

**CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE *Mirax insularis* – MUESEBECK (1937)  
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) SOBRE LARVAS DEL MINADOR DEL CAFÉ  
*Leucoptera coffeella* – GUERIN-MÉNÉVILLE (1842) (LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE).**

Por:

Marcela del Carmen Daza Montoya

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

**MAESTRIA EN CIENCIAS**

en

**Protección de Cultivos**

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO  
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ  
2008

Aprobado por:

---

Alejandro Segarra, PhD  
Miembro Comité Graduado

---

Fecha

---

Arístides Armstrong, M.S.  
Miembro Comité Graduado

---

Fecha

---

Raúl Macchiavelli, PhD  
Miembro Comité Graduado

---

Fecha

---

Fernando Gallardo, PhD  
Presidente Comité Graduado

---

Fecha

---

Jaime Acosta, PhD  
Representante Escuela Graduada

---

Fecha

---

Arístides Armstrong, M.S.  
Director de Departamento

---

Fecha

## ABSTRACT

*Leucoptera coffeella* –coffee leaf miner- is one of the principal pests of coffee in Puerto Rico. In Puerto Rico have been reported 16 species of parasitoids over larvae of *L. coffeella* being *Mirax insularis* the parasitoid with higher rates of parasitation. In current researches are not recorded closer estimates of their reproductive potential or parasitation on *L. coffeella*; for this reason, it is important to confirm the presence of *M. insularis*, estimating the percentage of population with the other species of parasitoids and their reproductive potential. The results confirm that *M. insularis* is the most abundant parasitoid in the three neighborhoods evaluated. Two pairs of *M. insularis* are able parasitize 5% of larvae Instar 1% and 7% of larvae Instar 2. The level of parasitation in laboratory studies was: 27% and 35% using parasitoids 60 and 80 respectively, on larvae Instar 2 per experimental unit of 10 trees of coffee.

## RESUMEN

El minador del café *Leucoptera coffeella*, es una de las plagas principales del café en Puerto Rico. En Puerto Rico se han reportado 16 especies de parasitoides en larvas de *L. coffeella*, siendo *Mirax insularis* el parasitoide con mayores índices de parasitación. En investigaciones recientes no se registran estimados aproximados de su potencial reproductivo o parasitación sobre *L. coffeella*. Por esta razón se consideró importante confirmar la presencia de *M. insularis*, estimar su porcentaje poblacional respecto a otras especies de parasitoides y su potencial reproductivo. Los resultados que obtenidos confirman que *M. insularis* es el parasitoide más abundante en los tres barrios evaluados. Dos parejas de *M. insularis* son capaces de parasitar el 5% de larvas Instar 1 y el 7% de larvas Instar 2. El nivel de parasitación en estudios de laboratorio fue: 27% y 35% empleando 60 y 80 parasitoides respectivamente, sobre larvas Instar 2 por cada unidad experimental de 10 arbolitos de café.

## DEDICATORIA

**A mis padres, mis hermanos, Gabi y mi tía Luz:**

Porque cada uno de ellos forma parte de esta meta.  
Su constante apoyo y compañía  
me dan la firmeza  
para seguir avanzando  
en el milagro de vivir.

*Marcela D. M.*

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer:

A Dios por acompañarme y ser la luz que guía mi camino, gracias por cada instante de vida.

A mi familia por su apoyo incondicional y ánimo en todo momento, siempre conté con la palabra perfecta para seguir mi camino día a día.

A mis amigos, Luz Miryam, Jorge, Diana y Lucero, su presencia ha sido fundamental para mi crecimiento personal y profesional.

Al Dr. Fernando Gallardo por la oportunidad de trabajar en el proyecto T-STAR 110 “Augmentation of *Mirax insularis* Muesebeck for the population suppression of the coffee leafminer *Leucoptera coffeella* in Puerto Rico”, y por su aporte a mi crecimiento profesional y su apoyo durante la realización de la maestría.

A los miembros del comité Prof. Arístides Armstrong, Dr. Alejandro Segarra y Dr. Raúl Macchiavelli, gracias por su valioso aporte en la preparación de la tesis, sus comentarios y sugerencias fueron fundamentales.

Al Dr. Jaime Acosta, por haber aceptado hacer parte del comité como representante de la escuela graduada.

Al personal de la estación Experimental Agrícola de Adjuntas.

Al personal del Departamento de Protección de Cultivos, especialmente a María y Jeannette, quienes con cada uno de sus gestos, palabras y silencios me han dejado una de las enseñanzas más grandes a nivel personal.

A Jonás por su colaboración, su presencia y por la música que acompañó la escritura de este texto.

A Patricia muchas gracias por haberme guiado y enseñado las cosas fundamentales para el desarrollo de mi trabajo y por brindarme su valiosa amistad.

A Alejandro, José Miguel y Byron, gracias por el pon a Adjuntas.

A la Universidad de Puerto Rico – Recinto Universitario de Mayagüez.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	ix
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	x
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
<b>2.1. GENERALIDADES</b> .....	3
<b>2.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CAFÉ EN PUERTO RICO</b> .....	3
<b>2.3. <i>Leucoptera coffeella</i></b> .....	4
<b>2.3.1. Biología y comportamiento</b> .....	5
<b>2.3.2. Umbral económico</b> .....	7
<b>2.3.3. Técnicas de control</b> .....	7
<b>2.4. <i>Mirax insularis</i></b> .....	8
<b>2.4.1. Biología y Comportamiento</b> .....	10
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	11
<b>3.1. CONFIRMACIÓN DE <i>Mirax insularis</i> EN DOS MUNICIPIOS CAFETALEROS DE PUERTO RICO</b> .....	11
<b>3.1.1. Áreas de Estudio</b> .....	11
<b>3.1.2. Obtención de Muestras</b> .....	13
<b>3.1.3. Trabajo de Laboratorio</b> .....	14
<b>3.2. OBTENCIÓN DE <i>Leucoptera coffeella</i> Y <i>Mirax insularis</i> DESDE MUESTRAS OBTENIDAS EN CAMPO</b> .....	15
<b>3.3. CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE <i>Mirax insularis</i> BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO</b> .....	18
<b>3.3.1. Descripción del procedimiento</b> .....	18

3.4.	NIVEL DE PARASITACIÓN DE <i>Mirax insularis</i> BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.....	21
3.4.1.	Descripción del procedimiento.....	21
3.5.	EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE MACHOS Y HEMBRAS EMERGIDAS EN CAMPO Y LABORATORIO.....	24
4.	<b>RESULTADOS</b> .....	25
4.1.	CONFIRMACIÓN DE <i>Mirax insularis</i> EN DOS MUNICIPIOS CAFETALEROS DE PUERTO RICO.....	25
4.1.1.	Especies de parasitoides encontradas en los barrios Río Prieto, Sierra Alta (Yauco, P.R.) y Guilarte (Adjuntas, P.R.).....	25
4.1.2.	Análisis del número de individuos de <i>Mirax insularis</i> respecto al número de individuos del conjunto de eulófidos encontrados en los tres barrios muestreados.....	27
4.1.3.	Porcentaje de hembras y machos de <i>Mirax insularis</i> encontrados en los tres barrios muestreados.....	30
4.2.	CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE <i>Mirax insularis</i> BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.....	31
4.3.	NIVEL DE PARASITACIÓN DE <i>Mirax insularis</i> BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.....	35
4.4.	EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE MACHOS Y HEMBRAS EMERGIDAS EN CAMPO Y LABORATORIO.....	40
5.	<b>DISCUSIÓN</b> .....	42
5.1.	CONFIRMACIÓN DE <i>Mirax insularis</i> EN DOS MUNICIPIOS CAFETALEROS DE PUERTO RICO.....	42
5.2.	CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE <i>Mirax insularis</i> BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.....	45
5.3.	NIVEL DE PARASITACIÓN DE <i>Mirax insularis</i> (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.....	48
5.4.	EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE MACHOS Y HEMBRAS EMERGIDAS EN CAMPO Y LABORATORIO.....	50

<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>51</b>
<b>7.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>8.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>54</b>
	<b>APÉNDICES.....</b>	<b>69</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>CUADRO 1</b>	Diseño estadístico Establecido para la prueba de Capacidad Reproductiva de <i>Mirax insularis</i> bajo condiciones de laboratorio.....	21
<b>CUADRO 2</b>	Diseño estadístico empleado para la prueba de Nivel de parasitación de <i>Mirax insularis</i> bajo condiciones de laboratorio.....	23

## LISTA DE TABLAS

<b>TABLA 1</b>	Registro de Individuos encontrados en cada uno de los barrios muestreados durante el mes de febrero de 2007.....	26
<b>TABLA 2</b>	Registro de los parasitoides encontrados en cada uno de los barrios muestreados durante el mes de febrero de 2007.....	28
<b>TABLA 3</b>	Porcentaje de especies de parasitoides presentes en cada barrio muestreado.....	29
<b>TABLA 4</b>	Porcentaje de machos y hembras de <i>Mirax insularis</i> encontrados en cada barrio muestreado.....	31
<b>TABLA 5</b>	Porcentaje de hembras y machos de <i>Mirax insularis</i> emergidos en las pruebas de capacidad reproductiva para los instares larvales 1 y 2 de <i>Leucoptera coffeella</i> .....	32
<b>TABLA 6</b>	Resultados de prueba t-student realizada sobre las medias y porcentajes de emergencia de <i>Leucoptera coffeella</i> , <i>Mirax insularis</i> y crisálidas de <i>Leucoptera coffeella</i> no emergidas.....	34
<b>TABLA 7</b>	Proporción sexual de adultos de <i>Mirax insularis</i> emergidos en cada tratamiento de acuerdo al instar larval inoculado.....	37
<b>TABLA 8</b>	Resultados de la prueba de Tukey realizado sobre los valores de parasitación de <i>Mirax insularis</i> con cada tratamiento en los instares larvales 1 y 2 de <i>Leucoptera coffeella</i> .....	38
<b>TABLA 9</b>	Porcentaje de hembras y machos de <i>Mirax insularis</i> , a partir de las muestras colectadas en campo y las pruebas realizadas en laboratorio.	40

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b>	Ciclo de vida de <i>Leucoptera coffeella</i> Guerin-Meneville (Lepidoptera: Lyonetiidae).....	6
<b>FIGURA 2</b>	Mapa de Puerto Rico con el registro de la precipitación media anual (1971-2000). (A) Guilarte (1778 mm – 1905 mm); (B) Río Prieto (1778 mm – 1905 mm); (C) Sierra Alta (1397mm – 1524 mm).....	11
<b>FIGURA 3</b>	Ubicación de la zona de estudio. (A) Guilarte, Adjuntas; (B) Río Prieto, Yauco; (C) Sierra Alta, Yauco.....	12
<b>FIGURA 4</b>	Modo de traslado de las muestras de hojas de café obtenidas en el campo y llevadas al laboratorio.....	13
<b>FIGURA 5</b>	Disposición individual de hojas de café afectadas por el minador del café.....	15
<b>FIGURA 6</b>	Hojas de café con presencia del minador del café obtenidas del campo y ubicadas en casetas en el laboratorio.....	16
<b>FIGURA 7</b>	(A) Crisálidas formadas en los arbolitos dentro de la caseta; (B) Placa petri preparada con algodón y papel toalla humedecidos con agua destilada; (C) Crisálida sobre placa petri; (D) Crisálidas ubicadas dentro de la caseta.....	17
<b>FIGURA 8</b>	(A) Arbolitos de café ( <i>Coffea arabica</i> ) dentro de la caseta; (B) Aspirador de insectos.....	19
<b>FIGURA 9</b>	Crisálida del minador del café ubicada de manera individual.....	20
<b>FIGURA 10</b>	Especies de parasitoides de la familia Eulophidae. (A) <i>Achrysocaroides</i> spp.; (B) <i>Chrysonotomyia</i> spp. y (C) <i>Zagrammosoma</i> spp.....	25
<b>FIGURA 11</b>	Promedio de adultos de <i>Leucoptera coffeella</i> y las cuatro especies de parasitoides registrados durante las 4 recolecciones de hojas de <i>Coffea arabica</i> en los barrios de Sierra Alta, Río Prieto y Guilarte, durante el mes de febrero de 2007.....	27
<b>FIGURA 12</b>	Porcentaje de individuos emergidos de las diferentes especies de parasitoides encontradas en hojas de café con presencia de minas de <i>Leucoptera coffeella</i> en los tres barrios muestreados .....	29
<b>FIGURA 13</b>	Gráfico de dispersión entre el número de adultos de <i>Mirax insularis</i> y el conjunto de parasitoides de la familia Eulophidae.....	30

<b>FIGURA 14</b>	Hembra de <i>Mirax insularis</i> con detalle en el ovopositor. Característica empleada para identificación de sexos.....	31
<b>FIGURA 15</b>	Porcentaje de emergencia de <i>Mirax insularis</i> y porcentaje de crisálidas de <i>Leucoptera coffeella</i> no emergidas. A partir de larvas instar 1 e Instar 2 de <i>Leucoptera coffeella</i> inoculadas con dos parejas de <i>Mirax insularis</i> .....	33
<b>FIGURA 16</b>	Porcentaje de emergencia de <i>Leucoptera coffeella</i> y <i>Mirax insularis</i> emergidos, y porcentaje de crisálidas de <i>Leucoptera</i> <i>Coffeella</i> no emergidas. A partir de larvas Instar 1 e instar 2 de <i>Leucoptera coffeella</i> inoculadas con dos parejas de <i>Mirax</i> <i>insularis</i> .....	34
<b>FIGURA 17</b>	Porcentaje de emergencia de adultos de <i>Mirax insularis</i> y porcentaje de crisálidas no emergidas en cada tratamiento, de acuerdo al instar larval de <i>Leucoptera coffeella</i> inoculado con <i>Mirax insularis</i> . (A). Porcentaje de emergencia en el Instar larval 1; (B). Porcentaje de emergencia en el Instar larval 2.....	36
<b>FIGURA 18</b>	(A) Interacción estadística entre Instar y Tratamiento sobre la emergencia de <i>Leucoptera coffeella</i> en cada tratamiento (B) Interacción estadística entre Instar y Tratamiento sobre la emergencia de <i>Mirax insularis</i> en cada tratamiento.....	39
<b>FIGURA 19</b>	Porcentaje de machos y hembras de <i>Mirax insularis</i> emergidos en campo y laboratorio.....	41

## 1. INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica* L.) es uno de los cultivos agrícolas principales de la región central de Puerto Rico (U.S. Department of Agriculture, 2004). Este se ve afectado por diferentes plagas de importancia económica, siendo el minador del café, *Leucoptera coffeella* Guerin – Ménévillé (Lepidoptera: Lyonetiidae) una de las plagas principales en Puerto Rico (Gallardo, 1988a). 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 minador del café presenta una amplia gama de parasitoides que reducen su población disminuyendo así el daño causado por éste (Gallardo, 1992). En Puerto Rico se han reportado 16 especies de parasitoides himenópteros en larvas de *L. coffeella* (Wolcott, 1947 y Gallardo, 1988a), dentro de los que se destacan *Achrysocharoides* spp., *Chrysonotomyia* spp., *Zagrammosoma* spp., *Horismenus* spp. y *Cirrospiloideus* spp., pertenecientes a la familia Eulophidae y *Mirax insularis* de la familia Braconidae (Gallardo, 1988a).

*Mirax insularis* es el parasitoide con mayores índices de parasitización sobre el minador del café. Se encuentra distribuido y establecido en toda la región cafetalera de Puerto Rico (Gallardo, 1988b). Posee algunas de las características más importantes que un parasitoide requiere para ser considerado como posible agente de control biológico (King et al., 1986), cómo son: (1) adaptación al medio ambiente, (2) habilidad en la búsqueda del hospedero, (3) apropiado al nivel ecológico del hospedero y (4) sincronización con el ciclo de vida del hospedero (Gallardo, 1992) .

Los informes para Puerto Rico mencionan los porcentajes de parasitoides encontrados en larvas de *L. coffeella* siendo *M. insularis* el más abundante (Gallardo, 1987, 1988a, 1988b y

2006). Estos señalan la dinámica poblacional parasitoide-hospedero sugiriendo que *M. insularis* es el parasitoide adecuado para disminuir las poblaciones del minador del café. (Gallardo, 2006; León, 1997). Además, establecen que las etapas larvales preferidas para la parasitación del minador del café son los instares 1 y 2 (Navarro, 2007). Sin embargo, en investigaciones recientes con *M. insularis*, no se informan estimados aproximados de su potencial reproductivo sobre larvas de *L. coffeella*.

Como señalan Salas y Salazar (2003), para el establecimiento de un programa de control biológico efectivo es necesario determinar la capacidad parasítica en laboratorio y en campo sobre la presa específica. Por lo tanto, se considera que la confirmación de la presencia de *M. insularis*, así como la estimación de su importancia relativa respecto a otras especies de parasitoides y su potencial reproductivo, son datos indispensables y necesarios para implementar un programa de control biológico para el minador del café en los cafetales de Puerto Rico.

Este estudio genera información en cuanto a los niveles de ovoposición de *M. insularis*, su viabilidad como organismo potencial para el control de *L. coffeella* y la presencia de otras especies de parasitoides del minador del café. Confirma la presencia de *M. insularis* en siembras de café de Puerto Rico, mediante muestreos durante el mes de febrero de 2007 de hojas de *Coffea arabica* en dos municipios productores de café (Adjuntas y Yauco). Establece la capacidad reproductiva y el nivel de parasitación de *M. insularis* sobre larvas de *L. coffeella*, por medio de pruebas bajo condiciones de laboratorio, inoculando arbolitos de café con presencia de larvas de *L. coffeella* en los instares larvales 1 y 2.

Estos resultados ofrecen información necesaria para realizar crianzas masivas de *M. insularis* con el propósito de implantar un programa de control biológico para el minador del café. Aportando conocimientos para el uso de técnicas en pro de la conservación del medio ambiente.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. GENERALIDADES**

El café constituye uno de los principales cultivos de importancia económica en América Latina. Sin embargo, diversos factores bióticos y abióticos influyen sobre la producción de este cultivo. Entre los factores bióticos más importantes está la participación de los insectos plaga como agentes responsables de los daños presentados en las plantaciones de café (Gallardo, 1987).

Para el año 1989 se habían identificado 61 especies de insectos consideradas plagas importantes para la producción de café en Cuba (Vásquez, 1989). A nivel mundial se estima que la población de plagas del café supera las 900 especies, pero no todas generan daños económicos (Kimani et al., 2002). Entre estas plagas se encuentra el minador del café, insecto que afecta el follaje de la planta. Este microlepidóptero, que pertenece a la familia Lyonetiidae, reduce la capacidad fotosintética de las hojas y puede causar fuertes defoliaciones en plantas muy atacadas. El minador del café se puede encontrar durante todo el año en el cultivo, incidiendo sobre la planta desde la fase de vivero hasta producción (Gallardo, 1988b).

