

Capacidad reproductiva de *Mirax insularis* Muesebeck (Hym: Braconidae) sobre larvas del minador del café, *Leucoptera coffeella* Guérin-Méneville & Perrottet 1842 (Lep: Lyonetiidae)^{1,2}

Marcela Daza³ y Fernando Gallardo⁴

J. Agric. Univ. P.R. 96(3-4):221-234 (2012)

RESUMEN

El braconídeo *Mirax insularis* Muesebeck es un parasitoide koinobionte del minador del café, *Leucoptera coffeella* Guérin-Méneville & Perrottet, en Puerto Rico. Sin embargo, no se conoce su capacidad de reproducción bajo condiciones de crianza artificial en larvas de *L. coffeella*. El objetivo de este estudio fue determinar el potencial reproductivo de *M. insularis* en el primer y segundo estadio larval de *L. coffeella*. Las pruebas de capacidad reproductiva mostraron diferencias significativas (prueba t-Student, $P < 0.05$) en la preferencia de *M. insularis* por el segundo estadio larval, con un 7% de parasitación, mientras que en el primer estadio larval solo se obtuvo el 5%. El promedio de oviposición de *M. insularis* se triplicó (14 huevos por hembra) en un período de 48 horas en el segundo estadio con respecto al primer estadio. En el análisis de varianza los únicos tratamientos que presentaron diferencias significativas (Prueba Tukey, $P < 0.05$) fueron los realizados con densidades de 60 y 80 parasitoides por unidad experimental en el segundo estadio. No se pudo encontrar una correlación ($R = 0.453$, $P = 0.547$) entre la progenie de *M. insularis* producida cuando se utilizan larvas del primer estadio. Sin embargo, existe una correlación positiva ($R = 0.981$, $P = 0.019$) al utilizar larvas del segundo estadio. La parasitización de *M. insularis* es mayor cuando se realizan inoculaciones con 60 y 80 parasitoides sobre larvas del segundo estadio, produciendo una progenie de 365 y 480 parasitoides, respectivamente.

Palabras clave: café, Puerto Rico, *Leucoptera coffeella*, *Mirax insularis*, control biológico

ABSTRACT

Reproductive capacity of *Mirax insularis* – Muesebeck (Hym: Braconidae) in larvae of the coffee leafminer, *Leucoptera coffeella* – Guérin-Méneville & Perrottet 1842 (Lep: Lyonetiidae)

¹Manuscrito sometido a la Junta Editorial el 17 de febrero de 2012.

²Este trabajo de investigación fue auspiciado por el proyecto TSTAR-CSREES 119.

³Ex-Estudiente Graduada, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales, Recinto Universitario de Mayagüez, Universidad de Puerto Rico.

⁴Catedrático, Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales, Recinto Universitario de Mayagüez, Universidad de Puerto Rico.

The braconid *Mirax insularis* Muesebeck is a koinobiont parasitoid of the coffee leafminer, *Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville & Perrottet, in Puerto Rico. However, their reproductive capacity under artificial rearing conditions of the leafminer is not known. The objective of this study was to determine its reproductive potential in larvae of 1st and 2nd instar of *L. coffeella*. Reproductive capacity tests showed significant differences (test t-Student, $P < 0.05$) in the preference of *M. insularis* for 2nd instar larvae with 7% of parasitization, whereas in 1st instar it gained only 5%. The average oviposition of *M. insularis* increases three folds (14 eggs per female) in a period of 48 hours on 2nd instar when compared to 1st instar. In the analysis of variance, the treatments that showed a significant difference (Tukey test, $P < 0.05$) were those with densities of 60 to 80 parasitoids per experimental unit on 2nd instar. Correlation tests find that there is a correlation ($R = 0.453$, $P = 0.547$) among the progeny of *M. insularis* produced when using larvae of the 1st instar. However, there is a positive correlation ($R = 0.981$, $P = 0.019$) when using 2nd instar larvae. The parasitization of *M. insularis* is higher when performing inoculations with 60 to 80 parasitoids on 2nd instar, producing a progeny of 365 and 480 parasitoids, respectively.

Key words: coffee, Puerto Rico, *Leucoptera coffeella*, *Mirax insularis*, biological control

INTRODUCCIÓN

El minador de la hoja del café (MHC), *Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville & Perrottet (Lepidoptera: Lyonetiidae) es una de las plagas principales del café (*Coffea arabica* Linneus) en Puerto Rico (Flores, 2011). Su daño consiste en reducir la capacidad fotosintética de la planta hasta un 50% y, por lo tanto, el nivel de productividad de frutos se reduce hasta un 40% (Bruner et al., 1945; Mendoza y Gómez, 1982; CNSV, 1989). El MHC presenta una amplia gama de parasitoides que reducen su población y disminuyen su daño (Gallardo-Covas, 1992).

