

PARASITISMO NATURAL E INDUCIDO DE *Anagyrus kamali* SOBRE LA COCHINILLA ROSADA EN BROTES DE TECA, EN BAHÍA DE BANDERAS, NAYARIT

NATURAL AND INDUCED PARASITISM OF *Anagyrus kamali* AGAINST PINK HIBISCUS MEALYBUG ON TEAK SHOOTS IN BAHÍA DE BANDERAS, NAYARIT

Félix García-Valente¹, Laura D. Ortega-Arenas^{1*}, Héctor González-Hernández¹, Juan A. Villanueva-Jiménez², José López-Collado², Alejandro González-Hernández³, Hugo C. Arredondo-Bernal⁴

¹Entomología, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (ladeorar@colpos.mx). ²Agroecosistemas Tropicales, Campus Veracruz, Colegio de Postgraduados. 91700. Veracruz, Veracruz. ³Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. 66450. San Nicolás de los Garza, Nuevo León. ⁴Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. 28120. Tecmán, Colima.

RESUMEN

El parasitoide *Anagyrus kamali* Moursi se utiliza en programas de control biológico de la cochinilla rosada del hibisco (CRH), *Maconellicoccus hirsutus* Green; sin embargo, se requieren estudios detallados sobre su impacto en condiciones de campo. En el presente estudio se evaluó el parasitismo natural e inducido de *A. kamali* sobre CRH en brotes de teca, cubiertos con bolsas de tela de organza en condiciones de campo, en Bahía de Banderas, Nayarit, México. Los tratamientos fueron: 1) exclusión de enemigos naturales; 2) parasitismo natural; 3) parasitismo inducido (*A. kamali*). El efecto de los tratamientos se determinó registrando la cantidad de ninfas, hembras adultas y ovisacos de la CRH, así como el número de momias de los parasitoides, 15 y 30 d después de establecidos los tratamientos. El parasitoide *A. kamali* reguló el crecimiento poblacional de la CRH en los brotes de teca cubiertos con bolsas de tela de organza en condiciones de campo. La disminución promedio de la plaga fue 96.5 % en 30 d. El parasitismo natural fue incipiente en la regulación de la plaga, y no evitó su incremento, lo cual se atribuye a la interferencia de las hormigas y al impacto negativo de los hiperparasitoides.

Palabras Clave: *Anagyrus kamali*, *Tectona grandis*, *Maconellicoccus hirsutus*, control biológico, piojos harinosos.

INTRODUCCIÓN

La cochinilla rosada del hibisco (CRH) es nativa del sur de Asia o Australia (Roltsch *et al.*, 2000) y se distribuye en regiones tropicales y

ABSTRACT

The parasitoid *Anagyrus kamali* Moursi is used in biological control programs against Pink Hibiscus Mealybug (PHM) *Maconellicoccus hirsutus* (Green). However, detailed studies on its impact in field conditions are needed. This study evaluated natural and induced parasitism of *A. kamali* against PHM on teak shoots covered with organza sleeves under field conditions in Bahía de Banderas, Nayarit, México. The treatments were 1) exclusion of natural enemies, 2) natural parasitism, and 3) induced parasitism (*A. kamali*). The effect of the treatments was determined by recording the numbers of PHM nymphs, adult females and ovisacs as well as the number of parasitoid mummies 15 and 30 d after treatments were established. The parasitoid *A. kamali* regulated the population growth of PHM on the sprouts covered with organza sleeves under field conditions. The average reduction of the pest was 96.5 % in 30 d. Natural parasitism was negligible in regulating the pest and did not prevent its increase; this was attributed to interference of ants and to the negative impact of hyperparasitoids.

Key words: *Anagyrus kamali*, *Tectona grandis*, *Maconellicoccus hirsutus*, biological control, mealybugs.

INTRODUCTION

The pink hibiscus mealybug (PHM) is native to southern Asia or Australia (Roltsch *et al.*, 2000) and is distributed in tropical and subtropical regions over the world (Sagarra and Peterkin, 1999). It affects more than 200 host species belonging to 70 plant families (Padilla, 2000; Meyerdirk *et al.*, 2003) and causes economic losses

*Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Junio, 2008. Aprobado: Mayo, 2009.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 43: 729-738. 2009.

subtropicales del mundo (Sagarra y Peterkin, 1999). Afecta a más de 200 hospederos incluidos en 70 familias de plantas (Padilla, 2000; Meyerdirk *et al.*, 2003) y ocasiona problemas económicos por el daño directo en las plantas hospederas y por su importancia como plaga cuarentenaria (Kairo *et al.*, 2000; Cermeli *et al.*, 2002). Los métodos de combate físicos y químicos tienen un éxito limitado en el control de la CRH (Cermeli *et al.*, 2002; Persad y Khan, 2002). Sin embargo, en su hábitat nativo la CRH es raramente una plaga y se mantiene en niveles bajos sin causar daño económico debido a la presencia de enemigos naturales eficientes (Goolsby *et al.*, 2002).

