

# BOLETÍN DE SANIDAD VEGETAL

VOLUMEN 34 - NÚMERO 2 - 2008 - 2º Trimestre

# PLAGAS



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE MEDIO AMBIENTE  
Y MEDIO RURAL Y MARINO

## BOLETIN PLAGAS

Este Boletín publica bajo la forma de artículos los resultados de investigación científica o aplicada en los campos de la sanidad vegetal y ciencias afines. Los trabajos no podrán presentarse al mismo tiempo para su publicación en otra revista, sin autorización del Consejo de Redacción. Esta autorización comportará la obligación de mencionar el origen del artículo y nombre del autor. Los trabajos publicados en el Boletín reflejan únicamente los criterios de sus autores.

## SUSCRIPCIONES

Las suscripciones al Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, de publicación trimestral, así como la venta de números ya aparecidos, deberán solicitarse a:

Centro de Publicaciones  
Paseo Infanta Isabel, 1  
28014 Madrid (España)  
Fax: 91 347 57 22  
e-mail: mcruzpf@mapya.es  
El precio de suscripción anual:  
España ..... 43,00 euros  
Extranjero ..... 59,50 euros  
Número suelto ..... 14,60 euros

El pago se efectuará mediante cheque bancario nominativo a: «M.A.P.A. - Publicaciones» o por giro postal a la dirección arriba indicada.

## INTERCAMBIOS

Este Boletín puede ser objeto de intercambio con otras publicaciones cuya temática sea afín. Para establecer dicho intercambio, las instituciones deberán dirigirse a la redacción del mismo.

## NUESTRA PORTADA



Adultos de *P. unipuncta* apareándose sobre caña de maíz. Foto superpuesta: Larva desarrollada de *P. unipuncta* alimentándose de hoja de maíz.

## INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

**Texto:** Los manuscritos deben ser redactados de manera concisa y dactilografiada de forma clara, con amplios márgenes, párrafos separados y a doble espacio, incluidos el resumen, leyendas a las figuras y cuadros, referencias y notas al pie. De forma general se tendrá en cuenta el esquema usual de presentación: Introducción. Material y métodos. Resultados. Discusión. Resumen en español e inglés y, en su caso, en el idioma del texto. Referencias bibliográficas. El título deberá estar seguido por el nombre del autor o autores, la afiliación institucional, la dirección postal completa y la dirección de correo electrónico cuando proceda, indicando a la redacción cuál es la persona de contacto. Los resúmenes en español deberán estar seguidos de listado de palabras clave. El resumen en los idiomas distintos al del texto, o "abstract", deberá ir precedido de la referencia bibliográfica correspondiente. Los nombres latinos deberán subrayarse o dactilografiarse en tipo de letra diferente al del texto.

Para autores extranjeros que así lo deseen, podrá publicarse su trabajo en el idioma original, incorporando un resumen en español e inglés.

Los manuscritos deberán enviarse en soporte magnético acompañados de dos copias en papel. En el caso de que un mismo autor envíe más de un manuscrito, cada trabajo se remitirá en un disco distinto. Deberán tener la siguiente extensión máxima, incluidos figuras y cuadros según se trate de:

**Artículo:** 16 páginas.

**Comunicación:** 1000 palabras, que pueden incluir figuras y cuadros.

**Nota:** 500 palabras que, excepcionalmente podrá incluir alguna figura.

**Figuras y cuadros:** Los dibujos deben ser los originales y dispuestos para la impresión, con leyendas claras y rótulos de no menos de 2 milímetros de altura para que admitan una posible reducción a ancho de caja o ancho de columna.

Se recomienda la aportación de fotografías en color, que deben ser recortadas y encuadradas en el caso de diapositivas, reduciendo el campo a las imágenes esenciales.

Los pies de las figuras deben presentarse en hoja aparte, numeradas, entendiéndose como tales gráficos, figuras y fotografías. Los cuadros deberán numerarse y con su número se referirán en el texto, para independizarlos del mismo. Tanto las figuras como los cuadros deben situarse, aproximadamente, mediante indicaciones en los márgenes del manuscrito.

**Referencias:** Las referencias bibliográficas aparecerán en el texto mediante el nombre del autor, en versalitas, seguido del año, de la forma siguiente:

GARCÍA-JIMÉNEZ, J., VELÁZQUEZ, M. T., ALFARO, A. 1989. Secuencia de síntomas en el colapso del melón. *Bol. San. Veg. Plagas*, **15** (4): 333-342.

Para remisión de artículos y demás información dirigirse a la Redacción del Boletín:

Subdirección General de Agricultura Integrada y Sanidad Vegetal

Redactor Jefe de la Revista Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas

Alfonso XII, 62

28014 MADRID (España)

Correo electrónico:

publicacionesplagas@mapya.es

**VOLUMEN 34**  
**núm. 2**  
**2008**  
**2º Trimestre**

DIRECTOR

*Carlos Escribano*

DIRECTORA ADJUNTA

*Cristina Clemente*

REDACTOR JEFE

*Juan I. Calvo*

CONSEJO DE REDACCIÓN

*Antonio Bello*

*José M.ª Cobos*

*Pedro del Estal*

*José García-Jiménez*

*Concepción Jordá*

*Alfredo Lacasa*

*Cándido Santiago*

*Julio C. Tello*

*Juan J. Tuset*

*Carlos Zaragoza*

EDITOR

*Ministerio de Medio Ambiente  
y Medio Rural y Marino*

*Secretaría General Técnica  
Centro de Publicaciones*

ISSN: 0213-6910

NIPO: 251-08-032-9

Depósito Legal: M-2975-1976

Imprime: I.G. Saljen, S.L.

# SUMARIO

## ENTOMOLOGÍA

- S. A. DE BORTOLI, R. J. FERREIRA. Consumo e ganho de peso de larvas de *Chrysoperla Externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) de diferentes Populações e Gerações de Laboratório ..... 167
- E. L. L. BALDIN, J. M. PEREIRA, M. H. F. A. DAL POGETTO, R. S. CHRISTOVAM, A. C. CAETANO. Efeitos de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijão armazenado ..... 177
- M. JUAN-BLASCO, M. J. VERDÚ, A. URBANEJA. Depredación del piojo rojo de California, *Aonidiella aurantii* (Maskell), por fitoseidos depredadores ..... 187
- J. J. SORRIBAS, R. RODRIGUEZ, E. RODRIGO, F. GARCIA MARÍ. Niveles de parasitismo y especies de parasitoides del piojo rojo de California *Aonidiella aurantii* (Hemiptera: Diaspididae) en cítricos de la Comunidad Valenciana ..... 201
- A.TENA BARREDA, A. SOTO SÁNCHEZ, F. GARCIA MARÍ. Densidad y estructura poblacional de *Saissetia oleae* Olivier (Hemiptera: Coccidae) en cítricos y olivos: importancia relativa de las dos generaciones anuales ..... 211
- C. NAVARRO, J. ALCAIDE, L. BARGUES, C. MARZAL, F. GARCIA MARÍ. Evolución del tamaño y edad fisiológica de los adultos en poblaciones de campo de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). Aplicación al análisis de su ciclo biológico ..... 219
- L. PULIDO, N. DE MENTEN, P. MEDINA, A. FRAILE, F. GARCÍA-ARENAL, E. VIÑUELA. Trampas húmedas con dispositivo de llenado, para el seguimiento de la dinámica poblacional de pulgones ..... 229
- P. L. PASTORI, L. B. MONTEIRO, M. BOTTON. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em pomar adulto de Macieira ..... 239
- N. AGUSTÍ, R. GABARRA. Efecto de la alimentación polífaga sobre la reproducción y otros parámetros biológicos de *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) ..... 247
- M. PÉREZ, C. LÓPEZ, M. EIZAGUIRRE. Efecto del fotoperiodo en la terminación de la diapausa de larvas de los taladros del maíz, *Sesamia nonagrioides* y *Ostrinia nubilalis*, desarrolladas en distintas variedades de maíz transgénico y sus isogénicas correspondientes ..... 257

C. LÓPEZ, F. MADEIRA, X. PONS, M. EIZAGUIRRE. Desarrollo larvario y número de estadios larvarios de *Pseudaletia unipuncta* alimentada con dos variedades de maíz y dos dietas semisintéticas ..... 267

I. MORALES, A. FERERES. Umbral de temperatura para el inicio del vuelo de los pulgones de la lechuga, *Nasonovia ribisnigri* y *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae) ..... 275

### **PATOLOGÍA**

B. M. DÍAZ, C. C. LÓPEZ LASTRA, M. OGGERIN, A. FERERES, V. RUBIO. Identificación de hongos entomopatógenos asociados a pulgones en cultivos hortícolas en la zona centro de la Península Ibérica ..... 287

### **TERAPÉUTICA**

F. HONORIO GUISADO, J. A. RODRIGUEZ BERNABÉ. Emisión de la feromona del difusor Isonet-L en una experiencia de confusión sexual contra *Lobesia botrana* Den. y Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae) ..... 297

### **OTROS TEMAS**

I. ARMENDÁRIZ, A. PÉREZ-SANZ, G. CAMPILLO, L. MIRANDA, J. S. JUÁREZ. La polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.) en nueve zonas vitivinícolas de Castilla y León: años 2000 a 2006 ..... 305

## Consumo e ganho de peso de larvas de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) de diferentes populações e gerações de laboratório

S. A. DE BORTOLI, R. J. FERREIRA

Vários estudos têm sido realizados sobre a biologia, capacidade de predação e consumo de várias espécies de crisopídeos, na tentativa de sua utilização mais racional no Manejo Integrado de Pragas. Um dos problemas que pode ocorrer em criações de insetos em laboratório é originário da consangüinidade, podendo levar, inclusive, até à inviabilização da produção massal. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar possíveis variações na capacidade de consumo e ganho de peso entre larvas de diferentes gerações de laboratório de *C. externa* oriundas de duas populações distintas (Jaboticabal e Piracicaba), com diferentes tamanhos iniciais (1, 5, 10, 15 e 20 casais). Pelos resultados obtidos pode-se dizer que, de maneira geral, o ganho de peso e o consumo das larvas foram superiores com populações estabelecidas com maior número de casais, não apresentando grandes variações dentro das populações e gerações estudadas.

S. A. DE BORTOLI. FCAV, UNESP, Departamento de Fitossanidade, Laboratório de Biologia e Criação de Insetos, Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, s/no., 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: bortoli@fcav.unesp.br

R. J. FERREIRA. FFCLRP, USP, Departamento de Biologia, Ex-aluno do Curso de Pós-Graduação em Entomologia, Av. Bandeirantes, 3900, 14040-030, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

**Palavras chave:** predação, crisopídeos, manejo integrado de pragas, variabilidade da população, tamanho da população.

### INTRODUÇÃO

Vários estudos têm sido realizados sobre a biologia, capacidade de predação e consumo de várias espécies de crisopídeos, na tentativa de sua utilização mais racional no Manejo Integrado de Pragas. Mas, geralmente, as populações desses insetos e de outros inimigos naturais estão abaixo daquela necessária para evitar que a praga atinja o nível de dano econômico. Com isso, uma das alternativas para o controle biológico natural é a liberação de insetos produzidos massalmente em laboratório.

Para facilitar a produção massal em laboratório, VANDERZANT (1969) estudou o uso

de uma dieta artificial para larvas e adultos de *Chrysopa carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), comparando o desenvolvimento de larvas alimentadas com ovos de *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). Quando a alimentação foi com ovos de *S. cerealella*, a duração do período larval foi de 8,0 dias, o peso das pupas 5,70 mg, a viabilidade de larva-adulto 85,0% e a viabilidade de pupas 87,0%. Quando as larvas receberam a dieta artificial duas vezes ao dia, a duração do período larval foi de 17,0 dias, o peso das pupas 6,90 mg e a viabilidade pupal 76,0%.

AUN (1986) verificou que a 25 °C a duração da fase larval de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada

com ovos de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) foi de 3,38; 2,56; e 3,37 dias, para o primeiro, segundo e terceiro ínstaes, respectivamente, com viabilidade de 73,27%, e para a fase pupal a viabilidade foi de 88,38%, com duração do período de 10,36 dias. Foi verificado também que o consumo médio da fase larval foi de 1253,7 ovos, sendo que mais de 80% do alimento foi consumido pelo 3º ínstar, concluindo ser os ovos utilizados um bom substrato alimentar para o desenvolvimento do inseto.

Segundo PRINCIPI & CANARD (1984), a variabilidade de presas atacadas por crisopídeos na natureza é muito grande. Esses autores citam como presas afídeos, cigarrinhas, cochonilhas, moscas brancas, psilídeos, tripes, ovos e larvas de lepidópteros, ácaros e, menos comumente, ovos e larvas de besouros, moscas e outros neurópteros. Constataram ainda os autores que a qualidade do alimento influencia no tempo de desenvolvimento pré-imaginal e no aumento do peso das larvas.

Em testes de laboratório sobre a capacidade de procura de *C. carnea* por ovos de *Heliothis* spp. (Lepidoptera, Noctuidae), BUTLER & MAY (1971) observaram que larvas de primeiro, segundo e terceiro ínstaes consumiram, em média, 67,0, 56,8 e 40,4 ovos por dia, respectivamente, e em arenas de criação onde os ovos se encontravam fixos na parte superior e inferior. Em arenas onde os ovos ficaram presos em plantas artificiais feitas de papel e arame, larvas de primeiro e segundo ínstaes predaram, em média, 6,2 e 3,5 ovos, respectivamente.

STARK & WHITFORD (1987) determinaram a resposta funcional de larvas de terceiro ínstar de *C. carnea* alimentadas com ovos de *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) em quatro densidades, em gaiolas contendo plantas de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), sendo que as larvas tiveram uma média de procura de  $1,08 \times 10^{-5}$  ha/predador-dia.

Segundo RIBEIRO (1988), o consumo de ovos de *Alabama argillacea* (Lepidoptera: Noctuidae) por cada ínstar de *C. externa* foi

de 11,75; 43,52 e 256,26, respectivamente para o primeiro, segundo e terceiro; o consumo de ovos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) no primeiro ínstar foi de 19,79, no segundo 46,78 e no terceiro 371,50; para *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), o consumo foi de 52,83; 81,78 e 236,63, respectivamente para o primeiro, segundo e terceiro ínstaes.

RIBEIRO *et al.* (1991), ao estudarem a influência da alimentação larval sobre a biologia de adultos de *C. externa*, concluíram que, apesar dos insetos desenvolverem-se bem quando alimentados com ovos de *A. kuehniella* e *A. argillacea*, diferenças significativas foram observadas nos períodos de pré-oviposição, pós-oviposição e na longevidade que, no entanto, não afetaram significativamente a capacidade diária e o total de oviposição.

SANTOS *et al.* (1997) citam que adultos de *C. externa* oriundos de larvas que receberam como alimento apenas *A. gossypii* apresentaram resultados biológicos superiores em relação à longevidade, número total de ovos, período de oviposição e efetivo de oviposição. Entretanto, com a alimentação baseada apenas em ovos de *A. kuehniella*, a média diária de ovos foi elevada.

As características do desenvolvimento e potencial reprodutivo de *C. externa* sob diferentes regimes alimentares de larvas e adultos, variando em relação à fonte de carboidrato:proteína, foram estudadas por RIBEIRO (1998). O autor observou que ovos de *S. cerealella* foi o substrato que proporcionou bom desenvolvimento larval, sendo acelerado quando acrescentou à dieta *A. gossypii*. A dieta para adultos à base de mel, levedura de cerveja e pólen tende a elevar a oviposição total, enquanto que a adição do atrativo diamônio fosfeto não aumentou o citado parâmetro.

DE BORTOLI *et al.* (2006) verificaram que o número total de ovos consumidos por *C. externa* durante a fase larval foi de 567,39; 930,62 e 153,62, para *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae), *S. cerealella* e *A. kuehniella*, sendo estes valores equivalentes à 0,041g, 0,018g e 0,043g, respectivamente.

Assim, procurou-se através deste experimento verificar possíveis variações na capacidade de consumo e ganho de peso entre larvas de diferentes gerações de laboratório de *C. externa*, oriundas de duas populações distintas e de diferentes números de casais fundadores.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Criação de *Chrysoperla externa*** - Para criação dos crisopídeos foi utilizada metodologia adaptada de FERREIRA (1996). A criação estoque foi mantida em sala climatizada, em gaiolas de PVC (10 cm x 30 cm) e alimentada com dieta a base de mel, levedura de cerveja e pólen (1:1:1). Os ovos foram coletados com auxílio de estilete, tesoura e pincel. As larvas foram criadas individualizadas e alimentadas com ovos de *S. cerealella* (25 mg/larva).

**Criação da presa alternativa *Sitotroga cerealella*** - Adotou-se a metodologia desenvolvida por Garcia Roa (1991), citada e adaptada por HAJI *et al.* (1992), que consiste na infestação de grãos de trigo com ovos de *S. cerealella*. Os grãos de trigo são previamente lavados, secos e expurgados. O trigo é acondicionado em unidades de criação, constituídas por tambores metálicos contendo bandejas no interior, unidades estas denominadas gabinetes. Utiliza-se a proporção de 1 grama de ovos da traça para cada kg de trigo.

**Populações de *Chrysoperla externa*** - As populações foram mantidas em sala climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 14 horas de luz e umidade de  $70 \pm 10\%$ ), no laboratório de Biologia e Criação de Insetos do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP. As populações foram estabelecidas a partir de 20 fêmeas coletadas, com auxílio de rede entomológica, em sub-bosque de um pomar de goiaba (*Psidium guajava*) no campus da UNESP em Jaboticabal (populações de Jaboticabal). As fêmeas foram colocadas

juntas em uma gaiola para postura, sendo que os ovos obtidos, durante o período de duas semanas, foram misturados e incubados em câmara climatizada ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e 14 horas de luz). As larvas foram individualizadas e alimentadas com ovos da traça dos cereais *S. cerealella*. Adultos virgens (geração  $F_1$ ) foram coletados ao acaso, separados por sexo e subdivididos em populações com os seguintes tamanhos: 1, 5, 10, 15 e 20 casais, ou seja, 2, 10, 20, 30 e 40 indivíduos por gaiola. As gerações seguintes foram estabelecidas da seguinte forma: Coletou-se ao acaso, nas gaiolas com diferentes populações, uma quantidade de ovos suficiente para estabelecimento de nova população, com número de indivíduos igual ao da gaiola de origem e um excedente que permitia a obtenção de aproximadamente 100 indivíduos para realização dos experimentos. Por exemplo, para estabelecimento da geração  $F_2$  da população de Jaboticabal, mantida em gaiola com 5 casais, foram individualizadas 150 larvas descendentes da geração  $F_1$ . Os adultos obtidos foram separados por sexo e estabelecida uma nova população com 5 casais, os demais exemplares foram mantidos em gaiolas com populações separadas de machos e fêmeas virgens. Este procedimento foi adotado também para o estabelecimento da população de Piracicaba, sendo os indivíduos fundadores coletados em Piracicaba - SP, em uma área com cultura de milho (*Zea mays*), no Câmpus da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP. Foram utilizadas 10 larvas viáveis de 2ª e 3ª instares das populações de Jaboticabal e Piracicaba. Larvas do 1ª instar não foram avaliadas devido a dificuldade técnica para obtenção precisa do peso das mesmas. Os adultos foram mantidos em cinco tamanhos amostrais diferentes (subpopulações), ou seja, 1, 5, 10, 15 e 20 casais por gaiola de postura. Para a manutenção das subpopulações e, conseqüentemente, obtenção das gerações subseqüentes, coletou-se aleatoriamente de cada uma, quantidade de ovos suficiente para obtenção da próxima geração com tamanho equivalente a subpopulação original. Os

Tabela 1. **Resumo da análise de variância, de acordo com o delineamento inteiramente casualizado, dos caracteres alimento consumido e ganho de peso, com respectivas médias gerais e coeficientes de variação, referentes a cinco subpopulações de Jaboticabal (F<sub>8</sub>), de *Chrysoperla externa*.**

Fontes de Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		Alimento Consumido (mg)		Ganho de Peso (mg)	
		2 <sup>o</sup> ínstar	3 <sup>o</sup> ínstar	2 <sup>o</sup> ínstar	3 <sup>o</sup> ínstar
Subpopulações	4	4,0538 **	18,2477 **	0,7453 **	5,0075 *
Resíduo	45	0,6844	4,0255	0,1111	1,6786
Média Geral		3,07	7,84	1,40	4,89
C.V. (%)		26,98	25,60	23,74	26,49

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F

ns Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F

ovos foram individualizados em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm), os quais foram tampados com chumaço de algodão hidrófobo. Após a eclosão, cada larva foi alimentada com cerca de 25 mg de ovos de *S. cerealella* aderidos em pedaços de cartolina (2,5 cm<sup>2</sup>). A substância adesiva utilizada foi a goma líquida neutra da marca Albyon®. Após a emergência, os adultos foram separados por sexo, de acordo com características da genitália externa, sendo submetidos a acasalamentos ao acaso. Os insetos foram mantidos em sala climatizada com temperatura de 25 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 14 horas. Foram coletados, aleatoriamente, 20 ovos de cada uma das populações, os quais foram individualizados em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm) e tampados com algodão hidrófobo. As larvas que eclodiram, no 1<sup>o</sup> ínstar, foram alimentadas com ovos de *D. saccharalis*, pois este tipo de alimento confere maior viabilidade para esta fase do desenvolvimento larval. Após a ecdise, as larvas de 2<sup>o</sup> ínstar foram mantidas em jejum por 24 horas e, em seguida, alimentadas com ovos de *S. cerealella* aderidos em pedaços de cartolina (0,5 x 1,5 cm), sendo um pedaço para cada larva. Foram registrados os pesos de 10 larvas e respectivas cartelas com ovos, antes e após 24 horas do fornecimento de alimento, com o objetivo de: a) avaliar a quantidade de alimento consumido, mensurada pela diferença entre o peso inicial e final da cartela após o período de alimentação (ali-

mento consumido); b) avaliar o aumento de peso das larvas, obtido pela diferença entre o peso antes e depois do período de alimentação (ganho de peso). Após a pesagem das cartelas, estas foram recolocadas nos tubos, garantido desta forma alimento para que as larvas pudessem atingir a fase seguinte.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos (subpopulações) e dez repetições (larvas), separadamente para cada população. Os dados foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância e as médias comparadas por meio do teste de Tukey.