En Puerto Rico se han encontrado 16 especies de parasitoides en larvas de *L. coffeella* (Wolcott, 1947; Gallardo, 1987) siendo *Mirax insularis* Muesebeck de la familia Braconidae (Gallardo, 1987) el más abundante. Especies del género *Mirax* han sido encontradas parasitando a *L. coffeella* en países productores de café como Brasil (Avilés, 1991; Parra et al., 1977 y 1981), Colombia (Campos, 2001), Ecuador (Anchundia, 1994; Mendoza, 1994), México (Krombein, 1979) y en Cuba (Konnorova, 1982; Vásquez, 1989).

Mirax insularis se introdujo a Puerto Rico en el 1937 desde la isla de Guadalupe y se liberó en siembras de café en los pueblos de Lares y Quebradillas (Seín, 1940). Este insecto es el parasitoide con mayores índices de parasitización (35%) sobre el MHC y está presente en toda la región cafetalera de Puerto Rico (Gallardo, 2006). Es un parasitoide koinobionte del MHC en su primer y segundo estadio larval (Navarro-Gutiérrez y Gallardo-Covas, 2009).

Investigaciones recientes establecen su dinámica poblacional de parasitoide-hospedero sugiriendo que *M. insularis* es el parasitoide adecuado para disminuir las poblaciones del MHC en un programa de incrementación (Gallardo, 2006; León, 1997). Además, establecen que las etapas larvales preferidas para la parasitación del MHC son los estadios primero y segundo (Navarro-Gutiérrez y Gallardo-Covas, 2009). Sin embargo, en investigaciones recientes con *M. insularis* no se informan estimados aproximados de su potencial reproductivo sobre larvas de *L. coffeella* bajo condiciones de crianza artificial.

Para el establecimiento de un programa de control biológico efectivo es necesario determinar la capacidad parasítica en laboratorio y en campo sobre el huésped específico (Salas y Salazar, 2003). Por lo tanto, la estimación del potencial reproductivo del enemigo natural es un dato indispensable y necesario para implementar un programa de control biológico para el MHC en los cafetales de Puerto Rico. Este estudio genera información en cuanto a los niveles de oviposición de *M. insularis*, y su viabilidad como organismo potencial para el control de *L. coffeella*. Establece su capacidad reproductiva sobre larvas de *L. coffeella*, por medio de pruebas bajo condiciones de laboratorio. Estos resultados ofrecen información necesaria para realizar crianzas masivas de *M. insularis* con el propósito de implantar un programa de control biológico para el MHC en Puerto Rico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especímenes de L. coffeella y M. insularis

Con el objetivo de obtener adultos de *L. coffeella* y de *M. insularis* semanalmente recolectábamos alrededor de 500 hojas de café infestadas con el MHC. Las hojas provenían de fincas del pueblo de Adjuntas (Barrio Guilarte), en la zona montañosa del oeste-central de Puerto Rico. Las hojas de café se colocaron en bolsas plásticas transparentes para transportarlas hasta el Laboratorio de Control Biológico (Recinto Universitario de Mayagüez, Universidad de Puerto Rico) donde se ubicaron dentro de las casetas (Bugdorms®) en el cuarto de crianza hasta la formación de crisálidas de *L. coffeella*. Una vez formadas las crisálidas, las retiramos de las hojas haciendo cortes alrededor del área de la crisálida. Los trozos de hoja con las crisálidas se colocaron en platos petri (12 cm de diámetro).

Los platos petri estaban preparados con algodón y papel toalla humedecidos con agua destilada para evitar la desecación del material vegetal y asegurar la emergencia de los adultos. Los platos petri se colocaron dentro de las casetas por un periodo de siete días, tiempo

suficiente para la emergencia de los adultos del MHC. Posteriormente, estos platos petri se trasladaron a otra caseta donde se mantuvieron por un periodo de 15 días hasta lograr la emergencia de los adultos de *M. insularis*. Todos los ensayos se realizaron bajo las condiciones óptimas (27 ± 1 °C, $70 \pm 5\%$ HR, 12 h L:O) del cuarto de crianza. En las paredes de cada caseta diariamente colocamos una solución de sacarosa al 10% para proveer alimento a los adultos emergidos.

Capacidad reproductiva de Mirax insularis

Este estudio se realizó con larvas de *L. coffeella* en el primer y segundo estadio, los estadios preferidos por *M. insularis* para su parasitización (Navarro-Gutiérrez y Gallardo-Covas, 2009). *Mirax insularis* no parasita las larvas de *L. coffeella* en el tercer y cuarto estadio. Por lo tanto, estos estadios de desarrollo del MHC no se tuvieron en cuenta para las pruebas de parasitización.