### **2.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CAFÉ EN PUERTO RICO**

El café es el cultivo agrícola de mayor importancia social y ecológica de la zona montañosa de Puerto Rico, y el segundo en importancia económica en toda la Isla (U.S. Department of Agriculture., 2004). La mayor parte de la producción está ubicada en la parte oeste central de la isla e incluye los municipios de: Adjuntas, Lares, Yauco, Jayuya, Maricao, Las Marías, San Sebastián y Orocovis, en la parte noroeste el municipio de Aguada y al noreste el municipio de Trujillo Alto (U.S. Department of Agriculture., 2004).

De acuerdo a CAECAFE (2000) y OEADA (2003), la industria de café en Puerto Rico estuvo constituida para esos años por 10,622 productores en 77,472 cuerdas (5,417.6 ha.), cerca de 25,000 trabajadores agrícolas (representando el 47% del empleo agrícola), 179 beneficiadores y 28 torrefactores con 65 marcas registradas. La industria del café en Puerto Rico sostiene de manera directa o indirecta a cerca de 200,000 residentes de la zona rural central de la Isla. Ésta industria alcanzó un promedio de producción de 203,500 quintales para un valor de la cosecha de \$ 41.6 millones para el año 2005-6 (Cruz y Garay, 2006).

### **2.3. *Leucoptera coffeella*.**

El minador del café fue descrito en 1842 por Guerin - Ménerville, es originario de Etiopía (Parra et al., 1981), ha sido detectado en el Caribe en zonas bajas productoras de café, calurosas, con poca precipitación y sombra (Gallardo, 1987). Es una alevilla blanca plateada de aproximadamente 3 mm de largo y tiene entre 4 hasta 6 mm de envergadura alar. Presenta un mechón de pelos de color blanco plateado en la parte frontal de la cabeza y una agrupación de pelos plateados en la parte basal de las antenas dando la apariencia de ojos aterciopelados; los ojos son de color negro. En la parte posterior de las antenas y el abdomen presenta una coloración negra ahumada (Pickman, 1872).

La larva ocasiona el síntoma principal de infestación. Éste consiste en la aparición de manchas de forma irregular y color café sobre el envés de la hoja (Souza, 1979) como consecuencia de la destrucción de los tejidos del parénquima utilizados para su alimento (Guerreiro, 2006; Souza et al., 1998). La larva es aplanada, de coloración amarillenta parcialmente transparente. Consta de 12 segmentos, los tres primeros forman el tórax y los nueve restantes el abdomen (Pickman, 1872). El minador del café se encuentra ampliamente difundido en México, Centro y Sur América y el Caribe (Vásquez, 1989).

### **2.3.1. Biología y comportamiento:**

*Leucoptera coffeella* presenta una metamorfosis completa (Souza et al., 1998), pasando por la etapa de huevo, cuatro instares larvales (Navarro, 2007), la pupa, y el adulto. De acuerdo con diferentes autores la longevidad de *L. coffeella* es variable, oscilando entre 13 hasta 38 días (Gravena, 1992) y entre 25 hasta 34 días (Nantes y Parra, 1977). Otros autores han encontrado ciclos de vida más largos, oscilando entre 14 hasta 42 días (Hernández, 1972) y más cortos como describe Pickman (1872) de menos de 14 días. La fluctuación en la longevidad de *L. coffeella* ha sido atribuida a las condiciones ambientales en las que se desarrolle (Katiyar y Ferrer, 1968; Pruna y Licor 1973).

La etapa larval es la que causa el daño a la lámina foliar de la planta. Una vez eclosiona el huevo, el primer instar larval empieza a formar galerías en el interior de la hoja, barrenando el tejido vegetal. Al alimentarse se observa en la hoja una zona de tejido muerto de forma irregular conocida como mina. Se ha observado que una mina puede albergar hasta cinco larvas. La larva madura (Instar 4) abandona la parte muerta y se dirige al envés de la hoja para construir el capullo que protegerá la crisálida. Este capullo es de color blanco y en forma de H, esta etapa durará aproximadamente una semana, antes de transformarse en adulto (González, 1996) (Figura 1). En estado adulto, su actividad es crepuscular y nocturna (Guerreiro, 2006).



**Figura 1.** Ciclo de vida de *Leucoptera coffeella* Guerin-Meneville (Lepidoptera: Lyonetiidae) (Fotos de Barrera et al. 2006)

El ataque de *L. coffeella* es más severo en condiciones de alta humedad y alta temperatura (Seín, 1940), o sea, en cafetales situados por debajo de 1,300 metros sobre el nivel del mar (Vásquez, 1989). Es una plaga inducida por el mal uso de agroquímicos (SENASA, 2008). Por ejemplo, la aplicación de fungicidas a base de cobre, que se usa para controlar la roya del café, permite el incremento de la población del minador de la hoja de café, debido a una baja en las poblaciones de enemigos naturales (Parra et al., 1977).

Parra et al. (1977) observaron fluctuaciones poblacionales del minador del café en Brasil, encontrando que para los años 1912 y 1944, *L. coffeella* solamente constituía un problema fitosanitario en los periodos de sequía. En el año 1975 se estableció que *L. coffeella* presentaba gran intensidad, tanto en el periodo seco como el periodo lluvioso (Parra, 1975) debido a la alteración de las condiciones del sistema de cultivo, en consecuencia de la aparición de la roya del café y la aplicación de cúpricos para su control (Parra et al., 1977; Paulini y Picanço, 1994).

En Puerto Rico el minador del café es controlado con los agroquímicos Dysistón y Furadán (Monroig, 2008), sin embargo su control no es 100% efectivo causando un impacto negativo en los agroecosistemas (Kay y Collins, 1987). Aunque en la Isla no se han realizado estudios sobre la resistencia de *L. coffeella* a este tipo de control; es posible que se presente considerando las elevadas poblaciones del minador del café en algunas áreas cafetaleras de Puerto Rico. Tal como ocurre en Brasil donde se atribuye el aumento de esta plaga (Brattsten et al., 1986) a la resistencia generada por la constante aplicación de plaguicidas.

### **2.3.2. Umbral económico**

El minador del café es capaz de producir gran destrucción del tejido foliar, acompañado por una considerable defoliación o caída temprana de las hojas (Konnorova y Murguido, 1986). Generalmente, existe una asociación positiva entre proporción de hojas minadas, proporción de defoliación y proporción de infestación (González, 1996).

De acuerdo a Motte (1976), el umbral económico es de cuatro minas por hoja, número máximo antes de que ocurra la defoliación. Cuando se presenta más del 50% de defoliación, la productividad del café puede verse afectada (Paulini y Picanço, 1994).

### **2.3.3. Técnicas de control**

Se ha dado especial énfasis al uso de técnicas que constituye el manejo integrado de plagas para controlar las poblaciones de *L. coffeella* en siembras de café. Esto incluye técnicas de control cultural, control biológico y control químico (Vásquez, 1989). Se ha observado que infestaciones severas del minador del café corresponden al uso indiscriminado de plaguicidas, como consecuencia de resistencia de las poblaciones de la plaga a los insecticidas y reducción de los enemigos naturales (Brattsten et al. 1986). Se considera que el complejo de enemigos

naturales es amplio (Wolcott, 1947). Por esto, se recomienda enfocar el control de esta plaga hacia técnicas de control biológico (Gallardo, 1992; Konnorova, 1982).

El uso de enemigos naturales, en conjunto con otros factores ecológicos y biológicos, es capaz de reducir y mantener las poblaciones del minador del café por debajo del umbral económico (Reis y Souza, 1986; Fragoso et al., 2001; Costa, 2005). Por ejemplo, Reis et al. (2000) recomienda incrementar la abundancia de parasitoides en el comienzo de la infestación del minador del café, cuando se encuentra la mayoría de las minas pequeñas. Fragoso et al. (2001) y Bacci et al. (2006) mencionan que el uso adecuado de insecticidas selectivos para avispas de la Familia Vespidae, depredadoras del minador del café, presenta efectos positivos en la disminución de las poblaciones de *L. coffeella*.

#### **2.4. *Mirax insularis*.**

*Mirax insularis* es un himenóptero de la subfamilia Miracinae, perteneciente a la familia Braconidae. Fue descrito por Carl F. W. Muesebeck en el año 1937 (Muesebeck, 1937). Éste braconido es un endoparasitoide koinobionte (Maeto, 1995; Shaw y Huddleston, 1991; Whitfield y Wagner, 1991). Éste tipo de parasitismo le permite paralizar temporalmente a su presa. Así, la larva parasitada continúa desarrollándose mientras el parásito se va alimentando de áreas no vitales como los cuerpos grasos y la pared externa de la región intestinal (Askew y Shaw, 1986).

Al igual que otras especies del género *Mirax*, *M. insularis* se caracteriza por ser un parasitoide de algunas familias de lepidópteros (Maeto, 1995; Shaw y Huddleston, 1991; Whitfield y Wagner, 1991). En éste grupo se encuentra la familia Lyonetiidae, taxón al cual pertenece el minador del café.

Las especies del género *Mirax* se caracterizan por presentar antenas de 12 segmentos, ausencia de carina occipital, ausencia de la vena r-m en el ala anterior, vena SR del ala anterior

unida o cercana al estigma y el tergum metasonal con un espiráculo o lateroterguito membranoso (Nixon, 1995; Valerio, 2007). Las especies que constituyen este género presentan distribución mundial (Maeto, 1995). El adulto de *M. insularis* presenta un tamaño promedio de 4.1 mm. (León, 1997).

*Mirax insularis* presenta amplia distribución. Especies de éste género han sido registradas por diferentes autores parasitando a *L. coffeella* en países productores de café como Brasil (Rosado, 2007; Avilés, 1991; Parra et al., 1981 y 1977), Colombia (Campos, 2001), Ecuador (Anchundia, 1994; Mendoza, 1994), México (Krombein, 1979) y Cuba (Konnorova, 1982; Vásquez, 1989).

Fue introducido a Puerto Rico en 1937 desde la isla de Guadalupe y liberado en siembras de café en los pueblos de Lares y Quebradillas (Seín, 1940; Gallardo, 1988b). Desde entonces, se ha establecido a lo largo de toda la isla en las regiones cafetaleras (León, 1997) parasitando larvas del minador del café en estadios larvales 1 y 2 (Navarro, 2007)

*Mirax insularis* posee algunas de las características importantes para que un parasitoide pueda ser considerado como posible agente de control biológico descritas por King et al. (1986). Éstas son: (1) adaptación al medio ambiente, de manera que se ha establecido en Puerto Rico, después de su introducción en 1937, (2) habilidad en la búsqueda del hospedero, esto se comprueba con los altos porcentajes de parasitación (65-85% registrados en la isla de Guadalupe) que presenta sobre las larvas de *L. coffeella* (Wolcott, 1947), (3) apropiado al nivel ecológico del hospedero, presentando alta especificidad y pudiéndose establecer en las zonas donde éste se registra y (4) sincronización con el ciclo de vida del hospedero (Gallardo, 1992), lo que se pudo observar en las investigaciones realizadas por Navarro (2007) en las cuales encontró que es posible sincronizar las ovoposiciones de *M. insularis* con los instares larvales 1 y 2 de *L. coffeella*. Navarro (2007) inoculó seis arbolitos de café con 200 adultos de *L. coffeella* y

posteriormente los parasitó con 150 adultos de *M. insularis*, estableciendo que los niveles de parasitación no son diferentes significativamente sobre los instares larvales 1 y 2 del minador del café.

#### **2.4.1. Biología y Comportamiento**

*Mirax insularis* es un endoparasitoide de ciclo larva-pupa dentro del minador del café; es específico para el hospedero, y no presenta registros de superparasitismo (Gallardo, 2006, com. pers.). Los niveles de parasitación pueden alcanzar hasta 35% en Puerto Rico (Gallardo, 2006). Su registro para los años 1985 y 1986, respecto a los otros parasitoides del minador del café, se estableció en 32.4% (Gallardo, 1988b).

Este braconido presenta metamorfosis completa, pasando por las etapas de huevo, larva (tres instares larvales), prepupa, pupa y adulto (León, 1997). El proceso de parasitismo empieza cuando *M. insularis* deposita sus huevos en el hemoceloma de la larva de *L. coffeella*, adhiriéndose a los túbulos de Malpighi cerca de la unión del intestino medio y posterior, o a los cuerpos grasos, a las glándulas salivales, o a la pared exterior intestinal (León, 1997). Bajo condiciones ambientales óptimas, el desarrollo de *M. insularis*, oscila entre 17 hasta 25 días a partir de la adhesión del huevo al tejido larval de *L. coffeella*.

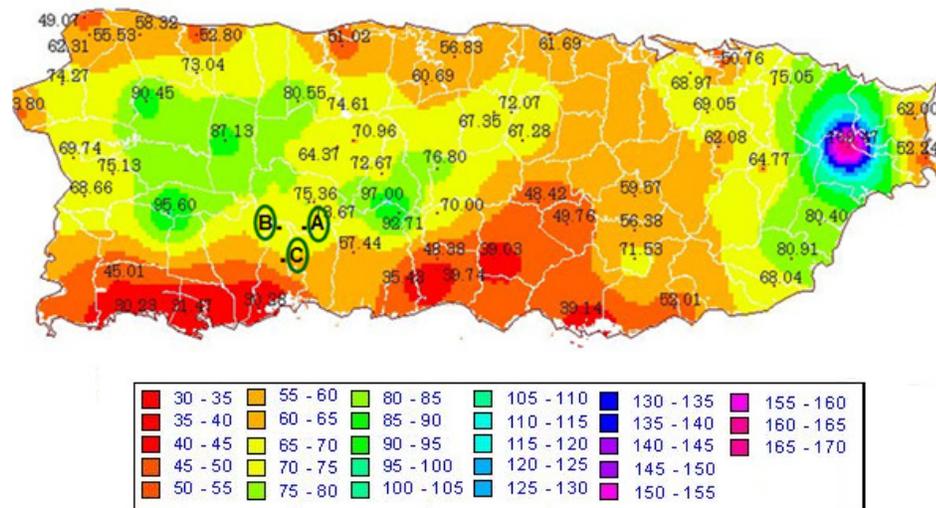
### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. CONFIRMACIÓN DE *Mirax insularis* EN DOS MUNICIPIOS CAFETALEROS DE PUERTO RICO.

##### 3.1.1. Áreas de Estudio

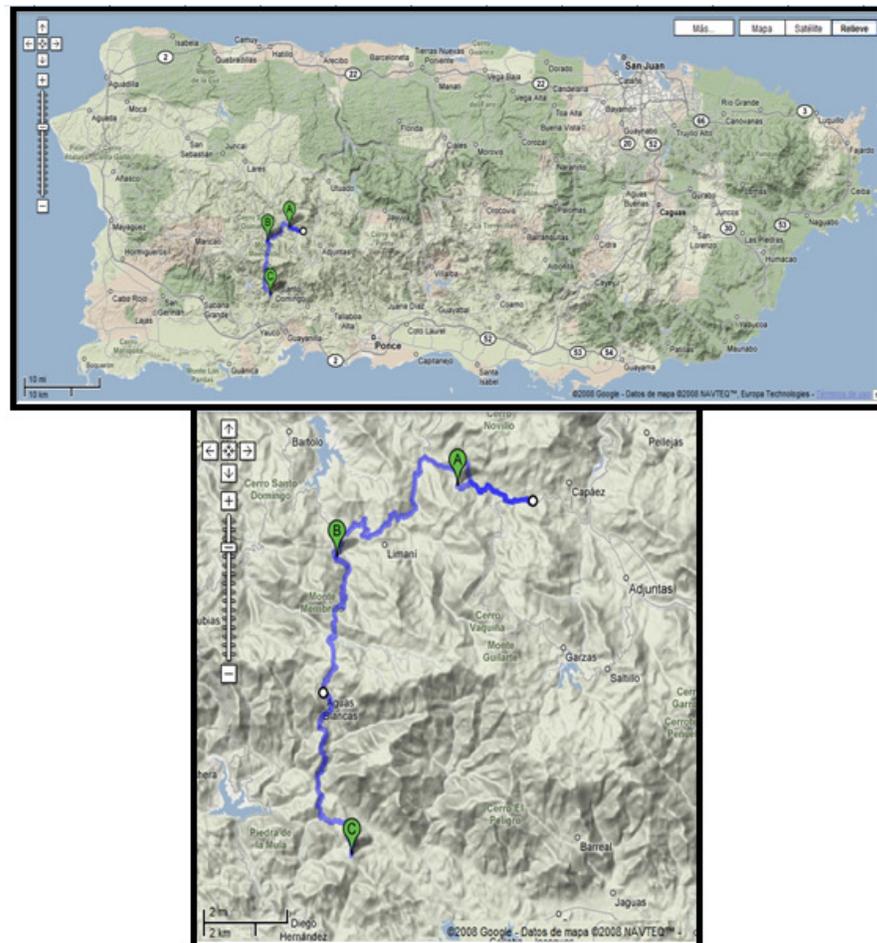
La recolección de muestras se realizó en los municipios de Yauco y Adjuntas, zonas cafetaleras de Puerto Rico ubicadas en la vertiente sur de la cordillera central de la Isla. Presentan una época lluviosa durante los meses de mayo, agosto, septiembre y octubre, y una época seca que incluye los meses de diciembre, febrero, marzo y junio (S.E.A., 2008).

Su altitud oscila entre 470 y 580 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.). El promedio de precipitación anual es de 1,871 mm para Adjuntas y 1,156.46 mm para Yauco. El municipio de Adjuntas presenta dos zonas con diferentes niveles de precipitación anual y el municipio de Yauco presenta cuatro zonas con diferentes niveles de precipitación anual (NOAA, 2008) (Figura 2).



**Figura 2.** Mapa de Puerto Rico con el registro de la precipitación media anual (1971-2000). (A) Guilarte (1,778 mm – 1,905 mm); (B) Rio Prieto (1,778 mm – 1,905 mm); (C) Sierra Alta (1,397mm – 1,524 mm). (Tomado de NOAA, 2008).

