

Guía para la producción del parasitoide
Phymastichus coffea
para el control de la broca del café

A guide to the rearing of the parasitoid
Phymastichus coffea
for control of the coffee berry borer

Jaime Orozco Hoyos¹

CENICAFÉ
Chinchiná, Caldas, Colombia
cenicafe@cafedecolombia.com

Junio 2002

¹Investigador Científico I. Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafe. Chinchiná, Caldas, Colombia.

This manual is one of a series of publications arising from the Common Fund for Commodities project ICO/02 on integrated management of the coffee berry borer (1998-2002). For more information about this project contact CABI Commodities through their website (CABI-Commodities.org)

EDICIÓN Y COORDINACIÓN
EDITING AND EDITORIAL COORDINATION
Héctor Fabio Ospina O.

DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN
DESIGN AND LAYOUT
Carmenza Bacca Ramírez

FOTOGRAFÍA
PHOTOGRAPHY
Gonzalo Hoyos Salazar
Jaime Orozco Hoyos

Impreso por
Printed by
FERIVA S.A.

Cali, Colombia
Mayo de 2002
May 2002

© The Commodities Press
2002


A joint CABI-CENICAFÉ enterprise

CONTENIDO

6	Grano cereza maduro infestado
6	Secado y desarrollo
8	Emergencia de la broca
10	Tratamiento de la broca
12	Consecución del grano pergamino sano
12	Tratamiento del grano pergamino
14	Secado del grano pergamino
14	Selección del grano
14	Infestación del café pergamino húmedo
16	Parasitación y Desarrollo
18	Emergencia de adultos <i>P. coffea</i>

CONTENTS

Mature infested coffee cherries	7
Drying and development	7
Emergence of the borer	9
Handling the borers	11
Obtaining dry parchment coffee	13
Treatment of the parchment coffee	13
Drying the parchment coffee	15
Selecting the beans	15
Infesting the rehydrated parchment	15
Parasitism and Development	17
Emergence of adult <i>P. coffea</i>	19