La unidad experimental consistió de una caseta (Bugdorms®)⁵ en la cual ubicamos seis arbolitos de café de una altura aproximada de 30 cm los cuales fueron infestados con 100 adultos del MHC (emergidos < 24 horas) y obtenidos a partir de las crisálidas obtenidas del campo. Los MHC permanecieron dentro de la caseta por un periodo de 48 horas, permitiendo que ovipositaran sobre las hojas de los arbolitos de café. Culminado este periodo, los minadores se retiraron con un aspirador para insectos. Una vez alcanzada la primera etapa larval de *L. coffeella* (cuatro días post infestación), introducimos dos parejas (hembra y macho) de *M. insularis* en cada unidad experimental. Los parasitoides permanecieron dentro de las unidades experimentales por un periodo de 48 horas, tiempo estimado en que transcurre el primer estadio larval del MHC (Navarro, 2007). Posteriormente extrajimos los parasitoides de las unidades experimentales y esperamos la formación de crisálidas de *L. coffeella* sobre los arbolitos de café. Una vez formadas las crisálidas, estas fueron retiradas de las plantas y ubicadas de manera individual en platos petri (5 cm de diámetro). Los platos estaban humedecidos con agua destilada dispuesta en algodón y papel toalla. Los observamos por cinco, siete, 14 y 20 días después de la ubicación individual de las crisálidas en los platos petri, contabilizando la cantidad de individuos emergidos de cada especie, y el sexo en los adultos de *M. insularis*. Utilizamos este procedimiento para el segundo

⁵Los nombres de compañías y de marcas registradas sólo se utilizan para proveer información específica y su uso no constituye garantía por parte de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico, ni endoso sobre otros productos o equipo que no se mencionan.

estadio larval del MHC; en el cual inoculamos las plantas de café con los parasitoides seis días después de la oviposición de *L. coffeella*.

Para el análisis estadístico utilizamos un Diseño Completamente Aleatorizado, con los dos tratamientos (T1: primer estadio larval; T2: segundo estadio larval de *L. coffeella*) y cuatro repeticiones cada uno. Realizamos un Análisis de Varianza (ANOVA) y la prueba t-Student, para establecer diferencias de parasitación de *M. insularis* en los dos estadios larvales de *L. Coffeella*, así como para establecer diferencias en las cantidades de hembras y machos de *M. insularis* emergidos en esta prueba. El programa estadístico INFOSTAT Versión 2004 fue el que utilizamos.

Nivel de parasitación de Mirax insularis

Una vez establecida la capacidad reproductiva de *M. insularis* en los estadios primero y segundo de *L. coffeella*, evaluamos el nivel de parasitación de *M. insularis*. Esta prueba se realizó con el propósito de verificar si la cantidad del parasitoide empleado en las inoculaciones en cada estadio larval (primer y segundo) de *L. coffeella* está relacionada con el nivel de parasitación alcanzado por *M. insularis*. Para este ensayo se emplearon cuatro cantidades diferentes de *M. insularis* para la parasitización de las larvas de *L. coffeella*. Las cantidades fueron 20, 40, 60 y 80 parasitoides de la misma edad, recolectados por medio del aspirador de insectos y provenientes del material obtenido en campo. Como tratamiento control, las plantas de café fueron inoculadas únicamente con *L. coffeella*.

La unidad experimental consistió de una caseta de crianza (Bug-dorms) con 10 arbolitos de café (30 cm de altura) inoculados con 200 adultos del MHC. Los adultos fueron tomados aleatoriamente con un aspirador de la caseta dispuesta para su emergencia. Los MHC permanecieron en la caseta durante 48 horas y posteriormente fueron retirados empleando nuevamente el aspirador para insectos. La unidad experimental se replicó cuatro veces. Esta metodología sigue los parámetros empleados por Navarro (2007) en las pruebas de sincronización parasitoide-minador. Se esperó la formación de minas hasta alcanzar el primer estadio larval de *L. coffeella*, y se inocularon con las cantidades específicas de *M. insularis* según el tratamiento establecido. Los parasitoides permanecieron 48 horas sobre las plantas de café. Posteriormente fueron retirados y se esperó la formación de crisálidas de *L. coffeella*, las cuales fueron retiradas y dispuestas de manera individual en platos petri (5 cm de diámetro) humedecidos previamente con agua destilada dispuesta en algodón y papel toalla. El material fue revisado a los cinco, siete, 14 y 20 días después de la ubicación individual de las crisálidas en los platos petri, contando la cantidad de individuos emer-

gidos de cada especie y determinando el sexo de los adultos de *M. insularis*. Este procedimiento también lo realizamos con el segundo estadio larval del MHC, inoculando las plantas de café con el parasitoide seis días después de la oviposición de *L. coffeella*. Para el análisis estadístico se empleó un Diseño Completamente Aleatorizado con un arreglo factorial 5 x 2 (cinco densidades de *M. insularis* x dos estadios larvales) con cuatro repeticiones. Se realizaron pruebas de Tukey y ANOVA usando el programa estadístico INFOSTAT Versión 2004.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Capacidad reproductiva de *M. insularis*

Al realizar las pruebas de capacidad reproductiva de *M. insularis* encontramos que en un periodo de 48 horas, una hembra pueden ovipositar un promedio de cuatro huevos sobre las larvas del primer estadio con una proporción de hembras y machos del 32.5% y 67.5%, respectivamente. En larvas del segundo estadio en el mismo periodo de tiempo, una hembra ovipositó en promedio 14 huevos, con una proporción de hembras y machos del 38% y 62%, respectivamente. El porcentaje de emergencia de hembras de *M. insularis* es significativamente diferente del porcentaje de emergencia de machos en los dos estadios larvales de *L. coffeella* evaluados ($P < 0.05$) (Cuadro 1). A su vez, el porcentaje de hembras de *M. insularis* emergidas sobre larvas de *L. coffeella* en los estadios larvales primero y segundo no presentaron diferencias significativas entre sí, al igual que el porcentaje de machos emergidos en los dos estadios larvales evaluados ($P > 0.05$) (Cuadro 1).

