

Optimización de la cría de *Opius concolor* Szepi. mediante la utilización de bajas temperaturas durante su desarrollo pre-imaginal

M. GONZÁLEZ, J. A. JACAS, A. JIMÉNEZ Y E. VIÑUELA.

Opius concolor Szepi., parasitoide utilizado como agente de control biológico de la mosca de la aceituna (*Bactrocera oleae* Gmel.), es incapaz de sobrevivir a los inviernos de la mayoría de las zonas olivareras españolas, por lo que ha de recurrirse a liberaciones periódicas. Para poder aumentar el número de parasitoides disponibles en las estaciones de cría para las liberaciones, sería interesante alargar su ciclo biológico. En este trabajo se estudia la forma de conseguir esta prolongación sometiendo al parasitoide a bajas temperaturas durante su desarrollo pre-imaginal. Se demostró que es la pupa vieja del parasitoide (pupa de ojos negros) el estado que mejor tolera las bajas temperaturas (10°C) y que en este estado los parasitoides pueden almacenarse hasta dos semanas a 10° ó 12,5°C sin pérdidas importantes de emergencia y capacidad benéfica, con respecto a los insectos criados en las condiciones estándar.

M. GONZÁLEZ, J. A. JACAS Y E. VIÑUELA. Unidad de Protección de Cultivos, E.T.S.I. Agrónomos, 28040-Madrid.
A. JIMÉNEZ. C.I.T. - I.N.I.A., 28040-Madrid

Palabras clave: *Opius concolor*, *Bactrocera oleae*, temperatura, control biológico.

INTRODUCCIÓN

El braconídeo *Opius concolor* Szepi., parasitoide utilizado como agente de control biológico contra la mosca de la aceituna (*Bactrocera oleae* Gmel.), tiene importantes limitaciones para su adaptación a las condiciones de la mayoría de las comarcas olivareras españolas, ya que las temperaturas invernales en éstas no permiten la supervivencia de niveles aceptables del mismo. Por esta razón, ha de recurrirse, en la mayoría de los casos, a sueltas masivas de parasitoides adultos en momentos precisos del ciclo de la plaga (JIMÉNEZ, 1989), por lo que se hace necesario disponer de números importantes del insecto en momentos puntuales. Para tener a punto esas cantidades de parasitoides, de cara a una suelta, hay que man-

tener en la estación de cría, durante largo tiempo, grandes poblaciones tanto del agente como del huésped sobre el cual se cría (*Ceratitis capitata* Wied.), lo que constituye una limitación económica importante para la extensión de esta práctica de control en el olivar.

Se pensó que una posible forma de paliar este problema sería aprovechar la influencia de la temperatura en la duración de la fase pre-imaginal del insecto, para alargar su ciclo y así poder almacenar el parasitoide de cara a disponer de grandes cantidades del mismo en los momentos de las liberaciones.

Según estudios sobre este parasitoide llevados a cabo por GENDUSO (1970) la temperatura mínima de desarrollo está en 15°C, es decir, por debajo de esta temperatura el insecto no puede completar su

desarrollo (GRASSE, 1977). Este dato es sólo orientativo, ya que cada estado y estadio tendría su propia temperatura mínima de desarrollo, pudiéndose completar ciertas partes del desarrollo incluso a temperaturas inferiores a esos 15°C. GENDUSO (1970) encontró, asimismo, que a 10°C el parasitoide no era capaz de terminar ninguno de sus estadios y estadios pre-imaginales.

El objetivo del presente trabajo fue alargar el periodo pre-imaginal en la mayor medida posible, mediante la exposición del insecto en sus fases pre-imaginales a temperaturas entre 10°C y 15°C. Para ello se realizaron dos tipos de ensayo: en primer lugar se buscó el estado o el estadio que mejor toleraba las bajas temperaturas y después se determinó la temperatura ideal para alargar el ciclo del insecto estudiando sus efectos sobre la emergencia, longevidad y capacidad benéfica del mismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El parasitoide *O. concolor* se crió en el laboratorio sobre el huésped alternativo *C. capitata* siguiendo el procedimiento descrito por JACAS y VIÑUELA (1994). Tanto la cría de los insectos como los ensayos que se describen a continuación, a menos que se especifique lo contrario, se realizaron en cámara climática bajo las siguientes condiciones ambientales: temperatura de 25 ± 2°C, humedad relativa de 75 ± 5 % y fotoperiodo de 16:8 (L:O).