Anagyrus kamali Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae) es un parasitoide usado en programas internacionales para el control biológico de la CRH. Se introduce junto con otros enemigos naturales como los depredadores *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant y *Scymnus coccivora* Ramakrishna Ayyar (Coleoptera: Coccinellidae) y los parasitoides *Giranoidea indica* Shafee, Alam y Agarwal (Hymenoptera: Encyrtidae) y *Allotropa* sp. nr. *mecriidae* (Hymenoptera: Platygasteridae). Hay resultados exitosos en Egipto (Bartlett, 1978; Abd-Rabou, 2005), en Antigua y Barbuda, Bahamas, Barbados, Dominica, Grenada, Jamaica, St. Kitts y Nevis, St. Thomas, St. Vincent y Granadinas, Sta. Lucia, Trinidad y Tobago, US Islas Vírgenes (Sagarra y Peterkin, 1999; Kairo *et al.*, 2000; Gautam, 2003), Puerto Rico (Michaud y Evans, 2000; Sermeño y Navarro, 2000) y California, EE.UU. (Roltsch *et al.*, 2006), atribuidos principalmente a la actividad de *A. kamali*. Esta especie es un endoparasitoide solitario que también como adultos se alimenta de su huésped, contribuyendo a la mortalidad de la CRH (Kairo *et al.*, 2000). Este insecto parasita ninfas de segundo y tercer instar, pero prefiere a las hembras adultas y pone un promedio de 40-60 huevos durante su vida (Sagarra y Vincent, 1999; Sagarra *et al.*, 2001). Se liberan en promedio 1500 a 2000 individuos, cuando las poblaciones de la CRH son bajas (menor a 10 CRH/brote de 5 cm). El resultado de control se puede apreciar en las poblaciones de la CRH de 6 a 8 meses después de su liberación (Santiago-Islas *et al.*, 2008).

En México la CRH se detectó en 1999 en Mexicali, Baja California (Roltsch *et al.*, 2000), y en 2004 en Bahía de Banderas, Nayarit y Puerto Vallarta, Jalisco (SAF, 2004). Por tanto, el gobierno mexicano, con base en los resultados exitosos de programas de

through direct damage of host plants and because it is an important quarantine pest (Kairo *et al.*, 2000; Cermeli *et al.*, 2002). Physical and chemical methods used to combat have had limited success in controlling PHM (Cermeli *et al.*, 2002; Persad and Khan, 2002). However, in its native habitat, PHM is rarely a pest; its population is kept low causing no economic damage because of the presence of efficient natural enemies (Goolsby *et al.*, 2002).

Anagyrus kamali Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae) is parasitoid used in international programs for biological control of PHM. It is introduced together with other natural enemies such as the predator *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant and *Scymnus coccivora* Ramakrishna Ayyar (Coleoptera: Coccinellidae) and the parasitoids *Giranoidea indica* Shafee, Alam and Agarwal (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Allotropa* sp. nr. *mecriidae* (Hymenoptera: Platygasteridae). Successful results in Egypt (Bartlett, 1978; Abd-Rabou, 2005), in Antigua and Barbuda, the Bahamas, Barbados, Dominique, Grenada, Jamaica, St. Kitts and Nevis, St. Thomas, St. Vincent and the Grenadines, Santa Lucia, Trinidad and Tobago, the US Virgin Islands (Sagarra and Peterkin, 1999; Kairo *et al.*, 2000; Gautam, 2003), Puerto Rico (Michaud and Evans, 2000; Sermeño and Navarro, 2000), and California, USA (Roltsch *et al.*, 2006), have been reported, attributing success mainly to the activity of *A. kamali*. This species is a solitary endoparasitoid that, in its adult stage, also feeds on its host, thus contributing to mortality of PHM (Kairo *et al.*, 2000). *A. kamali* parasitizes second and third instar nymphs, but prefers female adults. It lays an average of 40 to 60 eggs during its life (Sagarra and Vincent, 1999; Sagarra *et al.*, 2001). An average of 1500 to 2000 individuals are released when PHM populations are low (fewer than 10 PHM/5 cm shoot). The result of its control of PHM can be seen 6 to 8 months after release (Santiago-Islas *et al.*, 2008).

In México PHM was detected in Mexicali, Baja California (Roltsch *et al.*, 2000) and in 2004 in Bahía de Banderas, Nayarit and Puerto Vallarta, Jalisco (SAF, 2004). Therefore, on the basis of the successful results of biological control programs in other countries, the Mexican government released the predator *C. montrouzieri* and the parasitoid *A. kamali*, together with two introductions of the

control biológico en otros países, implementó la liberación del depredador *C. montrouzieri* y el parasitoide *A. kamali* para el control de la CRH, con dos introducciones del parasitoide *G. indica*, en los estados de Nayarit y Jalisco (Santiago-Islas *et al.*, 2008).

Las poblaciones de CRH han disminuido, pero se necesita estudiar en condiciones de campo la contribución relativa de cada uno de los enemigos naturales liberados para controlar la CRH (Kairo *et al.*, 2000). Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el parasitismo natural e inducido de *A. kamali* sobre *M. hirsutus*, en brotes de teca *Tectona grandis* L. (Verbenaceae) infestados artificialmente con CRH en Bahía de Banderas, Nayarit.

MATERIALES Y MÉTODO

Este trabajo se hizo en 7 ha de una plantación de teca, principal hospedero de la CRH en Nayarit, con una edad de 6 años, ubicada a 20° 45' 16" N y 105° 16' 47" O, en el ejido San Vicente, municipio de Bahía de Banderas, de febrero a mayo de 2006.

Dada la importancia cuarentenaria de la CRH, las pruebas se hicieron en bolsas de tela de organza para prevenir la diseminación de la plaga. Se seleccionaron 40 árboles de teca y en cada uno se seleccionó un brote (longitud 15 a 20 cm) con hojas terminales (5 cm) a una altura de 1.2 a 1.5 m. En cada brote se eliminaron los insectos con un pincel y después el brote se cubrió con una bolsa de tela de organza de 50×60 cm. Ovisacos de CRH fueron recolectados en frutos de guanábana de una plantación localizada en el ejido de la Cruz de Huanacastle, municipio de Bahía de Banderas, a 5 km de la plantación de teca. Los ovisacos se revisaron en el laboratorio con un microscopio para eliminar huevos de insectos depredadores y piojos harinosos diferentes a la CRH y se aislaron en cápsulas de gelatina. Cada brote de teca se infestó con tres ovisacos de CRH, colocados entre las dos hojas terminales, antes de cerrar las bolsas de organza.

