Folia Entomol. Mex.* 61: 9-24.
- Baker, P.S. 1985. Biología e historia natural de la broca del café. *In: Curso sobre Manejo Integrado de Plagas del Cafeto en énfasis en Broca del Fruto (Hypothenemus hampei Ferr.)*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Guatemala. p. 105-127.
- Baker, P.S.; Barrera, J.F. & Valenzuela, J.E. 1989. The distribution of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* in southern Mexico: a survey for a biocontrol project. *Trop. Pest Managua* 35: 163-168.
- Baker, P.S.; Ley, C.; Balbuena, R. & Barrera, J.F. 1992. Factors affecting the emergence of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) from coffee berries. *Bull. Entomol. Res.* 82: 145-150.
- Baker, P.S. 1999. La broca del café en Colombia. Informe final del proyecto MIP para el café. DFID-CENICAFE-CABI. Bioscience. 148 p.
- Balachowsky, A. 1949. Coléoptères scolytidae. Faune de France 50. París.
- Barrera, J.F.; Infante, F.; Gómez, J.; Castillo, A. & De La Rosa, W. 1992. Guía práctica: Cría y manejo de parasitoide para el control biológico de la broca del café en comunidades rurales. Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste, Unidad Tapachula, 31 p.
- Barrera, J.F.; Gómez, J. & Alauzet, C. 1995. Can the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) reproduce by parthenogenesis? *Entomol. Ex. Appl.* 77: 351-354.

- Barrera, J.F.; Villacorta, A. & Herrera, J. 2004. Fluctuación estacional de las capturas de la Broca del café (*Hypothenemus hampei*) con trampas de etanol-metanol e implicaciones sobre el número de trampas. *Entomología Mexicana* 3: 540-544.
- Barrera, J.F.; Herrera, J. & Valle, J. 2005. Efecto de la altura de la trampa en la captura de la broca del café: Implicaciones en dispersión y muestreo. *Entomología Mexicana* 4: *En prensa*.
- Bergamin, J. 1943. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca do café "*Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867)" (Col. Ipinae). *Arq. Instit. Biol.* 14: 31-72.
- Bernays, E.A. & Chapman, R.F. 1994. Host-Plant selection by phytophagous insects. Chapman & Hall, London, England.
- Borbón-Martínez, O.; Mora-Alfaro, O.; Oehlschlager, A.C. & Gonzáles, L.M. 2000. Proyecto de trampas, atrayentes y repelentes para el control de la broca del fruto de cafeto, *Hypothenemus hampei* L. (Coleoptera: Scolytidae). *En: XIX Simposio Latinoamericano de Caficultura, Costa Rica*, p. 331-348.
- Byers, J.A. 1995. Host-tree chemistry affecting colonization of bark beetles. *In: Cardé, R.T. & W.J. Bell (eds.), Chemical Ecology of Insects 2*. Chapman & Hall, London, England, p. 154-286.
- Cabello, G.T. & Vargas, P.P. 1985. Estudio con olfatómetro de la influencia de la planta y del insecto huésped en la actividad de búsqueda de *Trichogramma sp. p buesi*. *Bol. Serv. Plagas (Col)* 11:237-241.
- Cantor, F.; De Souza, O.; Vilela, E.F.; Faria, C.A. & Costa, F.G. 2000. Local deterrence of multiple attacks by the coffee berry borer. *In: XXI International Congress of Entomology, Brazil*, 164 p.
- Cárdenas, M.R. 2000. Trampas y atrayentes para monitoreo de poblaciones de broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col., Scolytidae). *In: XIX Simposio*

Latinoamericano de Caficultora, Costa Rica, p. 369-379.

Decazy, B. 1989. Le Scolyte du fruit du caféier, *Hypothenemus hampei*. Ferr.: considérations sur la lutte intégrée contre ce ravageur. In : Annales XII Colloque Scientifique International sur le café, aipa, Colombia, Ed. ASIC, p. 655-665.

Delvare, G. & Aberlenc, H.P. 1989. Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale. Clés pour la reconnaissance des familles. Ed. CIRAD-GERDAT, Montpellier, Francia, 302 p.

Dickens C.J. 1986. Orientation of boll weevil *Anthonomus grandis* (C. Curculionidae), to pheromone and volatile host compound in the laboratory. J. Chem. Ecol. 12 (1): 91-98.