Ensayo para buscar el estado o estadio más tolerante a bajas temperaturas

Opius concolor, al igual que la mayoría de los *Opiinae*, presenta 4 estadios larvarios (CALS-USCIATI, 1972): un estadio inicial, otro terminal y dos intermedios de corta duración y difícilmente distingui-

bles entre sí. Se diferencian también dos fases en su desarrollo pupal: pupa de ojos rojos o pupa joven y pupa de ojos negros o pupa vieja. En nuestras condiciones de cría, la evolución del desarrollo preimaginal es la siguiente: cero días para huevo, un día para la larva inicial, tres para las larvas intermedias, entre las que no distinguiremos, siete para la larva terminal, once para la pupa joven y catorce para la pupa vieja.

En el momento correspondiente con cada uno de los estados, estadios y fases indicados, se pasaron cuatro cajas, cada una con 50 puparios procedentes de larvas de *C. capitata* que en su momento habían sido expuestas al parasitoide, a una segunda cámara donde la temperatura era de 10 ± 1°C por espacio de una semana, mientras que otras cuatro, que constituyeron el testigo, se mantuvieron a 25°C durante todo el ciclo.

Pasado el periodo de una semana en la cámara fría se devolvieron las cajas a la cámara donde la temperatura era de 25°C para que los insectos terminaran su desarrollo en las condiciones normales de cría.

A cada lote de pupas expuestas al parasitoide se le acompañó otro idéntico de pupas no parasitadas con el fin de determinar en qué medida estas temperaturas podían afectar también al huésped.

La tolerancia a dicha temperatura, en cada momento, tanto de *O. concolor* como de *C. capitata* se valoró midiendo en cada caso el porcentaje de emergencia.

Los datos de emergencia obtenidos se analizaron mediante análisis de varianzas para detectar la existencia de diferencias significativas ($P \leq 0,05$), empleando después el test LSD para identificar entre qué lotes existían tales diferencias (STATGRAPHICS, 1987). Cuando las varianzas de los datos no fueron homogéneas, el análisis se efectuó sobre los datos transformados según la ecuación \sqrt{x} cuyas varianzas sí resultaron homogéneas.

Ensayos para determinar la aptitud de distintas temperaturas para alargar el ciclo del parasitoides

Seleccionado el estadio más tolerante a las bajas temperaturas en base a los resultados del ensayo anterior, se procedió a investigar en qué medida las temperaturas de 10°C, 12,5°C y 15°C podían servir para el objetivo final de este trabajo de alargar el ciclo de *O. concolor* sin mermas importantes de su aptitud como agente de control biológico. Para ello se partió de una población de puparios procedentes de larvas de *C. capitata*, que habían sido expuestas al parasitoides, distribuidas en lotes de 50 en cajas herméticas de plástico de 90 mm de diámetro y 25 mm de altura. Llegado el día correspondiente con el estadio del parasitoides que había demostrado ser el más adecuado, se pasaron las cajas, salvo 4 que se mantuvieron en las condiciones normales de cría para ser utilizadas como testigo, a una cámara con la temperatura objeto de estudio. Posteriormente, y con una periodicidad de una semana, se fueron retirando 4 cajas de la cámara fría para colocarlas a la temperatura estándar de cría, cambiando los insectos a cajas ventiladas de plástico de 120 mm de diámetro y 50 mm de altura provistas de un bebedero y comida.

Los parámetros que se emplearon para la evaluación del efecto de las temperaturas ensayadas fueron la **emergencia** de adultos, y, cuando ésta resultó aceptable (al menos la mitad que la del testigo), la **longevidad** y la **capacidad benéfica** de los parasitoides emergidos.

Para la determinación de la capacidad benéfica de los parasitoides se utilizó el método desarrollado por JACAS Y VIÑUELA (1994) con alguna modificación: entre 3 y 6 días después de emergida la primera hembra se individualizó 8 hembras (2 procedentes de cada repetición) en cajas ventiladas similares a las anteriores

y se les ofreció, a través de una tela de visillo que cubría una de las caras de la caja, 20 larvas del huésped durante dos horas, repitiéndose esta operación 4 días consecutivos. Tras las dos horas de exposición, las larvas se colocaron en placas *Petri*, donde se las dejó que puparan y, días más tarde, se registró la emergencia tanto de adultos del huésped como de *O. concolor*. Como medida de la capacidad benéfica se utilizó dos parámetros: el porcentaje de puparios de los cuales no emergen moscas (identificado con el porcentaje de huéspedes atacados, **HA**), y el porcentaje de puparios de los cuales emergen adultos de *O. concolor* (porcentaje de descendientes, **DS**).