La cantidad de adultos de *M. insularis* emergidos en cada uno de los ensayos corresponde al 5% de parasitación en el primer estadio larval y 7% de parasitación en el segundo estadio larval del MHC. Los valores de crisálidas no emergidas también presentaron diferencias significativas para los dos estadios larvales ($P < 0.05$). En el segundo estadio el porcentaje de no emergencia fue de 17% y en el primer estadio fue de 7%.

CUADRO 1. Porcentaje de hembras y machos de *Mirax insularis* emergidos en las pruebas de capacidad reproductiva para los estadios larvales uno y dos de *Leucoptera coffeella*.

<i>L. coffeella</i>	No. Individuos	Porcentaje <i>Mirax insularis</i>	
		Machos	Hembras
primer estadio	34	67.5 a ¹	32.5 b
segundo estadio	112	62.0 a	38.0 b

¹Los promedios en cada columna seguidos con letra diferente son significativamente diferentes (Prueba t-student, $P < 0.05$).

El análisis de varianza para la frecuencia de emergencia de *L. coffeella*, *M. insularis* y crisálidas no emergidas mostró diferencias significativas en los dos estadios larvales (Cuadro 2). Considerando esta diferencia sobre el nivel de emergencia de *L. coffeella* en las dos pruebas, se realizó un análisis de varianza con los valores porcentuales comprobando que *M. insularis* sí presenta preferencia en la parasitación del segundo estadio larval de *L. coffeella* (Cuadro 2) mostrando mayor capacidad reproductiva sobre estas larvas.

Las pruebas de capacidad reproductiva mostraron la preferencia de *M. insularis* por larvas del segundo estadio del MHC con un 7% de parasitación, mientras que en el primer estadio larval solo se obtuvo el 5%. Estos datos difieren de los obtenidos por Navarro (2007) donde no diferencia significativa ($P < 0.05$) en la preferencia del parasitoide por estos dos estadios larvales. La diferencia entre nuestro resultado y los resultados obtenidos por Navarro se debe a que en dicho estudio las inoculaciones de las larvas de *L. coffeella* fueron efectuadas con 150 adultos de *M. insularis*, equivalente al 75% en relación al número de adultos de *L. coffeella*. Esto se atribuye a la respuesta numérica de oviposición de los parasitoides (Salas y Salazar, 2003).

El promedio de oviposición de las parejas de *M. insularis* en larvas de *L. coffeella* se triplica cuando las oviposiciones se realizan en el segundo estadio, llegando a 14 huevos por hembra en un periodo de 48 horas. Estos valores muestran que cuando *M. insularis* encuentra la etapa de desarrollo adecuada del hospedero, este maximiza sus oviposiciones. De acuerdo con Vinson e Iwantsch (1980), Brodeur et al. (1996) y Harvey (2000), la decisión de un parasitoide para ovipositar en o sobre su hospedero puede estar influenciada por varios factores, incluyendo el tamaño, la edad y el estatus nutricional del hospedero. Este comportamiento de los parasitoides hace referencia a la capacidad de selección de hospedero (Strand y Obrycki, 1996). De acuerdo a diferencias en la calidad de nutrientes que presenta cada etapa del ciclo

CUADRO 2. Resultados de prueba *t*-student realizada sobre las medias y porcentajes de emergencia de *Leucoptera coffeella*, *Mirax insularis* y crisálidas de *Leucoptera coffeella* no emergidas.

	Estadio Larval	<i>Leucoptera coffeella</i>	<i>Mirax insularis</i>	Crisálidas no emergidas
Número promedio de individuos	1	150.25 a ¹	8.50 a	12.75 a
	2	292.50 b	28.00 b	67.00 b
Porcentaje	1	87.20 a	5.03 a	7.77 a
	2	75.90 b	7.13 b	16.97 b

¹Los promedios en cada columna seguidos con letra diferente son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

de desarrollo del hospedero (Li et al., 2006), los huevos del parasitoide tendrán mayor o menor viabilidad (Sequeira y Mackauer, 1993). Así mismo, el tamaño de las larvas de los minadores de hoja puede afectar la proporción de sexos del parasitoide, teniendo consecuencias en su capacidad reproductiva (Abe et al., 2005). Los datos obtenidos en este ensayo son concordantes con este postulado, ya que se encuentra mayor emergencia de machos de *M. insularis* cuando la parasitación se realizó sobre larvas primer estadio de *L. coffeella*.