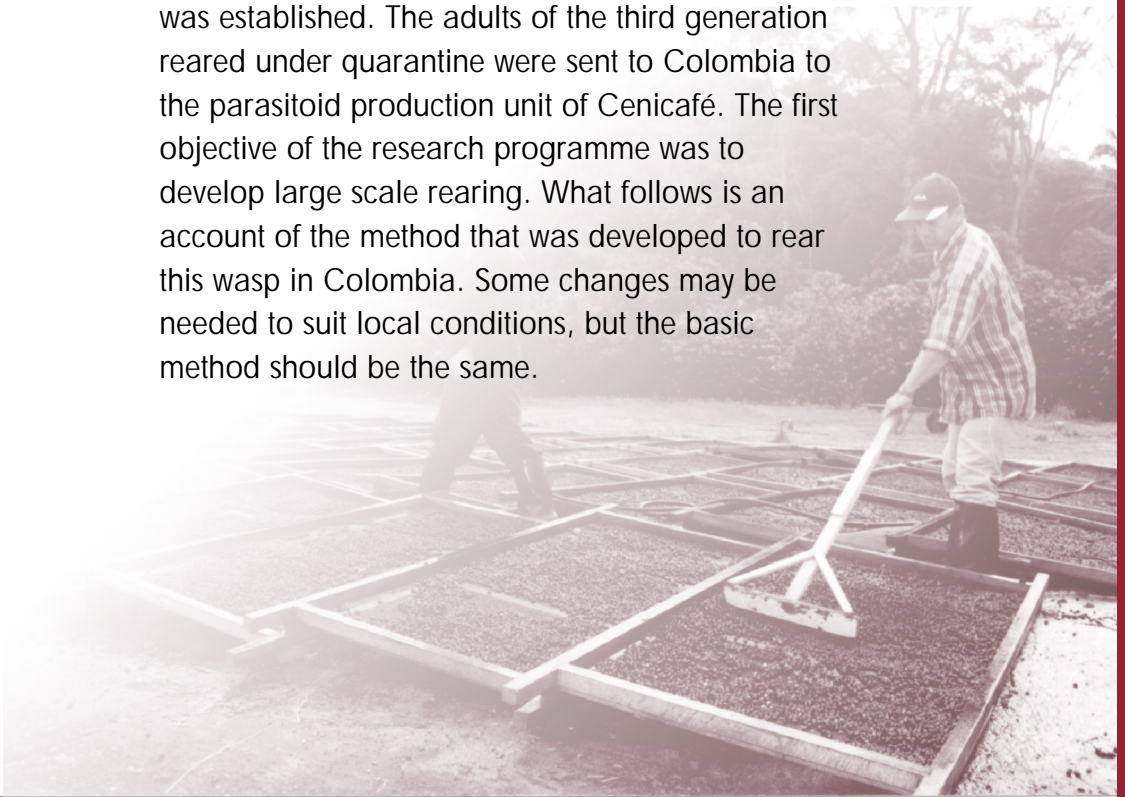


Phymastichus *coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) es un endoparasitoide de adultos de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari). En el campo el ataque del parasitoide ocurre cuando las hembras de la broca están haciendo el orificio de penetración y su abdomen aún es visible. Este enemigo biológico fue descubierto en Togo (África Occidental) por el costarricense Olger Borbón Martínez en 1988. La descripción y clasificación fueron hechas por La Salle en 1990.

En 1996 fueron enviados desde Kenya (África) a Inglaterra granos infestados de *H. hampei* y parasitados por *P. coffea*. En la estación cuarentenaria del CABI Bioscience en Ascot, se obtuvieron los primeros adultos del parasitoide y utilizando grano pergamino y brocas enviadas desde Colombia se estableció una pequeña colonia. Los adultos de *P. coffea* de la tercera generación obtenida en cuarentena se enviaron a Colombia a la unidad de cría de parasitoides de Cenicafé. El primer objetivo del programa de investigación con este insecto fue desarrollar un proceso de producción masiva. A continuación se describe la metodología desarrollada en Cenicafé para la cría de la Avispa de Togo. De acuerdo a las condiciones locales de algunos países o sitios específicos, es posible que se requiera hacer algunos cambios, pero en este boletín se describen los aspectos básicos de la metodología.

P*hymastichus coffea* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) is an endoparasitoid of adult *Hypothenemus hampei*. In the field the wasp attacks the female coffee berry borer whilst she is making her penetration tunnel; in this condition her abdomen is visible and this makes her vulnerable to attack. This natural enemy was discovered in Togo (West Africa) by the Costa Rican scientist Olger Borbón Martínez in 1988. The description and classification of the new species was carried out by La Salle in 1990.

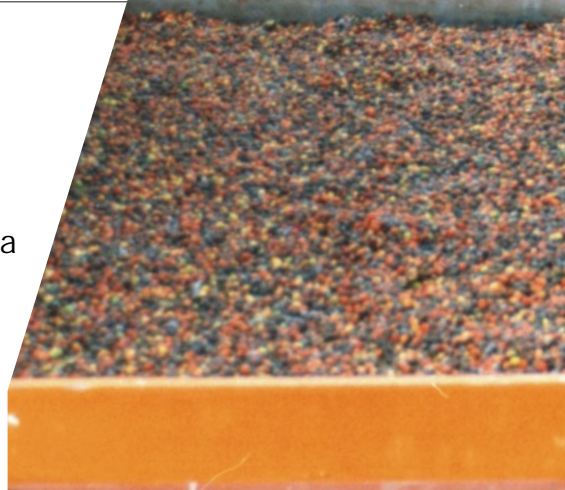
In 1994, berries infested with *H. hampei* and parasitized by *P. coffea* were sent from Kenya to England, where they were quarantined by CABI Bioscience at Ascot. Using parchment coffee and berry borers sent from Colombia a small colony was established. The adults of the third generation reared under quarantine were sent to Colombia to the parasitoid production unit of Cenicafé. The first objective of the research programme was to develop large scale rearing. What follows is an account of the method that was developed to rear this wasp in Colombia. Some changes may be needed to suit local conditions, but the basic method should be the same.



Grano cereza maduro infestado

El éxito en la producción de la avispa radica en el suministro de una abundante cantidad de broca.