## RESULTADOS

**População de Jaboticabal na geração F<sub>8</sub>** - Tanto em relação à quantidade de alimento consumido como para ganho de peso, foram verificados nos testes com larvas de 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> instares diferenças estatísticas significativas entre as subpopulações, evidenciando, de maneira geral, uma variação desses caracteres entre os indivíduos dentro de cada subpopulação (Tabela 1). O consumo máximo de alimento (vitelo dos ovos) para larvas de 2<sup>o</sup> ínstar foi observado nas subpopulações formadas por 15 e 20 casais, sendo igual a 4,9 mg para as duas subpopulações. O consumo mínimo (0,9 mg) foi observado em larvas provenientes de subpopulações originadas de 5 casais. Larvas do 3<sup>o</sup> ínstar consumi-

Tabela 2. Médias, intervalos de variação (I.V.) e diferenças mínimas significativas (D.M.S.) dos caracteres alimento consumido e ganho de peso em cinco subpopulações de Jaboticabal (F<sub>8</sub>), de *Chrysoperla externa*.

Subpopulações	Alimento Consumido (mg)				Ganho de Peso (mg)			
	2 <sup>o</sup> ínstar		3 <sup>o</sup> ínstar		2 <sup>o</sup> ínstar		3 <sup>o</sup> ínstar	
	Média	I.V.	Média	I.V.	Média	I.V.	Média	I.V.
1	2,82bc	2,2 – 3,5	6,33b	3,2 – 9,7	1,33bc	1,1 – 1,7	3,84b	2,0 – 5,8
5	2,96bc	0,9 – 3,8	8,03ab	6,7 – 10,3	1,46ab	1,0 – 1,8	5,15ab	3,9 – 5,7
10	2,22c	1,1 – 4,2	9,77a	8,0 – 11,6	1,02c	0,2 – 1,6	5,77a	4,5 – 6,9
15	4,05a	3,6 – 4,9	6,80b	0,2 – 8,6	1,78a	1,6 – 2,0	5,01ab	0,3 – 6,5
20	3,28ab	1,1 – 4,9	8,26ab	3,6 – 13,2	1,43abc	0,7 – 1,8	4,68ab	1,6 – 7,0
D.M.S.	1,052		2,551		0,424		1,647	

Médias seguidas das mesmas letras, na coluna, não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Tabela 3. Resumo da análise de variância, de acordo com o delineamento inteiramente casualizado, dos caracteres alimento consumido e ganho de peso, com respectivas médias gerais e coeficientes de variação, referentes a cinco subpopulações de Jaboticabal (F<sub>21</sub>), de *Chrysoperla externa*.

Fontes de Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		Alimento Consumido (mg)		Ganho de Peso (mg)	
		2 <sup>o</sup> ínstar	3 <sup>o</sup> ínstar	2 <sup>o</sup> ínstar	3 <sup>o</sup> ínstar
Subpopulações	4	1,0287 ns	8,6585 ns	0,3557 **	5,1512 **
Resíduo	45	0,8863	5,4726	0,0928	1,2991
Média Geral		3,06	9,08	1,29	5,05
C.V. (%)		30,75	25,76	23,57	22,56

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F

ns Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F

ram no máximo 13,2 mg e no mínimo 0,2 mg de alimento (Tabela 2). Em relação ao ganho de peso, pode ser verificado que esse caráter foi superior nas larvas provenientes de subpopulações estabelecidas com maior número de indivíduos, tanto no 2<sup>o</sup> quanto no 3<sup>o</sup> ínstar (Tabela 2).

**População de Jaboticabal na geração F<sub>21</sub>**

- Em relação ao consumo de alimento, não foi observada diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 3). No entanto, houve uma tendência de maior consumo em subpopulações estabelecidas com maior número de larvas (Tabela 4), tendência também observada na geração F<sub>8</sub>. Quanto ao ganho de peso foram observadas diferenças significativas entre as subpopulações tanto no 2<sup>o</sup> quanto no 3<sup>o</sup> ínstar (Tabela 3). O ganho de peso nas larvas de 2<sup>o</sup> ínstar diferiu

significativamente apenas quando as subpopulações eram constituídas por um e cinco casais, sendo o consumo mínimo e máximo, respectivamente, de 0,6 e 1,6 mg, para o primeiro caso, e de 0,8 e 1,8 mg para o segundo caso. O maior consumo de alimento foi observado em indivíduos da subpopulação gerada por 15 casais. Já o ganho de peso nas larvas de 3<sup>o</sup> ínstar foi estatisticamente igual entre as larvas das subpopulações formadas por um e por 20 casais, sendo observado maior ganho de peso (7,4 mg) em indivíduos da subpopulação composta por 5 casais (Tabela 4).

**População de Piracicaba na geração F<sub>7</sub>**

- Pela Tabela 5 verifica-se que tanto para consumo de alimento como para ganho de peso foram verificadas diferenças significativas entre as subpopulações em larvas de 2<sup>o</sup> e

Tabela 4. Médias, intervalos de variação (I.V.) e diferenças mínimas significativas (D.M.S.) dos caracteres alimento consumido e ganho de peso em cinco subpopulações de Jaboticabal (F<sub>21</sub>), de *Chrysoperla externa*.

Subpopulações	Alimento Consumido (mg)				Ganho de Peso (mg)			
	2 <sup>o</sup> ínstar		3 <sup>o</sup> ínstar		2 <sup>o</sup> ínstar		3 <sup>o</sup> ínstar	
	Média	I.V.	Média	I.V.	Média	I.V.	Média	I.V.
1	2,74a	1,9 – 4,6	7,64a	4,2 – 10,7	0,98b	0,6 – 1,6	3,80b	1,8 – 4,9
5	2,69a	2,2 – 3,2	10,18a	8,1 – 12,3	1,26b	0,8 – 1,8	5,53a	3,3 – 7,4
10	3,35a	2,6 – 3,8	9,05a	5,3 – 11,1	1,39a	0,9 – 1,8	5,49a	3,2 – 6,9
15	3,31a	2,5 – 4,8	9,50a	7,7 – 13,3	1,46a	1,1 – 2,5	5,31a	4,5 – 6,8
20	3,22a	1,2 – 7,7	9,03a	2,7 – 17,3	1,37a	1,0 – 1,7	5,13ab	2,7 – 6,8
D.M.S.	1,196		2,974		0,387		1,449	

Médias seguidas das mesmas letras, na coluna, não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Tabela 5. Resumo da análise de variância, de acordo com o delineamento inteiramente casualizado, dos caracteres alimento consumido e ganho de peso, com respectivas médias gerais e coeficientes de variação, referentes a cinco subpopulações de Piracicaba (F7), de *Chrysoperla externa*.

Fontes de Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		Alimento Consumido (mg)		Ganho de Peso (mg)	
		2 <sup>o</sup> ínstar	3 <sup>o</sup> ínstar	2 <sup>o</sup> ínstar	3 <sup>o</sup> ínstar
Subpopulações	4	10,2127 **	33,1047 **	1,4182 **	2,0423 ns
Resíduo	45	1,2041	4,6874	0,1454	1,3066
Média Geral		2,88	6,29	1,16	4,11
C.V. (%)		38,07	34,43	32,82	27,84

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F

ns Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F

Tabela 6. Médias, intervalos de variação (I.V.) e diferenças mínimas significativas (D.M.S.) dos caracteres alimento consumido e ganho de peso em cinco subpopulações de Piracicaba (F7), de *Chrysoperla externa*.

Subpopulações	Alimento Consumido (mg)				Ganho de Peso (mg)			
	2 <sup>o</sup> ínstar		3 <sup>o</sup> ínstar		2 <sup>o</sup> ínstar		3 <sup>o</sup> ínstar	
	Média	I.V.	Média	I.V.	Média	I.V.	Média	I.V.
1	1,81c	4,4 – 2,1	4,65c	3,6 – 5,2	1,01b	0,7 – 1,4	3,79a	2,8 – 4,7
5	2,00bc	1,0 – 3,4	4,96c	2,2 – 6,9	0,74b	0,3 – 1,7	3,85a	2,5 – 5,2
10	3,27ab	1,6 – 4,5	5,52bc	1,9 – 8,1	0,94b	0,4 – 1,9	3,70a	1,4 – 5,0
15	4,29a	2,7 – 6,6	8,50a	3,1 – 12,4	1,56a	1,2 – 2,3	4,53a	1,8 – 6,3
20	3,04abc	1,8 – 7,7	8,01ab	3,0 – 12,7	1,56a	1,0 – 2,1	4,66a	1,9 – 6,6
D.M.S.	1,395		2,752		0,485		1,453	

Médias seguidas das mesmas letras, na coluna, não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

3<sup>o</sup> ínstar, com exceção apenas das larvas de 3<sup>o</sup> ínstar, em relação ao ganho de peso. Menor consumo de alimento foi verificado nas larvas da subpopulação originada por um casal, repetindo-se a tendência observada na

população anterior (Jaboticabal). O maior consumo observado foi de 7,7 e 12,7 mg, respectivamente para larvas de 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> ínstar, provenientes da subpopulação estabelecida por 20 casais (Tabela 6). Como relatado

Tabela 7. **Resumo da análise de variância, de acordo com o delineamento inteiramente casualizado, dos caracteres alimento consumido e ganho de peso, com respectivas médias gerais e coeficientes de variação, referentes a cinco subpopulações de Piracicaba (F<sub>16</sub>), de *Chrysoperla externa*.**

Fontes de Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		Alimento Consumido (mg)		Ganho de Peso (mg)	
		2 <sup>o</sup> ínstar	3 <sup>o</sup> ínstar	2 <sup>o</sup> ínstar	3 <sup>o</sup> ínstar
Subpopulações	4	5,2347 **	1,7285 ns	1,0462 **	3,3192 ns
Resíduo	45	0,6118	4,2730	0,0891	1,7854
Média Geral		2,50	8,10	0,98	4,67
C.V. (%)		31,26	25,52	30,39	28,60

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F  
 ns Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F

Tabela 8. **Médias, intervalos de variação (I.V.) e diferenças mínimas significativas (D.M.S.) dos caracteres alimento consumido e ganho de peso em cinco subpopulações de Piracicaba (F<sub>16</sub>), de *Chrysoperla externa*.**

Subpopulações	Alimento Consumido (mg)				Ganho de Peso (mg)			
	2 <sup>o</sup> ínstar		3 <sup>o</sup> ínstar		2 <sup>o</sup> ínstar		3 <sup>o</sup> ínstar	
	Média	I.V.	Média	I.V.	Média	I.V.	Média	I.V.
1	1,92b	0,8 – 3,1	7,41a	2,9 – 13,2	0,68b	0,1 – 1,1	3,78a	0,9 – 7,7
5	1,85b	1,1 – 3,4	8,40a	5,9 – 10,2	0,62b	0,2 – 1,1	4,48a	2,6 – 5,8
10	2,81ab	1,4 – 4,1	8,02a	6,8 – 9,2	1,08a	0,5 – 1,5	5,10a	4,1 – 5,9
15	2,33b	0,8 – 3,6	8,27a	6,1 – 13,1	1,15a	0,9 – 1,5	4,78a	3,2 – 8,4
20	3,60a	2,4 – 5,1	8,40a	6,4 – 12,1	1,38a	0,9 – 1,8	5,22a	4,1 – 6,8
D.M.S.	0,994		2,628		0,379		1,699	

Médias seguidas das mesmas letras, na coluna, não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

anteriormente, o ganho de peso nas larvas de 3<sup>o</sup> ínstar não diferiu estatisticamente entre as subpopulações, porém houve uma tendência de maior consumo de alimento por larvas das subpopulações produzidas por maior número de casais (Tabela 6).

**População de Piracicaba na geração F<sub>16</sub>** - No caso das larvas de 2<sup>o</sup> ínstar ocorreram diferenças significativas entre as subpopulações tanto para consumo de alimento quanto para ganho de peso, ao contrário do que ocorreu para larvas de 3<sup>o</sup> ínstar (Tabela 7). De qualquer modo, observou-se a mesma tendência da outra população (Jaboticabal) e das outras gerações em relação aos dois caracteres avaliados. Quanto ao consumo de alimento, os valores médios indicam maior consumo pelas larvas das subpopulações formadas por 20 casais, tanto para larvas do 2<sup>o</sup>

quanto do 3<sup>o</sup> ínstar, apesar da não significância no caso das larvas de 3<sup>o</sup> ínstar. As larvas do 2<sup>o</sup> ínstar das subpopulações formadas por 10, 15 e 20 casais apresentaram ganho de peso significativamente maior do que as larvas das subpopulações com um e cinco casais. Apesar de não diferir estatisticamente, o ganho de peso das larvas de 3<sup>o</sup> ínstar foi numericamente superior para as subpopulações formadas por 10, 15 e 20 casais do que naquelas compostas por um e cinco casais (Tabela 8).

**DISCUSSÃO**

Em criações massais, os principais fatores que contribuem para alterações no desenvolvimento e crescimento dos insetos são a temperatura e a quantidade e qualidade do alimento oferecido (BRETTELL, 1979; PARRA,

1994). Vários autores observaram diferenças na duração da fase larval de crisopídeos, quando alimentados com diferentes presas (MUMA, 1957; BLACKMAN, 1967; HYDORN Y WHITCOMB, 1979; RIBEIRO, 1988; DE BORTOLI ET AL., 2006; DE BORTOLI Y MURATA, 2007). Neste trabalho, as larvas de todas as subpopulações das duas populações avaliadas foram alimentadas, ao longo das gerações, com o mesmo tipo e quantidade de alimento, ou seja, 25 mg de ovos de *S. cerealella* por larva, sendo mantidas também sob as mesmas condições ambientais, descartando-se, desta forma, estes fatores como responsáveis pela variação encontrada entre as subpopulações. Nesse sentido, TULISALO (1984) observou que larvas de crisopídeos mantidas em laboratório com dieta à base de ovos de *S. cerealella*, mantinham características favoráveis por mais de 10 gerações.

De modo geral e de forma semelhante ao observado por RIDGWAY et al., 1972 e JONES et al., (1978), foi constatado decréscimos significativos no desempenho dos insetos com o avanço das gerações, sendo esses decréscimos maiores nas populações de Piracicaba, evidenciando menor viabilidade genética. Analisando os resultados das duas populações, é possível concluir que as variáveis biológicas consumo de alimento e ganho de peso forneceram resultados promissores para que sejam adotadas em programas de controle de qualidade em laboratórios de criação massal de *C. externa*. Deve também ser salientado que o desempenho médio dos indivíduos das subpopulações de Jaboticabal foi superior ao dos indivíduos de Piracicaba, sendo essa diferença provavelmente devida à menor variabilidade genética da população de Piracicaba, uma vez que nessa região, contrariamente a Jaboticabal, o processo mais acentuado de urbanização reduziu muito mais a área de vegetação nativa e de áreas com cultivos anuais, restando áreas esparsas de culturas perenes, as quais são refúgios pequenos e isolados que impedem ou dificultam o fluxo gênico entre as populações naturais de *C. externa* desta região.

As oscilações dos valores das variáveis biológicas, nas duas populações analisadas, foi uma constante durante a condução do trabalho. Essa alternância de desempenho entre as populações estabelecidas com diferentes quantidades de indivíduos, também foi constatada por PREZOTTI, 2001) em estudos com populações de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e, segundo este autor, é um fenômeno comum em criações de laboratório e um alerta para a importância do monitoramento visando a detecção de reduções significativas no desempenho dos insetos e que possam vir a comprometer a qualidade da colônia. Desse modo, observou-se ao longo deste trabalho que o desempenho apresentado por uma determinada subpopulação em uma mesma geração nem sempre correspondia ao desempenho obtido em relação a outra variável e que as populações estabelecidas com um menor número de indivíduos foram aquelas com resultados inferiores, sendo provável que nesses casos, com a evolução das gerações, a ocorrência da redução na variabilidade genética e, conseqüentemente, na capacidade de consumo e metabolismo do alimento consumido.

Assim, na maioria das criações de insetos em laboratório, a capacidade de dispersão dos indivíduos é nula e o fluxo gênico inexistente, sendo o cruzamento consanguíneo uma constante, caracterizando populações endogâmicas. É necessário, portanto, cuidado com o número de indivíduos a ser utilizado no estabelecimento de uma população de laboratório, bem como com as introduções de novos indivíduos nas colônias, o que, para *C. externa* deve ser sempre maior que 5 casais, com novas introduções após 24 gerações.

## CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos pode-se dizer que, de maneira geral, o ganho de peso e o consumo das larvas foram superiores com populações estabelecidas com maior número de casais, não apresentando grandes variações dentro das populações e gerações estudadas.

## RESUMEN

DE BORTOLI, S. A., R. J. FERREIRA. 2008. Consumo alimenticio y ganancia de peso de larvas de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) oriundas de diferentes poblaciones y generaciones de laboratorio. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 167-176.

Han sido realizados varios estudios sobre la biología, la capacidad de predación y el consumo en varias especies de crisopidos, buscando una utilización más racional de estos insectos en el Manejo Integrado de Plagas. Así, el objetivo de este trabajo fue el de verificar las posibles variaciones en la capacidad de consumo y en la ganancia de peso en larvas de *C. externa*, con diferentes generaciones de laboratorio y oriundas de dos poblaciones distintas (Jaboticabal y Piracicaba) y además con diferentes tamaños iniciales (1, 5, 10, 15 y 20 parejas). De manera general, y según los resultados obtenidos se puede decir que la ganancia de peso y el consumo de las larvas fueron superiores en las poblaciones establecidas con un mayor número de parejas, no presentándose grandes variaciones dentro de las poblaciones y generaciones estudiadas.

**Palabras clave:** predación, crisopidos, manejo integrado de plagas, variabilidad de poblaciones, tamaños de poblaciones.

## ABSTRACT

DE BORTOLI, S. A., R. J. FERREIRA. 2008. Food consumption and weight gain of *Chrysoperla externa* larvae from different laboratory populations and generations. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 167-176.

Several studies have been made about biology, predatory capacity, and food consumption to crisopids species, trying to get informations to use in Integrated Pest Management. Raising insects in laboratory for many generations could cause blood relation problems, even annihilate the insect mass production. In this way, the objective of this work was to determine the consumption and the weight gain to *Chrysoperla externa* larvae from two populations and different laboratory generations, founded by 1, 5, 10, 15 and 20 couples. By the result it was possible to conclude that larvae food consumption was higher in populations founded by greater number of couples, and it is not verified variation among populations and generations.

**Key words:** predation, crisopids, integrated pest management, population variability, population size.

## REFERÊNCIAS

- AUN, V. 1986. *Aspectos biológicos de Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). 65f. Dissertação (Mestrado em Entomologia), ESALQ-USP, Piracicaba.
- BUTLER, G. D., MAY, C. J. 1971. Laboratory studies of searching capacity of larvae of *Chrysopa carnea* for eggs of *Heliothis* spp. *J. Econ. Entomol.*, **64**(6): 1459-1461.
- BLACKMAN, R. L. 1967. The effect of different foods on *Adalia bipunctata* L. and *Coccinella 7-punctata*. *Annals of applied Biology*, **58**: 207-219.
- BRETTELL, J. H. 1979. Green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) of cotton fields in central Rhodesia. 1. Biology of *Chrysopa boninensis* Okamoto and toxicity of certain insecticides to the larvae. *Rhodesia Journal of Agricultural Research*, **17**:141-150.
- DE BORTOLI, S. A., CAETANO, C., MURATA, A. T., OLIVEIRA, J. E. DE M. 2006. Desenvolvimento e capacidade predatória de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) em diferentes presas. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, **6**(1): 145-152.
- DE BORTOLI, S. A. Y MURATA, A. T. 2007. Aspectos biológicos de *Ceraeochrysa paraguayana* (Navás, 1920) (Neuroptera: Chrysopidae), em condições de laboratório. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **33**(3):35 – 42.
- FERREIRA, R. J. 1996. *Técnicas para produção massal de crisopídeos* (Neuroptera, Chrysopidae). 115f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), FCAV, UNESP, Jaboticabal.
- HAI, F. N. P., VELASQUEZ, J. J., BLEICHER, E., GARCIA ROA, F., SILVA, C. N. DA, SOUZA JR., M. M. 1992. Produção massal de *Trichogramma* spp. no Submédio São Francisco. In: Simpósio de Controle Biológico, 3, 1992, Águas de Lindóia, SP, Anais..., Águas de Lindóia, SP, p.17.

- HYDORN, S. Y WHITCOMB, W. H. 1979. Effects of larval diet on *Chrysopa rufilabris*. *The Florida Entomologist*, **62**(4): 293-298.
- JONES, S. L., KINZER, R. E., BULL, D. L., ABLES, J. R., RIDGWAY R. L. 1978. Deterioration of *Chrysopa carnea* in mass culture. *Annals of the Entomological Society of America*, **71**(2): 160-162.
- MUMA, M. H. 1957. Effects of larval nutrition on the ciclo, size, coloration, and longevity of *Chrysopa lateralis* Guer. *The Florida Entomologist*, **40**(1): 5-9.
- PARRA, J.R.P. 1994. *Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico*. 2ª ed. Piracicaba: FEALQ, 196p.
- PREZOTTI, L. 2001. *Controle de qualidade de Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em condições de laboratório. 81f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- PRINCIPI, M. M., CANARD, M. 1984. Feedings habits. In: CANARD, M., SEMERIA, Y., NEW, T.R. (eds.). *Biology of Chrysopidae*. The Hague: W. Junk, p.76-92.
- RIBEIRO, M. J. 1988. *Biologia de Chrysoperla externa (Hagen, 1861) (Neuroptera, Chrysopidae) alimentada com diferentes dietas*. 1988, 131f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade), UFLA, Lavras.
- RIBEIRO, M. J., CARVALHO, C. F., FIGUEIRA, L. K., SOUZA, B., MATOS, J. W. 1991. Efeito de diferentes presas sobre a biologia de adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). *Ciência e Prática*, **15**(4): 358-364.
- RIBEIRO, L. J. 1998. *Características do desenvolvimento e potencial de Chrysoperla externa (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) sob diferentes dietas alimentares*. 1998, 112f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), FCAV-UNESP, Jaboticabal.
- RIDGWAY, R. L., KINZER, R. E., MORRISON, R. K. 1972. Production and supplemental releases of parasites and predators for control of insects and spider mite pests of crops. In: Maxwell, F.G. y Harris, F.A. (Eds.). *Proceedings of the Summer Institute of Biological Control Plants, Insects and Diseases*. Mississippi: Jackson University Press. P.110-116.
- SANTOS, J. M., CARVALHO, C. F., FIGUEIRA, L. K., SOUZA, B., MATOS, J. W. 1997. Efeito de diferentes presas sobre a biologia de adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 16, 1997, Salvador, BA, Anais..., Salvador, BA, p.69.
- STARK, S. B., WHITFORD, F. 1987. Functional response of *Chrysopa carnea* (Neur.: Chrysopidae) larvae feeding on *Heliothis virescens* (Lep.: Noctuidae) eggs on cotton in field cages. *Entomophaga*, **32**(5): 521-27.
- TULISALO, U. 1984. Mass rearing techniques. In: CANARD, M.; SÉMÉRIA, Y.; NEW, T.R. (Eds.). *Biology of Chrysopidae*. The Hage: W. Junk. P.213-220.
- VANDERZANT, E.S. 1969. An artificial diet for larvae and adults of *Chrysopa carnea*, on insect predator of crops pests. *J. Econ. Entomol.*, **62**(1): 256-257.