Se sabe que los parasitoides tienen la capacidad de modificar su desarrollo sexual según las condiciones ambientales, generando más machos cuando las condiciones no son adecuadas para una futura reproducción (Navarro y Marcano, 2000). De esta manera, la diferencia en la proporción sexual de los parasitoides también se puede atribuir a las condiciones de crianza. Como describen Patel y Schuster (1991) en ensayos de parasitación con *Diglyphus intermedius* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre larvas tercer estadio de *Liriomyza trifolii*, la actividad del parasitoide y su fecundidad están relacionadas con el tamaño de las jaulas en que se crían los parasitoides y la temperatura. Se puede pensar que la disponibilidad de hospederos ha influido en una mayor oviposición de *M. insularis* en el segundo estadio de *L. coffeella*. Según Connor y Cargain (1994) este aspecto es determinante en la relación parasitoide-minador debido al comportamiento de búsqueda.

En nuestros análisis estadísticos con los datos porcentuales se observa que sigue existiendo diferencia significativa entre los dos estadios inoculados. Por lo tanto, se considera que la preferencia de *M. insularis* por el segundo estadio de *L. coffeella* está relacionada con el periodo adecuado para su desarrollo. Al ser un endoparasitoide koinobionte, *M. insularis* requiere que su hospedero se mantenga vivo durante su ciclo de desarrollo (Kuriachan et al., 2006). Este periodo oscila entre 17 hasta 25 días a partir de la adhesión del huevo al tejido larval de *L. coffeella*, hasta la eclosión del adulto (León, 1997). Este es un periodo similar al que alcanza el desarrollo de *L. coffeella* a partir del segundo estadio hasta la emergencia de la crisálida. Navarro (2007) registró un periodo de 18 días entre el segundo estadio larval hasta el cuarto estadio larval de *L. coffeella*. Navarro y Gallardo (2009) establecieron que *M. insularis* no presenta parasitación sobre los estadios larvales tercero y cuarto y atribuye este resultado a periodo de desarrollo y a la susceptibilidad de las larvas en primer y segundo estadio de *L. coffeella* para ser parasitadas. Se plantea que los estadios larvales tercero y cuarto de *L. coffeella*, presentan un sistema inmune más fuerte (Navarro, 2007), como ocurre con las larvas del estdio quinto de *Mythimna separate* (Lepidoptera: Noctuidae) (Li et al., 2006).

En ensayos previos a este estudio sobre capacidad reproductiva de *M. insularis* bajo condiciones de laboratorio, se pudo establecer que la longevidad de este parasitoide es de aproximadamente 10 días y que durante toda su vida adulta es fértil. Rosado (2007) encontró que al alimentar adultos de *Mirax* spp. con néctar de alforfón (*Fagopyrum esculentum*) bajo condiciones de laboratorio, la longevidad del parasitoide puede llegar hasta 18 días. En este bioensayo se permitió a los adultos de *M. insularis* un periodo de oviposición de solo 48 horas. Si se hacen ensayos de parasitación de *M. insularis* en el periodo total de su vida adulta y se incluye el uso de néctar de alforfón, se podría incrementar la tasa de parasitación de *M. insularis*, como ocurre con otros bracónidos koinobiontes, en los que se han registrado promedios de oviposición superiores a 60 huevos. Browning y Oatman (1985), por ejemplo, señalan que *Microplitis brassicae* presenta un promedio de oviposición de 73.2 huevos por hembra durante su largo de vida que es de 19 días en presencia del hospedero. *Microplitis mediator* oviposita más de 60 huevos en un periodo de 17 días (Foerster y Doetzer, 2003).

Progenie de Mirax insularis

En las pruebas de productividad de progenie de *M. insularis* con diferentes cantidades del parasitoide se encontró que los mayores valores de parasitación se presentaron en las larvas del segundo estadio del MHC, con inoculaciones de 60 y 80 parasitoides. Se obtuvo una progenie de 365 individuos de *M. insularis* con 60 parasitoides y 480 con 80 parasitoides (Figura 1); estos valores corresponden a un 33.06% y 41.77% de parasitización. Las progenies más bajas se presentaron con las inoculaciones de 20 y 40 parasitoides en el primer estadio larval, con 89 y 97, respectivamente (Figura 1). Cuando se realiza el análisis de varianza, se observa que los únicos tratamientos que presentan diferencias significativas (Prueba Tukey, $P < 0.05$) son los realizados con inoculaciones de 60 y 80 parasitoides sobre el segundo estadio larval (Figura 1) con respecto a los demás tratamientos. No se encontraron diferencias significativas (Tukey, $P > 0.05$) entre los tratamientos de 20 y 40 parasitoides por caseta independientemente del primer y segundo estadio larval.

No existe una correlación ($R = 0.453$, $P = 0.547$) entre la progenie de *M. insularis* producida cuando se utilizan larvas del MHC de primer estadio. Sin embargo, existe una correlación positiva ($R = 0.981$, $P = 0.019$) al utilizar larvas de segundo estadio de MHC. Los datos muestran que existe interacción entre el segundo estadio y la cantidad de parasitoides empleada en cada tratamiento. El nivel de parasitación de *M. insularis* es mayor cuando se realizan inoculaciones con 60 y 80 parasitoides sobre larvas segundo estadio (Figura 1).