Para obtener los adultos de la broca se usa parte de grano cereza maduro, sobremaduro ó seco infestado en el campo. El grano maduro, con un porcentaje de infestación igual ó superior al 50%, se compra en fincas de agricultores y se lleva al laboratorio. Allí se extiende sobre bandejas de madera con fondo de malla metálica.



Secado y desarrollo

Dariamente, durante 8 días, las bandejas con el grano se extienden en el suelo en forma individual para exponerlas directamente a los rayos del sol durante dos horas, preferiblemente entre las 8 y las 11 de la mañana. No se deben de dejar expuestos al sol por periodos superiores debido a que puede ocurrir mortalidad o abandono de los adultos de broca.

El secreto del secado consiste en evitar el exceso de humedad (la pudrición de los granos) o el sobresecado debido a que las larvas no se desarrollan (a menos del 30% de humedad). Después de este tiempo se lleva el grano en las bandejas a una caseta donde con la ayuda de ventiladores durante 15 días se completa el secado. Posteriormente se junta el contenido de dos bandejas en una sola para evitar el resecamiento del grano. De esta manera se mantiene el grano hasta obtener los adultos de la broca. El tiempo total de secado hasta obtener los adultos es de 6 a 8 semanas. Cuando las condiciones climáticas son favorables, 20°C y 80% de humedad relativa, el grano cereza puede almacenarse hasta por cuatro meses.





Grano cereza maduro infestado
Mature infested berries

Mature infested coffee berries

The key to rearing the wasp is to have abundant supplies of the berry borer. To obtain borer adults you must start with ripe, overripe or dry infested coffee berries from the field. The ripe berries, with a rate of infestation of 50% or more can be purchased from coffee farmers and taken to the laboratory. There they are placed on wooden trays with wire mesh bottoms.

Drying and development

Every day for a week, the trays should be taken outside and placed on the ground in sunny conditions with the object of drying off the flesh of the ripe berries. The time to leave them in the sun depends on conditions (two or three hours between 8am to 11am), but do not leave them too long in very hot sun since this may cause high mortality and abandonment of the berries. After this drying-off period the trays of berries are taken to a storage hut (this can be a temporary construction of wood and plastic sheeting, preferably away from the main building) where, with the aid of electric fans, the drying period can be finished off in about 15 days. After this, the contents of two trays can be lumped into one to avoid over-drying. In this way the berries are stored until the borers are ready for collection. This may take six to eight weeks. If properly stored, the berries can harbour viable borer populations for four months. They can be stored at 20°C and 80% of relative humidity. The secret here is to dry the berries so that they do not rot, but not to dry them so much that the larvae inside find it too difficult to feed on the drying tissue of the berry. Hence drying times will depend on local conditions and this may need to be established by trial and error.



Emergencia de la broca

Para favorecer la emergencia, diariamente se extienden en el suelo las bandejas de madera con el grano seco que contiene los adultos ya desarrollados y con una manguera se remoja hasta lograr que todos los granos queden humedecidos.

Después de 30 minutos se recogen las bandejas y se

llevan a la caseta de emergencia. Esta consta de una estructura de madera de 15 metros de largo por 7 de ancho y 3 metros de altura, cubierta con tela muselina blanca y sobre ésta, con plástico negro. Las dimensiones pueden variar de acuerdo a la disponibilidad de espacio. La emergencia de la broca comienza bajo las condiciones climáticas de Chinchiná después de la 1pm.

Las brocas adultas al salir del grano vuelan alrededor de la caseta hasta adherirse a las paredes y techo de la caseta, de donde se colectan con la ayuda de una canal de plástico, la cual se pasa rozando las paredes y el techo. La broca colectada se pasa a una caja plástica que contiene papel picado para evitar mutilaciones y se lleva al laboratorio.



Bandejas de madera
Wooden trays



Humedecimiento del grano
The coffee bean is moisturised



Caseta de emergencia
Emergency house

Emergence of the borer

To encourage emergence of adult borer, every day take some trays with dried mature berries outside, place them on the ground and spray them with water from a hose until thoroughly wet. After 30 minutes, collect the trays and place them in the emergence chamber. This can be a simple tent or hut with muslim interior walls and black plastic external covering. The adult female borer will start to emerge in the afternoon (13.00 hrs local time in Chinchiná, Colombia for example).