Los distintos parámetros obtenidos (emergencia, longevidad, HA y DS) se analizaron mediante análisis de varianza para comprobar la existencia de diferencias significativas ($P \leq 0,05$) y en caso afirmativo se aplicó el test LSD para identificar entre qué lotes existían éstas (STATGRAPICS, 1987). Cuando las varianzas de los datos no fueron homogéneas se recurrió a analizar los datos transformados según la ecuación $\arcsen \sqrt{x}$ que corrige dicha heterogeneidad.

Para medir la prolongación del ciclo obtenido en cada caso, se tomó la fecha de emergencia de la primera hembra en cada repetición, es decir, la duración mínima del periodo preimaginal en cada repetición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo para buscar el estado o estadio más tolerante a bajas temperaturas

En el cuadro 1 figuran los datos referentes a la emergencia de adultos tanto de *C. capitata* como de *O. concolor* tras su exposición a la temperatura de diez grados a las distintas edades consideradas.

Cuadro 1. Emergencia de *O. concolor* sometidos durante una semana a 10°C en distintos momentos de su desarrollo preimaginal. También se muestra el porcentaje de emergencia de *C. capitata* sin parasitar con las que se había procedido del mismo modo

Momento de la exposición a 10°C		Emergencia de <i>C. Capitata</i> (%)	Emergencia de <i>O. concolor</i> (%)	Pérdida de emergencia de <i>O. concolor</i> respecto del control, (%)
Días tras la parasitación	Estado/ío de <i>O. concolor</i>			
0	Huevo	4,4±1,1 ^a	0,0±0,0 ^a	100,0
1	Larva inicial	5,6±1,5 ^a	0,5±0,5 ^a	97,8
3	Larva intermedia	68,3±6,1 ^b	1,0±0,6 ^a	95,6
7	Larva terminal	91,8±1,5 ^d	9,0±3,3 ^b	60,0
11	Pupa joven	—*	2,5±1,2 ^{ab}	88,8
14	Pupa vieja	—*	23,0±4,0 ^c	0,0
Control	—	99,4±0,6 ^d	22,4±3,0 ^c	—

*Sin dato ya que a partir de esa edad, la emergencia de *C. capitata* ya ha concluido

Para *C. capitata*, la influencia sobre la emergencia de adultos de la temperatura de 10°C durante una semana fue notable. Es posible observar una gradación de efectos a medida que progresa la maduración de las pupas. Mientras que para las edades más cortas la reducción en la emergencia fue muy grande, ésta fue disminuyendo, para aproximarse a la del control, a edades más avanzadas. A pesar del efecto tan marcado obtenido con los 10°C, según Rufz, (1945), es la exposición a una temperatura igual o inferior al 2,1°C durante 14 días la que resulta letal para las pupas de este tefrítido.

En *O. concolor*, la influencia de la temperatura fue incluso mayor que la registrada para su huésped. Sin embargo, hay que reseñar que se encontró una edad para la que no se registró pérdida alguna de emergencia respecto del control (14 días, o pupa de ojos negros). Sin embargo, para el huevo la temperatura de 10°C resultó letal y para el resto de estadios rozó la letalidad, salvo para la larva terminal que sobrevivió en una proporción un poco mayor. Por tanto, sólo la pupa de 14 días presentó buenas aptitudes para ser considerada útil para nuestros fines.

GENDUSO (1970) señala, como letal pa-

ra huevos de *O. concolor*, la temperatura de 10°C durante un periodo de 6 días, lo que coincide con nuestros resultados. El mismo autor, da periodos superiores a los veinte días de resistencia a dicha temperatura para el resto de estadios pre-imaginales. Hemos corroborado esta observación, pero se ha comprobado que la supervivencia es totalmente insuficiente (reducciones del 60% o mayores) para los objetivos perseguidos en este estudio. Por su buena tolerancia a la temperatura de 10°C las pupas de ojos negros fueron utilizadas en los ensayos posteriores

Ensayos para determinar la aptitud de distintas temperaturas para alargar el ciclo del parasitoide

En el cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos en los ensayos realizados sobre pupas de 14 días de *O. concolor* sometidas a tres temperaturas distintas: 10°C, 12,5°C y 15°C durante un periodo variable entre una y seis semanas.