(Recepción: 17 noviembre 2006)

(Aceptación: 20 mayo 2008)

## Efeitos de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijão armazenado

E. L. L. BALDIN, J. M. PEREIRA, M. H. F. A. DAL POGETTO, R. S. CHRISTOVAM, A. C. CAETANO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os possíveis efeitos de pós vegetais impregnados a grãos de feijoeiro sobre a biologia de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) sob condições de laboratório ( $T^{\circ}= 25\pm 2$ , U.R.=  $70\pm 10\%$  e fotoperíodo de 12h). Então, foi realizado um teste sem chance de escolha, utilizando-se dezoito tratamentos (dezesete tipos de pós vegetais e a testemunha) em delineamento inteiramente casualizado, efetuando-se 10 repetições. Os pós (0,3 g/tratamento) foram colocados no interior de recipientes plásticos contendo 10 g de feijão, juntamente com sete casais do caruncho. Avaliaram-se os seguintes parâmetros biológicos: oviposição, número e peso de adultos emergidos, viabilidade larval, período de desenvolvimento (ovo-adulto) e peso de grãos consumidos. Os pós de *C. ambrosioides*, *M. pulegium*, *R. graveolens* e *E. citriodora* reduziram a oviposição e inibiram a alimentação do caruncho em grãos de feijoeiro, podendo ser indicados como método natural de controle de *Z. subfasciatus*.

E. L. L. BALDIN, M. H. F. A. DAL POGETTO, R. S. CHRISTOVAM. FCA/UNESP de Botucatu - Departamento de Produção Vegetal / Defesa Fitossanitária. Caixa Postal 237, CEP: 18610-307, Botucatu, SP, Brasil. e-mail: elbaldin@fca.unesp.br  
J. M. PEREIRA. FCA/UNICASTELO de Fernandópolis - Laboratório de Entomologia, Caixa Postal 221, CEP: 15.600-000 Fernandópolis, SP, Brasil.  
A. C. CAETANO. IBAMA - Floresta Nacional de Chapecó-SC, Caixa Postal 21, CEP 89.817-000; Guatambu-SC, Brasil.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, caruncho-do-feijão, plantas inseticidas.

### INTRODUÇÃO

O caruncho *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae), originário do Novo Mundo, é apontado como uma das principais pragas do feijão armazenado, distribuindo-se nas Américas Central e do Sul, na África, no Mediterrâneo e na Índia (OLIVEIRA & VENDRAMIM, 1999). A espécie foi introduzida em muitos países da Europa por meio de feijões infestados, onde tem ocasionalmente ampliado seus danos para outros legumes (MEIK & DOBIE, 1986).

As perdas de grãos de feijoeiro causadas por esse inseto chegam a atingir 35% no

México, América Central e Panamá e variam de 7% a 15% no Brasil (SCHOONHOVEN & CARDONA, 1982). Nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, as perdas chegam a 20% (WIENDL, 1975) e no Nordeste a 40% (OLIVEIRA *et al.*, 1977).

Entre os principais danos provocados por *Z. subfasciatus* destacam-se a perda de peso, além da redução do poder germinativo e nutritivo dos grãos, comprometendo seu valor comercial (FERREIRA 1960, GALLO *et al.*, 2002). Somam-se ainda, os danos indiretos, relacionados à entrada de microrganismos e ácaros e o aquecimento dos grãos (ROSOLEM & MARUBAYASHI, 1994).

O controle desta praga é realizado tradicionalmente através de inseticidas químicos, que oferecem um alto potencial de contaminação ao aplicador e ao consumidor, devido aos resíduos potencialmente tóxicos deixados por estes produtos (GOLOB & KILMINSTER, 1982, SCHOONHOVEN & DAN, 1982).

Formas alternativas de controle de pragas vêm sendo estudadas nas últimas três décadas, através da revalorização de plantas que possuam substâncias com propriedades inseticidas. Nesse sentido, alguns países como Brasil, México, Equador e Chile têm desenvolvido pesquisas buscando em plantas nativas e exóticas, compostos químicos com potencial para o controle de pragas agrícolas (RODRÍGUEZ, 2000).

Os produtos de origem vegetal são utilizados na forma de pós, extratos ou óleos, sendo facilmente extraídos (GALLO *et al.*, 2002). Essas formulações, em geral inócuas para os aplicadores e consumidores, podem provocar mortalidade, repelência, inibição da oviposição, além de comprometer o desenvolvimento biológico de insetos. (WEAVER *et al.*, 1994).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os possíveis efeitos de pós de diferentes espécies vegetais sobre a biologia de *Z. subfasciatus* através de testes de laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Entomologia da FCA/UNICASTELO, Campus de Fernandópolis, SP, Brasil (20°17'S, 50°14'W e 535 m de altitude) durante o ano de 2006. Para a realização dos ensaios foi mantida uma criação estoque de *Z. subfasciatus* no interior de uma câmara climática ( $T = 25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ; U.R. =  $70\% \pm 5\%$  e fotoperíodo = 12h).

Na criação foram utilizados frascos de vidro transparentes com 1 litro de capacidade, fechados na parte superior com tampa rosqueável, onde foi efetuada uma abertura circular, adaptando-se uma tela com malha fina (35 mesh), permitindo a aeração interna.

Cada frasco recebeu 0,3 kg de grãos de feijão IAC-Carioca recém-colhidos, sendo infestados com aproximadamente 300 adultos de *Z. subfasciatus*.

Foram preparados 17 tratamentos, a partir da coleta das seguintes espécies vegetais: *Achyrocline satureioides* Lam. (folha + ramo), *Leonurus sibiricus* L. (folha + ramo), *Mentha pulegium* L. (folha + ramo), *Plantago major* L. (folha + ramo), *Artemisia camporata* Vill. (folha + ramo), *Ageratum conyzoides* L. (folha + ramo), *Malva sylvestris* L. (folha + ramo), *Ruta graveolens* L. (folha + ramo), *Artemisia absinthium* L. (folha + ramo), *Arnica montana* L. (folha + ramo), *Coleus barbatus* Benth. (folha + ramo), *Foeniculum vulgare* Mill. (folha + ramo), *Ocimum basilicum* L. (folha + ramo), *Mikania glomerata* Spreng. (folha + ramo), *Chenopodium ambrosioides* L. (folha + ramo + inflorescência), *Azadirachta indica* A. Juss. (folha) e *Eucalyptus citriodora* Hook (folha+ramo).

As estruturas vegetais coletadas foram secas em estufa a 40°C por dois dias, sendo posteriormente trituradas em moinho de facas para a obtenção dos respectivos tratamentos, conforme citado por OLIVEIRA & VENDRAMIM, (1999).

Cada parcela foi formada por 10g de grãos do genótipo IAC-Carioca, juntamente com 0,3g do respectivo pó em recipientes plásticos com 4,0 x 5,0 cm. Posteriormente, foram liberados sete casais adultos de *Z. subfasciatus*, com 48 h de idade no interior dos recipientes, sendo estes removidos sete dias após a infestação.

Após vinte dias da liberação dos adultos de *Z. subfasciatus* foi contabilizado o número de ovos por recipiente, obtendo-se em seguida a percentagem de ovos viáveis e o índice de preferência para oviposição (BALDIN *et al.*, 2000), através da fórmula:  $IPO = [(T-P)/(T+P)] \times 100$ , onde T representa o número de ovos contados no tratamento avaliado e P representa o número de ovos contados no tratamento padrão (testemunha, sem pó). O índice varia de 100, para muito estimulante, zero para neutro, até -100 para

total deterrência. A classificação foi feita a partir da comparação das médias de ovos dos tratamentos com a média do tratamento padrão (testemunha), levando-se em consideração o erro padrão da média do ensaio para a diferenciação dos mesmos.

Passados vinte e cinco dias da infestação inicial, as parcelas passaram a ser avaliadas diariamente visando determinar-se a viabilidade larval, o número de adultos emergidos, o período de desenvolvimento (ovo-adulto), o peso seco dos insetos e o peso (seco) de grãos consumidos por *Z. subfasciatus*.

Todos os adultos recém-emergidos do caruncho foram acondicionados em pequenos vidros (2,2 x 5,0 cm) e imediatamente conduzidos a um freezer para uma rápida interrupção do ciclo vital, evitando perdas de peso e mantendo-se em perfeito estado de

conservação. Ao término das emergências, estes vidros foram abertos e colocados em estufa (50°C) por 48 h para a determinação do peso seco dos insetos. O consumo dos grãos de feijão pelas larvas do caruncho foi determinado comparando-se o peso seco dos grãos das parcelas infestadas com o peso seco das parcelas não infestadas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software ESTAT 2.0 (UNESP de Jaboticabal, SP).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos que apresentaram maior número de ovos de *Z. subfasciatus* foram, *A. camphorata* (206,75), *O. basilicum*

Tabela 1. Médias de oviposição e viabilidade de ovos de *Z. subfasciatus* em grãos de feijoeiro impregnados com diferentes pós vegetais.

Tratamentos	Nº de ovos <sup>1</sup>	% de ovos viáveis <sup>2</sup>
<i>A. camphorata</i>	206,75 a	67,25 def
<i>O. basilicum</i>	205,75 ab	74,99 bcdef
<i>P. major</i>	191,88 ab	64,39 fg
<i>A. absinthium</i>	191,75 ab	75,66 bcdef
<i>A. indica</i>	182,88 abc	74,40 bcdef
<i>A. montana</i>	177,50 abc	80,37 abc
<i>M. glomerata</i>	177,13 abc	53,49 f
<i>A. satyroides</i>	174,50 abcd	78,67 bcd
<i>A. conyzoides</i>	173,88 abcd	77,09 bcde
<i>M. sylvestris</i>	153,75 abcde	78,90 bcd
Testemunha	150,63 abcdef	63,93 fg
<i>L. sibiricus</i>	129,25 bcdef	89,80 a
<i>F. vulgare</i>	110,13 cdefg	71,23 cdef
<i>C. barbatus</i>	109,25 defg	78,37 bcde
<i>C. ambrosioides</i>	107,63 efg	76,09 bcdef
<i>M. pulegium</i>	102,63 efg	75,03 bcdef
<i>E. citriodora</i>	89,50 fg	66,49 efg
<i>R. graveolens</i>	65,88 g	84,35 ab
F	10,69*	13,11*
CV (%)	13,43	7,35

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados transformados em  $(x+0,5)^{1/2}$ .

<sup>2</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados transformados em  $\arcsen. (x+0,5)^{1/2}$ .

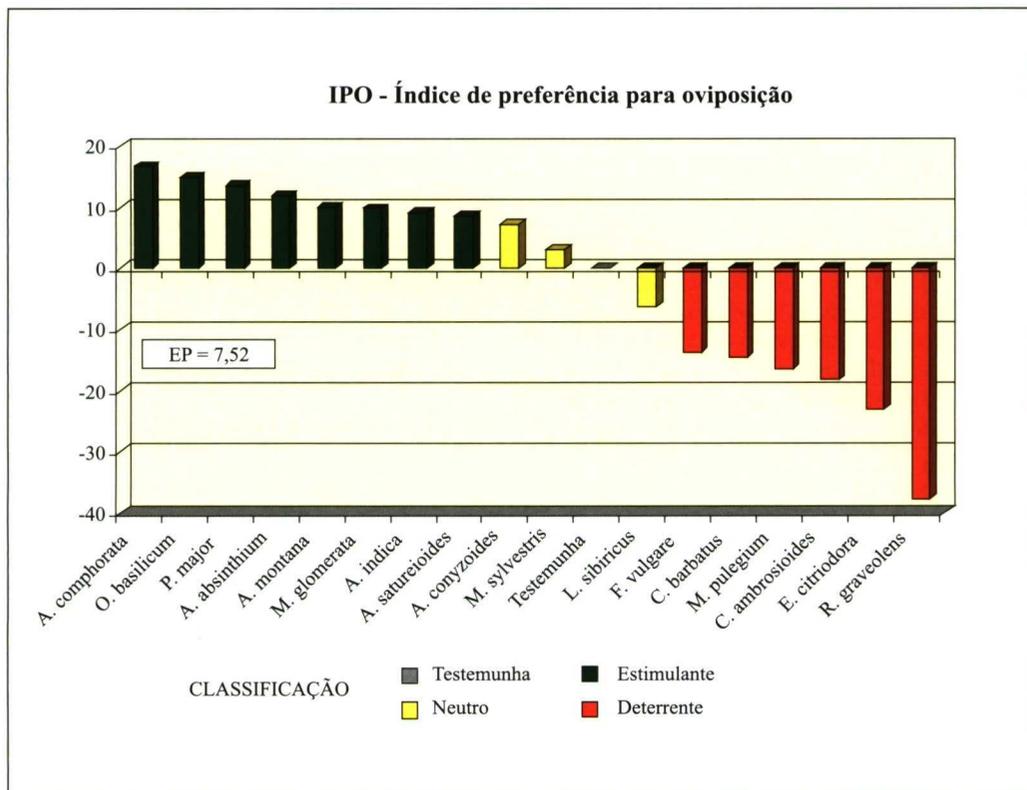


Figura 1. Índice de preferência para oviposição e classificação dos pós vegetais quanto à oviposição de *Z. subfasciatus*.

(205,75), *P. major* (191,88) e *A. absinthium* (191,75), diferindo significativamente dos tratamentos *F. vulgare* (110,13), *C. barbatus* (109,25), *C. ambrosioides* (107,63), *M. pulegium* (102,63), *E. citriodora* (89,50) e *R. graveolens* (65,88), que revelaram menores médias de ovos, sugerindo que os pós destas espécies vegetais misturados com grãos de feijão IAC-Carioca afetam negativamente a oviposição de *Z. subfasciatus* (Tabela 1). Estes dados contrastam com aqueles obtidos por BARBOSA *et al.* (2002) que obtiveram os menores índices de oviposição do inseto quando utilizaram *A. indica* em grãos de feijoeiro; entretanto no trabalho desses autores as plantas testadas foram empregadas na forma de óleo e não de pó, como na presente pesquisa.

A viabilidade dos ovos foi menor nos grãos tratados com os pós de *M. glomerata*, *P. major* e *E. citriodora* (Tabela 1), sugerindo um potencial ovicida desses tratamentos; porém, ao compararem-se essas médias com aquela obtida na testemunha, observa-se ausência de diferença estatística, o que torna a hipótese infundada.

No geral, os resultados de viabilidade dos ovos tratados com os pós utilizados no trabalho encontram-se próximos aos obtidos por outros autores, incluindo GUZMÁN-MALDONADO *et al.* (1996) e BARBOSA *et al.* (2002), que avaliaram o efeito de diversas espécies vegetais sobre a oviposição de *Z. subfasciatus*.

Através do índice de preferência para a oviposição (Figura 1) é possível contrastar a

Tabela 2. Médias de viabilidade larval, emergência de adultos, período de desenvolvimento (ovo-adulto) e peso seco de adultos de *Z. subfasciatus* em grãos de feijoeiro impregnados com diferentes pós vegetais.

Tratamentos	Viabilidade larval (%) <sup>1</sup>	Nº de adultos emergidos <sup>2</sup>	Período de desenvolvimento (dias) <sup>3</sup>	Peso dos adultos (mg) <sup>3</sup>
<i>A. camphorata</i>	83,84	118,00 ab	28,44 abcd	2,13 a
<i>O. basilicum</i>	81,74	122,13 a	27,32 defgh	1,47 c
<i>P. major</i>	81,19	92,13 abcd	27,15 fgh	1,44 c
<i>A. absinthium</i>	65,58	100,25 abcd	28,50 abc	1,92 ab
<i>A. indica</i>	84,73	118,25 ab	26,18 h	1,45 c
<i>A. montana</i>	82,83	119,13 a	26,34 h	1,34 c
<i>M. glomerata</i>	66,57	64,25 bcde	27,28 efgh	1,96 ab
<i>A. satureioides</i>	81,49	111,88 abc	26,30 h	1,99 ab
<i>A. conyzoides</i>	78,65	107,50 abcd	27,68 cdefg	2,15 a
<i>M. sylvestris</i>	82,64	99,25 abcd	27,09 fgh	2,20 a
Testemunha	72,09	72,25 abcde	28,49 abc	2,01 a
<i>L. sibiricus</i>	79,85	91,63 abcd	28,14 bcdef	1,44 c
<i>F. vulgare</i>	75,07	60,38 de	28,41 abcde	1,86 ab
<i>C. barbatus</i>	77,74	67,25 abcde	28,77 abc	1,48 c
<i>C. ambrosioides</i>	75,35	62,00 cde	28,97 ab	1,64 bc
<i>M. pulegium</i>	77,31	56,25 de	28,72 abc	1,61 bc
<i>E. citriodora</i>	72,28	43,38 e	26,71 gh	1,44 c
<i>R. graveolens</i>	72,68	37,50 e	29,31 a	1,40 c
F	1,54 <sup>ns</sup>	7,59*	19,26*	16,33*
CV (%)	14,57	17,79	2,31	12,14

<sup>1</sup> Dados transformados em arcsen  $(x+0,5)^{1/2}$

<sup>2</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados transformados em  $(x+0,5)^{1/2}$ .

<sup>3</sup> Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados originais.

diferença entre a testemunha (sem pó) e os tratamentos à base de *F. vulgare*, *C. barbatus*, *M. pulegium*, *C. ambrosioides*, *E. citriodora* e *R. graveolens*, classificados como deterrentes no ensaio. De maneira oposta, os pós de *A. satureioides*, *A. indica*, *M. glomerata*, *A. montana*, *A. absinthium*, *P. major*, *O. basilicum* e *A. camphorata*, foram considerados estimulantes. Os tratamentos *A. conyzoides*, *M. sylvestris*, *L. sibiricus* foram considerados neutros ou semelhantes quanto à oviposição, comparando-se com a testemunha. A deterência provocada pelos pós provenientes de *F. vulgare*, *C. barbatus*, *M. pulegium*, *C. ambrosioides*, *E. citriodora* e *R. graveolens* pode estar associada à presença de compostos voláteis que ao serem detecta-

dos pelas fêmeas de *Z. subfasciatus*, inibem seu comportamento de oviposição, reduzindo significativamente a postura sobre os grãos.

A presença dos pós de diferentes espécies vegetais não afetou a viabilidade larval do caruncho (Tabela 2), sugerindo que, ao penetrarem no interior dos grãos, as larvas fiquem protegidas de uma possível ação larvicida dos pós. Entretanto, no caso específico de *Z. subfasciatus* cabe ressaltar que, provavelmente, as larvas nem tenham entrado em contato direto com as partículas de pó, uma vez que os ovos desse inseto ficam aderidos aos grãos e as larvas ao eclodirem penetram rapidamente através de seu tegumento, sem caminhar entre os grãos. A ação de pós sobre

larvas de caruncho poderia ser melhor acompanhada com outras espécies de caruncho, como *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae), cujos ovos ficam soltos entre os grãos, sendo as larvas obrigadas a caminhar sobre estes antes de os penetrarem (CREDLAND & DENDY, 1992). Em experimentos utilizando pó de *C. ambrosioides* no controle natural de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado, DELOBEL & MALONGA (1987), RODRÍGUEZ & SÁNCHEZ (1994) e SILVA *et al.* (2003) relataram valores de viabilidade larval correspondentes a 0,5%, 37% e 0%, respectivamente.