The adult borers, on exiting the berries, fly around until they alight on the muslin walls and ceiling of the tent. From here they can be collected by sliding a piece of plastic guttering up the walls or across the ceiling. The borer thus collected are then passed to a plastic container with paper confetti (to give them something to hold onto, to stop mutilation of each other) and taken to the laboratory.



Recolección de broca
Collecting Coffe Berry Borer



Canal de plástico
Plastic guttering



Caja plástica con papel picado
Plastic box with paper confetti



Separación de las brocas
del papel picado
Separation of the
Coffee Berry Borer
from the confetti

Tratamiento de la broca

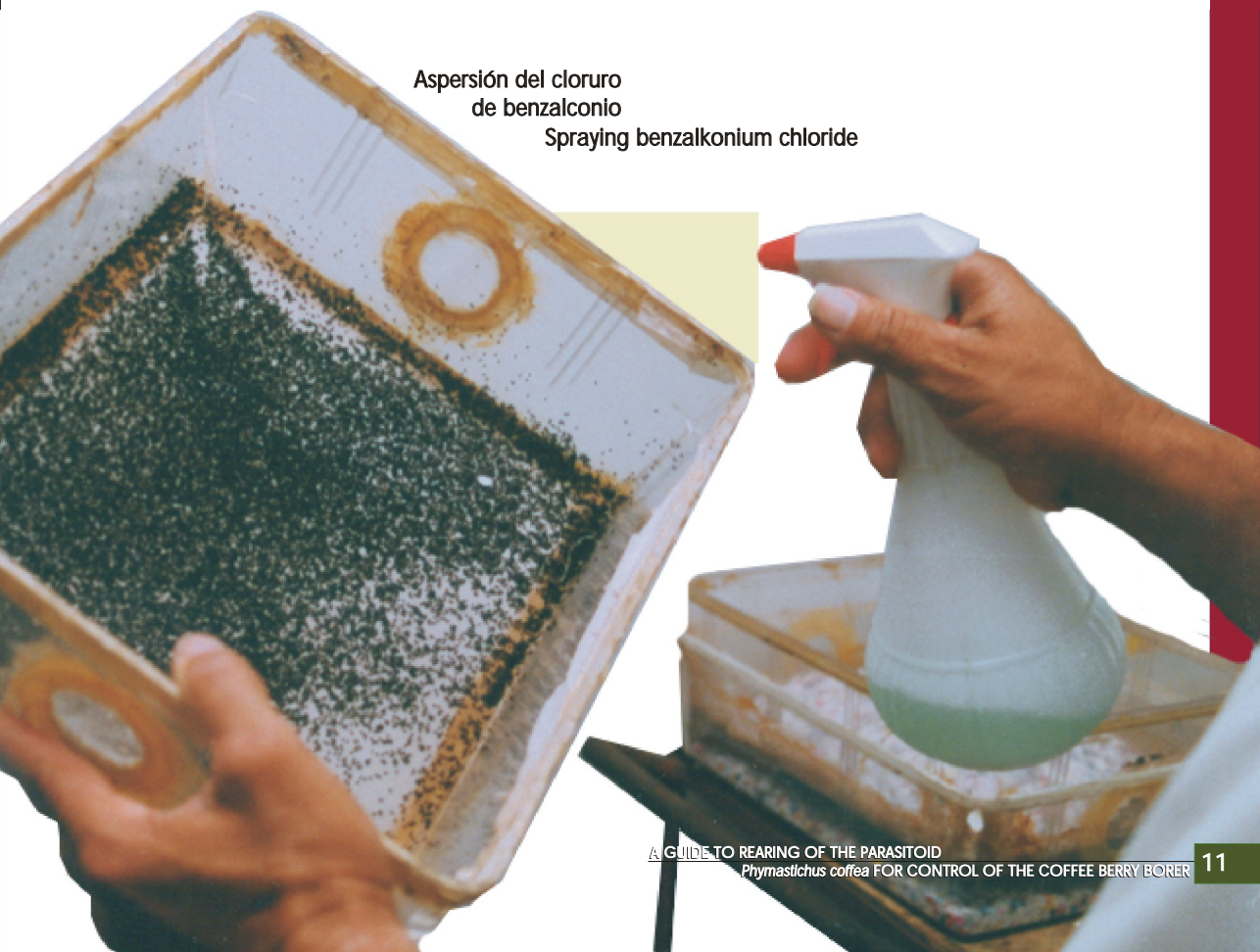
Con la ayuda de una caja en cuyo fondo se tiene una malla plástica se separan los adultos del papel. Posteriormente, se colocan dentro de otra caja plástica que tiene el fondo y la tapa en malla plástica y con la ayuda de un equipo aspersor se aplica una solución de cloruro de benzalconio al 1%. La caja con las brocas tratadas se coloca al frente de un ventilador durante 20 minutos, al cabo de los cuales se hace la infestación del grano pergamino. En el caso de cantidades pequeñas, de 10.000 a 20.000 brocas, se pueden coleccionar con la ayuda de un pincel o una brocha. Cantidades mayores exigen una aspiradora. Las brocas recolectadas se introducen en un tubo de un volumen conocido con lo cual se puede estimar el número total de brocas recolectadas.