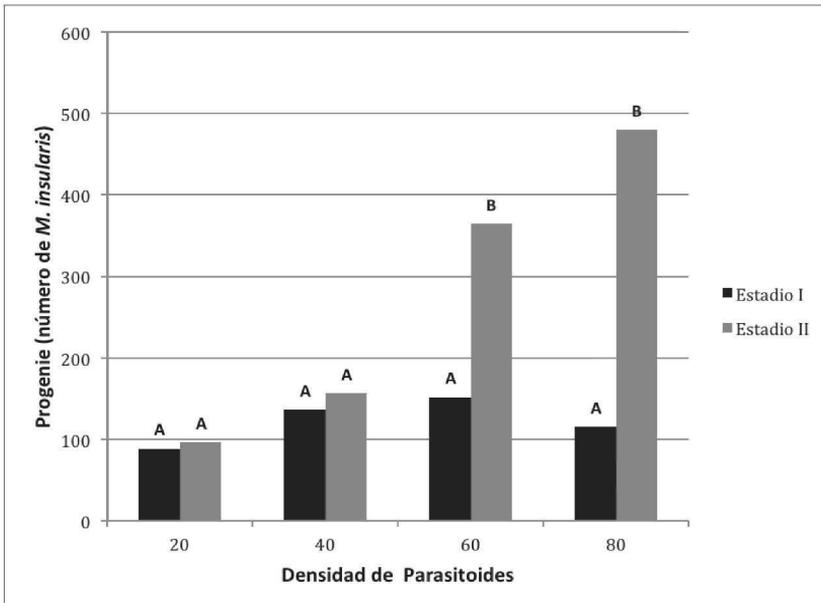


FIGURA 1. Progenie de *Mirax insularis* Muesebeck recuperados utilizando distintas densidades en larvas del primer y segundo estadio de *Leucoptera coffeella* Gurein-Ménéville.

Los resultados de Navarro (2007) difieren de los encontrados en este ensayo. Al realizar inoculaciones con diferentes cantidades de *M. insularis* sobre larvas primer estadio y larvas segundo estadio de *L. coffeella* se determinó que sí existe una relación entre el nivel de parasitación y el estadio larval de *L. coffeella*. Empleando las mismas cantidades de parasitoides en cada estadio los porcentajes de emergencia de adultos presentaron diferencias significativas. Es importante notar que las cantidades con mejores resultados de parasitación de *M. insularis* fueron de 60 y 80 adultos, equivalentes a 30% y 40% respecto a la cantidad del MHC liberados dentro de las unidades experimentales, que fue de 200 adultos. Dado que no se presentan diferencias significativas en el nivel de parasitación entre estas cantidades (60 y 80 adultos), para mayor eficiencia a niveles de laboratorio se deberían emplear cantidades equivalentes al 30% de parasitoides respecto al 100% de adultos de MHC empleados.

El porcentaje promedio de machos y hembras emergidos de *M. insularis* en las inoculaciones realizadas sobre las larvas primer estadio de *L. coffeella* fue de 65% machos y 35% hembras mientras que sobre el segundo estadio se obtuvo un porcentaje promedio de 56.5% machos y 43.5% hembras. Esta proporción sexual es diferente a la relación de 1:1 usualmente

observada en muestras de campo del parasitoide (Daza, 2008). Podemos especular que las diferencias entre machos y hembras respecto a campo y laboratorio estén relacionadas con las condiciones ambientales presentadas en cada lugar y con el tipo de alimentación, puesto que en el laboratorio solo se suministró sacarosa al 10% y en el campo los organismos encuentran diversidad de alimentos, como néctares de diferentes plantas. Ensayos previos con parasitoides han demostrado que el consumo de néctar y polen puede aumentar la tasa de parasitismo y la producción de hembras, encontrando que el uso de néctar de alforfón (*Fagopyrum esculentum*) incrementa la tasa intrínseca de crecimiento y longevidad de *Mirax* spp. y reduce la reproducción de *L. coffeella* (Rosado, 2007).

La superproducción de machos en crianzas masivas de parasitoides ha sido reportada como un limitante en los programas de control biológico (Salvo y Valladares, 2007). Se ha propuesto métodos como el uso de bacterias para disminuir la proporción de machos (Argov et al., 2000); una de estas es *Wolbachia*, una bacteria que es capaz de matar machos (West et al., 1998) e incrementar la eficiencia de los parasitoides como controladores biológicos de minadores de hoja (Tagami et al., 2006). Hasta ahora no se han realizado estudios respecto al uso de *Wolbachia* en crianzas artificiales *M. insularis* para aumentar la proporción de hembras. Este tipo de pruebas debe ser estudiado.