La densidad de ninfas de CRH por brote se calculó con un conteo 15 d después de la emergencia. En esta ocasión se eliminaron los brotes con mielecilla, fumagina y contaminación por otros piojos harinosos, y se seleccionaron 18 brotes para continuar con las observaciones.

Se evaluaron tres tratamientos 9 d después del conteo inicial, sobre ninfas de tercer instar y adultos de CRH: 1) mantener las bolsas cerradas para registrar el crecimiento poblacional de la CRH, sin la presencia de enemigos naturales que afectaran su desarrollo (exclusión de enemigos naturales) (testigo); 2) abrir las bolsas en el extremo superior para permitir el libre acceso de los enemigos naturales de CRH presentes en la plantación (parasitismo natural); 3) introducir en las bolsas tres hembras y tres

parasitoid *G. indica*, in the states of Nayarit and Jalisco (Santiago-Islas *et al.*, 2008).

The PHM populations have decreased, but it is necessary to study the relative contribution of each of the released natural enemies to control PHM under field conditions (Kairo *et al.*, 2000). Thus, the objective of this study was to evaluate natural and induced parasitism of *A. kamali* against *M. hirsutus* on teak shoots *Tectona grandis* L. (Verbenaceae) artificially infested with PHM in Bahía de Banderas, Nayarit.

MATERIALS AND METHODS

This study was conducted from February to May 2006 on a 6-year-old 7 ha plantation of teak, principal host of PHM in Nayarit, located at 20° 45' 16" N and 105° 16' 47" W in the San Vicente Ejido, municipality of Bahía de Banderas.

Given the importance of the PHM in quarantine programs, the tests were conducted in sleeves to prevent the dissemination of the pest. Forty teak trees were selected and on each tree one shoot (15 to 20 cm long) at a height of 1.2 to 1.5 m with terminal leaves (5 cm) were selected. Insects were removed with a paint brush from each shoot, which were then covered with organza sleeves 50×60 cm. PHM ovisacs were collected from soursoop fruits on a plantation located in the Ejido Cruz de Huanacastle, Municipality of Bahia de Banderas, 5 km from the teak plantation. The ovisacs were examined under a microscope to eliminate predator insect eggs and mealybugs different from PHM and isolated in gelatin capsules. Each teak shoot was infested with three PHM ovisacs placed between two terminal leaves before closing the organza sleeves.

The number of PHM nymphs per shoot was counted 15 d after emergence. On this occasion the shoots with honeydew, black sooty mold and other mealybugs were removed, and 18 shoots were selected to continue the observations.

Nine d after initial count of third PHM instar nymphs and adults, three treatments were established: 1) sleeves kept closed to record PHM population growth without the presence of natural enemies that would affect its development (exclusion of natural enemies-control); 2) sleeves open at the upper end to allow free access of natural enemies of PHM present in the plantation (natural parasitism); 3) introduction of three two-day-old females and three two-day-old males of the parasitoid *A. kamali* into the sleeves, which were then kept closed (induced parasitism). The parasitoids were obtained in the Laboratory for Reproduction of Beneficial Organisms in the municipality of Bahía de Banderas, operated by the Area of Biological Control of the campaign against PHM.

machos del parasitoide *A. kamali*, de 2 d de emergidos, las cuales se mantuvieron cerradas (parasitismo inducido). Los parasitoides se obtuvieron del Laboratorio de Reproducción de Organismos Benéficos en el municipio de Bahía de Banderas, operado por el Área de Control Biológico de la Campaña Contra la CRH.

En cada brote de teca se registró la cantidad de ninfas, hembras adultas y ovisacos de CRH, 15 y 30 d después de iniciar los tratamientos. En los brotes donde se permitió el acceso de enemigos naturales y aquéllos donde se liberó el parasitoide, también se cuantificó el número de momias de *A. kamali* y de otros parasitoides. En el segundo conteo (30 d) además se recolectaron las momias de los insectos parasitados y se colocaron en cápsulas de gelatina a temperatura ambiente (28 ± 2 °C) en el laboratorio; los parasitoides emergidos fueron conservados en alcohol al 70 %. También se recolectaron los depredadores observados en los brotes infestados. Los conteos se realizaron cuidadosamente para no dañar los brotes y evitar introducción o fuga de insectos.

El diseño experimental fue completamente al azar y la unidad experimental fue un brote de teca con un promedio inicial de 250.1 ± 56.1 CRH, con seis repeticiones por tratamiento. Los conteos poblacionales de CRH (ninfas y hembras) se analizaron con el procedimiento MIXED para mediciones repetidas en el tiempo, con la estructura de covarianza ARH(1) seleccionada de acuerdo con los criterios AICC (Criterio de Información de Akaike) y BIC (Criterio de Información Bayesiano) (Litell *et al.*, 1998; SAS Institute, 2004). Se utilizó la opción LSMEANS para calcular las medias por mínimos cuadrados (por tratamiento, por tiempo e interacción), y la opción SLICE para realizar pruebas de efectos simples de los tratamientos para cada fecha de muestreo. Además, se comparó el efecto de los tratamientos sobre la densidad poblacional de CRH mediante contrastes usando SAS 9.1 (SAS Institute, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El parasitoide *A. kamali* disminuyó la población de CRH (Figura 1) en los brotes de teca 30 d después de su inclusión en las bolsas ($F=6.17$; gl 2, 45; $p=0.004$); en contraste, la población de CRH aumentó en los brotes donde se excluyó a los enemigos naturales y en aquéllos donde se permitió su libre acceso. También hubo diferencia en la densidad poblacional de CRH a los 15 y 30 d ($F=5.57$; gl 2, 45; $p=0.006$), así como interacción entre los tratamientos y los tres períodos de registro ($F=2.38$; gl 4, 45; $p=0.065$).