Handling the borers

With the aid of a container with a plastic mesh base, one can separate the adults from the paper. After this, they are transferred to another plastic container which has a plastic mesh base and top. Here they are disinfected with a 1% spray solution of benzalkonium chloride. The container with the treated borers is then located in front of a ventilator for 20 minutes. After this they are ready to infest onto parchment coffee.

Whereas small numbers of borers can be managed manually, e.g. by picking them up with a brush, for large numbers we recommend the use of an aspirator. This can be used to collect them into a small tube of known volume so that numbers can be estimated by their volume.

Aspersión del cloruro
de benzalconio
Spraying benzalkonium chloride



Consecución del grano pergamino sano

El grano pergamino se consigue en compras de café. Se requiere que provenga de grano maduro, de lo contrario se retarda la infestación. No debe estar sobre-fermentado porque se favorece el desarrollo de los hongos *Aspergillus flavus* y *Beauveria bassiana* entre otros y es necesario que no haya recibido aplicaciones de insecticidas químicos, especialmente de endosulfan, pues se tiene comprobado en el laboratorio que el pergamino de lotes de café que han sido tratados con este insecticida no permite la infestación de la broca.

Tratamiento del grano pergamino

Cuando llega al laboratorio el grano pergamino húmedo se deposita en canecas plásticas y con agua se lava hasta desprender todos los residuos del mucílago. Posteriormente se prepara una suspensión de un fungicida como carbendazim al 0.3%, en la cual se deja el pergamino entre 8 y 12 horas. Después de este tiempo se extiende el grano en bandejas de madera con fondo en malla metálica.

Grano en bandejas de madera
Parchment coffee on wood

Obtaining dry parchment coffee

In producing countries, parchment coffee can be purchased from a commercial coffee merchant. This must be from fully mature berries, otherwise the development period will be longer. Over-fermented beans should not be used because this favours the development of fungi such as *Aspergillus flavus* and *Beauveria bassiana* amongst others. It is also important of course that the beans have not been sprayed with insecticide nor even from a field that has been sprayed, especially with endosulfan since it has been shown that borers placed onto such beans do not allow an infestation to develop.

Treatment of the parchment coffee

When the parchment coffee is received in the laboratory it is washed with water in plastic containers to remove any residual mucilage. After this the beans are steeped in a fungicide solution such as 0.3% carbendazim for 8 to 12 hours. Following this, the beans are laid out on wooden trays with wire mesh bottoms.





Secado del grano pergamino
Parchment coffee drying

Secado del grano pergamino

Las bandejas con el grano pergamino se llevan a un cuarto cerrado, en donde se mantienen con cuatro ventiladores que permanecen funcionando durante 12 horas, hasta que el pergamino llegue a una humedad del 47%.

Selección del grano

Para evitar problemas de contaminación es necesario remover los granos partidos, infestados, con cáscara o dañados.

Infestación del café pergamino húmedo

Para la infestación se colocan 120 granos de café pergamino con un 45% a 47% de humedad, dentro de cajas galleteras (15x8x6cm) cuyos lados deben tener ventanas cubiertas con tela muselina para conseguir una adecuada ventilación y evitar el exceso de humedad. Luego se adicionan 1.000 adultos de brocas por caja.