Respecto a la emergencia, se observa que para las tres temperaturas consideradas, ésta disminuye conforme aumenta el tiempo de

Cuadro 2. Emergencia, longevidad, duración del período pre-imaginal y capacidad benéficas de *Opius concolor* después de haber sido sometidos a diferentes temperaturas durante distintos periodos de tiempos en su fase pupal de ojos negros (14 días)

Temperatura	Duración (Semanas)	Emergencia (%)	Duración mínima de período preimaginal (días)	Longevidad (días)	Capacidad benéfica	
					Huéspedes atacados	Descendientes (%)
10°C	0	48,5±4,7g,h	20	19,2±1,3a	89,1±1,9a,b,c	55,2±3,6b,c,d
	1	45,5±6,2g,h	27	16,1±2,0a	78,8±7,4a,b	37,3±6,8a,b
	2	33,0±2,4e,f	33	17,7±2,0a	⊖	⊖
	3	10,0±3,2d	40	-*	-*	-*
	4	0,5±0,5a	47	-*	-*	-*
12,5°C	0	63,0±2,5i	19	19,1±2,5a	94,0±1,8c	56,9±4,0c,d
	1	48,5±3,0g,h	26	32,0±1,8b	81,2±4,3a,b	42,2±8,3a,b,c
	2	44,0±3,7g,h	32	22,2±2,6a	78,3±6,3a	33,0±5,6a
	3	14,0±4,0d	39	-*	-*	-*
	4	2,0±0,8a,b	45	-*	-*	-*
15°C	0	65,5±5,6i	20	19,0±2,6a	80,4±3,7a,b	24,0±3,6a
	1	56,5±2,4h,i	26	28,8±1,9b	91,2±2,3b,c	62,9±7,7d
	2	28,5±6,7e	31	-*	-*	-*
	3	9,5±2,2d	38	-*	-*	-*
	4	4,5±2,1b,c	42	-*	-*	-*
	5	13,0±0,6d	46	-*	-*	-*
	6	8,5±1,7c,d	49	-*	-*	-*

* observaciones no realizadas al no haber sido aceptable la emergencia (inferior al 50% del testigo).