En Yauco se evaluaron los barrios: (1) Río Prieto ubicado en la zona de mayor precipitación del municipio con un promedio anual de 1,841.5 mm (964.30 m.s.n.m.; 18°09,102' N; 0,66°49,755' W), y (2) el Barrio Sierra Alta ubicado en la zona del municipio que registra un promedio de precipitación anual de 1,460.5 mm (530 m.s.n.m.; 18°06,0791' N; 0,66°49,3329' W). En Adjuntas se evaluó el Barrio Guilarte ubicado en la zona con menor precipitación del municipio con un promedio anual de 1841,5 mm (503.22 m.s.n.m.; 18°09,102' N; 0,66°46,478' W) (Figura 3). Las siembras de café seleccionados en los tres barrios estuvieron libres de aplicaciones de agroquímicos durante los últimos tres años, minimizando así la influencia potencial de este factor sobre las poblaciones de parasitoides.



**Figura 3. Ubicación de la zona de estudio. (A) Guilarte, Adjuntas; (B) Río Prieto, Yauco; (C) Sierra Alta, Yauco.**

### 3.1.2. Obtención de Muestras

De manera aleatoria se colectaron hojas de café con presencia de minas de *L. coffeella* en los tres barrios. Se llevaron a cabo muestreos semanales durante el mes de febrero de 2007 por un periodo de cuatro semanas en ambos municipios, realizando colecciones de material una vez por semana.

En cada barrio se colectaron 100 hojas de café con minas activas. Las hojas fueron inicialmente ubicadas en bolsas plásticas debidamente etiquetadas antes de manipularlas en el laboratorio. Para evitar la desecación de las hojas y posibles alteraciones en el desarrollo de los individuos presentes, se utilizó una nevera portátil donde se depositaron las hojas durante el traslado del lugar de muestreo al laboratorio (Figura 4).



**Figura 4. Modo de traslado de las muestras de hojas de café obtenidas en el campo y llevadas al laboratorio.**

Los muestreos se realizaron en el mes febrero, considerando los resultados obtenidos por León (1997) y Gallardo (2006) en estudios sobre la dinámica poblacional de *L. coffeella* y *M. insularis* realizados entre los meses de abril hasta diciembre de 1993 y desde marzo hasta diciembre de 2005. Estos estudios demuestran que en el mes de diciembre se presenta el mayor porcentaje del parasitoide por hoja de café. Esto coincide con la mayor cantidad de minas de *L. coffeella* por hoja de café. Por lo tanto, al seguir el patrón de la dinámica poblacional parasitoide-hospedero encontrado en estos dos estudios, se cree que febrero es un mes adecuado para realizar estimaciones de la presencia de *M. insularis* en los cafetales evaluados. Se considera que la curva de crecimiento de minas/hoja y parasitoide/hoja puede alcanzar picos poblaciones en este mes.

### **3.1.3. Trabajo de Laboratorio**

Las hojas de café colectadas en el campo fueron ubicadas individualmente en bolsas de cierre hermético de 16.5 cm de largo y 15 cm de ancho. Se etiquetaron indicando el lugar de procedencia, fecha y número (Figura 5). Posteriormente fueron colocadas dentro de una cámara de crianza con temperatura constante de 25°C, un fotoperiodo de 12 hr. y humedad relativa de 60%. Se utilizaron las facilidades del Laboratorio de Control Biológico del Departamento de Protección de Cultivos del Recinto Universitario de Mayagüez.



**Figura 5. Disposición individual de hojas de café afectadas por el minador del café.**

Las hojas fueron revisadas semanalmente durante un mes, tomando datos del número de emergencia de adultos de minadores de café, parasitoides y número de crisálidas formadas en cada hoja. Estos datos fueron analizados con el programa estadístico INFOSTAT Versión 2004.

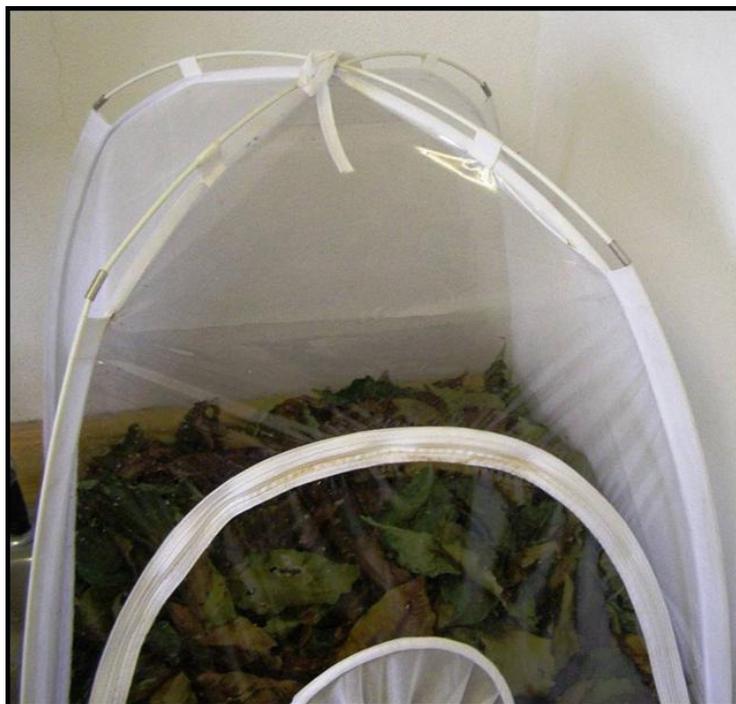
Se hicieron pruebas de análisis de varianza para determinar si existía diferencia significativa entre las cantidades de parasitoides presente en cada lugar muestreado y para determinar si existía diferencia significativa entre la cantidad de machos y hembras de *M. insularis* encontrados en cada barrio. También se realizó el análisis de correlación de Spearman, entre el total de individuos de la especie *M. insularis* y la sumatoria de las otras especies de parasitoides encontradas en las hojas colectadas.

### **3.2. OBTENCIÓN DE *Leucoptera coffeella* Y *Mirax insularis* DESDE MUESTRAS OBTENIDAS EN CAMPO.**

Luego de la confirmación de la presencia de *M. insularis* y habiendo establecido el Barrio Guilarte como el área con mayor presencia del parasitoide, se realizaron las pruebas de capacidad

reproductiva y evaluación del nivel de parasitación de *M. insularis* bajo condiciones de laboratorio. Semanalmente se colectaron aproximadamente 500 hojas de café con presencia de minas activas de *L. coffeella*, procedentes del municipio de Adjuntas, Barrio Guilarte. Las hojas se colocaron en bolsas plásticas debidamente etiquetadas y se transportaron en una nevera portátil hacia el laboratorio de Control Biológico del Recinto Universitario de Mayagüez.

En el laboratorio las hojas obtenidas del campo se ubicaron en casetas pequeñas (Bugdorms - BioQuip) hasta la formación de crisálidas del minador del café. Las casetas tienen una dimensión de 56 cm de largo, ancho y alto, con los paneles frontal y posterior de vinilo traslúcido que permiten la observación óptima de los insectos. Poseen una entrada en forma de media luna en la cara frontal, para la introducción y exclusión del material objeto de estudio (Figura 6).



**Figura 6. Hojas de café con presencia del minador del café, obtenidas del campo y ubicadas en casetas en el laboratorio.**

Una vez formadas las crisálidas (Figura 7A), éstas se retiraron de las hojas haciendo cortes que bordeaban el área del capullo. Estos trozos de hoja con las crisálidas se colocaron en placas petri de 12 cm de diámetro y 1.5 cm de alto (Figura 7C). Las placas petri estaban preparadas con algodón y papel toalla humedecidos con agua destilada (Figura 7B) para evitar la desecación del material vegetal y asegurar la emergencia de los adultos.



**Figura 7. (A) Crisálidas formadas en los arbolitos dentro de la caseta; (B) Placa petri preparada con algodón y papel toalla humedecidos con agua destilada; (C) Crisálida sobre placa petri; (D) Crisálidas ubicadas dentro de la caseta.**

Las placas con el material vegetal fueron colocadas dentro de las casetas por un periodo de siete días (Figura 7D); tiempo en el que emergieron los adultos del minador del café.

Posteriormente, estas placas petri fueron trasladadas a otra caseta donde se mantuvieron por un periodo de 15 días hasta lograr la emergencia de los adultos de *M. insularis*.

Para esta prueba las condiciones de laboratorio fueron  $27^{\circ}\text{C} \pm 1$ ,  $70\% \pm 5$  HR y un fotoperiodo de 12hr, de acuerdo a lo establecido en trabajos preliminares para la crianza de *M. insularis* y *L. coffeella*. En las paredes de cada caseta se colocó diariamente una solución de sacarosa al 10% para proveer alimento a los adultos emergidos.

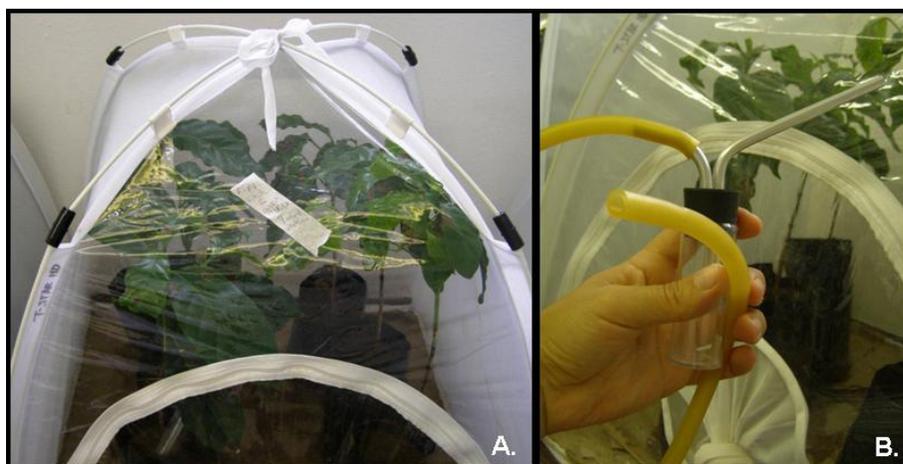
### **3.3. CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE *Mirax insularis* BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.**

Este estudio se realizó con larvas de *L. coffeella* en el primer y segundo instar (Instar 1; Instar 2). Se consideraron los resultados obtenidos por Navarro (2007) en pruebas de sincronización parasitoide – hospedero; en donde no fueron establecidas diferencias significativas en cuanto a la preferencia de *M. insularis* por estas etapas de desarrollo del minador del café. Las condiciones de laboratorio fueron  $27^{\circ}\text{C} \pm 1$ ,  $70\% \pm 5$  HR y un fotoperiodo de 12hr.

Según Navarro (2007), *M. insularis* no parasita los instares larvales 3 y 4 de *L. coffeella*. Por lo tanto, estos estadios de desarrollo del minador del café no se tuvieron en cuenta para las pruebas de parasitación con *M. insularis*.

#### **3.3.1. Descripción del procedimiento**

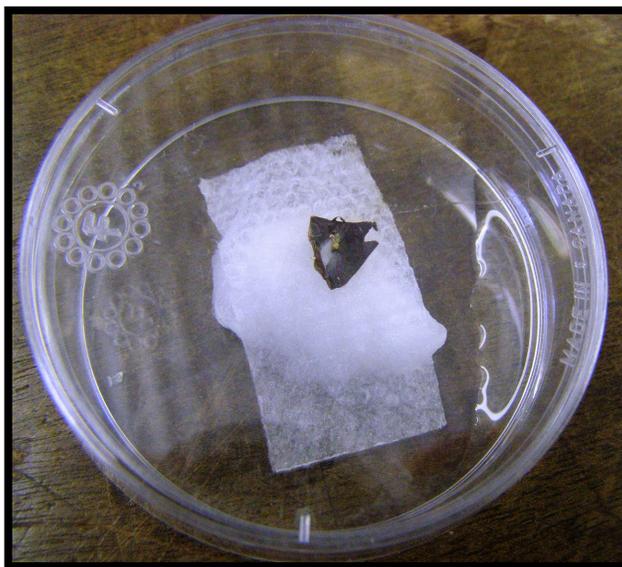
Dentro de una caseta se ubicaron seis arbolitos de café de una altura aproximada de 30 cm (Figura 8A). Se inocularon con 100 minadores de café, obtenidos a partir de las crisálidas obtenidas del campo y emergidos bajo condiciones de laboratorio. Los individuos fueron tomados al azar utilizando un aspirador para insectos (Figura 8B) y posteriormente liberados dentro de la caseta, dejando el frasco del aspirador en el medio de los arbolitos.



**Figura 8.** (A) Arbolitos de café (*Coffea arabica*) dentro de la caseta; (B) Aspirador de insectos.

Los minadores permanecieron dentro de la caseta por un periodo de 48 horas, copulando y ovopositando sobre las plantas de café. Culminado este periodo, los minadores fueron retirados empleando nuevamente el aspirador para insectos.

Una vez alcanzada la primer etapa larval de *L. coffeella* (cuatro días después de la ovoposición), las plantas fueron inoculadas con dos parejas (hembra y macho) del parasitoide *M. insularis* empleando un aspirador para insectos. Los parasitoides permanecieron dentro de las casetas por un periodo de 48 horas, tiempo estimado en que transcurre la primera etapa larval del minador del café. Posteriormente los parasitoides fueron extraídos de la caseta y se esperó a la formación de crisálidas de *L. coffeella* sobre los arbolitos inoculados. Una vez formadas las crisálidas estas fueron retiradas de las plantas y ubicadas de manera individual en placas petri de 5 cm de diámetro y 1 cm de alto (Figura 9). Las placas estaban humedecidas con agua destilada dispuesta en algodón y papel toalla.



**Figura 9. Crisálida del minador del café ubicada de manera individual.**

El material fue revisado 5, 7, 14 y 20 días después de la ubicación individual de las crisálidas en las placas petri, contabilizando la cantidad de individuos emergidos de cada especie, y el sexo en los adultos de *M. insularis*. Este procedimiento también fue realizado para la segunda etapa larval (Instar 2) del minador del café; inoculando las plantas de café seis días después de la ovoposición de *L. coffeella*. Se mantuvieron las mismas condiciones de laboratorio:  $27^{\circ}\text{C} \pm 1$ ,  $70\% \pm 5$  HR y un fotoperiodo de 12hr.

Para el análisis estadístico se empleó un Diseño Completamente Aleatorizado, con dos tratamientos (T1: Instar larval 1; T2: Instar larval 2 de *L. coffeella*) y cuatro repeticiones cada uno (Cuadro 1.). Se realizó la prueba t-student y Análisis de Varianza (ANOVA), para establecer diferencias de parasitación de *M. insularis* en los dos instares larvales de *L. coffeella* estudiados y para establecer diferencias en las cantidades de hembras y machos de *M. insularis* emergidos en esta prueba. Se usó el programa estadístico INFOSTAT Versión 2004.

**Cuadro 1. Diseño estadístico Establecido para la prueba de Capacidad Reproductiva de *Mirax insularis* bajo condiciones de laboratorio.**

<b>TRATAMIENTO 1 = INSTAR 1</b>	<b>TRATAMIENTO 2 = INSTAR 2</b>
Carpa 1 = Réplica 1	Carpa 1 = Réplica 1
Carpa 2 = Réplica 2	Carpa 2 = Réplica 2
Carpa 3 = Réplica 3	Carpa 3 = Réplica 3
Carpa 4 = Réplica 4	Carpa 4 = Réplica 4

### **3.4. NIVEL DE PARASITACIÓN DE *Mirax insularis* BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.**

Una vez establecida la capacidad reproductiva de *M. insularis* en los instares larvales 1 y 2 de *L. coffeella*, empleando dos parejas del parasitoide; se evaluó el nivel de parasitación de *M. insularis*. Esta prueba se realizó con el propósito de verificar si la cantidad de parasitoide empleada en las inoculaciones de cada instar larval (Instar 1 y 2) 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 parasitación de las larvas de *L. coffeella* en instares larvales 1 y 2. Las cantidades fueron 20, 40, 60 y 80 parasitoides de la misma edad, obtenidos de manera aleatoria 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*.

#### **3.4.1. Descripción del procedimiento.**

Dentro de cada caseta en laboratorio, se ubicaron 10 arbolitos de café con una altura aproximada de 30 cm. Se inocularon con 200 minadores del café tomados aleatoriamente con un

aspirador para insectos de la caseta dispuesta para su emergencia. Los minadores permanecieron en la caseta durante 48 horas y posteriormente fueron retirados empleando nuevamente el aspirador para insectos. Esta metodología sigue los parámetros empleados por Navarro (2007) en las pruebas de sincronización parasitoide-minador.

Se esperó la formación de minas hasta alcanzar la primera etapa larval (Instar 1) 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 placas petri de 5 cm de diámetro y 1 cm de alto, humedecidas previamente con agua destilada dispuesta en algodón y papel toalla.

El material fue revisado 5, 7, 14 y 20 días después de la ubicación individual de las crisálidas en las placas petri contabilizando la cantidad de individuos emergidos de cada especie y el sexo en los adultos de *M. insularis*. Para observar si existía diferencia significativa en el porcentaje de parasitación de acuerdo con la etapa larval, éste procedimiento también se realizó con la segunda etapa larval (Instar 2) del minador del café, inoculando las plantas de café seis días después de la ovoposición de *L. coffeella*.

Para el análisis estadístico se empleó un Diseño Completamente Aleatorizado con un arreglo factorial 5 x 2 (5 densidades de *M. insularis* x 2 etapas larvales) con cuatro repeticiones (Cuadro 2.). Se realizaron pruebas de Tukey y ANOVA usando el programa estadístico INFOSTAT Versión 2004.