Uma vez que os tratamentos não diferiram quanto à viabilidade larval (Tabela 2), a variação quanto ao número de adultos emergidos na maioria dos tratamentos fica condi-

cionada principalmente à deterrência na oviposição, descartando-se a possibilidade de efeitos antibióticos. Já no caso dos tratamentos *C. ambrosioides*, *M. pulegium*, *E. citriodora* e *R. graveolens*, a baixa emergência pode estar relacionada com uma inibição na alimentação, uma vez que na presença destes materiais os insetos apresentaram período de desenvolvimento sensivelmente mais longos. Além disso, os insetos provenientes desses tratamentos apresentaram peso inferior aos provenientes da testemunha e seus grãos foram menos consumidos (Figura 2), indicando que a presença desses pós pode ter afetado a alimentação, e, conseqüentemente, o desenvolvimento das larvas no interior dos grãos, que precisaram de mais tempo para completar o ciclo. A toxicidade de *C. ambro-*

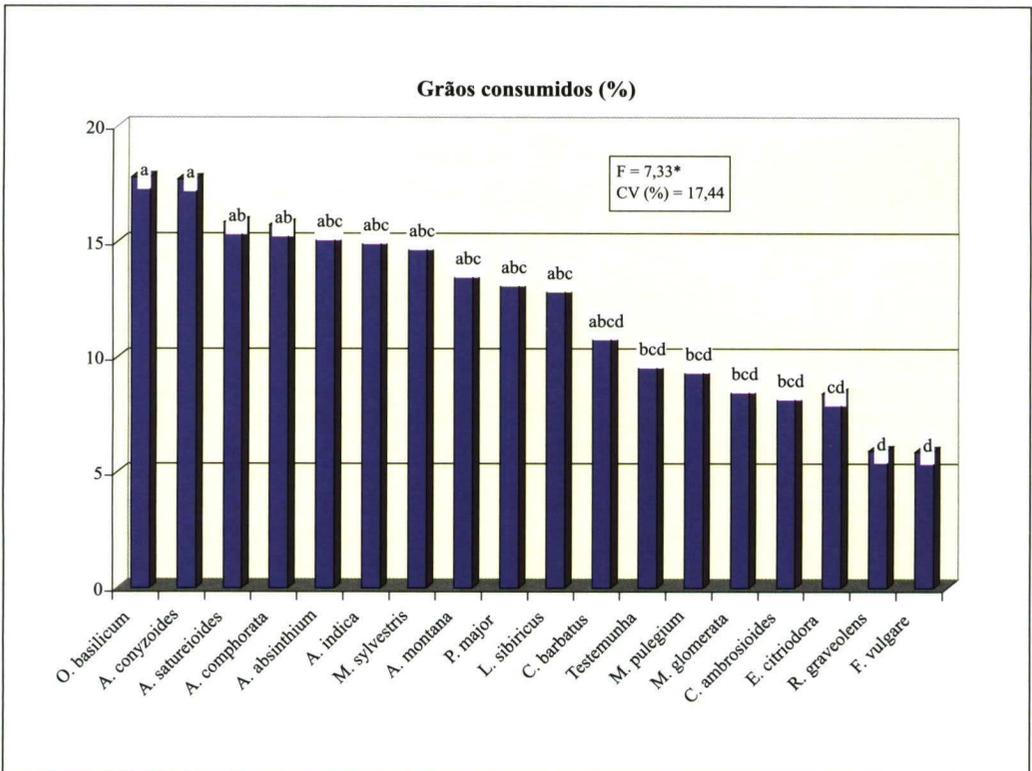


Figura 2. Percentagem de grãos consumidos por larvas de *Z. subfasciatus* em grãos de feijoeiro impregnados com diferentes pós de origem vegetal.

*sioides* sobre pragas de milho armazenado já foi comprovada por diversos autores, podendo-se citar SILVA *et al.* (2003) que obtiveram 100% de mortalidade de *S. zeamais* utilizando uma concentração de 1% (p/p) de pó dessa planta. DELOBEL & MALONGA (1987), empregando uma concentração de 2,5% (p/p) de *C. ambrosioides* relataram 90% de mortalidade de *Caryedon serratus* Olivier (Coleoptera: Bruchidae). Em grãos de feijoeiro, MAZZONETO & VENDRAMIM (2003) e PROCÓPIO *et al.* (2003) obtiveram 100% de mortalidade de *A. obtectus* e *Z. subfasciatus* com o mesmo vegetal.

A forma como os pós podem ter afetado o desenvolvimento de larvas do caruncho não foi alvo de investigação no presente estudo; porém, acredita-se que isso tenha ocorrido, uma vez que os grãos são permeáveis e trocam gases com o meio externo. Desta forma, determinados compostos voláteis presentes nos pós poderiam ter exercido algum tipo de ação (fumigante) sobre as larvas no interior dos grãos.

Outros tratamentos também apresentaram insetos com peso significativamente inferior (Tabela 2), como *A. indica*, *A. montana* e *O. basilicum*, o que poderia sugerir a ocorrência de inibição na alimentação; entretanto, estes materiais apresentam curtos períodos de desenvolvimento (Tabela 2) e elevado consumo de grãos (Figura 2), descartando essa possibilidade.

Uma análise geral dos dados obtidos no trabalho permite constatar que grãos impregnados com *C. ambrosioides*, *M. pulegium*, *E. citriodora* e *R. graveolens* são deterrentes à oviposição e à alimentação de *Z. subfasciatus*. Em função da grande disponibilidade, facilidade de extração e principalmente pelo baixo custo de utilização, esses materiais podem ser apontados como alternativas viáveis no controle natural desse caruncho em armazéns, especialmente em pequenas propriedades. A presença dos pós de *A. camphorata*, *O. basilicum*, *A. absinthium* e *P. major* estimulam a oviposição do inseto, devendo ser, portanto, evitadas no controle do inseto.

#### RESUMEN

BALDIN, E. L. L., J. M. PEREIRA, M. H. F. A. DAL POGETTO, R. S. CHRISTOVAM., A. C. CAETANO. 2008. Efectos de polvos vegetales sobre *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) en granos de frijol almacenado. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**:177-185.

En este trabajo se ha evaluado los posibles efectos de polvos vegetales impregnados en los granos del frijol sobre *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) en condiciones de laboratorio ( $T^{\circ} = 25 \pm 2$ , H.R. =  $70 \pm 10\%$  y fotoperiodo de 12h). Fue realizado un test con opción, utilizando dieciocho tratamientos (diecisiete polvos vegetales y el testigo) en un diseño experimental completamente aleatorio, con diez repeticiones. Los polvos (0.3g / tratamiento) fueran colocados en el interior de cajas de plástico con 10 g de frijol y siete parejas del gorgojo. Se evaluaron los siguientes aspectos biológicos: oviposición, número y peso de adultos emergidos, viabilidad de las larvas, período de desarrollo (del huevo al adulto) y peso de granos consumidos. Los polvos de *C. ambrosioides*, *M. pulegium*, *R. graveolens* y *E. citriodora* redujeron la oviposición e inhibieron la alimentación del gorgojo en granos de frijol, y por eso pueden ser recomendados como medio natural de control del *Z. subfasciatus*.

**Palabras clave:** *Phaseolus vulgaris*, gorgojo, insecticidas vegetales.

#### ABSTRACT

BALDIN, E. L. L., J. M. PEREIRA, M. H. F. A. DAL POGETTO, R. S. CHRISTOVAM., A. C. CAETANO. 2008. Effects of vegetable powders on *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) in stored bean grains. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 177-185.

The objective of this work was to evaluate the possible effects of vegetable powders impregnated in bean grains to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) in lab conditions ( $T^{\circ} = 25 \pm 2$ , H.R. =  $70 \pm 10\%$  and photoperiod of 12h). Then, a no choice test was conducted with eighteen treatments (seventeen vegetable powders and the control) in a completely randomized design, with ten replicates. The powders (0.3g per treatment) were mixed with 10g of grains in plastic boxes, where seven pairs of the Mexican weevil were released. The means of oviposition, number and weight of adults emerged, larval viability, life cycle (egg-adult) and weight of grains consumed were evaluated. The *C. ambrosioides*, *M. pulegium*, *R. graveolens* and *E. citriodora* powders reduced the oviposition and inhibited the feeding of the weevil in bean grains, showing efficacious on natural control of *Z. subfasciatus*.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, Mexican bean weevil, botanical insecticides.

## REFERÊNCIAS

- BALDIN, E. L. L., TOSCANO, L. C., LIMA, A. C. S., LARA, F. M., BOIÇA JR., A. L. 2000. Preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* biótipo B por genótipos de *Cucurbita moschata* e *Cucurbita maxima*. *Boletim de Sanidade Vegetal Plagas*, **26** (3): 409-413.
- BARBOSA, F. R., YOKOYAMA, M., PEREIRA, P. A. A., ZIMMERMANN, F. J. P. 2002. Controle do caruncho-do-feijoeiro *Zabrotes subfasciatus* com óleos vegetais, munha, materiais inertes e malathion. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **37** (9): 1213-1217.
- CREDLAND, P. F. & DENDY, J. 1992. Intraespecific variation in bionomic characters of the Mexican bean weevil, *Zabrotes subfasciatus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **65**: 39-47.
- DELOBEL, A., MALONGA, P. 1987. Insecticidal properties of six plant materials against *Caryedon serratus* (OL.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, **23**: 173-176.
- DENDY, J., CREDLAND, P. F. 1991. Development, fecundity and egg dispersion of *Zabrotes subfasciatus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **59**: 7-9.
- FERREIRA, A.M. 1960. Subsídios para o estudo de uma praga do feijão (*Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera, Bruchidae) dos climas tropicais. *Garcia de Orta*, **8** (3): 559-581.
- GALLO, D., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R. P. L., DE BATISTA, G. C., BERTI FILHO, E., PARRA, J. R. P., ZUCCHI, R. A., ALVES, S. B., VENDRAMIM, J. D., MARCHINI, L. C., LOPES, J. R. S., OMOTO, C. 2002. Entomologia agrícola. Piracicaba: FEALQ, 920pp.
- GOLOB, P., KILMINSTER, A. 1982. The biology and control of *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae) infesting red kidney beans. *Journal of Stored Products Research*, **18**: 95-101.
- GUZMÁN-MALDONADO, H., CASTELLANOS, J. Z., MEJÍA, E. G. 1996. Relationship between theoretical and experimentally detected tannin content of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, **55** (4): 333-335.
- MAZZONETO, F.; VENDRAMIM, J. 2003. Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão armazenado. *Neotropical Entomology*, **32**: 145-149.
- MEIK, J., DOBIE, P. 1986. The ability of *Zabrotes subfasciatus* to attack cowpeas. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **42**: 151-158.
- OLIVEIRA, J. V., RAMALHO, M. A. P., BARBIN, D. 1977. Avaliação dos prejuízos em feijões *Vigna sinensis* (L.) Savi e *Phaseolus vulgaris* (L.) devido ao ataque de *Zabrotes subfasciatus* (Boh., 1833) (Coleoptera, Bruchidae). *Ecossistema*, **2**: 19-22.
- OLIVEIRA, A. M., VENDRAMIM, J. D. 1999. Repelência de óleos essenciais e pós vegetais sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijoeiro. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, **28**(3): 549-555.
- PROCÓPIO, S.; VENDRAMIM, J.; RIBEIRO, J.; SANTOS, J. 2003. Efeito de pós vegetais sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) e *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Curculionidae). *Revista Ceres*, **50**: 395-405.
- RODRÍGUEZ, D. A.; SÁNCHEZ, S. 1994. Polvos vegetales para el combate de *Sitophilus zeamais* y *Zabrotes subfasciatus* en maíz y frijol. *Turrialba*, **44**: 160-167.
- RODRÍGUEZ, H. C. 2000. Plantas contra plagas: potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. Texcoco, México: Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM), 133pp.
- ROSOLEM, C. A., MARUBAYASHI, O. M. 1994. Seja o doutor do seu feijoeiro. Potafós: Arquivo do Agrônomo 7, 16pp.
- SCHOONHOVEN, A. V., CARDONA, C. 1982. Low levels of resistance to the Mexican bean weevil in dry bean. *Journal of Economic Entomology*, **76** (4): 567-569.
- SCHOONHOVEN, A. V., DAN, W. V. 1982. Control of *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) with seeds protectant fungicides. *Journal of Stored Products Research*, **18**: 143-146.
- SILVA, G.; LAGUNES, A.; RODRÍGUEZ, J.; RODRÍGUEZ, D. 2003. Evaluación de polvos vegetales solos y en mezcla con carbonato de calcio para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en maíz almacenado. *Ciencia e Investigación Agraria*, **30**: 153-160.
- WEAVER, D. K., WELLS, C. D., DUNKELL, F. V., BERTSCH, W., SING, S. E., SHIHARAN, S. 1994. Insecticidal activity of floral, foliar, and root extracts of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) against adult Mexican bean weevil (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Economic Entomology*, **87**: 1718- 1725.

WIENDL, F. M. 1975. A desinfestação de grãos e produtos armazenados por meio de radiação ionizante. Boletim de Divulgação 18, CENA-USP, Piracicaba, SP, 26pp.

(Recepción: 25 julio 2007)

(Aceptación: 12 noviembre 2007)



## Depredación del piojo rojo de California, *Aonidiella aurantii* (Maskell), por fitoseidos depredadores

M. JUAN-BLASCO, M. J. VERDÚ, A. URBANEJA

Hasta la fecha, no existen prácticamente estudios acerca del papel de los fitoseidos como depredadores de ninfas móviles del piojo rojo de California, *Aonidiella aurantii* (Maskell). Los objetivos del presente trabajo fueron estudiar en laboratorio el desarrollo de tres de los fitoseidos más abundantes en los cítricos españoles, *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot), *Neoseiulus californicus* (McGregor) y *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot y del recientemente introducido en España, *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot alimentados exclusivamente de ninfas móviles de *A. aurantii* y además, estudiar en condiciones de semicampo las posibilidades de reducción de las poblaciones de *A. aurantii* mediante liberaciones inoculativas de *A. swirskii*.

Las hembras de *E. stipulatus* no fueron capaces de realizar la puesta alimentadas exclusivamente de ninfas móviles de *A. aurantii* mientras que las otras tres especies de fitoseidos sí. Los individuos descendientes de *N. californicus* no lograron alcanzar el estadio de protoninfa. Por el contrario, *T. phialatus* y *A. swirskii* completaron su desarrollo hasta adulto. En los experimentos de semicampo, se liberaron varias dosis de *A. swirskii* sobre plantones de clementinos. Una vez instalados sobre el plantón se procedió a su infestación con ninfas móviles de *A. aurantii*. Se observó una reducción significativa de la infestación de *A. aurantii* en los plantones sobre los cuales se había liberado *A. swirskii*.

M. JUAN-BLASCO, M. J. VERDÚ, A. URBANEJA. Centro Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias; Ctra. Moncada-Náquera km. 4,5; E-46113-Moncada (Valencia). E-mail: aurbaneja@ivia.es

**Palabras clave:** *Euseius stipulatus*, *Neoseiulus californicus*, *Typhlodromus phialatus*, control biológico.

### INTRODUCCIÓN

La estrategia actual de control del piojo rojo de California, *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae) reside en la aplicación de tratamientos químicos. Sin embargo, estos tratamientos no alcanzan la eficacia esperada, principalmente debido a la dificultad de localizar el momento idóneo de tratamiento, y por la asincronía de las generaciones presentes en campo que hace, que en un determinado momento, no todos los individuos se encuentren en el máximo de

formas sensibles. Además, la utilización indiscriminada de estos productos es agresiva contra la fauna útil (PASCUAL-RUIZ Y URBANEJA, 2006), puede ocasionar la proliferación de otras plagas y puede resultar en la aparición de resistencias en las poblaciones de *A. aurantii* (GRAFTON-CARDWELL *et al.*, 2004; MARTÍNEZ HERVÁS *et al.*, 2005). Además, lamentablemente el control biológico ejercido por la fauna autóctona presente en los campos de cítricos, aunque ayuda en gran medida a la regulación de las poblaciones de este fitófago, es generalmente

insuficiente, debido principalmente al bajo umbral de presencia en fruto permitido.

De cara a poder dar una solución más racional al control y manejo de *A. aurantii*, son varias las líneas de investigación en marcha y que son objeto de estudio en varios proyectos de investigación. Entre estas líneas destacan: las sueltas aumentativas de parasitoides del género *Aphytis* o la utilización de materias alternativas como son los aceites minerales. Este escenario invita a la búsqueda de nuevos enemigos naturales de *A. aurantii*. Una posible línea de investigación todavía no desarrollada en *A. aurantii* es el control biológico que pueden ejercer fitoseidos depredadores que se alimenten de ninfas móviles de *A. aurantii*. Sobre este fitófago se han encontrado enemigos naturales en la práctica totalidad de estadios ninfales (PINA, 2006), aunque es sobre su primer estadio ninfal móvil sobre el que menos información se posee.

Los ácaros fitoseidos juegan un papel fundamental en el control de tetraníquidos en los cítricos españoles (ABAD *et al.*, 2005a,b), aunque se desconoce prácticamente qué papel pueden estar realizando sobre otros fitófagos. Aunque pocas, existen citas de depredación de estos depredadores sobre *A. aurantii* y otros diaspíidos plaga. SAMWAYS (1985) cita la presencia de *Amblyseius citri* van der Merwe & Ryke (Acari: Phytoseiidae) y *Amblyseius tamatavensis* Blommers (Acari: Phytoseiidae) depredando ninfas de primera edad de *A. aurantii* en cítricos surafricanos. SISCARO *et al.* (1999) cita *Typhlodromus cryptus* Athias-Henriot en cítricos de Sicilia. Estudios de laboratorio con fitoseidos del género *Amblyseius*, entre ellos con la especie *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae), muestran que son capaces de completar su desarrollo alimentándose de ninfas móviles de *A. aurantii* (KAMBUROV, 1971; SWIRSKI *et al.*, 1967, 1970). Fitoseidos de los géneros *Euseius*, *Typhlodromus*, *Kampidromus* y *Neoseiulus* también se han desarrollado en laboratorio sobre ninfas de primera edad de otros diaspíidos (SWIRSKI *et al.*, 1970; SCHAUSBERGER, 1998).

Por tanto, los objetivos del presente trabajo son estudiar el desarrollo de 3 especies de fitoseidos depredadores presentes en los cítricos españoles, *E. stipulatus*, *T. phialatus* y *N. californicus* y de la especie introducida recientemente en nuestro país, *A. swirskii*, cuando se alimentan exclusivamente de ninfas móviles de primera edad de *A. aurantii*. Además se estudiará la eficacia de sueltas inoculativas de *A. swirskii* en la fijación de ninfas móviles de *A. aurantii* en plantones de cítricos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Desarrollo de inmaduros sobre *A. aurantii*

**Colonia de *A. aurantii*.** Los individuos de *A. aurantii* utilizados en las experiencias de este trabajo procedían de la cría establecida en la Unidad de Entomología del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) según el método descrito por TASHIRO (1966) y modificado posteriormente por la Universidad de California Riverside (PINA, 2006). Dicha cría se inició en 1999 a partir de poblaciones obtenidas en campos de cítricos (variedad Navelina y Newhall) y clementinos (variedad de Nules) ubicadas en Alzira (Valencia).

**Fitoseidos.** Las crías de *T. phialatus* y *N. californicus* se llevaron a cabo en los laboratorios de la Unidad de Entomología del IVIA. Los individuos iniciales de *T. phialatus* de los cuales se iniciaron las crías se recogieron en limoneros situados en el IVIA. En el caso de *N. californicus*, los individuos iniciales procedían de huertos comerciales de clementinos localizados en la Plana de Castellón. Los individuos de *A. swirskii* necesarios para obtener la cohorte objeto de estudio procedieron directamente de crías comerciales en cautividad (SWIRSKIMITE®; Koppert Biological Systems, S. L., Almería, España). Los individuos iniciales de *E. stipulatus* procedían directamente de una parcela de cítricos situada en Moncada (Valencia) que no había recibido tratamientos químicos durante los últimos 3 años.

**Material vegetal.** Todas las experiencias llevadas a cabo en este estudio se realizaron sobre hojas totalmente expandidas, de la última brotación, de plántones de clementino (*Citrus reticulata* Blanco) (*Citrus clementina*), cultivar Clementina de Nules (Clemenules Iniasel 22), injertado sobre *Citrangue carrizo* [*Poncirus trifoliata* (L.) Rafinesque-Schmaltz x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck] de 2 años de edad. Estos plántones se mantenían en un invernadero de cristal libre de plagas a  $22 \pm 2$  °C,  $55 \pm 10$  % HR y fotoperiodo natural situado en las instalaciones del IVIA.

**Unidad experimental (arena).** Todas las experiencias se llevaron a cabo en un incubador climático a  $25 \pm 1$  °C,  $80 \pm 5$  % HR y un fotoperiodo de 16:8 h (L:O). La unidad experimental consistió en la celda Huffaker

modificada (OVERMEER, 1985; SABELIS, 1981) (Figura 1). Esta celda constaba de dos placas de PVC, una inferior de 80 x 40 x 5 mm y una superior de 80 x 40 x 10 mm con un agujero central de 2 cm de diámetro (Figura 1A). Sobre la placa inferior se colocó un papel de filtro y sobre éste la hoja de clementino, con el envés hacia arriba. A continuación se colocaba la placa superior y se sellaba a la hoja mediante plastilina (Plastilina Jovi®; JOVI, S. A., Barcelona, España). Ambas placas se unían mediante gomas elásticas (Figura 1C) y el agujero de la placa superior se cubría con una tapa de cristal transparente (40 x 35 mm) sellada a la placa superior con cinta adhesiva invisible (Scotch® Magic™ 19mm x 33mm; 3M, Cergy Pontoise, Francia) (Figura 1D). De esta

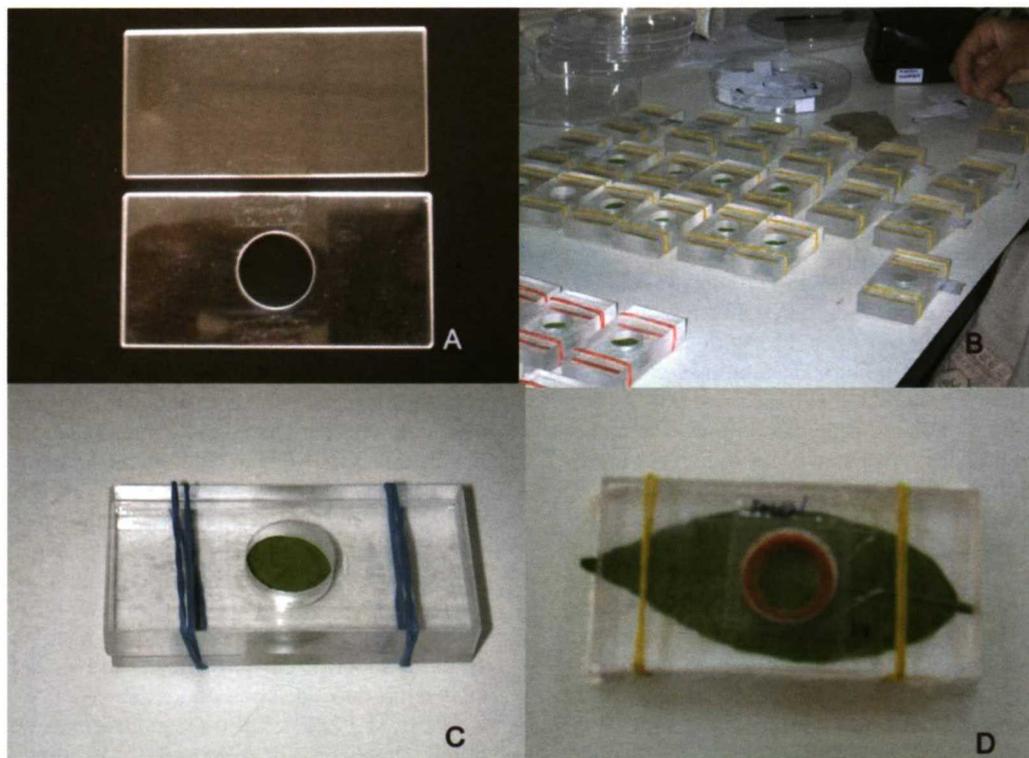


Figura 1. Montaje de celdas Huffaker modificadas. A) Placa inferior y superior de PVC. B) Preparación de las arenas. C) Placa inferior y superior unidas mediante gomas elásticas. D) Aspecto final de la arena utilizada.

forma se evitaban en gran medida los escapes a la vez que se permitía una fácil observación de los individuos bajo lupa binocular. Al iniciar los ensayos se colocaba en cada celda un número no inferior a 10 ninfas móviles de *A. aurantii* (único estadio móvil) obtenidas de los limones de la cría. Posteriormente se introducía en cada arena una hembra del fitoseido correspondiente a estudiar, para permitir la puesta y de esta manera obtener los huevos con los que iniciar la cohorte. Diariamente se quitaban las ninfas depredadas, muertas o fijadas y se renovaban las ninfas móviles de *A. aurantii*. De este modo los fitoseidos siempre disponían de *A. aurantii* en su estadio móvil.