Duarte Navarro, M.T. 1992. Determinación de la atractividad de frutos de varios cultivares de café a la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei* F., utilizando el método de olfatometría a nivel de laboratorio. Tesis de Lic. Universidad de San Carlos. Guatemala, 55 p.

Dufour, B.P. 1997. Estudio del trapeo de broca en condiciones de campo. Rapport partiel PROCAFE, 16p.

Dufour, B.P.; Barrera, J.F. & Decazy, B. 1999. La broca de los frutos del cafeto: ¿La lucha biológica como solución? In: Desafíos de la caficultura en Centroamérica. B. Bertrand & B. Rapidel (eds.). San José, Costa Rica. CIRAD, IICA, p. 293-325.

Dufour, B.P. 2004. Nouvelle alternative pour la lutte intégrée contre le scolyte des baies du caféier: le piégeage. Première phase: recherches et mises au point. CIRAD, (1997-1999) Documento interno, 85 p.

Dufour, B.P. 2004. Nouvelle alternative pour la lutte intégrée contre le scolyte des baies du caféier: le piégeage. Deuxième phase: Élaboration du piège a scolytes

BROCAP[®], validation et perfectionnements. CIRAD, (200-2003) Documento Interno, 75 p.

Esquinca, A.H. 1986. Búsqueda de semioquímicos en la interacción cafeto *Coffea* spp. broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari), mediante bioensayos olfatométricos. Tesis de Lic. Universidad Autónoma de Chiapas, México.

Fletchmann, C.A.H.; Ottati, A.L.T. & Berisford, C.W. 1999. Attraction of ambrosia beetles (Coleoptera: Scolytidae) to different tropical pine species in Brazil. Environ. Entomol. 28: 649-658.

Frérot, B. & López, A. 1993. Morphologie et distribution des sensilles des antennes des males et des femelles de *Hypothenemus hampei*. 15 ème colloque scientifique international sur le café, ASIC, Montpellier.

Giordanengo, P. 1992. Biologie, éco-éthologie et dynamique des populations du Scolyte des grains de café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera, Scolytidae), en Nouvelle Calédonie. Memoria. Tesis de Doctorado. Univers. Rennes1. 109 p.

Giordanengo, P.; Brun, L. & Frérot, B. 1993. Evidence for allelochemical attraction of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, by the coffee berries. J. of Chem. Ecology 19, 4: 763-769.

Gomes De Lima, J.O.; De Campos-Pereira, R.; Muniz De Lacerda, P.C.; Matoso Viana-Bailez, A.M. & Villacorta-Mosqueira, A. 2004. Idénticacao e atratividade de novos volateis do café cereja e desenvolvimento de armadilha para a coleta massal da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferr.) In: Workshop Internacional sobre o manejo da Broca-do-Café, Londrina, Parana, Brasil, 8 p.

González, M.O. 1988, Ciclo de vida y hábitos de la broca del fruto del cafeto *Hypothenemus hampei* Ferr., en El Salvador: In: XI Simposio de caficultura latinoamericana. San Salvador, El Salvador, p. 45-65.

- Gutiérrez-Martínez, A.; Hernández-Rivas, S. & Virgen-Sánchez, A. 1993. Efecto de los diferentes extractos de café robusta *Coffea canephora* Pierre ex Frohener, sobre la captura de la broca del café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae). In: XVI Simposio de Caficultura Latinoamericana, Managua, Nicaragua, p. 48-49.
- Gutiérrez-Martínez, A. & Ordanza, R.N. 1996. Kairomone effect of extracts from *Coffea canephora* over *Hypothenemus hampei*. Environ. Entomol. 25: 96-100.
- Hagedorn, M. 1910. Wieder ein neuer Kaffeeschädling. Entom. Blätter, Berlín, Alemania. 6: 1-4.
- Hardee, D.; Mitchell, B. & Huddleston, M. 1967. Procedure for bioassaying the sex attractant of boll weevil. J. Economic Entomology. 60 (1): 169-171.
- Johannesson, N.R. & Mansingh, A. 1984. Host pest relationship of the genus *Hypothenemus* (Scolytidae: coleoptera) with special reference to the coffee berry borer *H. hampei*. J. of Coffee Res. 14: 43-56.
- Kamm, J. & Buttery, G. 1983. Respose of the alfalfa seed chaccid, *Bruchophagus roddi*, to alfalfa volatiles. Ent. Exp. Appl. No. 33:129 -134.
- Koch, V.J.M. 1973. Abondance d'*Hypothenemus hampei* Ferr., scolyte des graines de café, en fonction de sa plante-hôte et de son parasite *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, en Côte d'Ivoire. Meded. Landbouwhogeschool, Wageningen. 16: 84.
- Le Pelley, R.H. 1968. Pest of coffee. Ed. Longmans, Green and Co, London, England, 590 p.
- López, A. 1993. Contribution à la biologie du scolyte du café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera, Scolytidae). Mémoire, DEA, Univers. Paris XIII. 25 p.