Drying the parchment coffee

The trays with the wet parchment are taken to a room with four fans full-on for 12 hours until the parchment gets to a humidity of 47%.

Se adicionan 1.000 brocas por caja
Add 1,000 borers to each container

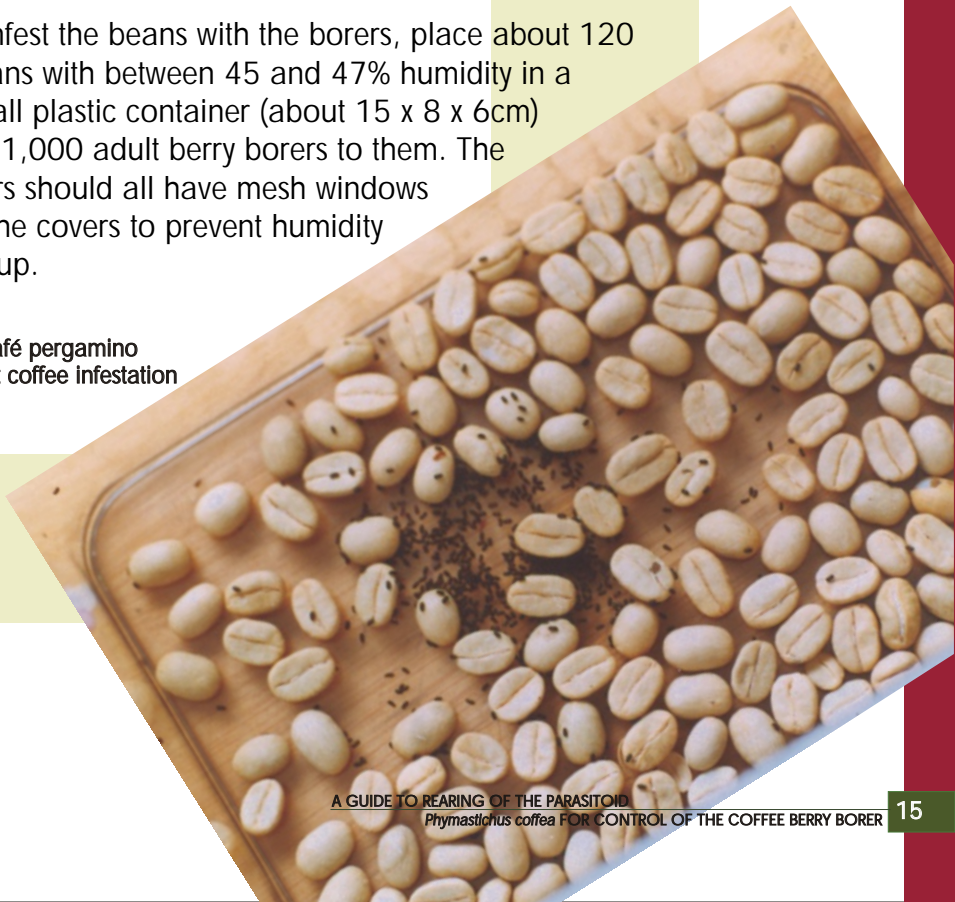
Selecting the beans

In order to avoid contamination problems later, it is necessary to remove all broken, infested or damaged parchment beans.

Infesting the parchment

To infest the beans with the borers, place about 120 beans with between 45 and 47% humidity in a small plastic container (about 15 x 8 x 6cm) and add 1,000 adult berry borers to them. The containers should all have mesh windows cut into the covers to prevent humidity building up.

Infestación del café pergamino
Parchment coffee infestation



Parasitación y Desarrollo

Después de 24 horas de infestado el grano pergamino en las cajas galleteras, se liberan 100 hembras adultas de *P. coffea* recién emergidas por recipiente. Estos recipientes se llevan a un cuarto oscuro con condiciones controladas de humedad y temperatura (24-25° C y 85% H.R) donde ocurre la parasitación y comienza el desarrollo larval.