**Supervivencia y desarrollo del ciclo biológico.** Para la obtención de la cohorte de huevos, a partir de la cual se realizó el estudio de desarrollo, se aislaron en las celdas tal como se ha descrito anteriormente 18 hembras de *T. phialatus* y 13 hembras de *N. californicus* tomadas de las crías, 32 hembras de *A. swirskii* tomadas directamente de la cría comercial y 10 hembras de *E. stipulatus* cogidas directamente de campo. Dichas hembras se observaron cada 8 horas hasta la obtención de huevos. Las observaciones se realizaron durante un máximo de 7 días en función de la especie. Estos huevos fueron aislados individualmente en nuevas celdas y se observaron cada 24 horas anotando su estado hasta alcanzar el estado adulto o la muerte. Los cambios de estado se confirmaron mediante la localización de la exuvia correspondiente (además de por el aumento en un par de patas en el paso de larva a protoninfa). Con estos valores se estimaron la duración y supervivencia de los distintos estados de desarrollo.

**Análisis de datos.** La duración del ciclo biológico se sometió a un análisis de varianza de un solo factor y se utilizó el test de Tukey para la separación de medias ( $P < 0,05$ ) (SPSS, 1999). En el caso de la duración del estado de huevo, debido al no cumplimiento de las hipótesis de normalidad y homogeneidad de varianzas se realizó la transformación de datos  $\ln(x)$ . Los

valores para esta variable se expresan sin transformar.

### **Eficacia de sueltas inoculativas**

**Condiciones.** El estudio de la eficacia de *A. swirskii* se realizó en el interior de una cámara climática visitable en el Laboratorio de Alta Seguridad Biológica de Cuarentena de insectos situada en el IVIA. Las condiciones climáticas de estas experiencias fueron  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y  $65 \pm 5\%$  de humedad relativa. El fotoperiodo fue de 16:8 h (L:O) y se utilizaron 9 lámparas de 1200 lux cada una (Figura 2).

**Material vegetal.** Todos los ensayos se llevaron a cabo sobre plantones de clementino de dos años de edad de la variedad clemenules injertados sobre *C. carrizo*. Previamente a su utilización los plantones se prepararon para las experiencias eliminando manualmente las ramas y hojas en mal estado e intentando homogeneizarlos tanto en altura como en densidad foliar. Cada maceta se depositó sobre un ladrillo, cuya mitad inferior estaba inmersa en un plato de plástico de 25 cm de diámetro relleno de agua y jabón. Además, en los plantones donde se liberó *A. swirskii* se colocó un aislamiento adicional consistente en una bandeja de 48 x 41 x 8 cm también repleta de agua y jabón. De este modo, y separando los plantones entre sí, se consiguió evitar el escape y trasvase de fitoseidos entre plantones (Figura 2B).

**Fitoseidos.** Los individuos de *A. swirskii* liberados en las distintas experiencias procedieron de crías en cautividad comercializadas por la empresa Koppert Biological Systems S.L. (Almería, España). Se ensayaron dos formulaciones comerciales: en sobre y en bote.

**SWIRSKI-MITE PLUS®.** Su presentación es en sobres de papel con gancho. Dichos sobres contienen 250 *A. swirskii* mezclados con salvado. Estos sobres disponen en su parte superior de un orificio a través del cual se produce la salida de los ácaros.

**SWIRSKI-MITE®.** Su presentación es en botella de plástico de 1.000 ml. Cada botella contiene 12.500 *A. swirskii* mezclados con salvado. Los fitoseidos se liberaron median-



Figura 2. A) Infestación de *A. aurantii* y suelta de *A. swirskii* en sobre. B) Disposición de los plantones en la cámara. C) Cajas de liberación utilizadas y D) Detalle del limón con madres de *A. aurantii*.

te el uso de cajas de liberación de cartón (D-box) que se colgaron en cada plantón.

**Colonia de *A. aurantii*.** Las poblaciones de *A. aurantii* empleadas se obtuvieron de la cría de *A. aurantii* sobre limones establecida en el IVIA y descrita anteriormente. Se seleccionaron limones que habían sido infestados de *A. aurantii* aproximadamente 45 días antes. De este modo los limones utilizados se encontraban repletos de madres de *A. aurantii* en plena producción de ninfas móviles.

**Metodología.** Las experiencias se iniciaron con la liberación y establecimiento de los fitoseidos en los plantones. Para ello, previamente a la liberación de los fitoseidos, los plantones se espolvorearon con polen de *Typha* spp. (Thyphales: Thyphaceae) para proveer a los fitoseidos de un alimento alternativo hasta la infestación de ninfas de primera edad de *A. aurantii*. Se realizaron 2 experimentos en función del tipo de suelta, sobre o bote. En cada

una de las experiencias se sortearon al azar los tratamientos ensayados. Se incluyó en todos los ensayos un tratamiento control, sin suelta de fitoseidos, y se realizaron 4 repeticiones por cada tratamiento.

En la primera experiencia se colgó de cada plantón del tratamiento con suelta un sobre de SWIRSKI-MITE PLUS® (Figura 2A). La infestación con ninfas de *A. aurantii* se realizó 7 días tras colgar el sobre de *A. swirskii*. Dicha infestación consistió en poner en contacto los limones con madres de *A. aurantii* produciendo ninfas móviles con el plantón (Figura 2D). El tiempo durante el cual se mantuvo el contacto entre el limón y el plantón fue de 6 horas. De esta manera se consiguió que las ninfas móviles se pasaran al plantón en busca de un lugar donde fijarse.

En la segunda experiencia, se ensayaron tres tratamientos: un control y dos dosis distintas de liberación de *A. swirskii*. En los trata-

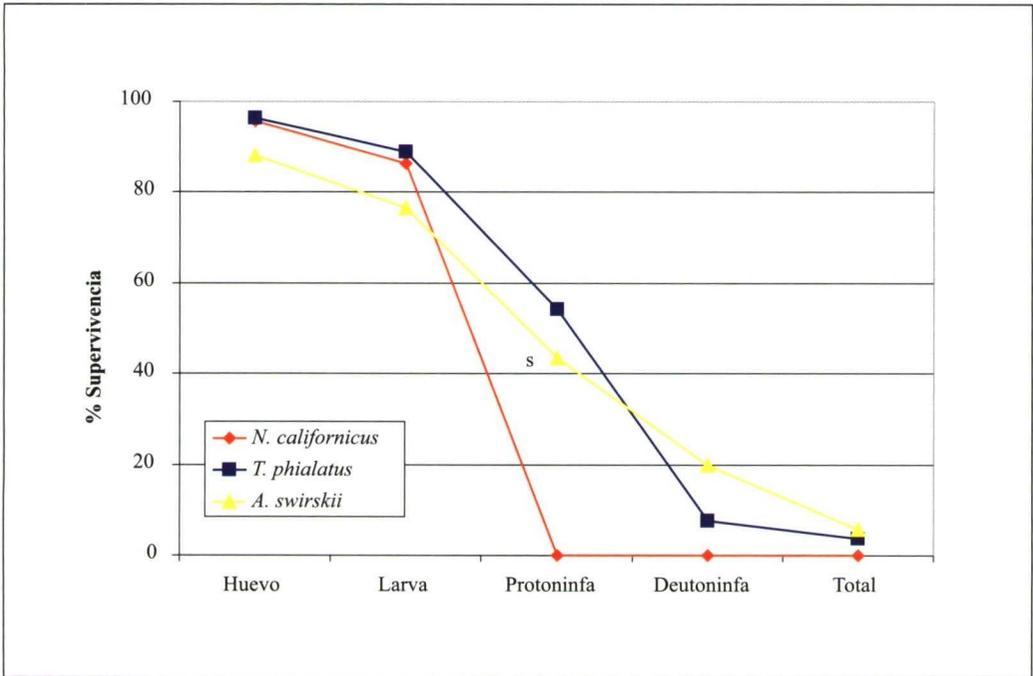


Figura 3. Supervivencia (%) de los estados inmaduros de *N. californicus*, *T. phialatus* y *A. swirskii* alimentados con ninfas móviles de *A. aurantii*. El número inicial de repeticiones por fitoseido fue de 35 huevos para *T. phialatus* y *A. swirskii* y de 25 para *N. californicus*.

mientos con suelta de *A. swirskii*, dicha liberación consistió en dosificar en cajas de liberación (Figura 2C), 100 y 200 fitoseidos para la dosis baja y alta, respectivamente, a partir del formulado en botella SWIRSKI-MITE®. En esta experiencia la infestación de ninfas móviles de *A. aurantii* se realizó 3 días después de la liberación de los fitoseidos y se mantuvo el limón en contacto con el plantón 3,5 horas.

**Evaluación.** Tras 17 días desde la infestación con ninfas de primera edad de *A. aurantii* se procedió a la evaluación de las experiencias. Para ello, se cortaron los plantones y se llevaron a laboratorio donde, bajo lupa binocular, se procedió a contar el número de cochinillas fijadas en cada plantón. Además, en la segunda experiencia, se contó el sustrato vegetal sobre el que se habían fijado las cochinillas (rama, brote y hoja). Con estos valores se procedió a calcular el porcentaje de reducción respecto al control (ABBOTT, 1925).

**Análisis de datos.** Para determinar las diferencias existentes entre tratamientos para cada una de las tres experiencias se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con  $P < 0,05$ . En la experiencia con dos dosis de suelta para conocer las diferencias entre los 3 tratamientos se aplicó el test de comparación de medias de Tukey. Previa a la realización de los análisis de varianza (ANOVA) se constató el cumplimiento para cada caso de la homogeneidad de varianzas (homocedasticidad) mediante un test de Levene y la normalidad de los valores mediante la representación en gráficas de probabilidad.

## RESULTADOS

### Desarrollo de inmaduros sobre *A. aurantii*

Las hembras de *E. stipulatus* no fueron capaces de realizar la puesta en las arenas

Cuadro 1. Duración del ciclo biológico (d ± ES) de *A. swirskii*, *N. californicus* y *T. phialatus* alimentados con ninfas móviles *A. aurantii*.

	Huevo	Larva	Protoninfa	Deutoninfa	Total
<i>A. swirskii</i>	1,8±0,1b (n=30)	1,0±0,1a (n=23)	4,1±0,3a (n=14)	3,8±1,9 (n=2)	9,6±2,1 (n=2)
<i>N. californicus</i>	1,6±0,2b (n=22)	0,8±0,1a (n=19)	-	-	-
<i>T. phialatus</i>	2,9±0,2a (n=27)	0,8±0,1a (n=24)	4,3±0,4a (n=11)	1,0±0,0 (n=1)	9,5±0,0 (n=1)

Entre filas valores seguidos de la misma letra no presentan diferencias estadísticas (ANOVA; Tukey; P<0,05).

donde se les ofreció ninfas de primer estadio de *A. aurantii*. Por el contrario, las otras tres especies de fitoseoides ensayadas si que pusieron huevos. Solamente *A. swirskii* y *T. phialatus* fueron capaces de desarrollar la totalidad de su ciclo biológico alimentándose exclusivamente de ninfas de *A. aurantii*. Sin embargo, la supervivencia de estas especies, fue baja, siendo capaces de alcanzar el estado adulto tan sólo el 5,9% y el 3,6% de huevos de *A. swirskii* y *T. phialatus* (Figura 3). El tiempo necesario de desarrollo desde huevo hasta adulto de ambas especies fue de 9,5 días aproximadamente (Cuadro 1). La duración del estado de huevo fue distinto entre las tres especies ( $gl= 2,78$ ;  $F= 18,099$ ;  $P< 0,0001$ ), siendo mayor para *T. phialatus* que para *N. californicus* y *A. swirskii*. No se pudo observar larvas de ninguna de las tres especies alimentándose de ninfas de *A. aurantii*. La duración del estado de larva ( $\approx 1d$ ) no presentó diferencias significativas entre especies ( $gl= 2,65$ ;  $F= 1,570$ ;  $P= 0,216$ ). Sin embargo, desde el estado de protoninfa, tanto *A. swirskii* como *T. phialatus* depredaron activamente ninfas de *A. aurantii* (Figura 4). La duración del estado de protoninfa para ambas especies se situó en torno a 4,2 d, no presentando tampoco diferencias significativas ( $gl= 1,24$ ;  $F= 0,223$ ;  $P= 0,641$ ). La supervivencia de las protoninfas se redujo hasta un 43% y un 54% para *A. swirskii* y *T. phialatus*, respectivamente. Ninguna de las 19 larvas de *N. californicus* que mudaron a protoninfa fueron capaces de sobrevivir. De hecho, y contrariamente a lo

observado con *A. swirskii* y *T. phialatus*, no se pudo observar ninguna protoninfa alimentándose de *A. aurantii*.

De las 10 deutoninfas de *A. swirskii* y las 13 de *T. phialatus*, solamente 2 y 1 fueron capaces de sobrevivir hasta adulto. Por tanto, la supervivencia de este estado se redujo hasta un 20 y 7,7% para *A. swirskii* y *T. phialatus*, respectivamente. Las dos deutoninfas de *A. swirskii* completaron en 3 días aproximadamente el estado de deutoninfa, mientras que la única deutoninfa de *T. phialatus* empleó tan sólo 1 día.

**Eficacia de sueltas inoculativas**

Experiencia 1: Suelta con sobres. El número de cochinitas fijadas fue estadísticamente menor en el tratamiento con *A. swirskii* que en el control ( $g.l.= 1-7$ ;  $F= 7,551$ ;  $P= 0,033$ ) (Figura 5). El porcentaje de reducción respecto al control fue del 36%.

Experiencia 2: Suelta en cajas de liberación. El número de *A. aurantii* fijada entre tratamientos fue distinto estadísticamente ( $g.l.= 1-9$ ;  $F= 8,386$ ;  $P= 0,014$ ). La dosis alta fue distinta del tratamiento control, mientras que la dosis baja no llegó a ser distinta que el control ni de la dosis alta (Figura 6A). La suelta de *A. swirskii* provocó una reducción en la infestación de *A. aurantii* respecto al control del 25% para la dosis baja y del 54%, para la dosis alta. Cuando se analizaron los resultados en función del sustrato de fijación de *A. aurantii*, no se encontraron diferencias significativas en hoja ( $g.l.= 1-9$ ;  $F= 1,254$ ;  $P= 0,342$ ) aunque sí en rama ( $g.l.= 1-9$ ;  $F=$



Figura 4. Deutoninfa de *A. swirskii* alimentándose de una ninfa móvil de *A. aurantii*.

9,214;  $P= 0,011$ ) y en brote ( $g.l.= 1-9$ ;  $F= 13,451$ ;  $P= 0,004$ ) (Figura 6B). En rama los tratamientos con *A. swirskii* redujeron el número de *A. aurantii* fijadas respecto al control en 27% y 52% para la dosis baja y alta, respectivamente. En brote el porcentaje de reducción alcanzó el 75% para la dosis baja y 92% para la dosis alta.

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se ha comprobado como dos especies de fitoseidos, *T. phialatus* y *A. swirskii*, han sido capaces de completar la totalidad de su ciclo biológico alimentándose exclusivamente de ninfas de primer estadio de *A. aurantii*. *Amblyseius swirskii* había sido citado previamente como depredador de *A. aurantii* (SWIRSKI *et al.*, 1967). Sin embargo, para nuestro conocimiento, el presente trabajo es la primera cita de *T. phialatus* depredando *A. aurantii*.

En nuestro trabajo, tan solo el 5,9% de *A. swirskii* consiguió llegar a adulto alimentándose de *A. aurantii*. SWIRSKI *et al.* (1967) en estudios de laboratorio realizados a 25-27°C y una humedad del 60%, obtuvo un 38,2% de supervivencia de huevo a adulto para *A. swirskii* sobre hojas de limón, alimentando a los fitoseidos con ninfas de primera edad de *A. aurantii* procedentes directamente del campo como dieta exclusiva. Además, les proporcionó agua *ad libitum* mediante un dispositivo basado en una mecha absorbente. En este trabajo se cita que el origen de los individuos de *A. aurantii* empleados en los ensayos es un factor importante en los resultados de mortalidad de *A. swirskii*. De hecho, SWIRSKI *et al.* (1967) afirma que las ninfas procedentes de crías masivas en laboratorio son un alimento de baja calidad en comparación con ninfas procedentes de campo para *A. swirskii*. Esta razón, junto con la adición de agua podrían ser las causas de las diferen-

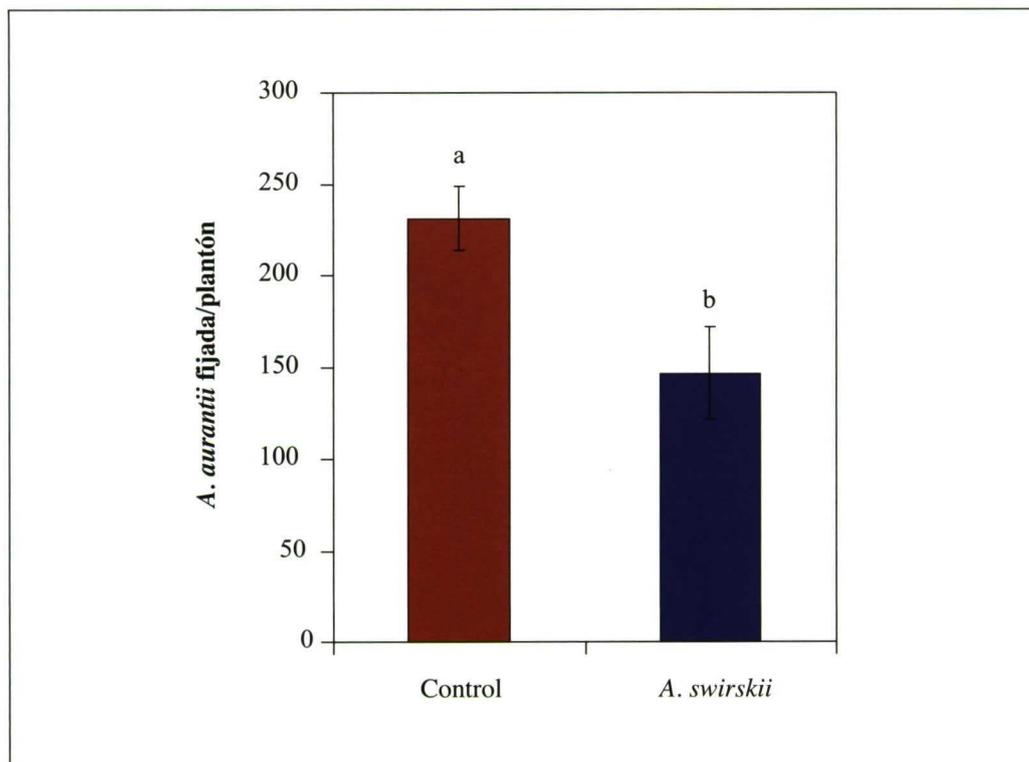


Figura 5. Número de *A. aurantii* fijada por plantón ( $X \pm ES$ ) en los dos tratamientos de la experiencia de liberación con sobre (ANOVA; Tukey;  $P < 0,05$ ). En el tratamiento con *A. swirskii* se colgó por plantón un sobre con 250 *A. swirskii*.

cias obtenidas entre SWIRSKI *et al.* (1967) y los resultados del presente trabajo.

Ni *N. californicus* ni *E. stipulatus* fueron capaces de desarrollarse sobre *A. aurantii*. Además, no se pudo observar ningún individuo, tanto de *N. californicus* como de *E. stipulatus*, alimentándose sobre ninfas de primera edad de *A. aurantii*. Sin embargo, SWIRSKI *et al.* (1970), obtuvo un porcentaje relativamente elevado de supervivencia tanto para *N. californicus* (88,9%) como para una especie del género *Euseius*, *E. hibisci* (78,2%). En este ensayo SWIRSKI *et al.* (1970) ofreció ninfas de primera edad de *A. aurantii* sobre hoja de limón, y le proporcionó agua del modo descrito anteriormente. Por tanto, las mismas razones aludidas en el caso de *A. swirskii* podrían ser las razones de

las diferencias en la supervivencia obtenida. Sería necesaria más investigación para conocer el papel e influencia de la adición de agua en este tipo de estudios, así como la influencia de la procedencia de las ninfas suministradas y la presencia o no de polen y presas alternativas como alimento.