⊖ ausencia de datos

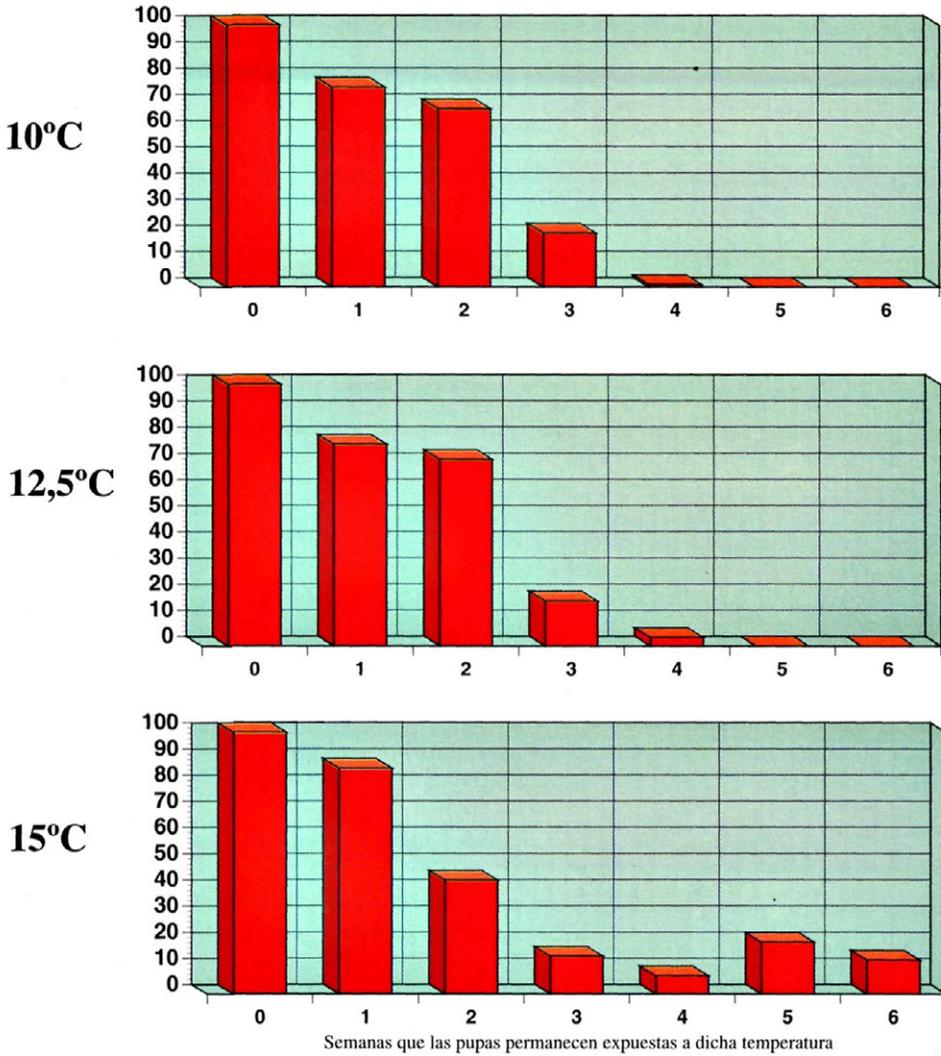


Fig. 1. Porcentajes de emergencia de adultos, referidos al testigo, a partir de pupa de *O. concolor* sometidas a diferentes temperaturas durante distintos períodos de tiempo.

exposición. Sin embargo, hay una diferencia notable entre las temperaturas de 10° y 12,5°C y la de 15°C. Mientras que para las dos primeras la emergencia se mantiene por encima del 70% respecto del control hasta transcurridas dos semanas, para 15°C, en esa fecha la emergencia ya ha caído más de un 55% (Fig 1). Es también remarcable la tendencia en la emergencia posterior al periodo que acabamos de comentar: mientras que para 10° y 12,5°C, este parámetro cae bruscamente para prácticamente anularse a partir de la cuarta semana, para las pupas expuestas a 15°C, la emergencia relativa se mantiene fluctuando alrededor del 13% hasta transcurridas, al menos, seis semanas.

En cuanto a la duración del periodo preimaginal mínimo, se observan también diferencias en función de la temperatura considerada. Para 10°C, el retraso conseguido coincide con el periodo de exposición a esa temperatura. Para 12,5°C, el retraso es también prácticamente coincidente con la duración del periodo en que las pupas fueron mantenidas bajo esas condiciones. Sin embargo, para 15°C se observa una tendencia hacia la reducción del retraso a medida que aumenta el número de semanas en que las pupas habían sido sometidas a dicha temperatura (desde seis días para una semana hasta de sólo tres cuando se pasa de cinco a seis semanas). Además a la temperatura de 15°C, dicha reducción llega a ser tal, que a partir de las tres semanas de exposición los insectos comienzan a emerger y como las cajas herméticas utilizadas para almacenarlos a bajas temperaturas no están provistas de alimento alguno éstos pueden morir prematuramente.

Tal y como se comentó en el apartado de materiales y métodos, sólo aquellos tratamientos con los que se consiguió una emergencia superior al 50% de la del testigo, se consideraron como candidatos para los objetivos perseguidos, por lo que sólo en esos casos se estudió la longevidad y la capacidad beneficiosa de los adultos emergidos, tal como se refleja en la tabla 2.

No se observaron diferencias significati-

vas en cuanto a la longevidad para las tres temperaturas ensayadas, salvo en dos casos. La exposición durante una semana de las pupas de 14 días tanto a 12,5°, como a 15°C alargó significativamente el tiempo de vida de los adultos obtenidos. El incremento fue notable, de unos diez días, por lo que al retraso obtenido en la emergencia en esos casos se le podría sumar el incremento en la duración de los adultos, lo que favorecería doblemente nuestros fines.

En cuanto a los dos parámetros utilizados para evaluar la capacidad benéfica de *O. concolor* (% de huéspedes atacados y % de descendientes), a pesar de que se intuye una ligera disminución a medida que aumenta el tiempo de exposición a las temperaturas consideradas, no se puede observar ninguna tendencia clara; es más, para 15°C incluso se invierte esa tendencia.