Infestación del café pergamino
Parchment coffee infestation

En este cuarto permanece el material por 10 días. Después se lleva el grano con las brocas parasitadas al cuarto de limpieza. Los granos se extienden en bandejas de madera con fondo de malla metálica y con la ayuda de una brocha se limpia el aserrín producido por la broca. Es esta la ocasión para revisar los granos y retirar aquellos contaminados por hongos, los cuales se distinguen por la presencia de motas blancas o manchas amarillas. El grano limpio se coloca en cajas plásticas multiuso, 1.000 granos por caja y se lleva a un cuarto de desarrollo a 24° C y 85% de humedad relativa, donde completa su desarrollo el estado larval. Transcurridos 10 días en este cuarto se retira nuevamente el material para una segunda limpieza. Posteriormente se colocan 5.000 granos en bandejas metálicas, de 70 x 30 x 7cm y se llevan a un tercer cuarto con 23°C y 85% H.R., donde se desarrolla el estado de pupa. Allí permanecen por 12 días después de los cuales, se limpia otra vez el material y se empaca dentro de cajas galleteras para llevarlo de esta forma al cuarto de emergencia.



Almacenamiento de granos parasitados
Storing parasitised beans



Parasitism and Development

24 hours after infestation with the borers, release 100 adult females of very recently emerged *P. coffea* in each container. Place these in a dark place with controlled temperature and humidity (24-25° C and 85% Relative Humidity)

In these conditions the infested berries with wasps should be held for 10 days. After this, the beans with the parasitised borers should be cleaned. For this process, the beans are laid out on trays with a wire mesh base and with the aid of a soft brush, the powder (frass) produced by the borers is removed from the outsides of the beans. At this stage the technician should take the opportunity to remove any beans that look infected with fungus, distinguished by white molds and yellow growths. The cleaned beans are then placed into fresh plastic containers, 1,000 per container and taken back to the controlled climate (24-25° C and 85% RH) where they remain for another 10 days whilst the parasitoids complete the larval stages.

Following this, beans are placed on metallic trays (70 x 30 x 7cm) at up to 5,000 per tray, and taken to a chamber with a slightly lower temperature (23°C and 85% RH). Here they develop through the pupal stage for 12 days, after which they should be cleaned again and placed back into containers (500 beans each) and taken to the emergence chamber.



Preparación y limpieza del grano
Preparig and cleaning the parchment beans



Almacenamiento
Storage of containers

Emergencia de adultos de *P. coffea*

Las cajas galleteras con 500 granos cada una se colocan dentro de cajas de acrílico transparente de 90 x 60 x 50cm, destapadas en el frente, detrás de las cuales se tienen lámparas de luz blanca. A las 11 am. cada día, se remueve la tapa de las cajas galleteras para permitir la salida de los adultos del parasitoide. Estos abandonan el grano y se colocan dentro de las cajas de emergencia en su cara interna posterior. De allí se colectan con la ayuda de una bomba de vacío a la cual se conectan mangueras plásticas y éstas a su vez, a la tapa de un tubo plástico que tiene otro trozo de tubo al extremo opuesto a través del cual se succionan los adultos del parasitoide.

Los adultos colectados se colocan en cajas o tarros plásticos de donde se succionan para realizar la parasitación del nuevo material infestado de broca, o para llevarlos inmediatamente al campo y liberarlos. Los parasitoides adultos tienen una longevidad máxima de cuatro días, período durante el cual ocurre la oviposición.

Cajas con adultos del parasitoide
Containers with adult parasitoids



P. coffea adults emergence

The containers with the 500 beans are placed inside a transparent acrylic chamber (90 x 60 x 50 cm) with the front side removed and with lighting directed to the opposite side. At about 11.00 a.m. the tops of the containers should be removed to allow the parasitoids to escape. Because they are attracted towards the light they gather on the far side of the chamber. From there they can be aspirated by a tube attached to a vacuum pump (i.e. pooter) into a collection tube.

Once collected, the wasps should be used (i.e. for experiments or released in the field) as soon as possible. Adult *P. coffea* wasps only live for four days and most of their egg-laying occurs in the first two days.



Phymastichus coffea es colectado
Collecting *Phymastichus coffea*