**Cuadro 2. Diseño estadístico empleado para la prueba de nivel de parasitación de**

*Mirax insularis* bajo condiciones de laboratorio

**DISEÑO FACTORIAL 5 x 2 COMPLETAMENTE ALEATORIZADO**

<b># <i>M. insularis</i></b>	<b>INSTAR 1</b>	<b>INSTAR 2</b>
<b>20 INDIVIDUOS</b>	Carpa 1 = Réplica 1	Carpa 1 = Réplica 1
	Carpa 2 = Réplica 2	Carpa 2 = Réplica 2
	Carpa 3 = Réplica 3	Carpa 3 = Réplica 3
	Carpa 4 = Réplica 4	Carpa 4 = Réplica 4
<b>40 INDIVIDUOS</b>	Carpa 1 = Réplica 1	Carpa 1 = Réplica 1
	Carpa 2 = Réplica 2	Carpa 2 = Réplica 2
	Carpa 3 = Réplica 3	Carpa 3 = Réplica 3
	Carpa 4 = Réplica 4	Carpa 4 = Réplica 4
<b>60 INDIVIDUOS</b>	Carpa 1 = Réplica 1	Carpa 1 = Réplica 1
	Carpa 2 = Réplica 2	Carpa 2 = Réplica 2
	Carpa 3 = Réplica 3	Carpa 3 = Réplica 3
	Carpa 4 = Réplica 4	Carpa 4 = Réplica 4
<b>80 INDIVIDUOS</b>	Carpa 1 = Réplica 1	Carpa 1 = Réplica 1
	Carpa 2 = Réplica 2	Carpa 2 = Réplica 2
	Carpa 3 = Réplica 3	Carpa 3 = Réplica 3
	Carpa 4 = Réplica 4	Carpa 4 = Réplica 4
<b>CONTROL 0 INDIVIDUOS</b>	Carpa 1 = Réplica 1	Carpa 1 = Réplica 1
	Carpa 2 = Réplica 2	Carpa 2 = Réplica 2
	Carpa 3 = Réplica 3	Carpa 3 = Réplica 3
	Carpa 4 = Réplica 4	Carpa 4 = Réplica 4

### **3.5. EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE MACHOS Y HEMBRAS EMERGIDAS EN CAMPO Y LABORATORIO.**

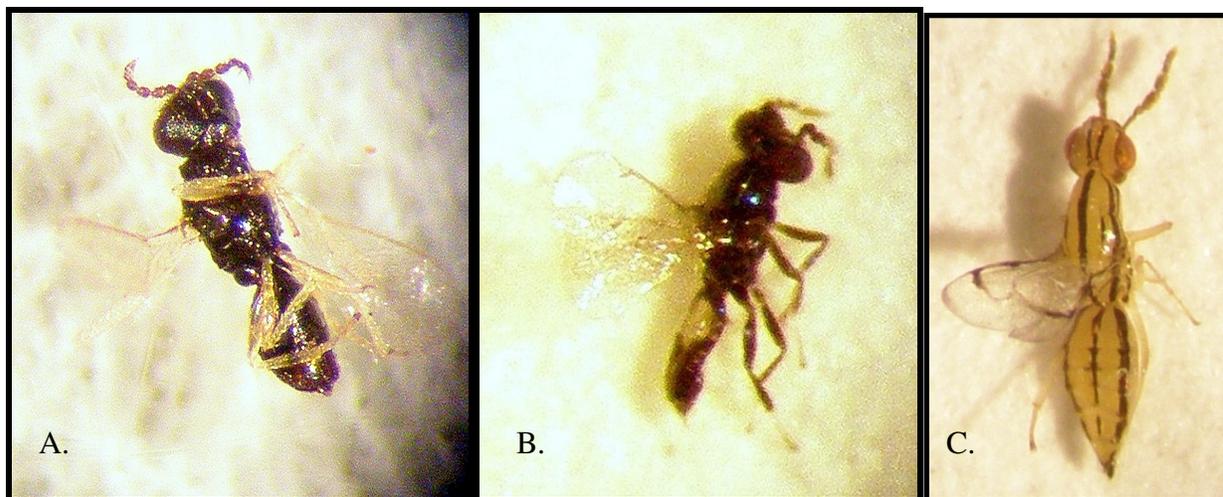
Luego de haber obtenido los datos de emergencia de *M. insularis* de los diferentes ensayos realizados, tanto en campo como en laboratorio, y habiendo establecido los porcentajes de machos y hembras en cada una de estas pruebas, se procedió a determinar si existía diferencia entre estos valores. Los valores usados para esta prueba fueron los porcentajes promedio de hembras y machos obtenidos en cada barrio en el caso de las muestras del campo. Para las muestras del laboratorio, se emplearon los valores promedio de hembras y machos obtenidos en los instares larvales 1 y 2 de *L. coffeella*, para la prueba de capacidad reproductiva y para la prueba de nivel de parasitación de *M. insularis*. Se realizó un análisis de varianza usando el programa estadística INFOSTAT Versión 2004.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. CONFIRMACIÓN DE *Mirax insularis* EN DOS MUNICIPIOS CAFETALEROS DE PUERTO RICO.

#### 4.1.1. Especies de parasitoides encontradas en los barrios Río Prieto, Sierra Alta (Yauco, P.R.) y Guilarte (Adjuntas, P.R.).

Para las cuatro recolecciones de material en los tres barrios muestreados se confirmó la presencia de *M. insularis* y se registró la presencia de otras tres especies de parasitoides himenópteros del minador del café: (1) *Achrysocharoides* spp. (Figura 10A), (2) *Chrysonotomyia* spp (Figura 10B) y (3) *Zagrammosoma* spp. (Figura 10C), todos pertenecientes a la familia Eulophidae. Los parasitoides encontrados fueron identificados taxonómicamente por comparación con los parasitoides del minador del café identificados por Paul Marsh en 1986, investigador del USDA Biosystematics and Beneficial Insects Institute en Beltsville, Maryland, Estados Unidos.



**Figura 10.** Especies de parasitoides de la familia Eulophidae. (A) *Achrysocharoides* spp.; (B) *Chrysonotomyia* spp. y (C) *Zagrammosoma* spp.

De las hojas de café colectadas en los tres barrios muestreados, se obtuvo un total de 4654 individuos. Este número corresponde a 3,353 adultos del minador del café (72%) y 1,301 adultos de las cuatro especies de parasitoides (28%) en los tres barrios muestreados (Tabla 1). La mayor cantidad de individuos del minador del café se registró en el Barrio Sierra Alta (2,256 individuos; 83%), seguido por Guilarte (610 individuos; 59%) y en menor cantidad Río Prieto (487 individuos; 55%) (Figura 11).

Para el número de parasitoides encontrados en cada barrio muestreado se presentó el mismo patrón. En el Barrio Sierra Alta se registraron 476 individuos, en el Barrio Guilarte 424 individuos y en el Barrio Río Prieto 401 individuos. Sin embargo, al establecer su porcentaje respecto al total de la muestra, el mayor porcentaje de parasitoides se registró en el Barrio Río Prieto con 45%, seguido por el Barrio Guilarte con 41% y finalmente el Barrio Sierra Alta con 17% (Tabla 1; Figura 11).

**Tabla 1. Registro de individuos encontrados en cada uno de los barrios muestreados durante el mes de febrero de 2007.**

Barrio	Total de Individuos	<i>Leucoptera coffeella</i>		Conjunto de Parasitoides	
		No. Individuos	Porcentaje	No. Individuos	Porcentaje
Sierra Alta	2732	2256	83	476	17
Río Prieto	888	487	55	401	45
Guilarte	1034	610	59	424	41
<b>Total</b>	<b>4654</b>	<b>3353</b>	<b>72</b>	<b>1301</b>	<b>28</b>

Promedio de adultos de *Leucoptera coffeella* y parasitoides registrado en cada barrio muestreado

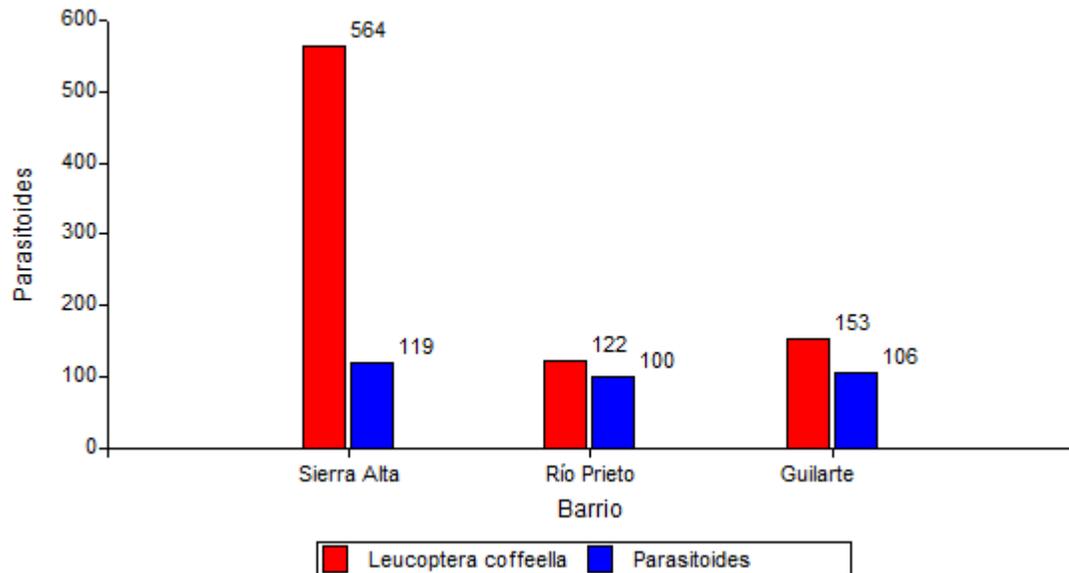


Figura 11. Promedio de adultos de *Leucoptera coffeella* y las cuatro especies de parasitoides registrados durante las cuatro recolecciones de hojas de *Coffea arabica* en los barrios de Sierra Alta, Río Prieto y Guilarte, durante el mes de febrero de 2007.

#### 4.1.2. Análisis del número de individuos de *Mirax insularis* respecto al número de individuos del conjunto de eulófidos encontrados en los tres barrios muestreados.

Dentro del conjunto de parasitoides se encontró que *M. insularis* es la especie más frecuente en los tres barrios muestreados. Esta especie presenta diferencia significativa respecto a las tres especies de eulófidos, que entre sí no presentan diferencias significativas ( $p= 0.0002$ ) (Tabla 2). El análisis de correlación de Spearman muestra una correlación negativa de -0.63 entre el número de *M. insularis* y el conjunto de eulófidos. (Figura 13).

**Tabla 2. Registro de los parasitoides encontrados en cada uno de los barrios muestreados durante el mes de febrero de 2007.**

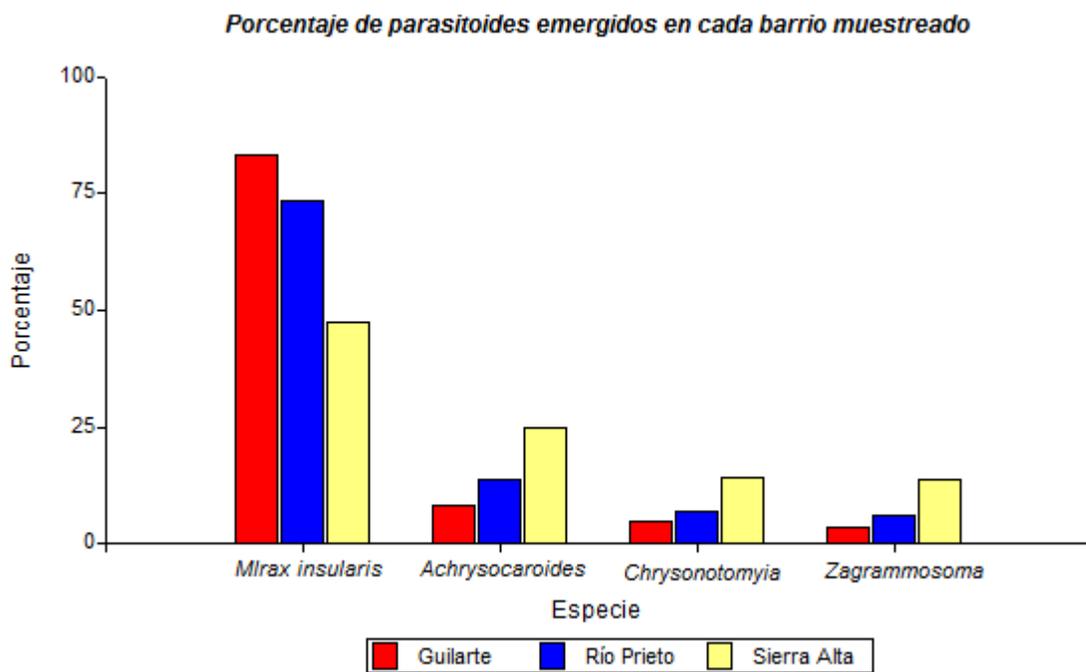
Especie	Barrio Muestreado			Medias		p-valor
	Sierra Alta	Río Prieto	Guilarte			
<i>Achrysocaroides</i> spp.	118	55	35	<b>69.33</b>	<b>A</b>	0.0002
<i>Crhysonotomyia</i> spp.	68	27	21	<b>38.67</b>	<b>A</b>	
<i>Zagrammosoma</i> spp.	65	24	15	<b>34.67</b>	<b>A</b>	
<i>Mirax insularis</i>	225	295	353	<b>291</b>	<b>B</b>	
<b>Total</b>	<b>476</b>	<b>401</b>	<b>424</b>			

Al realizar las Tablas de contingencia Chi-cuadrado, se observa que la proporción de emergencia en cada especie de parasitoide depende del barrio muestreado ( $p = < 0,0001$ ). En los Barrios Guilarte y Río Prieto *M. insularis* registró un porcentaje de 83.3% y 73.6%, respectivamente. En el Barrio Sierra Alta su porcentaje fue de 47.3%. De las especies de la familia Eulophidae, *Achrysocaroides* spp. fue la más abundante, presentando porcentajes de emergencia de 25% en Sierra Alta; 14% en Río Prieto y 8% en Guilarte.

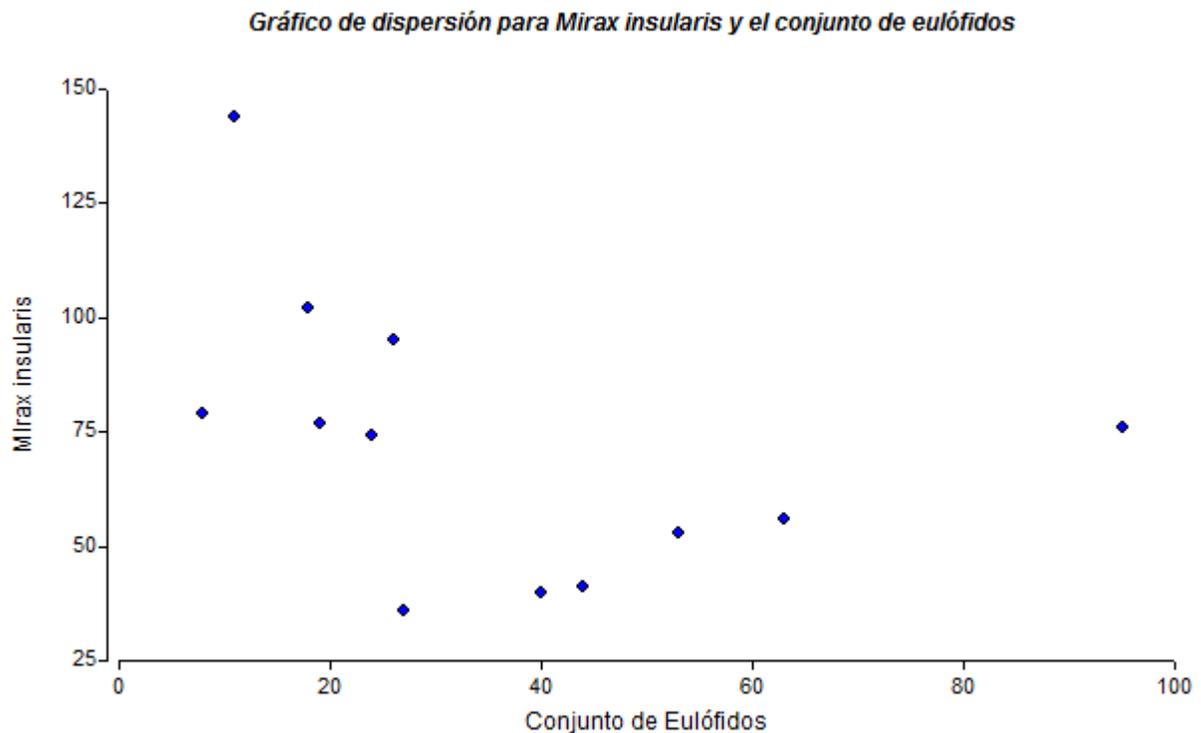
La frecuencia de las especies *Chrysonotomyia* spp. y *Zagrammosoma* spp. fue similar en los tres barrios muestreados. En el Barrio Sierra Alta las dos especies presentaron 14% de emergencia. En el Barrio Río Prieto la frecuencia de *Chrysonotomyia* spp. fue de 7% y la frecuencia de *Zagrammosoma* spp. fue de 6%. La presencia de estas dos especies fue menor en el Barrio Guilarte con 5% y 4% para *Chrysonotomyia* spp. y *Zagrammosoma* spp., respectivamente. (Tabla 3; Figura 12)

**Tabla 3. Porcentaje de especies de parasitoides presentes en cada barrio muestreado.**

Barrio	PORCENTAJE TOTAL DE LAS MUESTRAS				Total
	<i>Mirax insularis</i>	<i>Achrysocaroides sp.</i>	<i>Crhysonotomyia sp.</i>	<i>Zagrammosoma sp.</i>	
Sierra Alta	47	25	14	14	100
Río Prieto	73	14	7	6	100
Guilarte	83	8	5	4	100
Total	67	16	9	8	100



**Figura 12. Porcentaje de individuos emergidos de las diferentes especies de parasitoides encontradas en hojas de café con presencia de minas de *Leucoptera coffeella* en los tres barrios muestreados**



**Figura 13. Gráfico de dispersión entre el número de adultos de *Mirax insularis* y el conjunto de parasitoides de la familia Eulophidae.**

#### **4.1.3. Porcentaje de hembras y machos de *Mirax insularis* encontrados en los tres barrios muestreados.**

Al hacer la determinación de sexos de *M. insularis* (Figura 14), se encontró que el porcentaje promedio de hembras y machos obtenidos en campo fue de 53% machos y 47% hembras en el barrio Sierra Alta, 54% machos y 46% hembras en el barrio Río Prieto, y 52% machos y 48% hembras para el barrio Guilarte (Tabla 4) Los porcentajes de hembras y machos no presentan diferencias significativas por barrios ( $p=0.4929$ ). Se determina que la proporción de machos y hembras de *M. insularis* es 1:1 para los tres barrios muestreados.



**Figura 14. Hembra de *Mirax insularis* con detalle en el ovopositor. Característica empleada para identificación de sexos.**

**Tabla 4. Porcentaje de machos y hembras de *Mirax insularis* encontrados en cada barrio muestreado.**

Barrio muestreado	<i>Mirax insularis</i>			p-valor
	No. Individuos	(%) machos	(%) hembras	
Sierra Alta	225	53 A	47 A	0.4929
Río Prieto	295	54 A	46 A	
Guilarte	353	52 A	48 A	
Total	873	53	47	

#### **4.2. CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE *Mirax insularis* BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.**

Este ensayo se realizó luego de haber confirmado la presencia de *M. insularis* y haber establecido que el Barrio Guilarte es el que presenta mayor porcentaje de éste parasitoide. Se usaron adultos de *M. insularis* recuperados a partir de hojas de café con presencia de minas de *L. coffeella*, procedentes del Barrio Guilarte, para realizar las inoculaciones de los arbolitos de café afectados con larvas del minador del café.