Como conclusión y a la vista de los resultados obtenidos, parece claro que no resulta interesante mantener más de dos semanas las pupas de ojos negros de *O. concolor* utilizando las temperaturas consideradas. Una permanencia de una o dos semanas de dichas pupas a 10°C significa un retraso en el ciclo de esa misma magnitud, con pocas pérdidas tanto en la emergencia como en el valor de los adultos obtenidos. Para 12,5°C, se repite la situación, pero al ser más longevos los insectos obtenidos tras una semana de exposición, el rendimiento es mayor. Por contra, a 15°C parece que no es interesante mantener las pupas más de una semana apareciendo también un efecto positivo sobre la longevidad.

Parece pues posible alargar el ciclo de *O. concolor*, para su uso en programas de control biológico de la mosca de la aceituna, mediante la exposición de la pupa vieja a estas temperaturas, pero el alargamiento conseguido no supera los 20 días. Esta prolongación aunque pequeña es superior a los 15 días de alargamiento logrados por GENDUSO (1967) exponiendo a 15°C los parasitoides desde los 11-12 días de la parasitación hasta el momento de la emergencia. Y teniendo en cuenta que en anteriores traba-

jos hemos constatado la tolerancia de estadios más jóvenes a temperaturas superiores a 17°C, sería posible conseguir prolongaciones mayores del ciclo combinando la utili-

zación de temperaturas de este orden durante el inicio del desarrollo preimaginal con temperaturas entre 10° y 15°C al final del mismo (pupa de ojos negros).

ABSTRACT

GONZÁLEZ, M.; JACAS, J. A.; JIMÉNEZ, A. y VIÑUELA, E., 1996: Optimization of *Opius concolor* mass rearing by temperature manipulation. *Bol. San. Veg. Plagas*, 22 (1): 107-114.

Opius concolor is a Mediterranean parasitoid used for the biological control of the olive fly, *Bactrocera oleae*. However, this parasitoid cannot overwinter in the most important areas of olive production in Spain. Therefore, it has to be introduced periodically. In order to increase the efficiency of the mass rearing of this braconid, it would be very interesting to increase the duration of its life-cycle in such a manner that the rearing might be kept at minimum when no releases are required. In the present study it has been demonstrated that aged pupae (black eyes pupa stage) is the most resistant stage to cold (10°C) and that this stage can be stored for up to two weeks at either 10° or 12.5°C with no substantial losses in emergence and beneficial capacity as compared to insects kept under standard rearing conditions.

Key Words: *Opius concolor*, *Bactrocera oleae*, biological control.

REFERENCIAS

- CALS-USCIATI, J., 1972. Les relations hôte-parasite dans le couple *Ceratits capitata* Wiedemann (Diptera, Trypetidae) et *Opius concolor* Szepilgetti (Hymenoptera, Braconidae). *Ann. Zool. - Écol. Anim.*, 4:27-481.
- GENDUSO, P., 1967. Attuale tecnica di allevamento dell'*Opius concolor* Szepil. *Siculus. MON. Boll. Ist. Ent. Agr. E Oss. Fitop. Palermo*, VII, (53).
- GENDUSO, P., 1970. Influenza della temperatura sulla durata e sulla resistenza degli stadi pleimmaginali dell'*Opius concolor* Szepil. *Siculus. MON. Boll. Ist. Ent. Agr. E Oss. Fitop. Palermo*, VIII, pp. 1-9.
- GRASSÉ, P. P. (Ed.), 1977. *Traité de zoologie. Anatomie, systématique, biologie*. Vol VIII fasc. V-A. Masson et Cie., Editeurs. Belgique. 680 pp.
- JACAS J., VIÑUELA E., 1994. Analysis of a method to test the effects of pesticides on adult females of *Opius concolor* Szepil. (Hym., Braconidae), a parasitoid of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Dip., Tephritidae). *Bioc. Sci. Technol.* 4: 147-174.
- JIMÉNEZ, A., 1989. La utilización de *Opius concolor* Szepil. en la lucha contra la mosca de la aceituna (*Dacus oleae* Gmelin) Tesis Doctoral. ETSI Agrónomos. PM. Madrid. 289 pp.
- RUIZ, A., 1945. *Fauna entomológica de la vid en España. Estudio sistemático-biológico de las especies de mayor importancia económica. III. Diptera*. Instituto Español de Entomología. Madrid. 101 pp.
- STATGRAPHICS, 1987. User's guide. Graphical software system. STSC Inc. Rockville, MD.

(Aceptado para su publicación: 12 de febrero de 1996)