En el conteo 15 d después de establecer los tratamientos (Figura 1) hubo una disminución general de

The number of PHM nymphs, adult females and ovisacs were counted 15 and 30 d after beginning the treatments. In the shoots where natural enemies were given entrance and those where the parasitoid was released, the number of *A. kamali* and other parasitoid mummies was also quantified. In the second count (30 d) mummies of the parasitoid insects were also collected and placed in gelatin capsules at room temperature (28 ± 2 °C) in the laboratory; emerged parasitoids were conserved in 70 % alcohol. In addition, predators found on the infested shoots were also collected. The counts were done carefully so as not to damage shoots and to prevent introduction or escape of insects.

The experimental design was completely randomized and the experimental unit was one teak shoot with an initial average of 250.1 ± 56.1 PHM; treatments were replicated six times. The PHM population counts (nymphs and females) were analyzed with the MIXED procedures for measurements repeated over time, with the structure of covariance ARH(1) selected in accord with the AICC (Akaike Information Criteria) and BIC (Bayesian Information Criteria) (Litell *et al.*, 1998; SAS Institute, 2004). The LSMEANS option was used to calculate the means by minimum squares (per treatment, time and interaction), and the option SLICE for tests of simple effects of the treatments for each sampling date. In addition, treatment effects on PHM population density were compared by contrasts using SAS 9.1 (SAS Institute, 2004).

RESULTS AND DISCUSSION

The parasitoid *A. kamali* decreased PHM population (Figure 1) on teak shoots 30 d after its

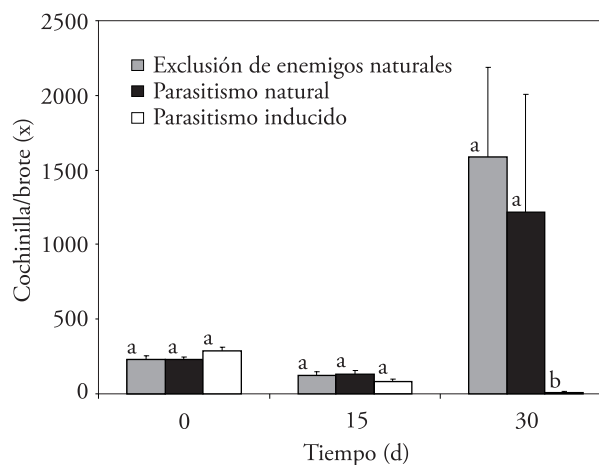


Figura 1. Densidad promedio de CRH (ninfas y adultos) en brotes de teca, después de establecer los tratamientos.

Figure 1. Average PHM population density (nymphs and adults) on teak shoots after treatment establishment.

CRH. En los brotes sin presencia de enemigos naturales la población disminuyó 47.3 %, y en aquéllos donde se permitió el acceso de los enemigos naturales la disminución fue 40.9 %. En cambio, la mayor reducción (72.3 %) se registró en los brotes donde se liberó el parasitoide *A. kamali*. En los tres casos, ~50 % de la reducción se atribuye a la mortalidad natural de los machos de la CRH, ya que tienen el aparato bucal atrofiado y viven pocos días; además, la relación sexual es aproximadamente 0.40 machos por 0.60 hembras (Sagarra y Vincent, 1999; Persad y Khan, 2002; Meyerdirk *et al.*, 2003).

En los brotes con bolsa cerrada, sin presencia de enemigos naturales y en el tratamiento donde se liberó *A. kamali*, se observó abundante mielecilla excretada por la CRH, la cual ocasionó un rápido desarrollo de fumagina que pudo interferir con el crecimiento adecuado de la CRH y la actividad de los parasitoides. Al respecto, González-Hernández *et al.* (1999) reportan que *Pheidole megacephala* (F.) (Hymenoptera: Formicidae) ayuda a remover excesos de mielecilla producida por el piojo harinoso de la piña *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae), de lo contrario esto provoca la muerte de los estados ninfales móviles de esa especie. Sin embargo, en el tratamiento de parasitismo inducido el promedio de momias por brote fue 11.1, es decir, la actividad de *A. kamali* fue responsable de la disminución de la población en 22 %. La disminución de CRH en este estudio fue menor que el 79.3 % de reducción registrado en ramas de hibisco *Hibiscus rosa-sinensis* L. (Malvaceae), en Trinidad y Tobago, principalmente por la actividad del parasitoide *A. kamali* 19 d después de liberado, aunque también se observó la presencia del depredador *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae) (Morais, 1998). En el presente estudio en los brotes donde se permitió acceso de los enemigos naturales el promedio de momias por brote fue 3.6, aunque también se detectó la presencia del depredador *Diomus* sp. (Coleoptera: Coccinellidae). El control ejercido por estos enemigos naturales contribuyó de forma incipiente en la reducción de la plaga. En estos brotes se observaron hormigas que realizaban labores de limpieza que no permitieron la acumulación de mielecilla ni el desarrollo de fumagina, además de interferir con la actividad de los enemigos naturales.

En el conteo a los 30 d se registró una diferencia importante en la densidad poblacional de CRH entre

inclusion in the sleeves ($F=6.17$; $df\ 2, 45$; $p=0.004$). In contrast, the PHM population increased on shoots where natural enemies were excluded and on those where free access of natural enemies was permitted. There were also differences in PHM population density at 15 and 30 d ($F=5.57$; $df\ 2, 45$; $p=0.006$) as well as between treatments and among the three periods recorded ($F=2.38$; $df\ 4, 45$; $p=0.065$).