- Mathieu, F. 1995. Mécanismes de la colonisation de l'hôte chez le scolyte du café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae). Thèse, Université de Paris VII, Francia. 133 p. y anexos.
- Mathieu, F.; Brun, L.O. & Frérot, B. 1996. Factors related with native host abandon by the coffee berry borer. *J. Appl. Entomol.* 121: 175-180.
- Mathieu, F.; Malosse, C. & Frérot, B. 1998. Identification of the volatile components released by fresh coffee berries at different stages of ripeness. *J. Agric. Food Chem.* 46: 1106-1110.
- Mathieu, F.; Gaudichon, V.; Brun, L.O. & Frérot, B. 2001. Effect of physiological status on olfactory and visual responses of female *Hypothenemus hampei* during host plant colonization. *Physiol. Entomol.* 26: 189-193.
- Mbondji, M. 1974. Etat actuel de nos connaissances sur la bionomie du *Stephanoderis hampei* (Coleoptera, Scolytidae). *Ann. Facc. Sci. Cameroun.* 17: 95-103.
- Mendoza-Mora, J.R. 1991. Resposta da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, a estímulos visuais e semioquímicos. M. Sc. thesis, Universidad Federal de Vicosa, Brasil.
- Moeck, H.A. 1970. Ethanol as the primary attractant for the ambrosia beetle *Trypodendron lineatum* (Coleoptera: scolytidae). *Can. Entomol.* 102: 985-994.
- Moore, D; Abraham, Y.N. & Mills, N.J. 1990. Effects of competition in the *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col. Scolytidae). *J. Appl. Ent.* 109: 64-70.
- Murphy, S.T. & Moore, D. 1990. Biological control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae): previous programmes and possibilities for the future. *Biocontrol News and Information* 11: 107-117.
- Oliveira Filho (DE), M.L. 1927. Contribuição para o conhecimento da broca do café,

Stephanoderes hampei (Ferr. 1867) modo de comportarse e ser combatida em Sao Paulo, Brasil. Comissao do Estudo e Debellacao da Praga Caffeira. Sao Paulo, Brasil. 20: 95.

Ortiz, A.; Ortiz, A.; Vega, F.E. & Posada, F. 2004. Volatile composition of coffee berries at different stages of ripeness and their possible attraction to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). J. Agric. Food Chem. 52: 5914-5918.

Pavis, C. & Minost, C. 1992. Banana resistance to the banana weevii borer *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae): role of the pseudostem attractivity and physical properties of the rhizome. *In*: Breeding banana et plantain for resistance to disease and pest. Proceedings of the International Symposium on Genetic Improvement of Banana for Resistance to Diseases and Pest: 129-142. Organized by CIRAD-FLHOR, Montpellier (France), 7-9 September, 1992. Montpellier, Frances, CIRAD/INIBAP.

Prates, H.S. 1969. Observacoes preliminares da atracao da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), a extractos de frutos do cafeeiro (cereja e verde). *O solo* 61: 13-14.

PROCAFE (Fundación salvadoreña para investigaciones del café. ES) 2002. Boletín interno, Componentes actuales de la caficultura salvadoreña.

PROCAFE (Fundación salvadoreña para investigaciones del café. ES) 2005. Boletín Estadístico de la caficultura salvadoreña año 2005, PROCAFE.

Renwick, J.A.A. 1989. Chemical ecology of oviposition in phytophagous insects. *Experientia* 45: 223-228.