Tan solo otras dos especies de fitoseidos han sido citadas depredando ninfas de *A. aurantii*: *Amblyseius rubini* Swirski y Amitai (SWIRSKI *et al.*, 1967) y *Amblyseius largoensis* Muma (KAMBUROV, 1971). Empleando la misma metodología descrita anteriormente, SWIRSKI *et al.* (1967) obtuvo un porcentaje de supervivencia de huevo a adulto del 71,4 % para *A. rubini* y las hembras fueron capaces de poner una media de 0,48 huevos/hembra/día. KAMBUROV (1971) obtuvo una pues-

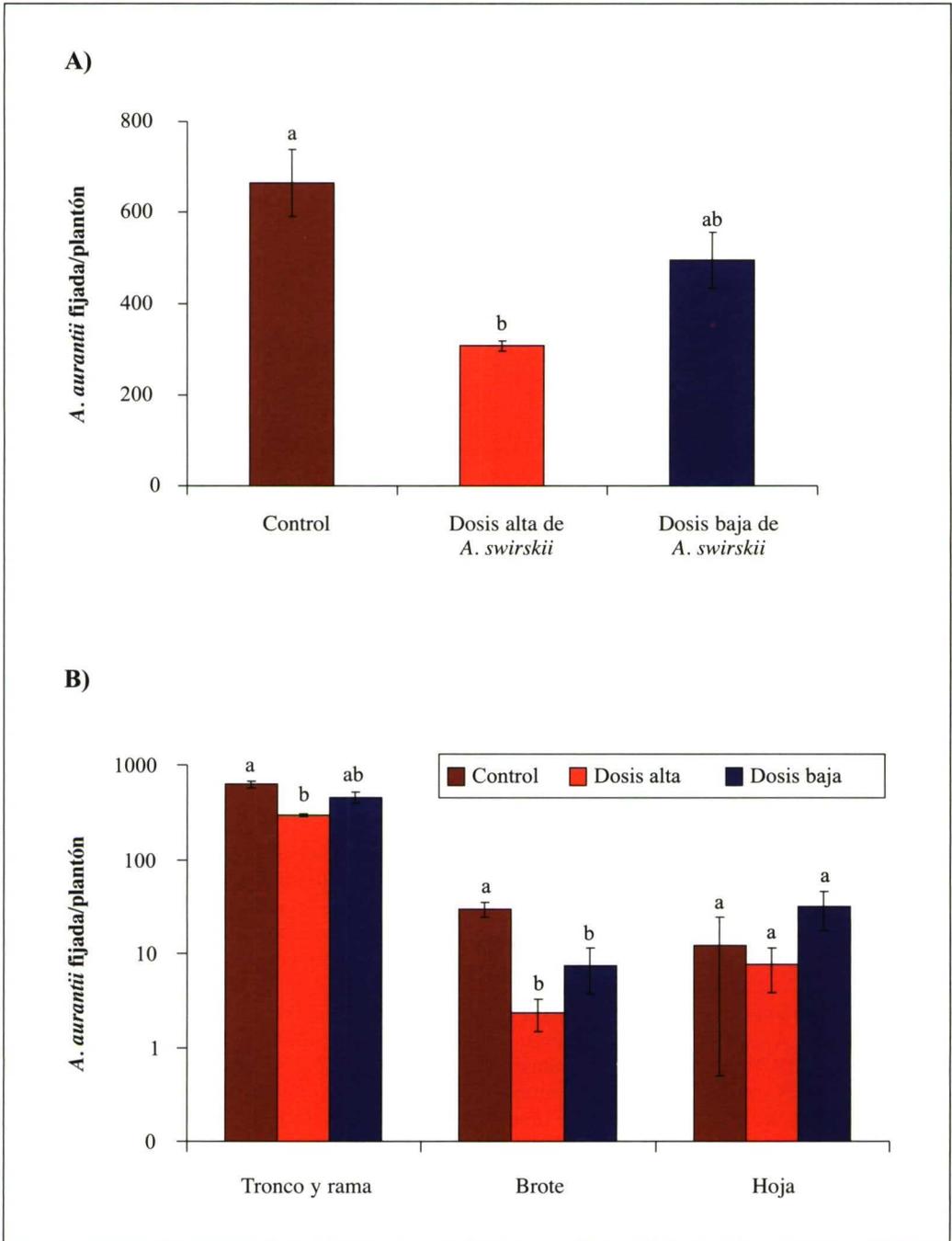


Figura 6. Número ( $X \pm ES$ ) de *A. aurantii* fijada por plantón (A) y fijada en ramas, brotes y hojas por plantón (B) en los tres tratamientos de la experiencia con liberación con cajas. En los tratamientos con *A. swirskii* se liberaron 200 y 100 *A. swirskii* para las dosis alta y baja respectivamente (ANOVA; Tukey;  $P < 0,05$ ).

ta diaria para *A. largoensis* de 0,67 huevos/hembra/día, suministrándole ninfas de primera edad de *A. aurantii* procedente de una cría en cautividad sobre calabacín, adicionando agua y sin aporte de polen. Además, *A. largoensis* completó su desarrollo en 6,5 días, periodo significativamente más breve que el obtenido en nuestro trabajo por *T. phialatus* y por *A. swirskii* que ha sido aproximadamente de 9,5 días, para ambas especies. Los valores de duración del ciclo obtenidos para *T. phialatus* (9,5d) se encuentran dentro de los registros obtenidos por otros autores sobre otras presas o alimentos (FERRAGUT *et al.*, 1987). Sin embargo, los valores obtenidos para *A. swirskii* en el presente trabajo sobre *A. aurantii* son algo mayores que los obtenidos sobre otras presas. NOMIKOU (2003) obtuvo una duración del ciclo de 6 días sobre ninfas de primera edad de *B. tabaci* y de 6,5 días sobre polen de *Typha* spp.

*Typhlodromus phialatus* está citado en los cítricos españoles como un depredador de hábitos alimenticios generalistas que suele alimentarse de varias especies de ácaros y polen (FERRAGUT *et al.*, 1985). SISCARO *et al.* (1999) cita a otra especie del género *Typhlodromus*, *T. cryptus* Athias-Henriot como depredador de *A. aurantii* en los cítricos italianos. Por tanto, podría ser que *T. phialatus* se encuentre depredando en condiciones de campo a este diaspídido.

A partir de los resultados obtenidos en laboratorio, hubiera sido interesante el realizar los ensayos de semicampo con las dos especies que fueron capaces de alimentarse en laboratorio, *A. swirskii* y *T. phialatus*. Sin embargo, tan solo fue posible con *A. swirskii* gracias a su disponibilidad comercial. En semicampo se intentó conocer si la liberación de este fitoseido era capaz de reducir la infestación de *A. aurantii* frente a un control donde no se liberara. La dosis de liberación de 200 fitoseidos por árbol resultó en un porcentaje de reducción del 54% de la infestación de *A. aurantii*. Además, cuando se analizaron los porcentajes

de reducción por estratos de fijación, se llegó a alcanzar un 92% en brotes. Para nuestro conocimiento es la primera vez que se obtienen resultados tan positivos sobre ninfas de primera edad de *A. aurantii* mediante el empleo de enemigos naturales. Sin embargo, son varios los pasos todavía a investigar antes de recomendar su uso. Aunque *A. swirskii* se ha liberado ampliamente en cultivos hortícolas (CALVO Y BELDA, 2006; CALVO *et al.*, 2006), se trata de una especie exótica para los cítricos españoles. Por tanto, entre otros condicionantes biológicos y legales antes de usarlo en los cítricos españoles, sería necesario conocer las posibilidades de la fauna autóctona. En este sentido sería urgente realizar las experiencias de semicampo con *T. phialatus*, de cara a conocer si es capaz de alcanzar los mismos niveles de eficacia.

En resumen, son varios los interrogantes todavía a resolver para poder conocer las posibilidades de mejora de control de *A. aurantii* en cítricos mediante la potenciación de fitoseidos depredadores. Aunque a partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo sería de esperar que en estrategias inoculativas en cítricos tanto *T. phialatus* como *A. swirskii* pudieran controlar las poblaciones de este fitófago es urgente conocer su capacidad de búsqueda y aclimatación en árboles adultos, su acción sobre *A. aurantii* en presencia de presas alternativas o la competencia intragremial tras su liberación en un agroecosistema donde el fitoseido más abundante es *E. stipulatus*.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por el MEC (Nº proyecto: AGL2005-07155-C03-02/AGR). Los autores agradecen la colaboración de Raquel Abad, Pilar Vanaclocha y Tatiana Pina del IVIA por la ayuda y colaboración prestada durante el curso del trabajo. A Javier Calvo y Jose E. Belda de Koppert Biological Systems SL por el suministro de *A. swirskii*.

## ABSTRACT

JUAN-BLASCO, M., M. J. VERDÚ, A. URBANEJA. 2008. Predation of the California red scale, *Aonidiella aurantii* (Maskell), by predatory mites. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 187-199.

For our knowledge, there are few studies about the role of phytoseiids (Acari: Phytoseiidae) preying on *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae) crawlers. The aims of the present work were to study in laboratory the development of three of the most abundant phytoseiids in citrus in Spain, *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot), *Neoseiulus californicus* (McGregor) and *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot, and of the recently introduced and released in Spain, *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot, feeding exclusively on *A. aurantii* crawlers. Furthermore, the ability of *A. swirskii* to reduce *A. aurantii* infestation on young citrus plants was studied under semi-field conditions by means of augmentative releases of this phytoseiid.

Females of *E. stipulatus* were the only phytoseiid species tested which were not able to lay eggs on this prey. The progeny of *N. californicus* were not able to reach the protonymphal stage. On the other hand, *T. phialatus* and *A. swirskii* completed their development, from egg to adult preying exclusively on this prey. In the semi-field experiments, several doses of *A. swirskii* were tested. Once the phytoseiids were installed on the young trees, an artificial infestation of *A. aurantii* crawlers was promoted in each citrus plant. A significant reduction of *A. aurantii* infestation was observed on those trees where *A. swirskii* was previously released.

**Key words:** *Euseius stipulatus*, *Neoseiulus californicus*, *Typhlodromus phialatus*, biological control.

## REFERENCIAS

- ABAD, R., CASTAÑERA, P., JACAS, J., URBANEJA, A. 2005a. Ácaros en cítricos y sus enemigos naturales (I). *Terralia*, **51**: 34-40.
- ABAD, R., CASTAÑERA, P., JACAS, J., URBANEJA, A. 2005b. Ácaros en cítricos y sus enemigos naturales (II). *Terralia*, **52**: 42-48.
- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265-267.
- CALVO, J., BELDA, J. E. 2006. Comparación de estrategias de control biológico de *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera: Aleyrodidae) en pimiento en condiciones de semicampo. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 297-311.
- CALVO, J., FERNÁNDEZ, P., BOLCKMANS, K., BELDA, J. E. 2006. *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) as a biological control agent of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Hom.: Aleyrodidae) in protected sweet pepper crops in Southern Spain. *IOBC/WPRS Bull.* **29** (4): 77-82.
- FERRAGUT, F., COSTA-COMELLES, J., GÓMEZ-BERNARDO, E., GARCÍA-MARÍ, F. 1985. Contribución al conocimiento de los ácaros fitoseidos (Gamasida: Phytoseiidae) de los cultivos españoles. *Actas do II Congr. Ibérico de Entomol. Lisboa*, Junio 1985, **2**: 223-231.
- FERRAGUT, F., GARCÍA-MARÍ, F., COSTA-COMELLES, J., LABORDA, R. 1987. Influence of food and Temperature on Development and Oviposition of *Euseius stipulatus* and *Typhlodromus phialatus* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. App. Acarol.*, **3**: 317-329.
- GRAFTON-CARDWELL, E. E., OUYANG, Y., STRIGGOW, R. A., CHRISTIANSEN, J. A., BLACK, C. S. 2004. The role of esterase enzymes in monitoring for resistance of California red scale, *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Homoptera: Diaspididae) to organophosphate and carbamate insecticides. *J. Econ. Entomol.*, **97**(2): 606-613.
- KAMBUROV, S. S. 1971. Feeding, development, and reproduction of *Amblyseius largoensis* on various food substances. *J. Econ. Entomol.*, **64**: 643-648.
- MARTÍNEZ HERVÁS, M. A., SOTO, A., GARCÍA-MARÍ, F. 2005. Prospección de la eficacia de Clorpirifos en poblaciones del cóccido *Aonidiella aurantii* (Homoptera: Diaspididae) en parcelas de cítricos de la Comunidad Valenciana. *Levante Agrícola*, **375**: 176-182.
- NOMIKOU, M. 2003. Combating whiteflies: Predatory mites as a novel weapon. Tesis doctoral. Universidad de Amsterdam. Holanda. 156 pp.
- OVERMEER, W. P. J. 1985. Rearing and handling. pp: 161-169, En: Helle, W. y Sabelis M. W. (Eds.) *Spider mites: Their biology, natural enemies and control*. Volumen 1B. Elsevier. Amsterdam.
- PASCUAL-RUIZ, S., URBANEJA, A. 2006. Lista de efectos secundarios de plaguicidas sobre fauna útil en cítricos. *Levante Agrícola*, **380**: 186-191.
- PINA, T. 2006. Control biológico del piojo rojo de California, *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae) y estrategias reproductivas de su principal enemigo natural *Aphytis chrysomphali* (Mercet) (Hymenoptera: Aphelinidae). Tesis doctoral. Departamento de Zoología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Valencia. 384 pp.

- SABELIS, M. W. 1981. Biological control of two-spotted spider mites using phytoseiid predators. Part I: modelling the predator-prey interaction at the individual level. Agricultural Research Reports. Pudoc, Wageningen. 242 pp.
- SAMWAYS, M. J. 1985. Relationships between red scale, *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae), and its natural enemies in the upper and lower parts of citrus trees in South Africa. *Bull. Entomol. Res.*, **75**: 379-393.
- SCHAUSBERGER, P. 1998. Survival, development and fecundity in *Euseius finlandicus*, *Typhlodromus pyri* and *Kampimodromus avernas* (Acari, Phytoseiidae) feeding on the San José scale *Quadraspidiotus perniciosus* (Coccina, Diaspididae). *J. Appl. Entomol.*, **122**: 53-56.
- SISCARO, C., LONGO, S., LIZZIO, S. 1999. Ruolo degli entomofagi di *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Homoptera, Diaspididae) in agrumeti siciliani. *Phytophaga*, *IX Supplemento*: 41-52.
- SPSS, 1999. SPSS Manual del usuario, versión 10.0 para Windows 98. SPSS, Chicago, IL. 581 pp.
- SWIRSKI, E., AMITAI, S., DORZIA, N. 1967. Laboratory studies on the feeding, development and reproduction of the predaceous mites *Amblyseius rubini* Swirskii and Amitai and *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acarina: Phytoseiidae) on various kinds of food substances. *Israel Journal Agricultural Research*, **17**: 101-119.
- SWIRSKI, E., AMITAI, S., DORZIA, N. 1970. Laboratory studies of the feeding habits, post-embryonic survival, and oviposition of the predaceous mites *Amblyseius chilensis* Dosse and *Amblyseius hibisci* Chant (Acarina: Phytoseiidae) on various kinds of food substances. *Entomophaga*, **15**: 93-106.
- TASHIRO, H. 1966. Improved laboratory techniques for rearing California red scale on lemons. *Environ. Entomol.*, **59**: 604-608.

(Recepción: 29 noviembre 2007)

(Aceptación: 6 mayo 2008)



## Niveles de parasitismo y especies de parasitoides del piojo rojo de California *Aonidiella aurantii* (Hemiptera: Diaspididae) en cítricos de la Comunidad Valenciana

J. J. SORRIBAS, R. RODRIGUEZ, E. RODRIGO, F. GARCIA MARÍ

Durante los años 2004 a 2007 se han estudiado los parasitoides del piojo rojo de California *Aonidiella aurantii* (Maskell), en 173 parcelas distribuidas por toda el área citrícola valenciana. Se tomaron en campo ramas con hojas y frutos infestados. El material vegetal se colocó en cámaras climáticas para evolucionar los parasitoides hasta el estado adulto. En 20 de esas parcelas se determinaron periódicamente por observación directa los niveles de parasitismo sobre diversos estadios de desarrollo del insecto y en diversos sustratos del árbol. Asimismo, se han identificado los parasitoides sobre trampas cromáticas y de feromonas en 100 parcelas pertenecientes al Plan de Vigilancia Fitosanitaria de la Generalitat Valenciana. El parasitismo está presente en todas las parcelas con piojo rojo de California. De los 18.006 parasitoides identificados el 50% corresponde a *Aphytis chrysomphali* (Mercet) y el 49% a *Aphytis melinus* DeBach. Se ha observado la presencia por primera vez en España de *Encarsia perniciosi* (1%), principalmente en la comarca alicantina de La Marina. La proporción de *A. chrysomphali* aumenta de Sur a Norte y en los meses más fríos. Los niveles de parasitismo alcanzan un máximo del 78% de los estadios sensibles, con niveles medios del 19%. Los niveles más elevados de parasitismo se observan entre agosto y diciembre. El parasitismo es mayor en hembras jóvenes (26%) que en machos (13%) y larvas de segundo estadio (8%).

J. J. SORRIBAS, R. RODRIGUEZ, E. RODRIGO, F. GARCIA MARÍ. Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España. E-mail: juasorme@etsia.upv.es

**Palabras clave:** *Aphytis chrysomphali*, *Aphytis melinus*, *Encarsia perniciosi*.

### INTRODUCCIÓN

El primer foco de *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae) en la Comunidad Valenciana fue detectado en Alzira (Valencia) en 1985 (RODRIGO y GARCIA MARÍ, 1990; ALFARO *et al.*, 1991). Desde entonces se ha extendido a través de todas las comarcas citrícolas valencianas y se ha convertido en la plaga más importante en cítricos. La citricultura valenciana abarca una superficie de 182.000 ha distribuidas a lo largo del litoral Mediterráneo desde 37°

50' hasta 40° 40' latitud Norte, lo que conlleva condiciones climáticas diferentes entre las parcelas situadas en el Sur y en el Norte de la Comunidad.

Los enemigos naturales más efectivos en el control de *A. aurantii* son los ectoparasitoides del género *Aphytis*. El principal parasitoides a nivel mundial es *Aphytis melinus* DeBach, habiéndose introducido en casi todas las áreas citrícolas del mundo donde generalmente ha desplazado a los parasitoides autóctonos (ROSEN y DEBACH, 1979; LUCK y PODLER, 1985). Los estadios sus-

ceptibles de ser parasitados por *Aphytis* son principalmente hembras jóvenes, segundo estadio y machos, mientras que *E. perniciosi* puede parasitar todos los estadios, excepto las hembras maduras con larvas móviles (FOSTER *et al.*, 1995). Se considera que los endoparasitoides desempeñan un papel complementario a la acción de los *Aphytis*, ya que parasitan estadios diferentes. Algunos estudios citan la coexistencia de *Aphytis* con *Encarsia perniciosi* (Tower) (YU *et al.*, 1990; ASPLANATO y GARCIA MARÍ, 2002).

Desde que DEBACH y SUNDBY (1963) describieron el primer caso de desplazamiento de *A. chrysomphali* por *A. melinus* en California, se han observado casos similares en otros países. En la cuenca Mediterránea, PELEKASSIS (1974) indica la presencia en Grecia del parasitoide nativo *A. chrysomphali* y el establecimiento satisfactorio de *A. melinus*. Posteriormente, ARGYRIOU (1974) confirma el desplazamiento de *A. chrysomphali* por *A. melinus* en Grecia nueve años después de la introducción de este último en 1962. En Chipre, *A. chrysomphali* fue desplazado por *A. melinus* en las zonas del interior, pero no en la costa donde ambos coexisten (ORPHANIDES, 1984). Estudios realizados por SISCARO *et al.*, (1999) en Sicilia (Italia) describen cómo *A. chrysomphali* ha sido casi totalmente desplazado por *A. melinus*. Resultados similares se han encontrado en Marruecos y Turquía (MAZIH, A. y SATAR, S. *com. pers.* 2007).

En España, *A. melinus* ha sido criado y liberado desde 1976, inicialmente para el control del piojo rojo *Chrysomphalus dictyospermi* (Morgan) y posteriormente, para el control de *A. aurantii*. Las primeras observaciones sobre parasitismo realizadas entre los años 1988-1994 mostraban una gran proporción de *A. chrysomphali*, casi un 100% (TRONCHO *et al.*, 1992; RODRIGO y GARCÍA MARÍ, 1995). Observaciones posteriores realizadas en algunas parcelas ubicadas en el centro de la provincia de Valencia confirmaban que el ectoparasitoide nativo, *A. chrysomphali*, se encontraba en mucha mayor proporción que el ectoparasitoide introduci-

do *A. melinus* (RODRIGO *et al.*, 1996). En 1999-2000, PINA (2006) encontró un 77% de *A. chrysomphali* en varias parcelas de la comarca de La Ribera (Valencia). Por el contrario, estudios realizados en Andalucía muestran que *A. melinus* es prácticamente el único parasitoide en esa zona (VELA *et al.*, 2007) al igual que sucede en la región del Algarve portugués (GONÇALVES *et al.*, 2002).

El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de parasitoides del piojo rojo de California y su proporción relativa en toda el área citrícola valenciana, así como estudiar la variación estacional de los niveles de parasitismo y de las especies de parasitoides en campo a lo largo del año.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Parcelas y muestreos

El estudio se ha realizado en plantaciones de cítricos comerciales distribuidas por toda la superficie de cultivo de la Comunidad Valenciana entre 2004 y 2007. La información se ha obtenido a partir de tres sistemas de muestreo: La identificación de los parasitoides capturados en evolucionario a partir de muestras de ramas o frutos de campo, la observación directa en laboratorio de *A. aurantii* en ramas y frutos, y la observación de parasitoides en trampas cromáticas y de feromonas.

Para el primer método, durante los años 2004 a 2007 se han tomado muestras de ramas y también, cuando era posible, de frutos, de 105 parcelas con alta densidad de *A. auranti*. Estas son parcelas comerciales en plena producción, representativas de las prácticas culturales de la Comunidad Valenciana y se encuentran distribuidas a lo largo todas las áreas citrícolas de la región (182.000 has). Se seleccionaron un mínimo de 4 parcelas de cada una de las comarcas citrícolas valencianas. Las muestras, tomadas aleatoriamente en diferentes árboles de cada parcela, constaban de 25 a 45 ramas de medio a un año de edad y unos 30 cm de largo con sus hojas ó de 20 a 35 frutos. Estas muestras fueron introducidas en evolucionaria-



Figura 1. Evolucionarios con ramas y frutos infestados por *A. aurantii* colocados en cámara climática a 28°C y 60% HR durante 25 días hasta el desarrollo de *Aphytis* adultos.

rios para capturar los parasitoides adultos en trampas amarillas pegajosas de 12 x 12 cm. Los evolucionarios consistían en cajas de plástico de 40x30x22 cm mantenidas en el interior de cámaras climáticas (28°C, 60% HR) durante 25 días para permitir el desarrollo de los enemigos naturales hasta el estado adulto (Figura 1).