In the count 15 d after establishing the treatments (Figure 1), there was a general decrease of PHM. On the shoots without natural enemies population decreased 47.3 %, and on those where natural enemies were permitted access the decrease was 40.9 %. In comparison, the largest reduction (72.3 %) was recorded on the shoots where the parasitoid *A. kamali* was included. In the three cases ~50% of the reduction was attributed to natural mortality of the PHM males, which have an atrophied mouth apparatus and live only a few days; moreover, the sex ratio is approximately 0.40 males to 0.60 females (Sagarra and Vincent, 1999; Persad and Khan, 2002; Meyerdirk *et al.*, 2003).

On the shoots in closed sleeves, without natural enemies, and in the treatment in which *A. kamali* was released, abundant honeydew excreted by PHM was observed; this provoked rapid development of black sooty mold which could have interfered with adequate growth of PHM and with parasitoid activity. In this respect, González-Hernández *et al.* (1999) report that *Pheidole megacephala* (F.) Hymenoptera: Formicidae helps to remove excess honeydew produced by the pineapple mealybug *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae); otherwise, it would cause death of the nymphs in the mobile stages of this species. However, with the treatment of induced parasitism, the average number of mummies per shoot was 11.1; that is, the activity of *A. kamali* was responsible for a 22 % decrease in the population. The reduction of PHM in our study was smaller than the 79.3 % recorded in hibiscus *Hibiscus rosa-sinensis* L. (Malvaceae) branches in Trinidad and Tobago, due mainly to activity of *A. kamali* 19 d after release, even with the presence of the predator *Cycloneda sanguinea* (L.) Coleoptera: Coccinellidae (Morais, 1998). In our study, in the shoots where natural enemies were permitted access the average number of mummies per shoot was 3.6, although the presence of *Diomus* sp. (Coleoptera: Coccinellidae) was also detected. The control exerted

los tratamientos (Figura 1). La mayor población ocurrió en los brotes sin enemigos naturales y fue 6.7 veces mayor que la densidad inicial, constituida por 96.8 % de ninfas, 0.6 % de hembras y 2.5 % de ovisacos. Esto manifiesta la alta capacidad reproductiva y de adaptación de la CRH que, de no presentarse un factor que regule sus poblaciones, puede afectar seriamente a sus hospederas preferenciales (teca, *Tectona grandis* L.; hibisco, *Hibiscus rosa-sinensis*; guanábana, *Annona muricata* L.). En Egipto la CRH causó daños severos sobre *Hibiscus* spp. (Malvaceae) (incluyendo algodón, *Gossypium* sp.), mora (*Rubus glaucus*) y otros hospederos (Bartlett, 1978; Sagarra y Peterkin, 1999). En Puerto Rico, las infestaciones iniciales de CRH ocasionaron que 80 % de los brotes de hibisco murieran en poco tiempo (Michaud y Evans, 2000).

La misma tendencia de crecimiento de la CRH se presentó en los brotes donde se permitió a los enemigos naturales libre acceso y fue estadísticamente similar a la población del tratamiento sin enemigos naturales. La población del tratamiento con parasitismo natural fue 5.3 veces mayor que la densidad inicial, constituida por 99.8 % de ninfas, 0.01 % de hembras adultas y 0.1 % de ovisacos. Por tanto, la actividad de los enemigos naturales presentes no redujo significativamente el crecimiento poblacional de CRH, ya que a pesar de ser menor a la registrada en el tratamiento testigo, no se evitó su incremento.

Un factor detrimental a la actividad de los enemigos naturales pudo ser la alta población de hormigas, observada en 50 % de los brotes. Las hormigas protegen a los piojos harinosos de sus enemigos naturales, a cambio de tomar la mielecilla que excretan. Esta simbiosis interfiere en la efectividad de los enemigos naturales (Bartlett, 1978; González-Hernández *et al.*, 1999). Según Bach (1991), la hormiga cabezona *P. megacephala* presenta una relación mutualista con la escama *Coccus viridis* Green (Hemiptera: Coccidae); las poblaciones más altas de la escama estuvieron en plantas de *Pluchea indica* (L.) (Asteraceae) con hormigas y además, la tasa de mortalidad por parasitismo y otros factores fue muy baja. En plantaciones de piña (*Ananas comosus*) los piojos harinosos *Dysmicoccus brevipes* y *D. neobrevipes* (Beardsley) son atendidos por varias especies de hormigas, principalmente *P. megacephala*, las cuales interfieren en la actividad del parasitoide *Anagyrus ananatis* Gahan (González-Hernández *et al.*, 1999). En el presente trabajo, a pesar de la presencia de hormigas y de los hiperparasitoides

by these natural enemies contributed negligibly to decreasing the pest. On these shoots, ants were observed carrying out activities of cleaning, which prevented accumulation of honeydew or the development of black sooty mold and interfered with the activity of natural enemies.

The 30 d count showed a major difference in PHM population density among the treatments (Figure 1). The highest population, comprising 96.8 % nymphs, 0.6 % females and 2.5 % ovisacs, occurred on the shoots without natural enemies, 6.7 times higher than initial density. This evidences PHM's large capacity for reproduction and adaptation that, without a factor to regulate its population, can seriously affect its preferred hosts (teak, *Tectona grandis* L.; hibiscus, *Hibiscus rosa-sinensis*; soursop *Annona muricata* L.). In Egypt PHM caused severe damage to *Hibiscus* spp. (Malvaceae), as well as to cotton *Gossypium* sp., Andes berry (*Rubus glaucus*) and other hosts (Bartlett, 1978; Sagarra and Peterkin, 1999). In Puerto Rico, initial PHM infestations caused the quick death of 80 % of the hibiscus shoots (Michael and Evans, 2000).