CONCLUSIONES

Bajo condiciones de laboratorio *M. insularis* presentó un promedio de oviposición de 14 huevos por hembra en un periodo de 48 horas. El segundo estadio de la etapa de desarrollo de *L. coffeella* fue el más adecuado para realizar inoculaciones con *M. insularis* ya que produjo la mayor cantidad de progenie del parasitoide. En las crianzas de laboratorio de *M. insularis* la eclosión de machos fue mayor que la encontrada en las muestras obtenidas del campo (Daza, 2008). La cantidad más adecuada para lograr un mayor nivel de parasitación de *M. insularis* es de 30% de adultos respecto a la cantidad de MHC que se liberen dentro de las casetas de infestación. De acuerdo con estos resultados, y considerando técnicas para mejorar niveles de reproducción y longevidad de *Mirax insularis* bajo condiciones de laboratorio, es posible implementar un programa de control biológico para el MHC en las siembras de café de Puerto Rico.

LITERATURA CITADA

- Abe, Y., T. Takeuchi, S. Tokumaru y J. Kamata, 2005. Comparison of the suitability of three pest leafminers (Diptera: Agromyzidae) as hosts for the parasitoid *Dacnusa sibirica* (Hym: Braconidae). *European J. Ent.* 102: 805-807.

- Anchundia, M. L., 1994. Estudio de la fluctuación poblacional del minador de la hoja del café *Perileucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) y sus enemigos naturales. Tesis Bto. Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. 85 pp.
- Argov, Y., Y. Gottlieb, S. Amin-Spector y E. Zchori-Fein, 2000. Possible symbiont-induced thelytoky in *Galeopsomyia fausta*, a parasitoid of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*. *Phytoparasitica* 28: 212-218.
- Avilés, D. P. 1991. Avaliação das populações de bicho-mineiro do cafeeiro *Perileucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) e seus parasitoides e predadores: Metodologias de estudo e flutuação estacional. Tesis MSc, Universidade Federal de Viçosa. Sao Paulo, Brasil. 126pp.
- Brodeur, J., J. B. F. Geervliet y L. E. M. Vet, 1996. The role of host species, age and defensive behavior on ovipositional decisions in a solitary specialist and a gregarious generalist parasitoid (*Cotesia* species). *Ent. Exp. et Applicata* 81: 125-132.
- Browning, H. W. y E. R. Oatman, 1985. Reproductive biology of *Microplitis brassicae* (Hymenoptera: Braconidae), parasite of the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals Ent. Soc. Ame.* 78: 369-372.
- Bruner, S. C., L. C. Scaramuzza y A. R. Otero, 1945. Catálogo de los insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba. Estación Experimental Agronómica. Santiago de las Vegas (LaHabana). Boletín (63), 246 pp.
- Campos, D. F., 2001. Lista de los géneros de avispas parasitoides Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) de la Región Neotropical. *Biota Colomb.* 2 (3):193-232.
- Connor, E. F. y M. J. Cargain, 1994. Density related foraging behaviour in *Closterocerstricinctus*, a parasitoid of the leaf-mining moth, *Cameraria hamadryadella*. *Eco. Ent.* 19(4): 327-334.
- CNSV (Centro Nacional de Sanidad Vegetal), 1989. Programa Integral de Defensa Fitosanitaria del Cafeto. Ministerio de la Agricultura. La Habana, Cuba. 79 pp.
- Daza, M., 2008. Capacidad reproductiva de *Mirax insularis* Muesebeck (1937) (Hymenoptera: Braconidae) sobre larvas del minador del café *Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville (1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae). Tesis MSc. Universidad de Puerto Rico. Recinto Universitario de Mayagüez. 97 pp.
- Flores, C., 2011. Informe Empresa de Café. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Colegio de Ciencias Agrícolas, Estación Experimental Agrícola. 29 pp.
- Foerster, L. A. y A. K. Doetzer, 2003. Biology of *Microplitis mediator* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing the wheat armyworm *Mythimna (Pseudaletia) sequax* Franclemont (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical Ent.* 32 (1): 82-84.
- Gallardo, F., 1987. Faunal survey of the coffee leafminer, *Leucoptera coffeella*, parasitoids in Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P.R.* 72 (2): 255-263.
- Gallardo, F., 1988. Distribution of the coffee leafminer, *Leucoptera coffeella*, and its parasitoids in the canopy of coffee, *Coffea arabica* in Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P.R.* 72(1): 141-146.
- Gallardo-Covas, F., 1992. Augmentation of *Mirax insularis* Muesebeck. Alternative for population control of the coffee leafminer, *Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville, in Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P.R.* 76(2): 43-54.
- Gallardo, F., 2006. Population dynamics of the exotic coffee leafminer larvae parasitoid, *Mirax insularis* Muesebeck, in sunlight coffee plantation of Puerto Rico. Caribbean Food Crops Society. Forty Second Annual Meeting. Carolina, Puerto Rico. 42 (2): 87-92.
- Harvey, J. A., 2000. Dynamic effects of parasitism by an endoparasitoid wasp on the development of two host species: implications for host quality and parasitoid fitness. *Eco. Ent.* 25(3): 267-78.