Al realizar las pruebas de capacidad reproductiva de *M. insularis* con los instares larvales 1 y 2 de *L. coffeella*, se determinó que en un periodo de 48 horas, dos parejas del parasitoide pueden ovopositar un promedio de 8 huevos sobre las larvas del instar 1 con una proporción de hembras y machos del 32.5% y 67.5%, respectivamente. En larvas del Instar 2 en el mismo periodo de tiempo, dos parejas del parasitoide ovopositaron en promedio 28 huevos, con una proporción de hembras y machos del 38% y 62% respectivamente.

Se observa que en el porcentaje de emergencia de hembras de *M. insularis* es diferente significativamente del porcentaje de emergencia de machos en los dos instares larvales de *L. coffeella* evaluados ( $p=0.0267$ ). A su vez, el porcentaje de hembras de *M. insularis* emergidas sobre larvas de *L. coffeella* en los instares larvales 1 y 2 no se presentaron diferencias significativas, al igual que el porcentaje de machos emergidos en los dos instares larvales evaluados ( $p=0.8318$ ). (Tabla 5).

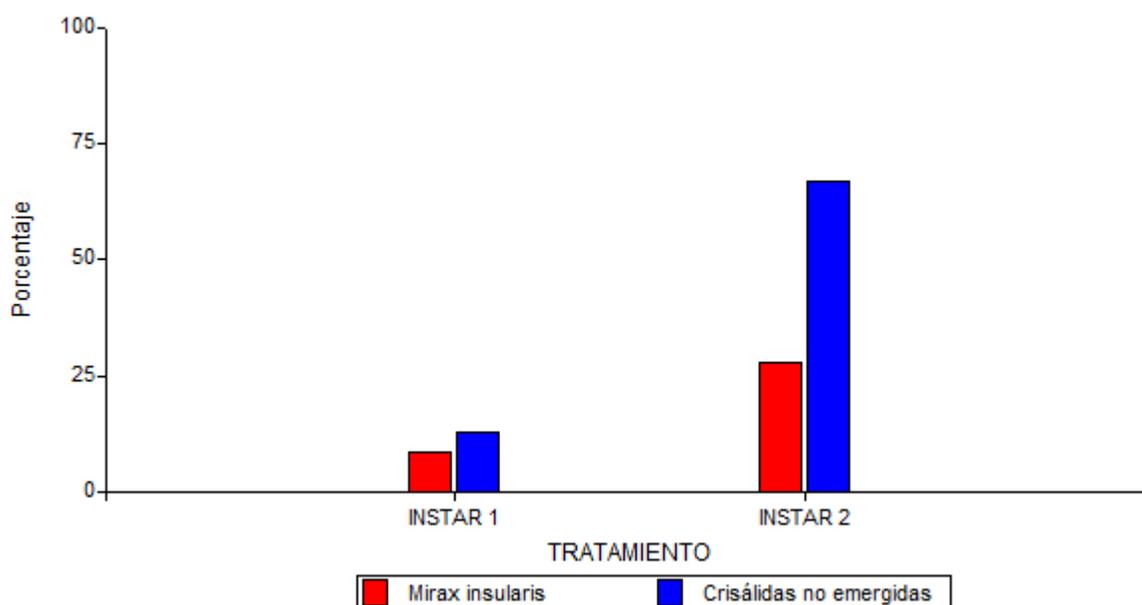
**Tabla 5. Porcentaje de Hembras y Machos de *Mirax insularis* emergidos en las pruebas de capacidad reproductiva para los instares larvales uno y dos de *Leucoptera coffeella***

Tratamiento	<i>Mirax insularis</i>			p-valor
	No. Individuos	(%) machos	(%) hembras	
Instar 1	34	67.5 A	32.5 B	0.0267
Instar 2	112	62 A	38 B	
p-valor		0.8318		

La cantidad de adultos de *M. insularis* emergidos en cada uno de los ensayos corresponde al 5% de parasitación en el primer instar larval (Instar 1) y 7% de parasitación en el segundo instar larval (Instar 2) del minador del café. Los valores de crisálidas no emergidas también

presentaron diferencias significativas para los dos instares larvales ( $p=0.0150$ ). En el Instar 2 el porcentaje de no emergencia fue de 17% y en el Instar 1 fue de 7% (Figura 15).

**Porcentaje de emergencia de *M. insularis* y porcentaje de crisálidas no emergidas en cada tratamiento**



**Figura 15. Porcentaje de emergencia de *Mirax insularis* y porcentaje de crisálidas *Leucoptera coffeella* no emergidas. A partir de larvas instar 1 e Instar 2 de *Leucoptera coffeella* inoculadas con dos parejas de *Mirax insularis*.**

El análisis de varianza para la frecuencia de emergencia de *L. coffeella*, *M. insularis* y crisálidas no emergidas, mostró diferencias significativas en los dos instares larvales (Tabla 6; Figura 16). 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 instar larval 2 de *L. coffeella* (Tabla 6) mostrando mayor capacidad reproductiva sobre estas larvas.

Tabla 6. 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.

Tipo de dato	Instar	<i>Leucoptera coffeella</i>	<i>Mirax insularis</i>	Crisálidas no emergidas
Número promedio de individuos	1	150,25 A	8,5 A	12,75 A
	2	292,5 B	28 B	67 B
p-valor		0,002	0,0012	0,0014
Porcentajes	1	87,2 A	5,03 A	7,77 A
	2	75,9 B	7,13 B	16,97 B
p-valor		0,0103	0,0485	0,015

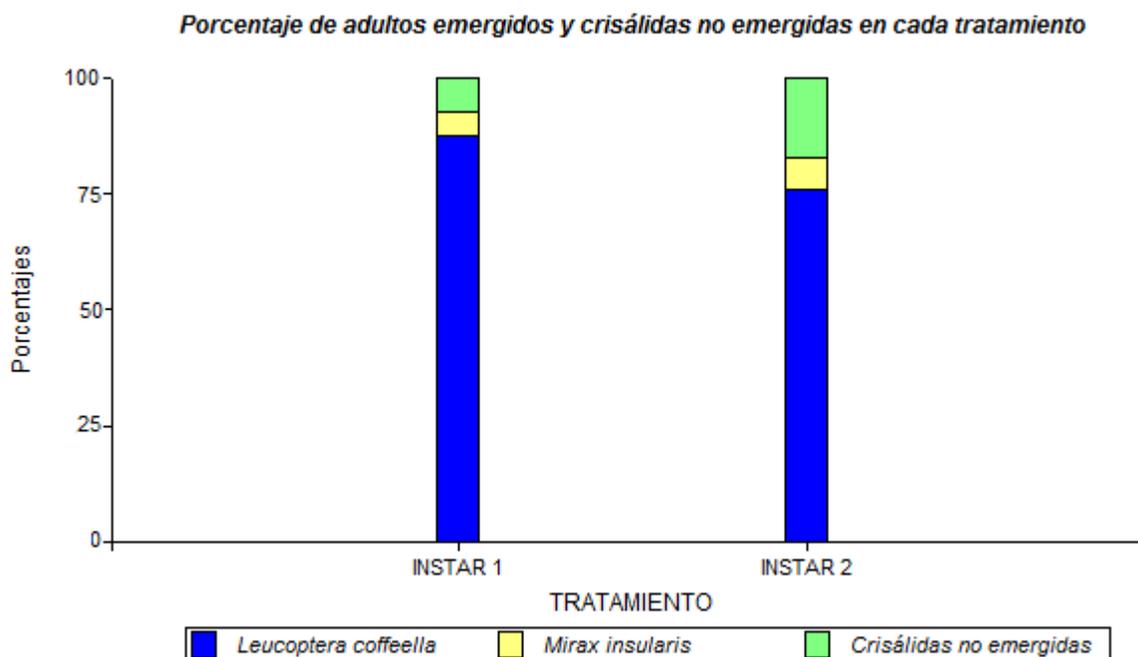


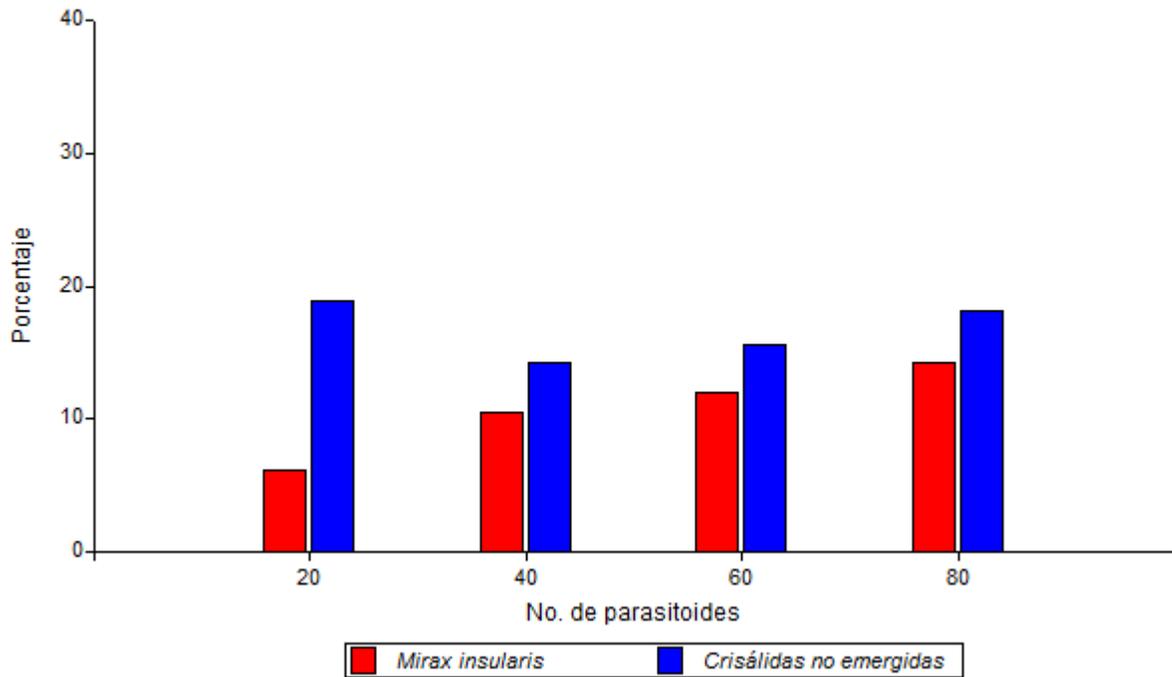
Figura 16. Porcentaje de emergencia de *Leucoptera coffeella* y *Mirax insularis* emergidos, y porcentaje de crisálidas de *L. coffeella* no emergidas. A partir de larvas Instar 1 e instar 2 de *Leucoptera coffeella* inoculadas con dos parejas de *Mirax insularis*.

### **4.3. NIVEL DE PARASITACIÓN DE *Mirax insularis* BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.**

La estimación del nivel de parasitación de *M. insularis* se realizó después de haber establecido la capacidad reproductiva del parasitoide, empleando dos parejas de *M. insularis* para inocular larvas del minador del café en estado larval Instar 1 e Instar 2. En las pruebas del nivel de parasitación de *M. insularis* con diferentes cantidades del parasitoide, se encontró que los mayores valores de parasitación se presentaron en las larvas del Instar 2 del minador del café, con inoculaciones de 60 y 80 parasitoides equivalentes al 30% y 40% de individuos, respecto a la cantidad de individuos de *L. coffeella* empleados para la inoculación de los arbolitos de café.

Se obtuvo una parasitación del 27% con 60 parasitoides y 35% con 80 parasitoides (Figura 17B). Los niveles de parasitación más bajos se presentaron con las inoculaciones de 20 y 40 parasitoides en el Instar larval 1, con 6% y 9%, respectivamente (Figura 17A).

A. **Porcentaje de emergencia de *Mirax insularis* y crisálidas no emergidas con larvas Instar 1**



B. **Porcentaje de emergencia de *Mirax insularis* y crisálidas no emergidas con larvas Instar 2**

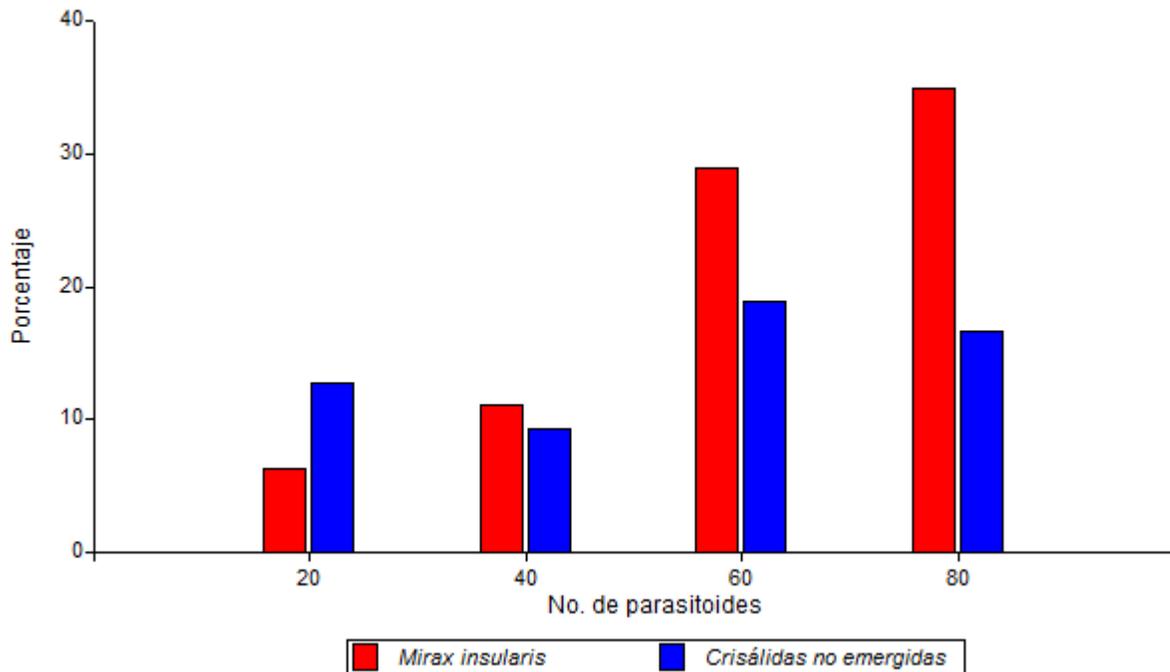


Figura 17. Porcentaje de emergencia de adultos de *Mirax insularis* y Porcentaje de crisálidas no emergidas en cada tratamiento, de acuerdo al instar larval de *Leucoptera coffeella* inoculado con *Mirax insularis*. (A). Porcentaje de emergencia en el Instar larval 1; (B). Porcentaje de emergencia en el Instar larval 2.

El porcentaje promedio de machos y hembras emergidos de *M. insularis* en las inoculaciones realizadas sobre las larvas Instar 2 de *L. coffeella* fue de 56.5% y 43.5%, respectivamente. En las inoculaciones sobre el Instar 1 se obtuvo un porcentaje promedio de 65% machos y 35% hembras de *M. insularis* (Tabla 7).

**Tabla 7. Proporción sexual de adultos de *Mirax insularis* emergidos en cada tratamiento de acuerdo al instar larval inoculado.**

Instar inoculado	Tratamiento	<i>Mirax insularis</i>		
		No. Individuos	(%) machos	(%) hembras
1	20	89	56	44
	40	137	59	41
	60	152	54	46
	80	116	57	43
		Promedio	56.5	43.5
2	20	97	66	34
	40	157	63	37
	60	365	64	36
	80	480	67	33
		Promedio	65	35

El análisis de varianza para las inoculaciones con diferentes cantidades de *M. insularis* sin considerar el instar larval del minador de café, muestra que no hubo diferencia significativa en las inoculaciones realizadas con 20 y 40 parasitoides. Mientras que las inoculaciones con 60 y 80 parasitoides son diferentes significativamente de las otras pero no entre ellas (Apéndice 12).

Cuando se realiza el análisis de varianza considerando el instar larval, se observa que los únicos tratamientos que presentan diferencias significativas son los realizados con inoculaciones de 60 y 80 parasitoides sobre el Instar larval 2 (Tabla 8). Estas cantidades de parasitoides, son equivalentes al 30% y 40% de individuos, respecto a la cantidad minadores del café (200 individuos) empleados para la inoculación de los arbolitos de café empleados en este ensayo.