The same population growth trend occurred on shoots to which free access of its natural enemies was permitted and was statistically similar to that of the population of the treatment without natural enemies. The population with the natural parasitism treatment had a density 5.3 times higher than its initial density; of this population, 99.8 % were nymphs, 0.01 % were adult females, and 0.1 % were ovisacs. Therefore, the activity of natural enemies did not significantly reduce PHM population growth, which, although lower than that recorded for the control treatment, was not hindered.

A factor that could have had a detrimental effect on the activity of natural enemies may have been the high ant population observed on 50 % of the shoots. Ants protect mealybugs from their natural enemies in exchange for the honey-like substance they excrete. This symbiosis interferes with the effectiveness of natural enemies (Bartlett, 1978; González-Hernández *et al.*, 1999). According to Bach (1991), the ant *P. megacephala* has mutualistic relationship with *Coccus viridis* Green (Hemiptera: Coccidae); the highest populations of the scales were found with ants on *Pluchea indica* (L.) (Asteraceae), and moreover, the mortality rate from parasitism and other factors was very low. In pineapple (*Ananas comosus*) plantations the mealybugs *Dysmicoccus brevipes* and *D. neobrevipes*

Signiphora sp., *Chartocerus* sp. (Hymenoptera: Signiphoridae), *Cheiloneurus* sp., *Prochiloneurus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae) y *Aprostocetus minutus* Howard (Hymenoptera: Eulophidae), el parasitismo natural registrado fue 64.0 momias por brote 30 d después de abrir las bolsas de organza, lo cual sugiere que los parasitoides respondieron al aumento poblacional de la CRH. También se registró un menor promedio de ovisacos por brote en comparación con el testigo, lo cual afectó el potencial reproductivo de la CRH; esto último pudo ser ocasionado por la actividad de los depredadores coccinélidos observados (*Diomus* sp.).

Los parasitoides adultos observados en los brotes con bolsa abierta durante el estudio fueron *A. kamali* y *G. indica*. En el conteo realizado a los 30 d hubo 61.1 y 5.9 % de adultos de *A. kamali* y *G. indica*; sin embargo, en el material colocado en cápsulas de gelatina la proporción de parasitoides primarios emergidos fue baja (Figura 2) y no se presentó *G. indica*. Esto último debido a que las poblaciones de la CRH en Bahía de Banderas, Nayarit son bajas principalmente por la acción reguladora de *A. kamali* liberado anteriormente (Santiago-Islas *et al.*, 2008).

La actividad de los parasitoides primarios en el control de la CRH fue alterada por los hiperparasitoides nativos (Figura 2). Roltsch *et al.* (2006) reportan que durante el segundo año del programa de control de la CRH en California, EE.UU., el impacto de los hiperparasitoides nativos como *Marrieta* sp. (Hymenoptera: Aphelinidae) y *Chartocerus* sp., sobre las especies de parasitoides primarios

(Beardsley) are attended by several ant species, mainly *P. megacephala*, which interfere with the activity of the parasitoid *Anagyrus ananatis* Gahan (González-Hernández *et al.*, 1999). In our study, in spite of the presence of ants and hyperparasitoids (*Signiphora* sp., *Chartocerus* sp. (Hymenoptera: Signiphoridae), *Cheiloneurus* sp., *Prochiloneurus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae), and *Aprostocetus minutus* Howard (Hymenoptera: Eulophidae), the recorded natural parasitism was 64.0 mummies per shoot 30 d after opening the organza sleeves. This suggests that the parasitoids responded to PHM population increase. Also, a lower average number of ovisacs per shoot than in the control treatment was recorded, evidence that the reproductive potential of PHM was affected; this could have been due to the activity of coccinellid predators (*Diomus* sp.) observed.

The adult parasitoids observed on the shoots in open sleeves during the study were *A. kamali* and *G. indica*. The count at 30 d revealed 61.1 % and 5.9 % *A. kamali* and *G. indica* adults. However, of the material placed in gelatin capsules, the proportion of emerged primary parasitoids was low (Figure 2), and *G. indica* did not appear. This was due to the low PHM populations in Bahia de Banderas, Nayarit, principally because of the regulating activity of *A. kamali* released previously (Santiago-Islas *et al.*, 2008).

The activity of the primary parasitoids in the control of PHM was altered by native hyperparasitoids (Figure 2). Roltsch *et al.* (2006) reported that during the second year of the program for control of PHM in California, USA, the impact of native hyperparasitoids such as *Marrieta* sp. (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Chartocerus* sp. on introduced primary parasitoid species, particularly *A. kamali*, was 30 to 60 %. Impact on *A. kamali* later decreased because hyperparasitism is dependent on the absolute densities of PHM and its primary parasitoid.

The lowest PHM population density was found on shoots where the *A. kamali* parasitoid was released within the organza sleeves and was significantly different from that recorded on shoots where PHM had no natural enemies ($F=11.29$; $df\ 1, 45$; $p=0.001$). Parasitoid activity caused a 96.5 % reduction in the PHM population relative to the initial population. Thirty days after treatments were established the population comprised 81.9 % nymphs and 18.1 %

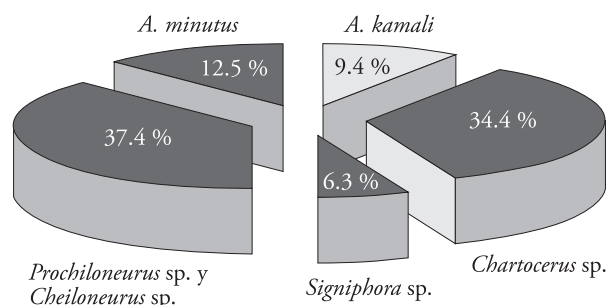


Figura 2. Proporción de ■ parasitoides e ■ hiperparasitoides emergidos de las momias recolectadas en los brotes de teca con bolsa abierta, en Bahía de Banderas, Nayarit.