Para el segundo método, durante los años 2006 a 2007 se seleccionaron 20 parcelas de cítricos con alta densidad de *A. aurantii* repartidas en las tres provincias valencianas intentando cubrir todas las áreas cítricas, a fin de estudiar los niveles de parasitismo en cada parcela, sustrato arbóreo y estación del año. Las parcelas se muestrearon de tres a cinco veces en diferentes estaciones, determinándose las especies de parasitoides y niveles de parasitismo en los tres estadios

sensibles de la cochinilla (segundo estadio larvario, machos y hembras jóvenes). El parasitismo fue determinado por separado en ramas y frutos (cuando estos estaban presentes) observando 50 individuos vivos de cada uno de los estadios sensibles.

En el tercer método de muestreo, trampas cromáticas y de feromonas, se contó con la red de muestreo establecida por la Conselleria de Agricultura (Plan de Vigilancia Fitosanitaria Cítrica, PVFC) en 100 parcelas de cítricos distribuidas a lo largo de toda la Comunidad Valenciana. Se identificaron todos los parasitoides de *A. aurantii* capturados en tres de los tipos de trampas empleados por la red de muestreo del PVFC. Los tipos de trampas observados fueron dos trampas de cartón engomado de color blanco en tejadillo de 19x19 cm, una con feromona de *A. aurantii* (Figura 2) y otra con feromona de *Planococcus citri*, y una trampa plástica amarilla engomada de 14x20 cm. Se seleccionaron estos tres tipos de trampas, de entre los doce empleados en la red, porque se comprobó en observaciones previas que eran los que más parasitoides de *A. aurantii* capturaban. En el PVFC las trampas se muestrean periódicamente a intervalos variables de 14 a 28 días a lo largo de todo el año y en este trabajo se observaron las trampas muestreadas entre mayo de 2005 y mayo de 2006.



Figura 2. Trampa en tejadillo de 19x19 cm con feromona de hembra de *Aonidiella aurantii* perteneciente al Plan de Vigilancia Fitosanitario de Cítricos de la Comunidad Valenciana.

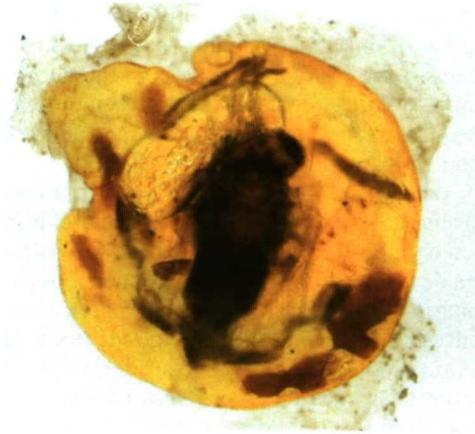


Figura 3. Observación bajo binocular de hembra adulta de *A. aurantii* parasitada por *Encarsia perniciosi* encontrada en el término municipal de Callosa (Alicante).

### Método de identificación de los parasitoides

Una vez localizados los insectos adultos en las trampas mediante binocular, fueron extraídos y depositados en xileno para la disolución del pegamento. A continuación se digirieron con líquido de Nesbit y se realizó una preparación microscópica. Se utilizaron las claves de ROSEN y DEBACH (1979) para la identificación de los *Aphytis* y de VIGGIANI (1987) y MYARTSEVA (2001) para *Encarsia*.

### RESULTADOS

Se identificaron en el total de los muestreos realizados 18.006 parasitoides, correspondiendo el 49% a *A. melinus* y el 50% a *A. chrysomphali*. Se ha observado la presencia de una población establecida de *Encarsia perniciosi* (Tower), no citada con anterioridad en España, en la comarca de La Marina (norte de Alicante). Los 273 individuos capturados de esta especie representan solamente un 1% del total de parasitoides identificados, pero el 20% de los capturados en esta zona. *E. perniciosi* estuvo presente en todas las muestras de esa comarca alcanzando un nivel medio de parasitismo del 10% (Figura 3).



Figura 4. Individuo adulto de *Aphytis chrysomphali* visto bajo binocular. La flecha indica la marca ventral oscura en el "mesoscotum" que la diferencia de *A. melinus*.

Comparando los métodos de muestreo, la proporción de *A. chrysomphali* obtenida en evolucionarios fue mayor que en las trampas de campo, 53% y 36% respectivamente. Esta diferencia puede atribuirse a una mayor proporción de parcelas muestreadas con trampas en el Sur de la Comunidad, donde la abundancia relativa de *A. chrysomphali* es mucho menor. También se obtuvieron mayores capturas de *E. perniciosi* en los evolucionarios, probablemente porque el área donde esta especie estaba presente fue muestreada más intensamente en evolucionarios que con trampas (Cuadro 1).

Se ha constatado que la diferenciación entre *A. melinus* y *A. chrysomphali*, cuando no existen otras especies de *Aphytis*, es posible con binocular sin necesidad de montaje al microscopio. Esto puede ser muy útil para agilizar la identificación de cantidades elevadas de *Aphytis* sobre trampas. Para ello se observa la existencia de una pequeña marca longitudinal en la zona ventral del "mesoscotum" en *A. chrysomphali* que no existe en *A. melinus* (Figura 4). Por otra parte, hemos observado que las capturas de *Aphytis* fueron mucho mayores en las trampas en tejadillo con feromona que en las trampas amarillas. El tipo de feromona utilizado no parece influir en las capturas, ya que éstas fueron similares en trampas con feromona de *A. aurantii* ( $19,75 \pm$

Cuadro 1. Número de individuos de *A. melinus*, *A. chrysomphali* y *E. perniciosi*, parasitoides del piojo rojo de California *A. auranti*, identificados en parcelas de cítricos de la Comunidad Valenciana entre 2004 y 2007.

Método de muestreo	Periodo muestreo	Núm. parcelas	Núm. muestras	Núm. <i>A. melinus</i>	Núm. <i>A. chrysomphali</i>	Núm. <i>E. perniciosi</i>
Ramas/frutos en evolucionario	Ene. 04 – may 07	105	150	6111	7417	270
Trampas cromáticas y de feromonas	May 05 – may 06	100	4555	2684	1521	3

3,34 individuos capturados por trampa y año) y con feromona de *Planococcus citri* (21,91 ± 4,07). Las trampas amarillas resultaron mucho menos eficaces (3,41 ± 0,66).

En nuestros resultados se observa que ambos ectoparasitoides aparecen simultáneamente en la mayoría de las parcelas muestreadas. De hecho, el grupo de muestras donde ambos parasitoides coexisten en una proporción similar es mayor que los grupos donde una de las dos especies es predominante (Figura 5).

En relación con la distribución espacial de las dos especies de parasitoides, la proporción de *A. chrysomphali* parece que se incrementa

de Sur a Norte, variando desde un 1% hasta el 90% de los parasitoides. *A. melinus* ha desplazado a *A. chrysomphali* en el Sur de la Comunidad Valenciana, pero no en el resto, donde *A. chrysomphali* está presente en igual o mayor proporción, especialmente en el Norte. Con los datos obtenidos a partir de los muestreos de ramas y frutos y los provenientes de las trampas de campo se configuró el mapa de distribución por comarcas citrícolas de los dos principales parasitoides presentes en la Comunidad Valenciana (Figura 6).

También se ha observado que cuando ambas especies están presentes en la misma parcela, su abundancia relativa puede variar

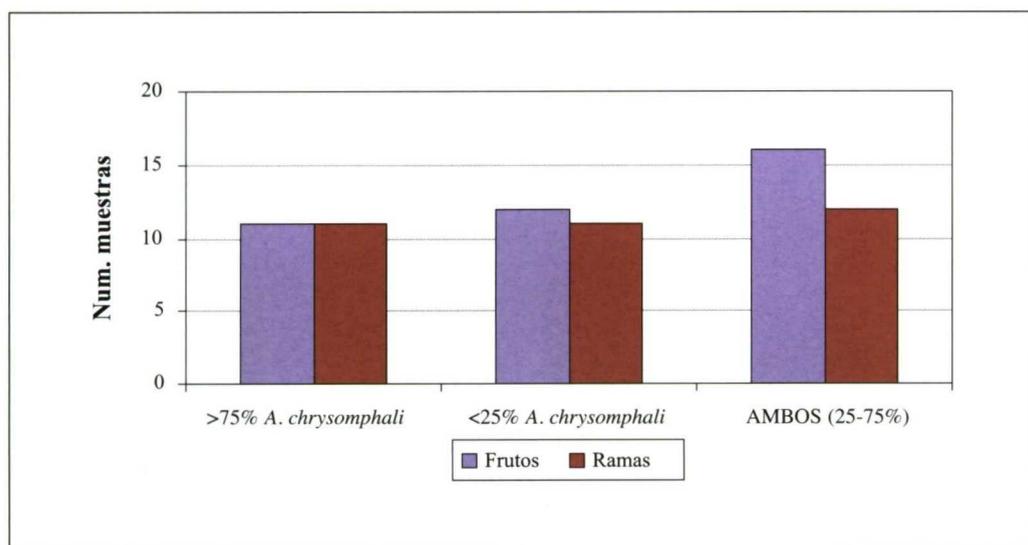


Figura 5. Número de muestras de ramas o frutos con diferentes proporciones de *Aphytis chrysomphali*, respecto al total de *Aphytis*, en poblaciones del piojo rojo de California de parcelas de cítricos de la Comunidad Valenciana muestreadas entre 2004 y 2007.

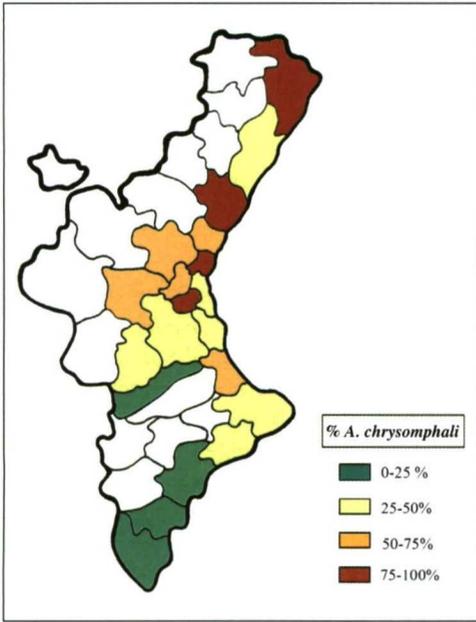


Figura 6. Abundancia relativa de *A. chrysomphali* respecto al total de *Aphytis* en parcelas de cítricos de la Comunidad Valenciana muestreadas entre 2004 y 2007.

mucho a lo largo del año; en general *A. melinus* es más abundante en los periodos cálidos y *A. chrysomphali* prefiere los fríos (Figura 7).

Los niveles de parasitismo por *Aphytis* alcanzan un máximo del 78% de estadios sensibles, con un nivel medio en todas las muestras de un 19%. Los niveles más altos se alcanzaron entre agosto y noviembre para los tres estadios susceptibles de ser parasitados por *Aphytis*. Las hembras jóvenes (H1) fueron más intensamente parasitadas (26%) que machos (13%) y L2 o segundo estadio (8%) (Figura 8). Los índices de parasitismo más altos de *E. perniciosi* se observaron en abril, alcanzando un 33% de las formas sensibles.

**DISCUSIÓN**

En lugares como California (DEBACH y SUNDBY, 1963), Grecia (ARGYRIOU, 1974) o Sicilia (SISCARO *et al.*, 1999) *A. melinus* se ha adaptado y establecido rápidamente con el consiguiente desplazamiento de las espe-

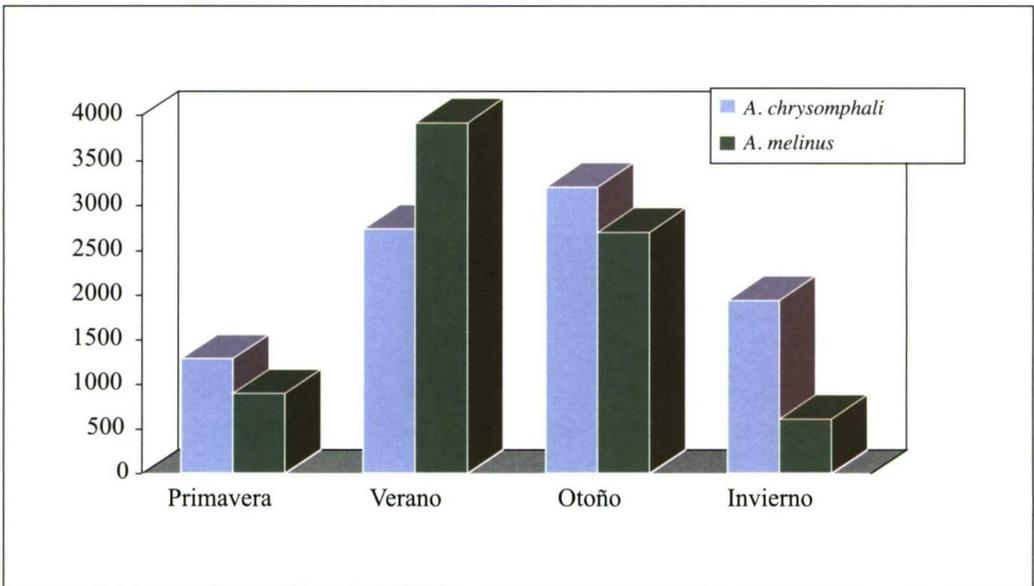


Figura 7. Distribución estacional de *A. chrysomphali* y *A. melinus* en parcelas de cítricos de la Comunidad Valenciana muestreadas entre 2004 y 2007.

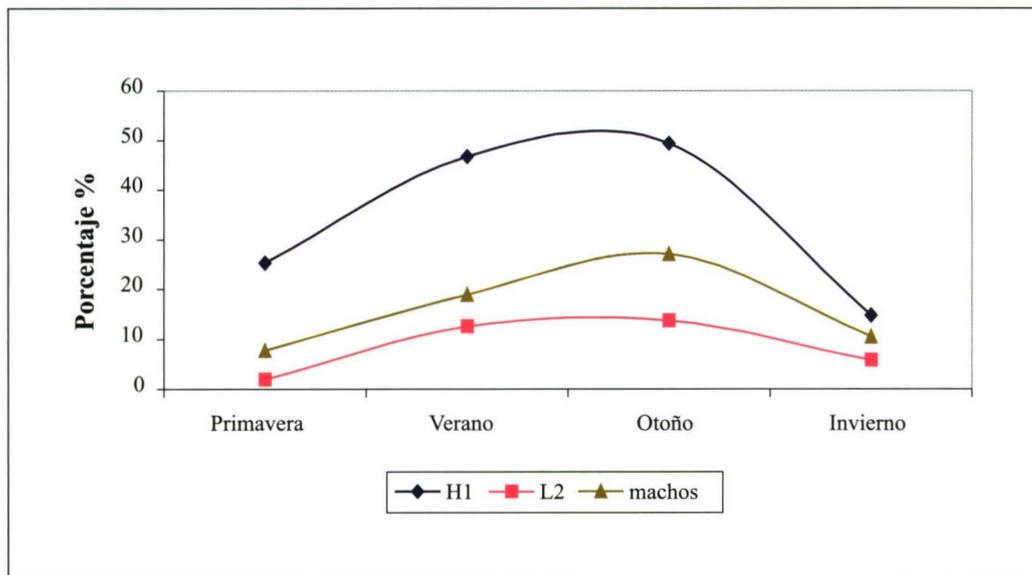


Figura 8. Evolución estacional de los niveles de parasitismo por *Aphytis* en los tres estadios sensibles de *A. aurantii*, en parcelas de cítricos de la Comunidad Valenciana muestreadas entre 2004 y 2007.

cies de parasitoides del piojo rojo de California previamente existentes como *A. chrysomphali*. Si lo comparamos con el largo periodo de tiempo transcurrido desde la suelta de este parasitoide en España, podemos deducir que existen factores medioambientales o biológicos que limitan la expansión de *A. melinus* en muchas zonas de la Comunidad Valenciana y permiten la supervivencia del parasitoide autóctono *A. chrysomphali*.

Uno de estos factores podría ser las bajas temperaturas invernales. Nuestras observaciones muestran que el descenso de las temperaturas durante el otoño y el invierno afectan más negativamente a la supervivencia de *A. melinus* que a la de *A. chrysomphali*. Es conocido por experimentos en laboratorio que *A. chrysomphali* es más tolerante al frío extremo y menos tolerante al calor extremo en todos sus estadios. El umbral de desarrollo se estima en 8.5 °C para *A. chrysomphali* y 11 °C para *A. melinus* (ABDELRAHMAN, 1974 a, b).

El vuelo de los *Aphytis* podría verse afectado también por las bajas temperaturas

invernales. Esto, junto con la escasez de estadios sensibles durante este periodo, supone una reducción drástica en las poblaciones de parasitoides, con lo cual la generación de primavera de *A. aurantii* se desarrolla en ausencia de control biológico por parte de sus enemigos naturales más efectivos. Es en este momento, al comienzo de la primavera, cuando las sueltas de *Aphytis* podrían resultar muy útiles en la mejora del control biológico de las poblaciones de *A. aurantii*.

En los últimos diez años se han llevado a cabo diferentes sueltas de *E. perniciosi* en áreas del interior de Valencia y Castellón provenientes del Insectario de Almazora (Castellón), sin llegar a observarse aparentemente su establecimiento (PINA, 2006). Las poblaciones que hemos encontrado en el norte de la provincia de Alicante parecen estar bien establecidas aunque son limitadas en su extensión y pueden haberse introducido de forma accidental, sin relación con las sueltas realizadas en Valencia y Castellón, cuyas poblaciones no han prosperado. *Encarsia perniciosi* ha sido encontrada en



Figura 9. Daños producidos por *Aonidiella aurantii* en frutos y ramas de naranjo.

diferentes áreas cítricas del mundo (Florida, Uruguay, Australia), pero normalmente está limitada a zonas húmedas o semitropicales con elevada pluviometría y temperaturas cálidas durante todo el año. Estas mismas condiciones climáticas se dan en la Comunidad Valenciana en algunas zonas de la comarca de La Marina (Alicante) donde se ha encontrado, pero en ninguna otra área cítrica. Por lo tanto, pensamos que la expansión de este endoparásitoide en España podría estar limitada por sus exigencias climáticas.

Nuestras observaciones muestran que la proporción de parasitoides de piojo rojo de California en una determinada parcela puede variar significativamente entre verano e invierno. Por tanto, los estudios para determinar los parasitoides predominantes en una parcela o un área de cultivo deberían llevarse a cabo a lo largo del año y no limitarse a periodos concretos.

Existen diferentes estudios que demuestran que la feromona de *A. aurantii* ejerce un

efecto atrayente sobre los *Aphytis* actuando como kairomona (STERNLICHT 1973, MILLAR y HARE, 1993), sin embargo no existen estudios previos sobre el efecto de otras feromonas de cóccidos sobre *Aphytis*. En nuestro trabajo las capturas de *Aphytis* mediante trampas con feromona de *A. aurantii* y de *P. citri* resultaron ser muy similares. Esto parece indicar que ambas feromonas se comportan de forma parecida en su capacidad de atracción como kairomona por los *Aphytis*. Por otro lado, MORENO *et al.* (1984) demuestra la mayor preferencia de los *Aphytis* por las trampas de color amarillo respecto a otros colores. Nuestros resultados ponen de manifiesto que tiene mucha mayor importancia la capacidad de atracción de las feromonas, actuando como kairomonas sobre *Aphytis*, que la atracción de estos parasitoides por el color.

En conclusión, tras muchos años desde su introducción y establecimiento, *A. melinus* no ha desplazado a *A. chrysomphali* en la mayoría de las comarcas de la Comunidad Valenciana. Las sueltas masivas de parasitoides podrían ser muy útiles como complemento para el parasitismo existente de forma natural y deberían centrarse en primavera y principios de verano, cuando los niveles de parasitismo natural son menores.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración del Plan Vigilancia Fitosanitaria de Cítricos en los muestreos de campo y a D. Alejandro Tena de la Universidad Politécnica de Valencia por su revisión crítica. Este estudio ha sido financiado por el proyecto AGL2005-07155-C03-03 del Ministerio de Educación y Ciencia.

## ABSTRACT

SORRIBAS J. J., R. RODRIGUEZ, E. RODRIGO, F. GARCIA MARÍ. 2008. Parasitism levels and species of natural enemies in field populations of California red scale *Aonidiella aurantii* (Hemiptera: Diaspididae) in Valencia region (Spain). *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 201-210.

During the years 2004 to 2007 we sampled natural enemies of the citrus red scale (CRS) *Aonidiella aurantii* (Maskell) in 173 citrus orchards distributed throughout the

main Spanish citrus area (Valencia, east of Spain). We selected twigs and fruits from field containing CRS populations and parasitoids were reared to adults in climatic chambers. Twenty orchards were sampled periodically estimating parasitism levels in different scale stages and on different tree substrates. On another hand, we identify parasitoids captured on yellow and pheromone traps in 100 citrus orchards of the Citrus Phytosanitary Survey of Valencia Government. Parasitism is present in all citrus groves with California red scale. From the 18,006 parasitoids identified 50% belong to *Aphytis chrysomphali* (Mercet) and 49% to *Aphytis melinus* DeBach. The presence of *Encarsia perniciosi* (Tower) (1%), not previously documented in Spain, has also been observed. The proportion of *A. chrysomphali* increases from South to North and in the colder months of the year. Parasitism levels reach up to a maximum of 78% of susceptible stages, with average levels in all the sampled orchards of 19%. Higher levels of parasitism were found between August and November. Parasitism is higher in young females (26%) than males (13%) and L2 (8%).