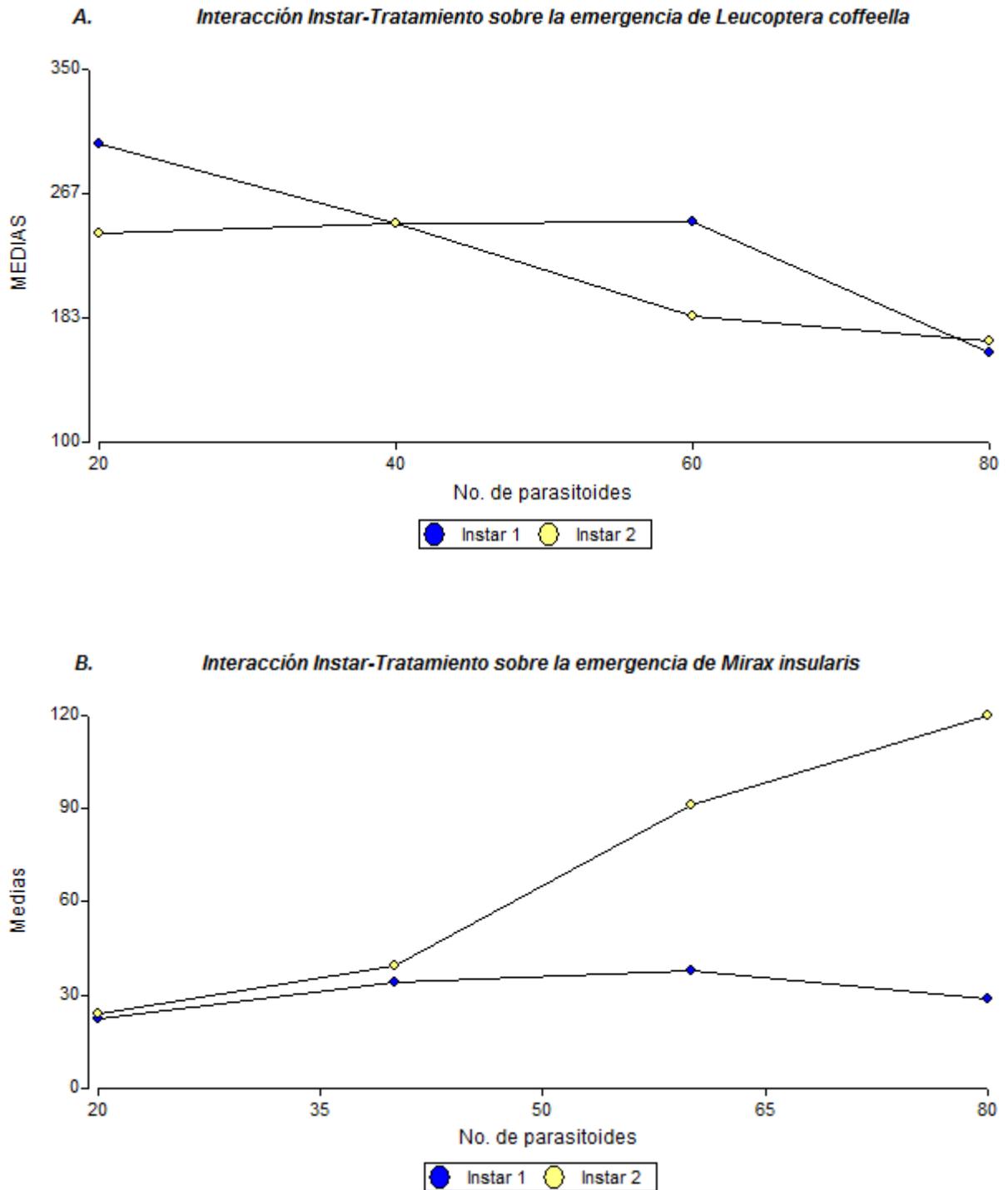
**Tabla 8. Resultados de la prueba de Tukey realizada sobre los valores de parasitación de *Mirax insularis* con cada tratamiento en los instares larvales 1 y 2 de *Leucoptera coffeella*.**

Variable: *Mirax insularis*

Instar	Tratamiento	Medias	N		p-valor
1	20	22.25	4	A	0.0001
2	20	24.25	4	A	
1	80	29	4	A	
1	40	34.25	4	A	
1	60	38	4	A	
2	40	39.25	4	A	
2	60	91.25	4	B	
2	80	120	4	B	

Test: Tukey Alfa=0.05

Estos datos muestran que existe interacción entre el instar evaluado y la cantidad de parasitoides empleada en cada inoculación. El nivel de parasitación de *M. insularis* es mayor cuando se realizan inoculaciones con 60 y 80 parasitoides sobre larvas Instar 2 y el nivel de emergencia del minador del café es mayor cuando las inoculaciones con el parasitoide se realizan sobre larvas Instar 1 (Figura 18).



**Figura 18. (A) Interacción estadística entre Instar y Tratamiento sobre la emergencia de *Leucoptera coffeella* en cada tratamiento (B) Interacción estadística entre Instar y Tratamiento sobre la emergencia de *Mirax insularis* en cada tratamiento.**

#### 4.4. EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE MACHOS Y HEMBRAS EMERGIDAS EN CAMPO Y LABORATORIO.

Con base en los resultados obtenidos de los porcentajes de sexos de *M. insularis* en los muestreos realizados en campo y las pruebas de laboratorio realizadas, se estableció que el porcentaje de machos y hembras eclosionados en las pruebas de laboratorio es diferente significativamente respecto al porcentaje de machos y hembras registrados en campo (p-valor= 0,0007) (Tabla 9). El porcentaje de machos emergidos en las pruebas de laboratorio es mayor que el porcentaje de machos emergidos en campo. El porcentaje de hembras emergidas en laboratorio fue menor respecto al porcentaje de hembras emergidas en campo (Figura 19).

**Tabla 9. Porcentaje de hembras y machos de *Mirax insularis*, a partir de las muestras colectadas en campo y las pruebas realizadas en laboratorio.**

Lugar	<i>Mirax insularis</i>		Total
	% Machos	% Hembras	
Campo	53 A	47 A	100
Laboratorio	62,5 B	37,5 C	100
p-valor	0.0007		

Porcentaje de emergencia de machos y hembras de *Mirax insularis* en campo y laboratorio

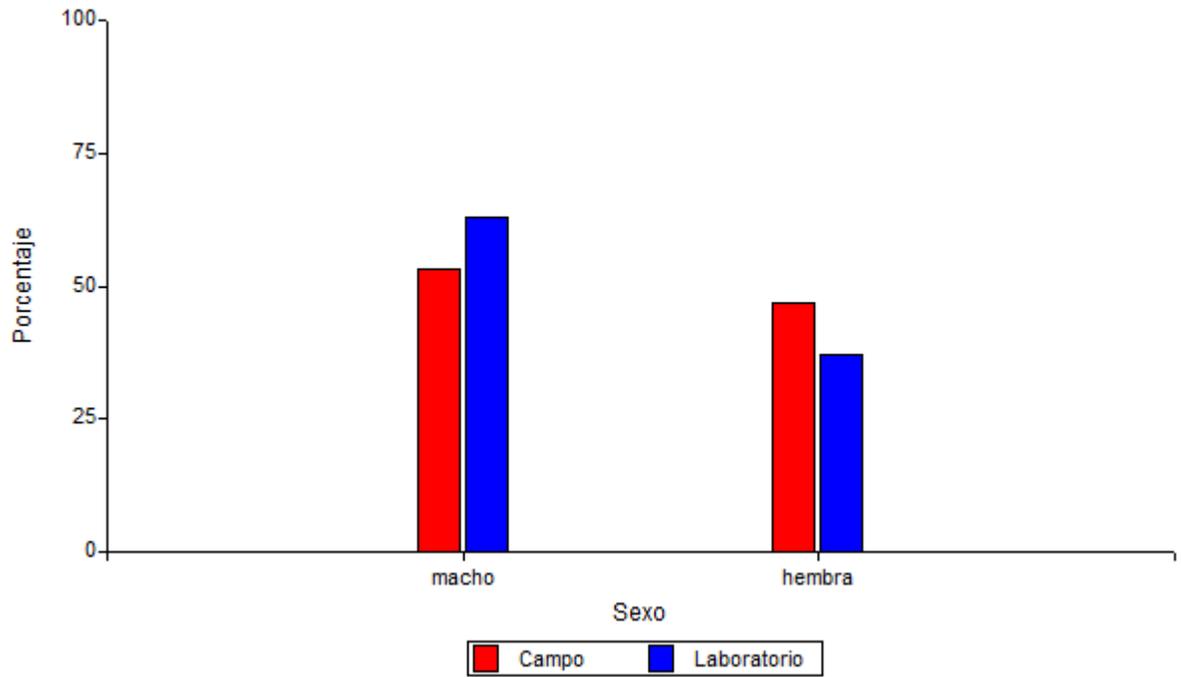


Figura 19. Porcentaje de machos y hembras de *Mirax insularis* emergidos en campo y laboratorio

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. CONFIRMACIÓN DE *Mirax insularis* EN DOS MUNICIPIOS CAFETALEROS DE PUERTO RICO.

La presencia de *M. insularis* fue confirmada, encontrando que es el parasitoide predominante en los tres barrios muestreados. Presenta mayor frecuencia en los Barrios Río Prieto y Guilarte, que presentan un promedio de precipitación anual de 1,841 mm, mayor al promedio de precipitación anual del Barrio Sierra Alta que es de 1,460.5 mm. Este factor es importante en la densidad poblacional de los parasitoides (Sánchez, 2004; Alomar y Albajes, 2005), tal como ocurre con *Trichogramma pretiosum* y *T. atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Navarro y Marcano, 2000), *Opius concolor* (Hymenoptera: Braconidae) (Jiménez et al., 1999), especies de la subfamilia Rogadinae y especies del género *Aleiodes* (Hymenoptera: Braconidae) (Torres y Briceño, 2005) entre otros.

De acuerdo a los resultados obtenidos durante este estudio la cantidad de parasitoides de *L. coffeella* se ha reducido en comparación con años anteriores. Para el año 1988 el complejo de parasitoides de esta plaga estaba conformado por 16 especies (Gallardo, 1988a) de las cuales actualmente solo prevalecen cuatro. Probablemente *M. insularis* ejerce una fuerte presión ecológica sobre sus competidores, debido a que es un parasitoide específico de *L. coffeella* (Gallardo, 1992) y es una especie introducida (Wolcott, 1947). Sus competidores son especies de parasitoides polífagos y por lo tanto su espectro de hospederos es mayor, permitiéndoles establecerse en otros cultivos, en búsqueda de otras presas sin alterar su ciclo de vida.

Es posible que la introducción del minador de las cítricas *Phyllocnistis citrella* en 1994 a Puerto Rico (Knapp et al. 1995) esté relacionada con el desplazamiento de las especies de parasitoides eulófidos del minador del café hacia este nuevo hospedero. Los eulófidos *Closterocerus* spp., *Horismenus* spp., *Zagrammosoma* spp. y *Tetrastichus* spp. son parasitoides

de *P. citrella* (Legaspi, et al. 1999), y en estudios previos han sido registradas en Puerto Rico como parasitoides del minador del café (Wolcott, 1947 y Gallardo, 1987).

De las tres especies de parasitoides de la familia Eulophidae registradas en este estudio, *Achrysocharoides* spp. fue la más frecuente en los tres barrios muestreados, con un porcentaje de 16 % mientras que *Crysonotomyia* spp. y *Zagrammosoma* spp. presentaron una frecuencia de 9% y 8%, respectivamente. Éstas especies de eulófidos son polífagas, característica a la que se puede atribuir la baja frecuencia en *L. coffeella* presentada en este estudio. ***Zagrammosoma* spp.** ha sido registrado como parasitoide del minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* (Ateyyat, 2002; Legaspi y French, 1997), el minador de hortalizas *Chromatomyia horticola* Goureau (Rauf et al., 2000), y el minador del tomate *Tuta absoluta* (Rodríguez y Urquiola, 2000), entre otros. ***Achrysocharoides* spp.** se ha registrado como parasitoide de minadores de hoja del género *Phyllonorycter* (Lepidoptera: Gracillidae) (Rott y Godfrey, 2000) y ***Chrysonotomyia* spp.** se ha registrado como parasitoide del minador del tomate *Tuta absoluta* (Rodríguez y Urquiola, 2000) y del minador de hojas *Perthida glyphopa* (Lepidoptera: Incurvaradiidae) (Mazanec, 1990).

Por otra parte, en este estudio se estableció una correlación negativa (-0,63) entre la emergencia de *M. insularis* y el conjunto de eulófidos. Este índice de correlación apoya la idea de que *M. insularis* esté desplazando a las otras especies de parasitoides del minador del café por competencia interespecífica. No se considera factible el desplazamiento de *M. insularis*, por las otras especies de parasitoides; puesto que sus poblaciones, se han mantenido estables desde el año en que fue introducido. Esto según indican los estudios realizados por Wolcott (1947), Gallardo (1987, 1988 a, 1988b, 1992, 2006) y León (1997), desde su introducción a Puerto Rico.

En los muestreos se encontró un conjunto de cuatro especies de parasitoides del minador del café. Sin embargo, los niveles de la plaga en Puerto Rico siguen siendo elevados. El máximo nivel de parasitación fue de 45.1 % registrado en el Barrio Río Prieto, siendo inferior al 67% de

parasitación de *M. insularis* en Guadalupe (Wolcott, 1947). Aunque las poblaciones de *M. insularis* son constantes en los cafetales de Puerto Rico, no logran un incremento en su tasa reproductiva; según Seín (1940) esto se debe a la escasez estacional del hospedero. Por su parte, los eulófidos son parasitoides primarios con alta probabilidad de ser hiperparasitados (Le Pelley, 1973) disminuyendo así su efectividad como controladores biológicos. Como se ha observado en *Chrysocharis nephereus* parasitoide del minador de hojas *Cameraria jacintoensis*. *C. nephereus* presenta hiperparasitismo de *Closterocerus* spp., especie que prefiere las hembras de *C. nephereus* ocasionando reducción en la efectividad de *C. nephereus* como controlador de *C. jacintoensis* (Heinz, 1996).

Gallardo (2006) presenta datos para el porcentaje de parasitismo de *M. insularis* sobre el minador del café, mostrando su relación con los niveles de lluvia. En dicho estudio, los mayores porcentajes de parasitación se presentaron en el mes de agosto y los menores porcentajes en el mes de julio. Éstos son los meses con mayor y menor pluviosidad respectivamente. Estos datos coinciden con los encontrados en este estudio, de acuerdo a los porcentajes de *M. insularis* encontrados en las zonas muestreadas. De manera que en los Barrios Río Prieto y Guilarte que presentan una precipitación anual de 1,841 mm (NOAA, 2008), se registraron las mayores frecuencias de *M. insularis* (73% y 83% respectivamente). Mientras que en el Barrio Sierra Alta que presenta una media anual de precipitación de 1,460.5 mm (NOAA, 2008), la frecuencia de *M. insularis* fue menor (47%). Estos resultados son diferentes a los encontrados por León (1997) quien establece que en los meses donde comienza la temporada de lluvia la proporción de parasitismo de *M. insularis* desciende (León, 1997).

La proporción de sexos de *M. insularis* fue de 52% machos y 48 % hembras; estos valores no presenta diferencias significativas. Es decir, que la proporción de machos y hembras encontrada en los tres barrios muestreados es 1:1. Estos valores son correspondientes a los

encontrados por Navarro (2007). Se considera que cuando los individuos están en su hábitat natural las hembras no presentan reproducción partenogénica, donde las generaciones obtenidas presentan un porcentaje mayor de machos, siendo éste el principal problema en las crianzas masivas bajo condiciones de laboratorio (Salvo y Valladares, 2007).

Los porcentajes de *M. insularis* encontrados en los tres barrios muestreados, son significativamente diferentes a los porcentajes de las tres especies de parasitoides de la familia Eulophidae ( $p=0.0002$ ), representando un porcentaje total de 67%. Se encuentra que aunque su frecuencia de emergencia en el Barrio Sierra alta (47%) es menor a la encontrada en los Barrios Río Prieto (73%) y Guilarte (83%), no existe diferencia significativa entre valores encontrados en los tres barrios muestreados ( $p=0.3793$ ). Sumado a esto, la característica de *M. insularis* como parasitoide específico de *L. coffeella* (Gallardo, com. pers.) y su adecuado establecimiento en las zonas cafetaleras de Puerto Rico (Gallardo, 2006) permiten considerar a *M. insularis* como un organismo viable para establecer un programa de control biológico del minador del café en los cafetales de Puerto Rico.

## **5.2. CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE *Mirax insularis* BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.**

Las pruebas de capacidad reproductiva mostraron la preferencia de *M. insularis* por larvas del Instar 2 del minador del café con un 7% de parasitación, mientras que en el Instar 1 solo se obtuvo el 5%. Estos datos difieren de los obtenidos por Navarro (2007) donde hubo igual preferencia del parasitoide por estos dos instares larvales. Probablemente esta diferencia 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 ovoposición de los parasitoides (Salas y Salazar,

2003). Considerando que a mayor cantidad de parasitoides mayor cantidad de posturas, lo que es igual a mayor cantidad de larvas de *L. coffeella* parasitadas en los dos instares larvales, reduciendo así, la diferencia en los valores obtenidos para cada instar.

El promedio de ovoposición de las parejas de *M. insularis* en larvas de *L. coffeella* se triplica cuando las ovoposiciones se realizan en el Instar 2, 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, éste maximiza sus ovoposiciones.

De acuerdo con Vinson e Iwantsch (1980), Brodeur et al. (1996) y Harvey (2000), la decisión de un parasitoide para ovopositar 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 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 Instar 1 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 ésta 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 Instar 3 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 ovoposición de *M. insularis* en el Instar 2 de *L. coffeella*. Según Connor y Cargain (1994) este aspecto es determinante en la relación parasitoide-minador debido al comportamiento de búsqueda. Al realizar los análisis estadísticos con los datos porcentuales se observa que sigue existiendo diferencia significativa en los dos instar inoculados. Por lo tanto, se considera que la preferencia de *M. insularis* por el segundo instar 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 Instar 2 hasta la emergencia de la crisálida. Navarro (2007) registró un periodo de 18 días entre el Instar larval 2 hasta el Instar larval 4 de *L. coffeella* y Barrera *et al.* (2006) plantean que el periodo pupal oscila entre 6 hasta 8 días.

Navarro (2007) estableció que *M. insularis* no presenta parasitación sobre los instares larvales 3 y 4 y atribuye este resultado a periodo de desarrollo y a la susceptibilidad de las larvas en Instar 1 e Instar 2 de *L. coffeella* para ser parasitadas. Se plantea que los instares larvales 3 y 4 de *L. coffeella*, presentan un sistema inmune más fuerte (Navarro 2007), como ocurre con las larvas instar 5 de *Mythimna separate* (Lepidoptera:Noctuidae) (Li *et al.*, 2006).

Con 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 ovoposición 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 braconidos endoparasitoides solitarios, en los que se han registrado promedios de ovoposición superiores a 60 huevos. Por ejemplo, Browning y Oatman (1985) señalan que *Microplitis brassicae* presenta un promedio de ovoposición de 73.2 huevos por hembra durante su largo de vida que es de 19 días en presencia del hospedero. *M. mediator* ovoposita más de 60 huevos en un periodo de 17 días (Foerster y Doetzer, 2003).

### **5.3. NIVEL DE PARASITACIÓN DE *Mirax insularis* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO.**

Se evaluó el nivel de parasitación de *M. insularis* sobre larvas de *L. coffeella* en instar larval 1 y 2. Navarro (2007) en pruebas de sincronización parasitoide-hospedero establece que estos son los estadios larvales preferidos por *M. insularis* para realizar la parasitación sin encontrar diferencias significativas en los porcentajes de parasitismo.

Los resultados de Navarro (2007) difieren de los encontrados en este ensayo. Al realizar inoculaciones con diferentes cantidades de *M. insularis* sobre larvas Instar 1 y larvas Instar 2 de *L. coffeella* se determinó que sí existe una relación entre el nivel de parasitación y el instar larval de *L. coffeella*. Empleando las mismas cantidades de parasitoides en cada instar 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 minador del café que fue de 200 adultos. Al no presentarse diferencia significativa 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 minador de café empleados.