Figure 2. Proportion of ■ hyperparasitoids and ■ parasitoids emerged from mummies collected from teak shoots covered with open sleeves, Bahía de Banderas, Nayarit.

introducidos, particularmente *A. kamali*, fue 30 a 60 %. Posteriormente el impacto sobre *A. kamali* disminuyó debido a que el hiperparasitismo guarda una relación denso-dependiente con las densidades absolutas de CRH y de su parasitoide primario.

La densidad poblacional más baja de CRH se presentó en los brotes donde se liberó al parasitoide *A. kamali* dentro de las bolsas de organza, la cual fue significativamente diferente en relación con los registros de los brotes sin enemigos naturales ($F=11.29$; gl 1, 45; $p=0.001$). La actividad del parasitoide ocasionó una disminución de 96.5 % en la población de CRH con respecto a la población inicial, constituida 30 d después de establecidos los tratamientos por 81.9 % de ninfas y 18.1 % de ovisacos. Sermeño y Navarro (2000) reportan reducciones similares en las islas St. Kitts, St. Thomas y St. Croix; sin embargo, las disminuciones ocurrieron 20 a 24 meses después de la liberación de *A. kamali* al ambiente.

El tiempo de evaluación en el presente trabajo fue un mes; por tanto, la variación en el tiempo del impacto del parasitoide pudo ser influida por las condiciones de desarrollo del estudio, como las bolsas de tela de organza y la población de CRH en los brotes de teca compuesta por ninfas de tercer instar y hembras en preoviposición, estados preferidos por el parasitoide (Sagarra y Vincent, 1999). Además, en condiciones de campo *A. kamali* puede parasitar un menor número de huéspedes para evitar eliminarlo y asegurar el futuro de su descendencia, lo cual proporciona una regulación continua a largo plazo (Sagarra *et al.*, 2000). En los brotes donde se liberó el parasitoide se registró un promedio de 76.2 momias por brote y la mayor cantidad de momias en un brote fue de 138. En tres de las unidades experimentales se eliminó la población de CRH y en las otras tres la reducción poblacional varió de 77.4 a 99.0 %. Estos resultados coinciden con los obtenidos en Puerto Rico, el Caribe y California, EE.UU., donde el parasitoide *A. kamali* ocasionó disminuciones poblacionales de la CRH de 88 a 99 % (Sermeño y Navarro, 2000; Roltsch *et al.*, 2006).

Aunque el diseño del presente estudio no refleja condiciones totales de campo, ya que se usaron bolsas de tela para aislar los brotes de teca, sí plantea el alto potencial que tiene *A. kamali* como agente de control biológico de la CRH. Además, se advierte la capacidad de las hormigas simbiosistas para reducir la efectividad de los parasitoides liberados. Por tanto,

ovisacs. Sermeño y Navarro (2000) reported similar reductions in St. Kitts, St. Thomas and St. Croix, although reductions occurred 20 to 24 months after releasing *A. kamali* into the environment.

Evaluation time of our study was one month; therefore, variation over time of the impact of the parasitoid could have been affected by the conditions of the study, such as the organza sleeves and the PHM population on the teak shoots composed of third instar nymphs and pre-ovipositing females, the insect stages preferred by the parasitoid (Sagarra and Vincent, 1999). Moreover, under field conditions, it may be that *A. kamali* parasitizes a smaller number of hosts, thereby avoiding elimination of its hosts and assuring the future of its descendents, and thus providing continuous long-term regulation (Sagarra *et al.*, 2000). On shoots where the parasitoid was released an average of 76.2 mummies per shoot was recorded; the highest number of mummies on a shoot was 138. In three of the experimental units, the PHM population was eliminated, and on another three, population reduction varied between 77.4 and 99.0 %. These results coincide with those obtained in Puerto Rico, the Caribbean islands, and California, USA, where the parasitoid *A. kamali* caused reductions in PHM populations of 88 to 99 % (Sermeño and Navarro, 2000; Roltsch *et al.*, 2006).

Although the design of our study does not entirely reflect field conditions, having used organza sleeves to isolate teak shoots, it does confirm the high potential of *A. kamali* as an agent for biological control of PHM. In addition, it warns of the capacity of symbiotic ants to reduce the effectiveness of released parasitoids. Therefore, it is important to implement strategies to reduce the interference of ants before massive release of the parasitoid.

CONCLUSIONS

The parasitoid *A. kamali* regulated population growth of PHM on teak shoots covered with sleeves made of organza under field conditions. Average reduction of the pest was 96.5 % in 30 d.

Regulation of the pest by natural parasitism was negligible and did not prevent population increase; this is attributed to interference of ants and to the negative impact of hyperparasitoids.

—End of the English version—

es importante implementar estrategias para reducir la interferencia de hormigas antes de realizar las liberaciones inundativas del parasitoide.

CONCLUSIONES

El parasitoide *A. kamali* reguló el crecimiento poblacional de la CRH en los brotes de teca cubiertos con bolsas de tela de organza en condiciones de campo. La disminución promedio de la plaga fue 96.5 % en 30 d.

El parasitismo natural fue incipiente en la regulación de la plaga y no evitó su incremento, lo cual se atribuye a la interferencia de las hormigas y al impacto negativo de los hiperparasitoides.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), al Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Nayarit (CESAVENAY) y al Laboratorio de Producción de Organismos Benéficos del Programa Regional Emergente contra la Cochinilla Rosada del Hibisco en Nayarit y Jalisco, SENASICA-SAGARPA por el apoyo otorgado.