- Infostat, 2004. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Konnorova, E., 1982. Detección de parásitos en *Leucoptera coffeella*. *Ciencia Técnica Agrícola, Café y Cacao* 4(1): 31-39.
- Krombein, K. B., 1979. *Catalog of Hymenoptera in America north of Mexico*. Washington: Smithsonian Institution Press. Vol. 3. Washington D.C. 564 pp.
- Kuriachan, I., L. Consoli y S. Vinson, 2006. *In vitro* rearing of *Toxoneuron nigricipes* (Hymenoptera: Braconidae), a larval endoparasitoid of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) from early second instar to third instar larvae. *J. Insect Physiology* 52: 881-887.
- León, A., 1997. Descripción de las etapas inmaduras del ciclo de vida de *Mirax insularis* (Hymenoptera: Braconidae) in vitro y el efecto de su relación parasítica con el minador de la hoja del café, *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). Tesis MSc. Universidad de Puerto Rico. Recinto Universitario de Mayagüez. 71 pp.
- Li, J., W. Coudron, X. Pan, Z. Liu y Q. Zhang, 2006. Host age preference of *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae), an endoparasitoid of *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bio. Control* 39: 257-261.
- Llenderal, C., R. Nieto y F. Ramírez, 2000. Capacidad reproductiva de *Orgilus* sp. (Hymenoptera: Braconidae) un parasitoide de *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agrociencia* 34(1): 75-82.
- Mendoza, M. J., 1994. Control biológico de insectos plagas en Pichelingue. *Revista Informativa del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias* 3:57-58.
- Mendoza, F. y J. Gómez, 1982. Principales insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba. Ed. Pueblo y Educación, La Habana – Cuba: 60-75.
- Navarro, P., 2007. Larval stages (instars) of the coffee leafminer *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) and its synchronization with the parasitoid *Mirax insularis* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae) in Puerto Rico. Tesis MSc. Universidad de Puerto Rico. Recinto Universitario de Mayagüez. 88 pp.
- Navarro-Gutiérrez, P. y F. Gallardo-Covas, 2009. Host instar preference of *Mirax insularis* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae), a koinobiont parasitoid of *Leucoptera coffeella* Guérin-Méneville & Perrottet (Lepidoptera: Lyonetiidae). *J. Agric. Univ. P.R.* 93 (1-2): 139-142.
- Navarro, R. V. y R. Marcano, 2000. Tablas de vida de *Trichogramma pretiosum* Riley y *T. atopovirilia* Oatman y Platner en el laboratorio. *Agronomía Tropical* 50(1): 123-134.
- Rosado, M. C., 2007. Plantas favoráveis a agentes de controle biológico. Tesis MSc. Universidade federal de Viçosa, Brasil 59pp.
- Parra, J. R. P., W. Gonçalves y A. A. C. M. Precetti, 1981. Fluctuação populaciona de parasitos e predadores de *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842) em tres localidades do estado de Sao Paulo. *Turrialba* 31(4): 357-364.
- Parra, J. R. P., W. Gonçalves, S. Gravena y A. R. Marconato, 1977. Parasitos e predadores do bicho-mineiro do cafeeiro *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842) em Sao Paulo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 6(1): 138-143.
- Patel, K. J. y D. J. Schuster, 1991. Temperature dependent fecundity, longevity, and host killing activity of *Diglyphus intermedius* (Hymenoptera: Eulophidae) on third instars of *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae). *Environmental Ent.* 20: 1195- 1199.
- Salas, M. D. y E. Salazar, 2003. Importancia del uso adecuado de agentes de control biológico. Universidad de Guanajuato. *Acta Universitaria* 13(1): 29-35.
- Salvo, A. y G. R. Valladares, 2007. Parasitoides de minadores de hojas y manejo de plagas. *Ciencia e Investigación Agraria* 34(3): 167-185.
- Seín, F., 1940. Annual report for the fiscal year 1937-1938. Puerto Rico Agricultural Experiment Station. Washington, D.C. 50-52.

- Sequeira, R. y M. Mackauer, 1993. The nutritional ecology of a parasitoid wasp, *Ephedrus californicus* Baker (Hymenoptera: Aphidiidae). *Canadian Entomologist* 125(3): 423-430.
- Strand, M. R. y J. J. Obrycki, 1996. Host specificity of insect parasitoids and predator. *Bioscience* 46(6): 422-429.
- Tagami, Y., M. Doi, K. Sugiyama, A. Tatara y T. Saito, 2006. Survey of leafminers and their parasitoids to find endosymbionts for improvement of biological control. *Biol. Control* 38: 210-216.
- Vásquez, L. L., 1989. Insectos que atacan al cafeto en Cuba. Ed. CID-INISAV (Ciudad de La Habana). 38 pp.
- Vinson, S. B. y G. F. Iwantsch, 1980. Host suitability for insect parasitoids. *Annual Review Ent.* 25: 397-419.
- West, S. A., J. M. Cook, J. H. Werren y H. C. J. Godfray, 1998. *Wolbachia* in two insect host-parasitoid communities. *Mol. Ecology* 7(11): 1457-1465.
- Wolcott, G., 1947. A quintessence of sensitivity: The coffee leafminer. *J. Agric. Univ. P.R.* 31(3): 215-219.