En las parasitaciones sobre el Instar 1 de *L. coffeella* las proporciones de hembras y machos fueron semejantes a las encontradas en campo, mientras que en las inoculaciones del Instar 2 de *L. coffeella*, la cantidad de machos fue más alta. Aunque no hay estudios previos que describan reproducción partenogénica de *M. insularis*, es posible que la mayor cantidad de machos en las pruebas realizadas sobre el Instar 2 de *L. coffeella*, haya sido ocasionado por este tipo de reproducción, al quedar hembras vírgenes que producen huevos con desarrollo masculino, como ocurre con *Orgilus* spp. (Llanderal et al. 2000).

Además, es posible que las bajas emergencias de hembras en los experimentos realizados en el laboratorio estén relacionadas con el tipo de alimentación, puesto que solo se les suministró diariamente sacarosa al 10%. 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, 2006).

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 han planteado métodos como el uso de bacterias para disminuir la proporción de machos (Argov et al., 2000). Una de éstas es *Wolbachia*, 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 registran estudios respecto al uso de bacterias como mejoradoras del nivel de parasitación de especies del género *Mirax*. De acuerdo a lo expuesto por West (1998) y Tagami et al. (2006), es posible que la eficiencia de *M. insularis* como parasitoide de *L. coffeella* pueda ser incrementada al realizar crianzas masivas que implementen un conjunto de técnicas para mejorar la reproducción del parasitoide a nivel de laboratorio. Este tipo de pruebas debe ser explorado.

#### **5.4. EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE MACHOS Y HEMBRAS EMERGIDAS EN CAMPO Y LABORATORIO.**

El porcentaje de machos y hembras de *M. insularis* emergidos en campo presentó diferencias significativas respecto al porcentaje de hembras y machos obtenido en las pruebas de parasitación en laboratorio. Se establece que el porcentaje de machos y hembras emergidos en las pruebas de campo no presenta diferencias significativas. Es decir, que la proporción de hembras y machos encontrada en campo es 1:1.

Es posible 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 campo los organismos encuentran diversidad de alimentos, como néctares de diferentes plantas.

Se corrobora la superproducción de machos en crianzas bajo condiciones de laboratorio (Salvo y Valladares, 2007). Por lo tanto, se considera que el planteamiento de Argov et al. (2000), West et al. (1998) y Tagami et al. (2006) en cuanto al empleo de bacterias para reducir el porcentaje de machos y además mejorar la eficiencia de parasitismo debe ser explorado con crianzas en laboratorio de *M. insularis*.

## 6. CONCLUSIONES

1. *Mirax insularis* se encuentra establecido en las siembras de café muestreadas en los municipios de Adjuntas y Yauco, siendo la especie de parasitoide de *L. coffeella* más abundante.
2. De los municipios estudiados, el municipio con mayor presencia de *Mirax insularis* es Adjuntas (Barrio Guilarte).
3. Entre los barrios estudiados, el barrio con menor incidencia de *irax. insularis* es Sierra Alta (Yauco) y también es el que presenta mayor cantidad de *Leucoptera coffeella*.
4. Actualmente el conjunto de parasitoides del minador del café en los barrios muestreados está conformado por tres especies de eúlifidos (*Zagrammosoma* spp., *Achryscaroides* spp. y *Chrisonotomyia* spp.) y una especie de braconido (*Mirax insularis*).
5. Las cuatro especies de parasitoides del minador del café se encontraron presentes en los tres barrios muestreados.
6. La proporción de hembras y machos de *Mirax insularis* en los cultivos de café muestreados es 1:1.
7. Bajo condiciones de laboratorio *Mirax insularis* presenta un promedio de ovoposición de 14 huevos por hembra en un periodo de 48.

8. La etapa de desarrollo de *Leucoptera coffeella* más adecuado para realizar inoculaciones con *Mirax insularis* es el instar larval 2.
10. La mayor parasitación de *Mirax insularis* se da en larvas instar dos de *Leucoptera coffeella* y puede estar relacionada con el periodo adecuado para su desarrollo y viabilidad de su progenie.
11. Bajo condiciones de laboratorio la eclosión de machos de *Mirax insularis* es mayor que la encontrada en las muestras obtenidas del campo.
12. *Mirax insularis* no presenta superparasitismo ni hiperparasitismo.
13. La cantidad más adecuada para lograr un mayor nivel de parasitación de *Mirax insularis* es de 30% de adultos respecto a la cantidad de minadores de café.
14. De acuerdo con estos resultados y considerando técnicas para mejorar niveles de reproducción y longevidad de *Mirax insularis* bajo condiciones de laboratorio, será posible implementar un programa de control biológico para el minador del café en las siembras de café de Puerto Rico.

## 7. RECOMENDACIONES

1. Emplear néctar de alforfón (*Fagopyrum esculentum*) además de sacarosa al 10% para el alimento de *Mirax insularis*.
2. Probar antibióticos contra bacterias sobre *Mirax insularis* para mejorar su reproductividad y cantidad de progenie femenina fértil bajo condiciones de laboratorio.
3. Realizar liberaciones inoculativas de *Mirax insularis* periódicamente en las siembras de café de Puerto Rico.
4. Considerar los picos poblacionales de *Leucoptera coffeella* para realizar las liberaciones de *Mirax insularis*, teniendo en cuenta que a mayor densidad de hospederos mayor viabilidad del parasitoide.
5. Para optimizar la tasa reproductiva de *Mirax insularis* en crías masivas se deben renovar las plantas de café infestadas con *Leucoptera coffeella*, para proveer hospederos adecuados al parasitoide y aprovechar su capacidad fértil en su largo de vida.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

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 Journal of Entomology* 102:805-807.

Alomar, O. y R. Albajes, 2005. Control biológico de plagas: Biodiversidad funcional y gestión del agroecosistema. *Biojournal.net* (1) 10 pp. En: <http://www.biojournal.net/pdf/03.pdf>

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.

Askew, R.R. y M.R. Shaw, 1986. Parasitoid communities: their size, structure and development. En: Waage, J. & Greathead, D. (eds). *Insect Parasitoids*. Academic Press London: 225-264.

Ateyyat, M.A., 2002. Parasitoid complex of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* on lemon in the Central Jordan Valley. *BioControl* 47(1): 33-43.

Avilés, D.P. 1991. Avaliação das populações de bicho-mineiro do cafeeiro *Perileuoptera coffeella* (Lepidoptera:Lionetiidae) e seus parasitóides e predadores: Metodologias de estudo e flutuação estacional. Tesis MSc, Universidade Federal de Viçosa. Sao Paulo, Brasil. 126pp.

Bacci, L., E.J. Pereira, F.L. Fernandes, M.C. Pinaço, A.L. Crespo y M.R. Campos, 2006. Seletividade Fisiológica de Inseticidas a Vespas Predadoras (Hymenoptera: Vespidae) de *Leuoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). BioAssay 1: 10pp.

En: [www.bioassay.org.br/articles/1.10](http://www.bioassay.org.br/articles/1.10)

Barrera, J.F., R. Lomeli, J.S. Bernal, J. Herrera y E. Malo, 2006. El minador de la hoja del café: Una plaga explosiva regulada por enemigos naturales. Ecosur. México. Folleto Técnico Número 12. 4 pp. Versión del 12 de Marzo de 2008.

En: [http://plagas-cafe.tap-ecosur.edu.mx/Proyecto\\_Produce/Folletos/Minador\\_N12.pdf](http://plagas-cafe.tap-ecosur.edu.mx/Proyecto_Produce/Folletos/Minador_N12.pdf)

Brattsten, L.B., C.W. Jr. Holyoke, J.R.L. Per y K.F. Raffa. 1986. Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. Science 231:1255-1260.

Brodeur, J., J.B.F. Geervliet y L.E.M. Vet, 1996. The role of host species, age and defensive behaviour on ovipositional decisions in a solitary specialist and a gregarious generalist parasitoid (*Cotesia* species) . Entomologia Experimentalis et Applicata 81: 125-32 .

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 of the Entomological Society of America 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 (La Habana). Boletín (63), 246 pp.

CAECAFE (Comité para el Análisis de la Empresa de Café en Puerto Rico), 2000. Análisis Comprensivo de la Empresa de Café en Puerto Rico, 78 pp. Versión del 13 de Septiembre de 2008. En: <http://academic.uprm.edu/mmonroig/id57.htm>

Campos, D.F., 2001. Lista de los Géneros de Avispas Parasitoides Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) de la Región Neotropical. *Biota Colombiana* 2 (3):193-232.

Connor, E.F. y M.J. Cargain, 1994. Density related foraging behaviour in *Closterocerus tricinctus*, a parasitoid of the leaf-mining moth, *Cameraria hamadryadella*. *Ecological Entomology* 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.

Costa, C.H., 2005. Biología, dano e controle do bicho-mineiro em cultivares de café arábica. Tesis MSc. Instituto Agronómico Campinas. Sao Paulo, Brasil. 105 pp.

Cruz, A.M. y C.F. Garay, 2006. Ingreso Bruto Agrícola: Año fiscal 2005 – 2006, Puerto Rico. Departamento de Agricultura, Departamento de Estadísticas Agrícolas. 25 pp.

Fragoso, D.B., P. Jusselino, R.N. Guedes y R. Proque, 2001. Seletividade de inseticidas a vespas predadoras de *Leucoptera coffeella* (Guér.-Mènev.) (Lepidoptera: Lyonetiidae). Neotropical Entomology 30(1):139-144.

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 Entomology 32 (1): 82-84

Gallardo, F. 1987. Faunal survey of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*, parasitoids in Puerto Rico. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico 72 (2): 255-263.

Gallardo, F., 1988a. Distribution of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*, and its parasitoids in the canopy of coffee, *Coffea arabica* in Puerto Rico. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico 72(1): 141-146.

Gallardo, F., 1988b. Faunal survey of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella*, parasitoids in Puerto Rico. Journal of Agriculture of the University of Puerto-Rico 72(2): 255-263.

Gallardo, F., 1992. Augmentation of *Mirax insularis* Muesebeck. Alternative for population control of the coffee leaf miner, *Leucoptera coffeella* Guérin-Méneville, in Puerto Rico. Journal of Agriculture of the University of Puerto-Rico 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. En: Caribbean Food Crops Society. Forty Second Annual Meeting. Carolina, Puerto Rico. 42 (2):87-92.

González, M. O., 1996. Fluctuación poblacional y enemigos naturales del estado de huevo del minador de la hoja del cafeto *Leucoptera coffeella* Guerin-Meneville (Lepidoptera: Lyonetiidae). Tesis MSc. Universidad de Puerto Rico. Recinto Universitario de Mayagüez. 54 pp.

Gravena, S., 1992. Manejo ecológico de pragas do cafeeiro. Jaboticabal, Brasil, FUNEP. 30 pp.

Guerreiro, O., 2006. Coffee leafminer resistance. Brazilian Journal of Plant Physiology 18(1):109-117

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. Ecological Entomology 25(3): 267-78.

Heinz, K.M., 1996. Host size selection and sex allocation behaviour among parasitoid trophic levels. Ecological Entomology 21(3):218-226.

Hernández, S., 1972. El minador de la hoja del café. Servicio de Extensión Agrícola. Universidad de Puerto Rico. 10pp.

InfoStat., 2004. Infostat, versión 2004. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

Jiménez, A., E. Castillo y P. Lorite, 1999. Supervivencia del Himenóptero braconido *Opius concolor* Szep. Parásito de *Dacus oleae* Gmelin. En olivares de Jaén. Boletín Sanidad Vegetal (16): 97-103.

Katiyar, P. y F. Ferrer, 1968. Rearing technique, biology and sterilization of the coffee leafminer *Leucoptera coffeella* (Guer). En: Isotopes and Radiation in entomology. International Atomic Energy Agency (IAEA):165-175

Kay, I.R. y P.J. Collins., 1987. The problem of resistance to insecticides in tropical insect pests. Insect Science and its Applications 8: 715-721.

Knapp, J. L., L. G. Albrigo, H. W. Browning, R. C. Bullock, J. B. Heppner, D. G. Hall, M. A. Hoy, R. Nguyen, J. E. Peña y P. A. Stansly, 1995. Citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton. Current Status in Florida. Florida Cooperative Extension Service, IFAS. University of Florida, Gainesville. USA. 35 pp.

Kimani, E., L. Tony y G. Janny, 2002. Introduction to Coffee Management through Discovery Learning. Nairobi. 35 pp.

King, E., J. Sanford, J. Smith, y D. Martin, 1986. Augmentative release of *Lixophaga diatraeae* for reession of early-season sugarcane borer population in Louisiana. Entomophaga 26:59-69

Konnorova, E., 1982. Detección de parásitos en *Leucoptera coffeella*. Ciencia Técnica Agrícola, Café y Cacao 4(1):31-39.

Konnorova, E. y C. Murguido, 1986. Metodología de señalización del minador de la hoja del café. Centro Nacional de Sanidad Vegetal, La Habana - Cuba. 6 pp.

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 nigriceps* (Hymenoptera: Braconidae), a larval endoparasitoid of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) from early second instar to third instar larvae. Journal of Insect Physiology 52:881-887.

Legaspi, J.C. y J.V. French, 1997. The citrus Leafminer and Its Natural Enemies. The Texas A&M University System. En: <http://insects.tamu.edu/extension/bulletins/12471.html>

Legaspi, J.C., J.V. French, M.E. Schauff y J.B. Woolley, 1999. The citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in south texas: incidence and parasitism. Florida Entomologist 82(2): 305-316.

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.

Le Pelley, R.H., 1973. Coffee Insects. Annual Review of Entomology 18: 121-142.

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). Biological Control 39: 257-261.

Llanderal, C., R. Nieto y F. Ramirez, 2000. Capacidad reproductiva de *Orgilus* sp. (Hymenoptera: Braconidae) un parasitoide de *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). Agrociencia 34(1): 75-82.

Maeto, K., 1995. The genus *Mirax* (Hymenoptera, Braconidae, Miracinae) from Japan. Japan Journal of Entomology. 63(3); 649 – 656.

Mazanec, Z. 1990. The immature stages and biology of *Chrysonotomyia* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Perthida Glyphopa* Common (Lepidoptera: Incurvariidae). Australian Journal of Entomology 29: 139-146.

Mendoza, M.J., 1994. Control biológico de insectos plagas en Pichilingue. Revista Informativa del Instituto Nacional Autonomo 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.

Motte, G., 1976. Investigaciones sobre la biología y el control del minador del café (*Leucoptera coffeella* Guer) en café de sol (*Coffea arabica* var. Caturra) en Cuba. Diez Años de Colaboración Cuba-RDA. INIFAT. (ACC), La Habana – Cuba: 40-45.

Muesebeck, C., 1937. A New West Indian species of *Mirax* Holiday parasitic on the coffee leaf miner. Entomological Society of Washington 39: 139 – 141.

Nantes, J. y R. Parra, 1977. Biología de *Perileucoptera coffeella* Guérin-Mèneville (Lepidoptera:Lyonetiidae), en tres variedades de Café. Anais da Sociedade Entomol. Brasileira. 6(2):156-163.

Navarro, P., 2007. Larval stages (instars) of the coffee leafminer *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (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.

Monroig, M.F., 2008. Manual de Propagación del café. Versión del 23 de Noviembre de 2008. En: <http://academic.uprm.edu/mmonroig/id48.htm>

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. 2000.

Nixon, G.E.J., 1995. A reclassification of the tribe Microgasterini (Hymenoptera: Braconidae).  
Bulletin British Museum Natural History. (Ent.) Supplement 2: 1-284.

NOAA, 2008. COOP Rainfall data 2006 for Puerto Rico.

En: [http://www.srh.noaa.gov/sju/climatology/rainfall\\_2006.htm](http://www.srh.noaa.gov/sju/climatology/rainfall_2006.htm)

OEADA (Oficina de Estadísticas Agrícolas), 2003. Anuario Estadístico. Departamento de  
Agricultura. Puerto Rico. 161 pp.

Parra, J.R.P., 1975. Bioecologia de *Perileuoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842)  
(Lepidoptera-Lyonetiidae) em condições de campo. Piracicaba, Tesis PhD. Escola Superior de  
Agricultura "Luis de Queiroz", Sao Paulo, Brasil. 144 pp.

Parra, J.R.P., W. Gonçalves y A.A.C.M. Precetti, 1981. Fluctuação populaciona de parasitos e  
predadores de *Perileuoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 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 *Perileuoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) em Sao Paulo.  
Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 6(1):138-143

Patel, K.J. y D.J. Schuster, 1991. Temperatura dependent fecundity, longevity, and hostkilling  
activity of *Diglyphus intermedius* (Hymenoptera: Eulophidae) on third instars of *Liriomyza*  
*trifolii* (Burgess) (Diptera:Agromyzidae). Environmental Entomology 20:1195- 1199.

Paulini F. y M.C. Picanço., 1994. Notas de aula de entomología agrícola. Universidad Federal de Viçosa, Brasil. 202 pp.

Pickman, B., 1872. The white coffee-leaf miner. *The American Naturalist* 6(10): 596-607.

Pruna, P. y L. Licor, 1973. Estudio del ciclo de vida del minador de la hoja del cafeto *Leucoptera coffeella* (Guerin) (Lepidoptera: Lyonetiidae). Serie Biológica, La Habana, 45 pp.

Rauf, A., B.M. Shepard y M.W. Johnson, 2000. Leafminers in vegetables, ornamental plants and weeds in Indonesia: surveys of host crops, species composition and parasitoids. *International Journal of Pest Management* 46(4): 257-266.

Reis, P.R. y J.C. Souza, 1986. Pragas do Cafeeiro. In: Rena, A. B. et al. (Ed.). *Cultura do Cafeeiro: Fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba: Potafós, 447pp.

Reis, R.J., O.G. de Souza y E.F. Vilela, 2000. Predators Impairing the Natural Biological Control of Parasitoids. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 29(3): 507-514

Rodríguez, E.X. y E.J. Urquiola, 2000. Diagnóstico de los parasitoides asociados al grupo de insectos minadores en los cultivos de cebolla (*Allium cepa* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) en el estado Lara. Tesis Bto. Universidad Centrocidental Lisandro Alvarado. Venezuela. Decanato de Agronomía. 51pp.

Rosado, M.C., 2007. Plantas favoráveis a agentes de controle biológico. Tesis MSc. Universidade federal de Viçosa, Brasil 59pp.

Rott, A.S. y H.C.J. Godfray, 2000. The structure of a leafminer-parasitoid community. *Journal of Animal Ecology* 69(2): 274-289.

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.

Sánchez, J., 2004. La biodiversidad: un componente clave para la sostenibilidad de los agroecosistemas Cap. 4:74-93. En: *Manual de olivicultura ecológica*. Instituto de Sociología y Estudios Campesinos, Universidad de Córdoba – España. 175pp.