LITERATURA CITADA

- Abd-Rabou, S. 2005. The effect of augmentative releases of indigenous parasitoid, *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae) on populations of *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in Egypt. Arch. Phytopathol. Plant Protection 38: 129-132.
- Bach, E. C. 1991. Direct and indirect interactions between ants (*Pheidole megacephala*), scales (*Coccus viridis*) and plants (*Pluchea indica*). Oecologia 87: 233-239.
- Bartlett, B. R. 1978. Pseudococcidae. In: Clausen, C. P. (ed). Introduced Parasites and Predators of Arthropod Pest and Weeds: a World Review. Agriculture Handbook No. 480. USDA. Washington, D. C. pp: 137-170.
- Cermeli M., P. Morales V., F. Godoy, R. Romero, y O. Cárdenas. 2002. Presencia de la cochinilla rosada de la cayena *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) en Venezuela. Entomotrópica 17: 103-105.
- Gautam, R. D. 2003. Classical biological control of pink hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) in the Caribbean. Plant Protection Bull. 55: 1-8.
- González-Hernández, H., M. W. Johnson, and N. J. Reimer. 1999. Impact of *Pheidole megacephala* (F) (Hymenoptera: Formicidae) on the biological control of *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) (Homoptera: Pseudococcidae). Biol. Control 15: 145-152.
- Goolsby, A. J., A. A. Kirk, and D. E. Meyerdirk. 2002. Seasonal phenology and natural enemies of *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in Australia. Florida Entomol. 85: 494-498.
- Kairo, M. T. K., G. V. Pollard, D. D. Peterkin, and V. F. López. 2000. Biological control of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Hemiptera: Pseudococcidae) in the Caribbean. Integrated Pest Manag. Rev. 5: 241-254.
- Littell, R. C., P. R. Henry, and C. B. Ammerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. J. Anim. Sci. 76: 1216-1231.
- Meyerdirk D. E., R. Warkentin, B. Attavian, E. Gersabeck, A. Francis, M. Adams, and G. Francis. 2003. Manual del Proyecto para el Control Biológico de la Cochinilla Rosada del Hibisco. Traducción al español por el IICA en acuerdo con el USDA. 2a. Ed. USDA-IICA. San José, Costa Rica. 214 p.
- Michaud, J. P., and G. A. Evans. 2000. Current status of pink hibiscus mealybug in Puerto Rico including a key to parasitoid species. Florida Entomol. 83: 97-101.
- Morais, M. 1998. Releases of the parasitic wasp *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae) in the field to control pink mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) and preliminary results on efficacy. In: Persad, C., and D. Johnston (eds). Management Strategies for the Control of the Hibiscus Mealybug. Proceedings of the 1st Seminar on the Hibiscus Mealybug. Centeno, Trinidad and Tobago. pp: 44-49.
- Padilla M., R. 2000. Bioecología de la cochinilla rosada y su riesgo de ingreso en Honduras. Manejo Integrado de Plagas 57: 10-22.
- Persad, A., and A. Khan. 2002. Comparison of life table parameters for *Maconellicoccus hirsutus*, *Anagyrus kamali*, *Cryptolaemus montrouzieri* and *Scymnus coccivora*. BioControl 47: 137-149.
- Roltsch, W. J., D. E. Meyerdirk, and R. Warkentin. 2000. Pink hibiscus mealybug biological control in Imperial Valley. In: Woods, D. M. (ed). Biological Control Program. California Department of Food and Agriculture, Plant Health and Pest Prevention Services, Sacramento, California. pp: 14-18.
- Roltsch, W. J., D. E. Meyerdirk, R. Warkentin, E. R. Address, and K. Carrera. 2006. Classical biological control of the pink hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green), in southern California. Biol. Control 37: 155-166.
- SAF (Sistema de Alerta Fitosanitaria). 2004. Detección de la cochinilla rosada del hibisco (*Maconellicoccus hirsutus* Green), en el municipio de Bahía de Banderas, Nayarit, México. Noticias sobre brotes de plagas del Sistema de Alerta Fitosanitaria de la NAPPO, 8 de marzo de 2004. <http://www.pestalert.org/ViewArchNewsStory.cfm?nid=297> Consultado 14 de septiembre de 2005.
- Sagarra, L. A., and D. D. Peterkin. 1999. Invasion of the Caribbean by the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae). Phytoprotection 80: 103-113.
- Sagarra, L. A., and C. Vincent. 1999. Influence of host stage on oviposition, development, sex ratio, and survival of *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera: Pseudococcidae). Biol. Control 15: 51-56.
- Sagarra, L. A., C. Vincent, N. F. Peters, and R. K. Stewart. 2000. Effect of host density, temperature, and photoperiod on the fitness of *Anagyrus kamali*, a parasitoid of the

- hibiscus mealybug *Maconellicoccus hirsutus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 96: 141-147.
- Sagarra, L. A., C. Vincent, and R. K. Stewart. 2001. Body size as an indicator of parasitoid quality in male and female *Anagyrus kamali* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Bull. Entomol. Res.* 91: 363-367.
- Santiago-Islas, T., A. Zamora-Cruz, E. A. Fuentes-Temblador, L. Valencia-Luna, y H. C. Arredondo-Bernal. 2008. Cochinilla rosada del hibisco, *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *In*: H. C. Arredondo-Bernal, y L. A. Rodríguez del Bosque (eds). *Casos de Control Biológico en México*. 1ª edición. Mundi Prens México. México, D. F. pp: 177-190.
- SAS Institute. 2004. *SAS/ STAT® 9.1 User's Guide*. SAS Institute Inc. Cary, N. C. 5121 p.
- Sermeño J., M., y J. A. Navarro. 2000. *Manual Técnico: Identificación de Insectos de la Superfamilia Coccoidea, con Especial Énfasis en Cochinilla Rosada del Hibisco Maconellicoccus hirsutus* (Green). OIRSA. Universidad de El Salvador. San Salvador. 73 p.