Rojas, J.C. 2005. Ecología química de la broca del café y sus parasitoides. *In*: Simposio sobre Situación Actual y Perspectivas de la Investigación y Manejo de la Broca del Café, en Costa Rica, Cuba, Guatemala y México. México, p. 14-20.

- Rudinsky, J.A. 1962. Ecology of Scolytidae. *Ann. Rev. Entomol.* 7: 327-348.
- Sladden, G.E. 1934. Le *Stephanoderes hampei* Ferr. *Bull. Agric. (Congo Belga)* 25: 26-27.
- Ticheler, J. H. G. 1961 Etude analytique de l'épidémiologie du scolyte des grains de café *Stephanoderes hampei* (Ferr.) en Cote d'Ivoire. *Meded. Lanbouwhogeschool Wageningen.* 61-11: 1-49.
- Tothill, J.D. (ed). 1940. *Agriculture in Uganda.* London, Oxford U.P. 551 p.
- Van der Weele, H.W. 1910. Ein neuer javanischer Kaffeeschädling *Xyleborus coffeivorus* nov. esp. *Bull. Dept. de l'Agric. aux Indes Néerl. Buitenzorg.* 35: 1-6.
- Velasco-Pascual, H.; Llaven, J.M. & Velásquez Velásquez, A.F. 1997. Respuesta a extractos de cerezas de café utilizados como atrayentes para hembras intercosecha de la broca del fruto *Hypothenemus hampei* Ferr. *In: Memorias Latinoamericana, Costa Rica, 1997.* ICAFE, IICA/PROMECAFE, p. 349-352.
- Warthen, J.D.; Lee, C.J.; Jang, E.B.; Lance, D.R. & Mcinnis, D.O. 1997. Volatile, potential attractants from ripe coffee fruit for female Mediterranean fruit fly. *J. Chem. Ecol.* 23: 1891-1900.
- Waterhouse, D.F. & Norris, K.R. 1989. *Hypothenemus hampei* (Ferrari) *In: Biological Control Pacific Prospect-supplement1.* Austr. Centre For Inter. Agr. Res., Camberra, Australia, p. 56-75.
- Westwood, J.O. 1836. Description of a minute coleopterous insect forming the type of new subgenus allied to *Tomicus*, with some observations upon the affinities of the Xylophaga. *Trans. Ent. Soc. London (1834)* 1: 34-36.

ANEXO

ANEXO 1

N i

FUNDACION SALVADOREÑA PARA INVESTIGACIONES DEL CAFÉ. JARDIN DE ESPECIES Y VARIEDADES- CTC II PLANO DE CAMPO.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
C. Canephora C. Robusta.		Bourbón s/charlotii Chrlotii		Bourbón s/Laurenti Laurenti		Arábigo mibirizi Uganda.		Arábigo 205 Quillow		Arábigo n 50 Congensis.				
24	23	22	21	20	19	18	s/n	S/N	17	16	S/N	15	14	13
Arnoldiano. Excelsa.		Arábigo F 502 Abeukutae.		Libérico. Arábigo N 48		Phillipinean Passipagor Apoata. Viilla Sarhi		Sumatra. Dewevrey Villa Sarchi		Arábigo sel 17 Arábigo amarelo.				
25	26	27	28	29	30	31	32	S/N	33	34	S/N			
Arábigo sel. 28 Java moka.		Arábigo R 3 Moka No 2		Bourbón Puerto Rico.		Pacas. Arábigo Mizore Bel Congo.		Eugenoides. Sarhimor. Mundo Novo Arábigo Sel. 313 Catuai.						
45	44	43	42	41	40	39	38	37	36	35	S/N	S/N		
Maragogipe. columnaris		Kona Purpuracens		Bourbón amarelo. Maragogipe amarelo.		Caturra. Surimam.		Murta. Serpensflorens Arábigo Hawai Racemosa. Pacamara.						
46	47	48	49	50	51	52	53	54	60A	60B	60C	60D	60E	
San Ramón. Pache.		San Ramón X Maragogipe.		Le Roy. Polisperi BOURBON (ELITE 33) Bourbón sl 370 Guadalupe. Bourbón élite 33		60 A Pache enano. 60 B Congensis. 60 C Selección 16 60 D Padang 2. 60 E Selicción 197								