Seín, F., 1940. Annual report for the fiscal year 1937-1938. Puerto Rico Agricultural Experimental 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.

Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), 2008. Minador de hoja de café: Aspectos generales de la plaga. Perú. Versión de 12 de Marzo de 2008. En: [http://www.senasa.gob.pe/0/modulos/JER/JER\\_Interna.aspx?ARE=0&PFL=2&JER=915](http://www.senasa.gob.pe/0/modulos/JER/JER_Interna.aspx?ARE=0&PFL=2&JER=915)

Shaw, M. R. y T. Huddleston, 1991. Classification and biology of braconid wasp (Hymenoptera: Braconidae). Handbook of Identification Braconid Insects. Royal Entomological Society of London 7(11): 1-126.

Souza, J.C., 1979. Levantamento, identificação e eficiência dos parasitos e predadores do “bicho mineiro” das folhas do cafeeiro *Perileuoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842) (Lepidoptera:Lyonetiidae) no estado de Minas Gerais. Tesis MSc., Escola Superior de Agricultura, “Luiz de Queiroz”. Brazil. 91pp.

Souza. J., P. Reis y R. Rigitano, 1998. O bicho mineiro do cafeeiro:biologia, danos e manejo integrado. Boletim Técnico 54, EPAMIG, 48pp

Strand, M.R. y J.J. Obrycki, 1996. Host specificity of insecto parasitoids and predator. Bioscience 46(6):422-429.

Sub-estación Experimental Adjuntas (S.E.A.), 2008. Universidad de Puerto Rico.

En: <http://eea.uprm.edu/adjuntas/default.aspx>

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.

Torres, D.N. y R.A. Briceño, 2005. Riqueza, abundancia y distribución de la subfamilia Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae) en tres ecosistemas naturales de Venezuela. *Entomotrópica* 20(3): 205-211.

Valerio, A., 2007. Miracinae Holiday 1834. *Mirax* Haliday 1833. Version 11 de Mayo 2007 (bajo construcción). En: <http://tolweb.org/Mirax/23453/2007.05.11>

Vásquez, L.L., 1989. Insectos que atacan al cafeto en Cuba. Ed. CID-INISAV (Ciudad de La Habana). 38 pp.

U.S. Department of Agriculture, 2004. Census of Agriculture 2002 Puerto Rico. U.S.; NATIONAL AGRICULTURAL STATISTICS SERVICE. 302 pp. En: [http://www.agcensus.usda.gov/Publications/2002/Outlying\\_Areas/cenpr02.pdf](http://www.agcensus.usda.gov/Publications/2002/Outlying_Areas/cenpr02.pdf)

Vinson , S.B. y Iwantsch , G.F., 1980. Host suitability for insects parasitoids. *Annual Review of Entomology* 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. *Molecular Ecology* 7(11): 1457-1465.

Whitfield, J.B. y D. L. Wagner, 1991. Annotated key to the genera of Braconidae (Hymenoptera) attacking leafmining Lepidoptera in the Holarctic Region. *Journal of Natural History* 25: 733-754.

Wolcott, G, 1947. A quintessence of sensitivity: the coffee leaf miner. *Journal of Agriculture of Puerto Rico*. 31(3): 215-219.

# APÉNDICES

**Apéndice 1. Tablas de Contingencia para probar dependencia de especies por barrio muestreado. (*Leucoptera coffeella* y conjunto de parasitoides)**

**Tablas de contingencia**

Frecuencias: N. individuos

*Frecuencias absolutas*

En columnas: Especie

Barrio	Leucoptera coffeella	Parasitoides	Total
Helechales	610	424	1034
Rio Prieto	487	401	888
Sierra Alta	2256	476	2732
Total	3353	1301	4654

*Frecuencias relativas por filas*

En columnas: Especie

Barrio	Leucoptera coffeella	Parasitoides	Total
Helechales	0,59	0,41	1,00
Rio Prieto	0,55	0,45	1,00
Sierra Alta	0,83	0,17	1,00
Total	0,72	0,28	1,00

*Frecuencias esperadas*

En columnas: Especie

Barrio	Leucoptera coffeella	Parasitoides	Total
Helechales	744,95	289,05	1034,00
Rio Prieto	639,76	248,24	888,00
Sierra Alta	1968,28	763,72	2732,00
Total	3353,00	1301,00	4654,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	368,39	2	<0,0001
Chi Cuadrado MV-G2	365,45	2	<0,0001
Coef. Conting. Cramer	0,20		
Coef. Conting. Pearson	0,27		

**Apéndice 2. Análisis de Correlación de Spearman entre *Mirax insularis* y el conjunto de parasitoides de la familia Eulophidae.**

**Coefficientes de correlación**

Correlacion de Spearman: coeficientes\probabilidades

	pupas	mirax	otras especies
pupas	1,00	1,00	0,09
mirax	0,00	1,00	0,04
otras especies	0,50	-0,63	1,00

**Apéndice 3. Tablas de contingencia para hembras y machos de *Mirax insularis* encontras en cada barrio Muestreado.**

**Tablas de contingencia**

Frecuencias: No. individuos

*Frecuencias absolutas*

En columnas: *Mirax insularis*

barrio	hembras	Machos	Total
helechales	169	184	353
rio prieto	135	161	296
sierra alta	106	119	225
Total	410	464	874

*Frecuencias relativas por filas*

En columnas: *Mirax insularis*

barrio	hembras	Machos	Total
helechales	0,48	0,52	1,00
rio prieto	0,46	0,54	1,00
sierra alta	0,47	0,53	1,00
Total	0,47	0,53	1,00

*Frecuencias esperadas*

En columnas: *Mirax insularis*

barrio	hembras	Machos	Total
helechales	165,59	187,41	353,00
rio prieto	138,86	157,14	296,00
sierra alta	105,55	119,45	225,00
Total	410,00	464,00	874,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	0,34	2	0,8449
Chi Cuadrado MV-G2	0,34	2	0,8448
Coef.Conting.Cramer	0,01		
Coef.Conting.Pearson	0,02		

**Apéndice 4. Análisis de varianza para el porcentaje de hembras y machos de *Mirax insularis* emergidas en cada barrio.**

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
No. individuos	24	0,21	0,00	43,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1161,83	5	232,37	0,94	0,4807
barrio	1028,08	2	514,04	2,07	0,1548
Mirax insularis	121,50	1	121,50	0,49	0,4929
barrio*Mirax insularis	12,25	2	6,13	0,02	0,9756
Error	4464,00	18	248,00		
Total	5625,83	23			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=20,09406

Error: 248,0000 gl: 18

barrio	Medias	n
sierra alta	28,13	8 A
rio prieto	37,00	8 A
helechales	44,13	8 A

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=13,50635

Error: 248,0000 gl: 18

Mirax insularis	Medias	n
hembras	34,17	12 A
Machos	38,67	12 A

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=35,39367

Error: 248,0000 gl: 18

barrio	Mirax insularis	Medias	n
sierra alta	hembras	26,50	4 A
sierra alta	Machos	29,75	4 A
rio prieto	hembras	33,75	4 A
rio prieto	Machos	40,25	4 A
helechales	hembras	42,25	4 A
helechales	Machos	46,00	4 A

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Apéndice 5. Tablas de contingencia para establecer dependencia de las especies de parasitoides por el barrio muestreado.**

**Tablas de contingencia**

Frecuencias: No. Individuos

*Frecuencias absolutas*

En columnas: Especie

Barrio	Achrysocaroides sp.	Chrysonotomyia sp.	Mirax insularis	Zagrammosoma sp.	Total
Helechales	35	21	353	15	424
Rio Prieto	55	27	295	24	401
Sierra Alta	118	68	225	65	476
Total	208	116	873	104	1301

*Frecuencias relativas por filas*

En columnas: Especie

Barrio	Achrysocaroides sp.	Chrysonotomyia sp.	Mirax insularis	Zagrammosoma sp.	Total
Helechales	0,08	0,05	0,83	0,04	1,00
Rio Prieto	0,14	0,07	0,74	0,06	1,00
Sierra Alta	0,25	0,14	0,47	0,14	1,00
Total	0,16	0,09	0,67	0,08	1,00

*Frecuencias esperadas*

En columnas: Especie

Barrio	Achrysocaroides sp.	Chrysonotomyia sp.	Mirax insularis	Zagrammosoma sp.	Total
Helechales	67,79	37,80	284,51	33,89	424,00
Rio Prieto	64,11	35,75	269,08	32,06	401,00
Sierra Alta	76,10	42,44	319,41	38,05	476,00
Total	208,00	116,00	873,00	104,00	1301,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	143,76	6	<0,0001
Chi Cuadrado MV-G2	144,77	6	<0,0001
Coef. Conting. Cramer	0,19		
Coef. Conting. Pearson	0,32		

**Apéndice 6. Análisis de varianza para las diferentes especies de parasitoides encontrados en los tres barrios muestreados.**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
No. Individuos	12	0,90	0,87	39,54

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	135504,92	3	45168,31	24,58	0,0002
Especie	135504,92	3	45168,31	24,58	0,0002
Error	14698,00	8	1837,25		
Total	150202,92	11			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=112,07941**

Error: 1837,2500 gl: 8

Especie	Medias	n
Zagrammosoma sp.	34,67	3 A
Chrysonotomyia sp.	38,67	3 A
Achrysocaroides sp.	69,33	3 A
Mirax insularis	291,00	3 B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Apéndice 7. Análisis de varianza para presencia de *Mirax insularis* por barrio muestreado.**

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
mirax	12	0,19	0,01	42,35

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2054,00	2	1027,00	1,08	0,3793
BARRIO	2054,00	2	1027,00	1,08	0,3793
Error	8544,25	9	949,36		
Total	10598,25	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=60,83771

Error: 949,3611 gl: 9

BARRIO	Medias	n
sierra alta	56,25	4 A
rio prieto	73,75	4 A
helechales	88,25	4 A

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Apéndice 8. Análisis de Varianza y prueba T-student para pruebas de capacidad reproductiva de *Mirax insularis*, basado en valores porcentuales.**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
LEUCOPTERA	8	0,69	0,64	5,33

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	255,38	1	255,38	13,54	0,0103
TRATAMIENTO	255,38	1	255,38	13,54	0,0103
Error	113,18	6	18,86		
Total	368,56	7			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,51590

Error: 18,8633 gl: 6

TRATAMIENTO Medias n

INSTAR 2 75,90 4 A

INSTAR 1 87,20 4 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
MIRAX	8	0,50	0,42	19,79

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8,82	1	8,82	6,10	0,0485
TRATAMIENTO	8,82	1	8,82	6,10	0,0485
Error	8,68	6	1,45		
Total	17,50	7			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,08080

Error: 1,4458 gl: 6

TRATAMIENTO Medias n

INSTAR 1 5,03 4 A

INSTAR 2 7,13 4 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
NO EMERGIDAS	8	0,65	0,60	31,19

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	169,28	1	169,28	11,36	0,0150
TRATAMIENTO	169,28	1	169,28	11,36	0,0150
Error	89,42	6	14,90		
Total	258,70	7			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=6,68038

Error: 14,9025 gl: 6

TRATAMIENTO Medias n

INSTAR 1	7,78	4	A
INSTAR 2	16,98	4	B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Apéndice 9. Análisis de Varianza y Prueba T-student para pruebas de capacidad reproductiva de *Mirax insularis*, basado en valores porcentuales.**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
LEUCOPTERA	8	0,82	0,79	17,84

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	43365,13	1	43365,13	27,18	0,0020
TRATAMIENTO	43365,13	1	43365,13	27,18	0,0020
Error	9571,75	6	1595,29		
Total	52936,88	7			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=69,11808

Error: 1595,2917 gl: 6

TRATAMIENTO Medias n

INSTAR 1 150,25 4 A

INSTAR 2 297,50 4 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
MIRAX	8	0,85	0,82	26,37

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	760,50	1	760,50	32,83	0,0012
TRATAMIENTO	760,50	1	760,50	32,83	0,0012
Error	139,00	6	23,17		
Total	899,50	7			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,32920

Error: 23,1667 gl: 6

TRATAMIENTO Medias n

INSTAR 1 8,50 4 A

INSTAR 2 28,00 4 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
NO EMERGIDAS	8	0,84	0,81	34,21

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5886,13	1	5886,13	31,62	0,0014
TRATAMIENTO	5886,13	1	5886,13	31,62	0,0014
Error	1116,75	6	186,13		
Total	7002,88	7			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=23,60880

Error: 186,1250 gl: 6

TRATAMIENTO Medias n

INSTAR 1	12,75	4	A
INSTAR 2	67,00	4	B

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Apéndice 10. Tablas de Contingencia para el porcentaje de hembras y machos de *Mirax insularis* emergidos en la prueba de capacidad reproductiva.**

**Tablas de contingencia**

Frecuencias: No. Individuos

*Frecuencias absolutas*

En columnas: *Mirax insularis*

INSTAR	Hembras	Machos	Total
INSTAR 1	11	23	34
INSTAR 2	47	65	112
Total	58	88	146

*Frecuencias relativas por filas*

En columnas: *Mirax insularis*

INSTAR	Hembras	Machos	Total
INSTAR 1	0,32	0,68	1,00
INSTAR 2	0,42	0,58	1,00
Total	0,40	0,60	1,00

*Frecuencias esperadas*

En columnas: *Mirax insularis*

INSTAR	Hembras	Machos	Total
INSTAR 1	13,51	20,49	34,00
INSTAR 2	44,49	67,51	112,00
Total	58,00	88,00	146,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	1,01	1	0,3158
Chi Cuadrado MV-G2	1,02	1	0,3114
Coef. Conting. Cramer	0,06		
Coef. Conting. Pearson	0,08		
Coeficiente Phi	-0,08		

**Apéndice 11. Análisis de varianza para el porcentaje de hembras y machos de *Mirax insularis* emergidos en la prueba de capacidad reproductiva, según el instar inoculado.**

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
No. Individuos	16	0,83	0,79	13,72

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2781,82	3	927,27	19,42	0,0001
Mirax insularis	2475,06	1	2475,06	51,83	<0,0001
INSTAR	2,25	1	2,25	0,05	0,8318
Mirax insularis*INSTAR	304,50	1	304,50	6,38	0,0267
Error	573,08	12	47,76		
Total	3354,89	15			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,53013

Error: 47,7563 gl: 12

Mirax insularis Medias n

Hembras	37,94	8	A
Machos	62,81	8	B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,53013

Error: 47,7563 gl: 12

INSTAR Medias n

INSTAR 2	50,00	8	A
INSTAR 1	50,75	8	A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=14,50878

Error: 47,7563 gl: 12

Mirax insularis INSTAR Medias n

Hembras	INSTAR 1	33,95	4	A
Hembras	INSTAR 2	41,93	4	A
Machos	INSTAR 2	58,08	4	B
Machos	INSTAR 1	67,55	4	B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

**Apéndice 11. Análisis de varianza y test de Tukey para prueba de Nivel de parasitación de *Mirax insularis*. Variable *Leucoptera coffeella*.**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
LEUCOPTERA	32	0,21	0,00	51,10

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	88055,22	7	12579,32	0,90	0,5218
INSTAR	15094,53	1	15094,53	1,08	0,3088
TRATAMIENTO	65942,59	3	21980,86	1,57	0,2215
INSTAR*TRATAMIENTO	7018,09	3	2339,36	0,17	0,9172
Error	335092,25	24	13962,18		
Total	423147,47	31			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=86,22847

Error: 13962,1771 gl: 24

INSTAR	Medias	n
INSTAR 2	209,50	16 A
INSTAR 1	252,94	16 A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=162,96995

Error: 13962,1771 gl: 24

TRATAMIENTO	Medias	n
80	163,38	8 A
60	216,50	8 A
20	269,75	8 A
40	275,25	8 A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=276,73460

Error: 13962,1771 gl: 24

INSTAR	TRATAMIENTO	Medias	n
INSTAR 1	80	159,50	4 A
INSTAR 2	80	167,25	4 A
INSTAR 2	60	184,75	4 A
INSTAR 2	20	239,75	4 A
INSTAR 2	40	246,25	4 A
INSTAR 1	60	248,25	4 A
INSTAR 1	20	299,75	4 A
INSTAR 1	40	304,25	4 A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

**Apéndice 12. Análisis de varianza y test de Tukey para prueba de Nivel de parasitación de *Mirax insularis*. Variable *Mirax insularis*.**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
MIRAX	32	0,77	0,71	42,28

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	35931,72	7	5133,10	11,59	<0,0001
INSTAR	11438,28	1	11438,28	25,82	<0,0001
TRATAMIENTO	13640,59	3	4546,86	10,26	0,0002
INSTAR*TRATAMIENTO	10852,84	3	3617,61	8,17	0,0006
Error	10631,75	24	442,99		
Total	46563,47	31			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=15,35928

Error: 442,9896 gl: 24

INSTAR	Medias	n
INSTAR 1	30,88	16 A
INSTAR 2	68,69	16 B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=29,02871

Error: 442,9896 gl: 24

TRATAMIENTO	Medias	n
20	23,25	8 A
40	36,75	8 A B
60	64,63	8 B C
80	74,50	8 C

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=49,29282

Error: 442,9896 gl: 24

INSTAR	TRATAMIENTO	Medias	n
INSTAR 1	20	22,25	4 A
INSTAR 2	20	24,25	4 A
INSTAR 1	80	29,00	4 A
INSTAR 1	40	34,25	4 A
INSTAR 1	60	38,00	4 A
INSTAR 2	40	39,25	4 A
INSTAR 2	60	91,25	4 B
INSTAR 2	80	120,00	4 B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

**Apéndice 13. Análisis de varianza para el porcentaje de emergencia de hembras y machos de *Mirax insularis* considerando el muestras de campo y laboratorio.**

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Porcentaje	14	0,91	0,88	7,44

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1354,50	3	451,50	32,60	<0,0001
Sexo	850,50	1	850,50	61,41	<0,0001
Prueba	0,00	1	0,00	0,00	>0,9999
Sexo*Prueba	325,93	1	325,93	23,53	0,0007
Error	138,50	10	13,85		
Total	1493,00	13			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,43225

Error: 13,8500 gl: 10

Sexo	Medias	n
hembra	42,13	7 A
macho	57,88	7 B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,45516

Error: 13,8500 gl: 10

Prueba	Medias	n
Campo	50,00	6 A
Laboratorio	50,00	8 A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,65200

Error: 13,8500 gl: 10

Sexo	Prueba	Medias	n
hembra	Laboratorio	37,25	4 A
hembra	Campo	47,00	3 B
macho	Campo	53,00	3 B
macho	Laboratorio	62,75	4 C

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)