**Key words:** *Aphytis melinus*, *Aphytis chrysomphali*, *Encarsia perniciosi*.

#### REFERENCIAS

- ABDELRAHMAN, I. 1974a. The effect of extreme temperatures on California red scale, *Aonidiella aurantii* (Mask.) (Hemiptera: Diaspididae) and its natural enemies. *Australian J. Zool.* **22**: 203-212.
- ABDELRAHMAN, I. 1974b. Growth, development and innate capacity for increase in *Aphytis chrysomphali* Mercet and *A. melinus* DeBach, parasites of California red scale, *Aonidiella aurantii* (Mask.), in relation to temperature. *Australian J. Zool.* **22**: 213-230.
- ALFARO, F., CUENCA F. J., FERRER C. 1991. Piojo Rojo de California, nueva plaga preocupante. *Biología y control. Phytoma España*, **25**: 10-22.
- ARGYRIOU, L. 1974. Data on the biological control of citrus scales in Greece. *IOBC/ WPRS bulletin* No 3: 89-94.
- ASPLANATO, G., GARCIA MARI, F. 2002. Parasitismo de la cochinilla roja californiana *Aonidiella aurantii* (Homoptera: Diaspididae) en la zona citrícola Sur de Uruguay. *Bol. San. Veg. Plagas* **28** (1): 5-20.
- BENASSY, C., BIANCHI, H. 1974. Observations sur *Aonidiella aurantii* Mask. et son parasite indigène *Comperiella bifasciata* How. (Hymenoptera: Encyrtidae). *IOBC/ WPRS bulletin* No 3: 39-50.
- DEBACH, P., SUNDBY, R. 1963: Competitive displacement between ecological homologues. *Hilgardia* **34**: 105-166.
- FORSTER, L., LUCK, R., GRAFTON-CARDWELL, E. 1995. Life stages of California red scale and its parasitoid. *University of California, Division of Agriculture and Natural Resources Publ.* **21529**, Oakland, CA.
- GONÇALVES, I., SOARES, C., FERNÁNDEZ, J. 2002. A cochinilha pinta vermelha (*Aonidiella aurantii* Maskell): resultados de estudos de prospecção e caracterização bioecológica. *Congresso Nacional de Citricultura*, Faro 2000, pp. 509-516.
- LUCK, R. Y. PODOLER H. 1985. Competitive exclusion of *Aphytis lingnanensis* by *A. melinus*: Potential role of host size. *Ecology*. **66**: 904-913.
- MILLAR, J., HARE, J. 1993. Identification and synthesis of kairomone inducing oviposition by parasitoid *Aphytis melinus* from California red scale covers. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 19, No.8: 1721-1736.
- MORENO, D. GREGORY, W., TANIGOSHI, L. 1984. Flight response of *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Scirtothrips citri* (Thysanoptera: Thripidae) to trap color, size, and shape. *Environ. Entomol.* **13**: 935-940.
- MYARTSEVA, S. 2001. A new species of parasitoid wasp of the genus *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae) from Tamaulipas, Mexico. *Acta Zool. Mex.* **82**: 13-18.
- ORPHANIDES, G. 1984. Competitive displacement between *Aphytis* spp. (Hym. Aphelinidae) parasites of the California red scale in Cyprus. *Entomophaga* **29**: 275-281.
- PINA, T. 2006. Control biológico del piojo rojo de California, *Aonidiella aurantii* (Maskell) y estrategias reproductivas de su principal enemigo natural *Aphytis chrysomphali* (Mercet). Tesis doctoral. Universitat de Valencia, España.
- PELEKASSIS, C. 1974. Historical review of biological control of citrus scale insects in Greece. *IOBC/ WPRS bulletin* No 3:14-19.
- RODRIGO, E., GARCÍA-MARÍ, F. 1990. Comparación del ciclo biológico de los diaspinos *Parlatoria pergandii*, *Aonidiella aurantii* y *Lepidosaphes beckii* (Homoptera, Diaspididae) en cítricos. *Bol. San. Veg. Plagas* **16**: 25-35.
- RODRIGO, E., GARCÍA-MARÍ, F. 1995. Informe de la reunión del grupo de trabajo de cítricos y otros subtropicales. En: *Reuniones anuales de los grupos de trabajo fitosanitarios*, 1995: 15-28.
- RODRIGO, E., TRONCHO, P., GARCÍA-MARÍ, F. 1996. Parasitoids (Hym.: Aphelinidae) of three scale insects (Hom.: Diaspididae) in a citrus grove in Valencia, Spain. *Entomophaga* **41**: 77-94.
- ROSEN, D., DEBACH, P. 1979. Species of *Aphytis* of the world (Hymenoptera: Aphelinidae). *Series Entomologica* Volume **17**, Dr. W. Junk Publishers, 801 pp.
- SISCARO, G. 1999. Ruolo degli entomofagi di *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hom.: Diaspididae) in agrumenti siciliani. *Phytophaga* **IX**: 41-52.
- STERNLICHT, M. 1973. Parasitic wasps attracted by the sex pheromone of their coccid host. *Entomophaga* **18**: 339-342.

- TRONCHO, P. RODRIGO, E., GARCIA-MARÍ, F. 1992. Observaciones sobre el parasitismo en los diaspidos *Aonidiella aurantii* (Maskell), *Lepidosaphes beckii* (Newman) y *Paralatoria pergandei* (Comstock) en una parcela de naranjo. *Bol. San. Veg. Plagas* **18**: 11-30.
- VELA, J., VERDÚ, M., URBANEJA, A., BOYERO, J. 2007. Parasitoides de *Aonidiella aurantii* (Maskell) en plantaciones de cítricos en el sur de España. Resúmenes del V Congreso Nacional de Entomología Aplicada, Cartagena (España), pag 175.
- VIGGIANI, G. 1987. La specie italiane del genere *Encarsia* Foerster (Hymenoptera: Aphelinidae). *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri', Portici* **44**: 121-180.
- YU, D., LUCK, R., MURDOCH, W. 1990. Competition, Resource Partitioning and Coexistence of an Endoparasitoid *Encarsia perniciosi* and an Ectoparasitoid *Aphytis melinus* of the California Red Scale. *Ecol. Entomol.* **15**: 469-480.

(Recepción: 11 enero 2008)

(Aceptación: 5 mayo 2008)

## Densidad y estructura poblacional de *Saissetia oleae* Olivier (Hemiptera: Coccidae) en cítricos y olivos: importancia relativa de las dos generaciones anuales

A.TENA BARREDA, A. SOTO SÁNCHEZ, F. GARCIA MARÍ

La caparreta negra *Saissetia oleae* Olivier (Hemiptera: Coccidae) es una de las principales plagas de cítricos y olivos de todo el Mundo. Su incidencia es especialmente importante en la cuenca del Mediterráneo donde ambos cultivos se encuentran ampliamente distribuidos y coexisten a nivel local. Para mejorar el control de esta especie bajo los principios del Manejo Integrado de Plagas en ambos cultivos hemos estudiado el número y la importancia de cada una de sus generaciones a lo largo de los años 2003-05. Las poblaciones de la caparreta negra mostraron una tendencia similar en ambos cultivos, presentando un máximo poblacional en julio, cuando las ninfas móviles emergieron tras el periodo de puesta de las hembras adultas. A continuación se produjo una disminución poblacional debida a la alta mortalidad del primer estadio durante los meses de verano. Se observó una segunda salida de ninfas móviles parcial, heterogénea y variable en otoño-invierno. Sin embargo, las poblaciones no aumentaron durante este periodo debido al efecto de las bajas temperaturas en la supervivencia del primer estadio y a la menor fertilidad de las hembras adultas, las cuales fueron la mitad de grandes y fecundas que las de primavera. Si se realizan tratamientos para controlar posibles explosiones de la plaga recomendamos su aplicación a finales de julio, cuando las poblaciones son homogéneas, todas las ninfas han emergido y el primer estadio predomina en las poblaciones.

A.TENA BARREDA, A. SOTO SÁNCHEZ, F. GARCIA MARÍ. Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia. Camí de Vera 14, 46022 Valencia, Spain. E-mail: fgarciam@eaf.upv.es.

**Palabras clave:** caparreta negra, estadios de desarrollo, número de generaciones, periodo de emergencia.

### INTRODUCCIÓN

La caparreta negra *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) es una de las principales plagas de cítricos y olivos en la cuenca Mediterránea (BEN-DOV Y HODGSON, 1997). Las poblaciones de este cóccido muestran ostensibles variaciones de abundancia a lo largo del año y entre años debido tanto a factores bióticos como abióticos, más concretamente la acción de los enemigos naturales, el uso de pesticidas y las condiciones climáti-

cas extremas (PANIS, 1977, MENDEL *et al.*, 1984). En este sentido, tanto las bajas temperaturas en invierno como las altas temperaturas unidas a bajas humedades en verano causan elevadas mortalidades en los estadios jóvenes del cóccido (FERNÁNDEZ *et al.*, 1979, PUCCI *et al.*, 1982, KATSOYANNOS, 1996). Por otra parte, la alta fecundidad de las hembras, una sola hembra puede poner más de 2500 huevos (BRIALES Y CAMPOS, 1986, PEREIRA, 2004), contribuye a que las poblaciones de *S. oleae* sobrepasen los umbrales de tratamiento

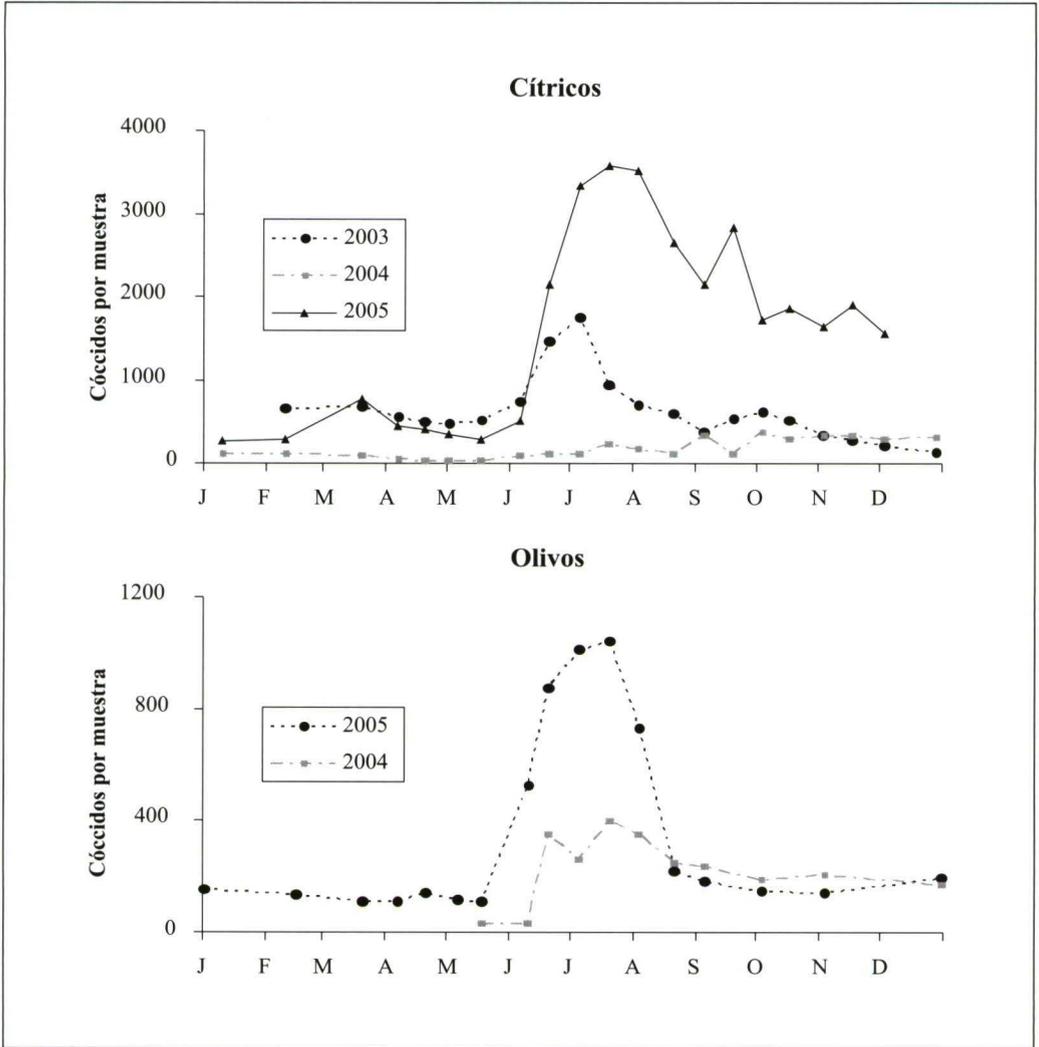


Figura 1. Abundancia estacional de *Saissetia oleae* en cítricos (marzo 2003 – diciembre 2005) y olivos (mayo 2004 – diciembre 2005) de la Comunidad Valenciana. Las figuras muestran la media del número total de cóccidos vivos por muestra en 2-4 parcelas.

cuando las condiciones le son favorables. Resulta, pues, imprescindible determinar su evolución estacional a lo largo del año, determinar el momento en el que eclosionan los huevos y emergen las ninfas de primer estadio, para realizar los tratamientos, puesto que el primer y segundo estadio son más sensibles a los tratamientos químicos.

Hasta la fecha, se han llevado a cabo diversos estudios para determinar el número de generaciones de *S. oleae* y el periodo de emergencia de sus ninfas (ARGYRIOU, 1963, BLUMBERG *et al.*, 1975, BRIALES Y CAMPOS, 1986, MONTIEL Y SANTAELLA, 1995). Sin embargo, existe cierta controversia respecto al número de generaciones, puesto que se

han citado una o dos generaciones por año dependiendo del cultivo sobre el que se desarrolla el cóccido así como las condiciones ambientales y agronómicas (BODENHEIMER, 1951, BLUMBERG *et al.*, 1975, PANIS, 1977, PASSOS DE CARVALHO *et al.*, 2003). En este estudio describimos y comparamos la abundancia y la estructura poblacional de *S. oleae* en cítricos y olivos a lo largo de tres años en la Comunidad Valenciana. Con ello pretendemos determinar el número e importancia de las generaciones de *S. oleae* a lo largo del año con el fin de mejorar la Producción Integrada en ambos cultivos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Desde marzo de 2003 hasta diciembre de 2005 se muestrearon diez parcelas de cítricos y cuatro de olivos representativas de ambos cultivos en la Comunidad Valenciana. Las parcelas de cítricos se encuentran en las siguientes localidades: Albal, Alcora, Altura, Castellón, Moncófar, Museros, Onda, Real de Montroy, Ribarroja y Xilxes; y las de olivos en: Altura, Castellón, Planes y Villar del Arzobispo. En cada parcela se muestrearon 16 ramillas de 15 cm. con cuatro de sus hojas. En el laboratorio, el material vegetal fue observado bajo lupa binocular para determinar el estadio de desarrollo de *S. oleae* (siguiendo las indicaciones de MORILLO, 1977). Además, las hembras adultas se midieron utilizando un micrómetro, y posteriormente se contabilizó el número de huevos presentes bajo dichas hembras. El volumen de las hembras se calculó considerando la forma del cuerpo de la hembra como medio elipsoide (PEREIRA, 2004).

El volumen de las hembras adultas que aparecieron en primavera-verano fue comparado mediante una ANOVA multifactorial, siendo el cultivo (cítricos y olivos) y al año (2004-2005) los principales factores. El volumen de las hembras adultas que aparecieron en primavera-verano y otoño en cítricos fue comparado mediante una ANOVA unifactorial (STATGRAPHICS, 1994).

## RESULTADOS

### Evolución estacional y emergencia de ninfas

Las poblaciones de *S. oleae* mostraron una tendencia similar en cítricos y olivos durante los tres años del estudio (Fig. 1). Las poblaciones alcanzaron su máximo en verano (julio) debido a la eclosión de las ninfas de la nueva generación. Este máximo vino precedido por un máximo de hembras con huevos en mayo y junio (Fig. 2). Posteriormente, al final del verano, las poblaciones disminuyeron considerablemente. Durante el invierno predominaron el segundo y tercer estadio de desarrollo del cóccido.

Las ninfas que emergieron en junio y julio lo hicieron al mismo tiempo en todas las parcelas muestreadas el mismo año, independientemente del cultivo (Fig. 3). Siendo las diferencias entre parcelas menores de 20 días. En cambio el segundo periodo de emergencia observado en otoño e invierno fue mucho más disperso en el tiempo, empezando en septiembre-octubre y finalizando en marzo, dependiendo también del año de muestreo (Fig. 2).

### Fecundidad y volumen de las hembras adultas

Las hembras adultas que aparecieron en primavera pusieron un máximo de 2603 huevos en las parcelas de cítricos y 2675 en las de olivos, mientras que el máximo de huevos contabilizado en las hembras de otoño fue 774. Existe una relación positiva y significativa entre el volumen de las hembras y el número de huevos (Fig. 4). El volumen de las hembras varió en función de la época del año (Fig. 5) y de su localización en el árbol. En cítricos, el volumen medio de las hembras de primavera ( $12.07 \pm 0.47 \text{ mm}^3$ ) fue significativamente mayor que el de otoño-invierno ( $4.52 \pm 0.29 \text{ mm}^3$ ) (ANOVA:  $F = 215.57$ ;  $df = 1, 227$ ;  $P < 0.0001$ ). Además, las hembras que se desarrollaron sobre las ramas de olivo ( $12.79 \pm 0.33 \text{ mm}^3$ ) fueron el doble grandes que las que lo hicieron sobre las hojas ( $6.08 \pm 1.33 \text{ mm}^3$ ) (ANOVA:  $F = 24.04$ ;  $df = 1, 261$ ;  $P < 0.0001$ ).

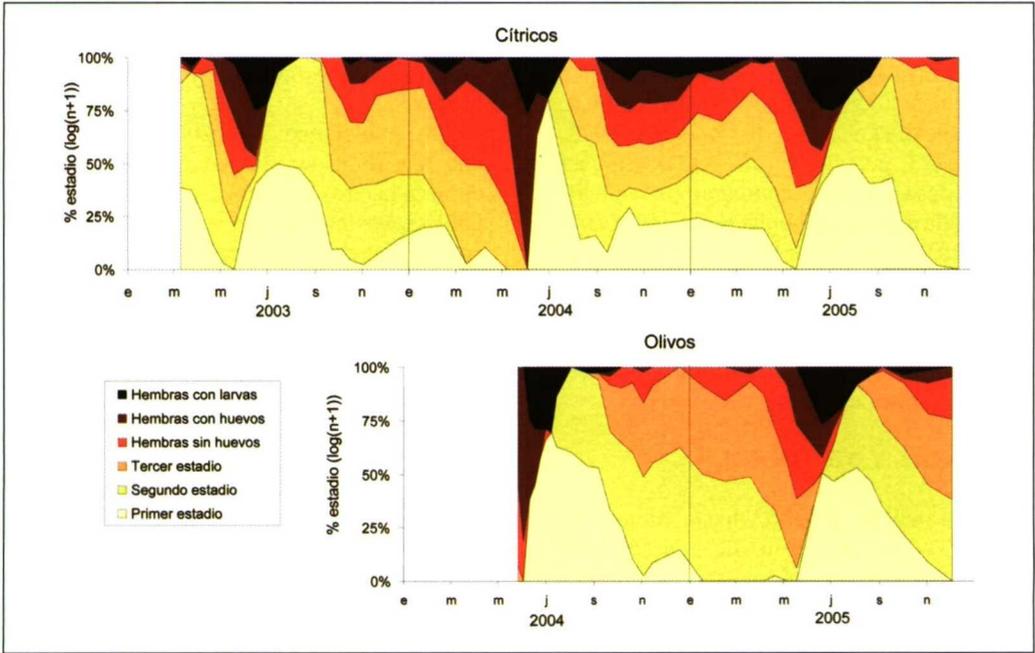


Figura 2. Evolución estacional de los diferentes estadios de desarrollo de *Saissetia oleae* en cítricos y olivos de la Comunidad Valenciana (marzo 2003 – diciembre 2005). El número de cóccidos vivos ha sido transformado logarítmicamente antes de calcular el porcentaje de cada estadio de desarrollo.

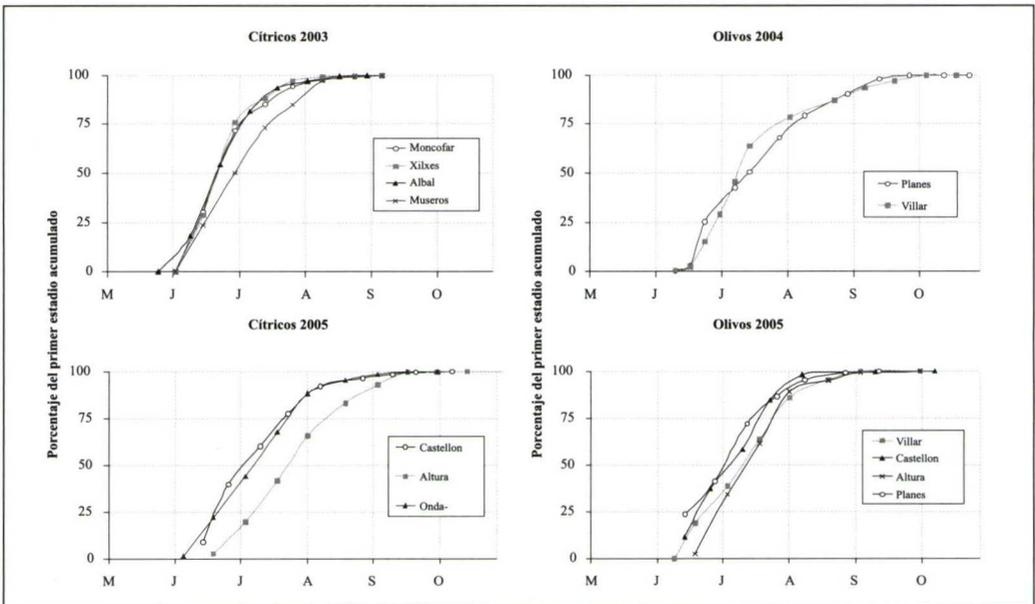


Figura 3. Porcentaje acumulado de individuos del primer estadio de desarrollo de *Saissetia oleae* en la generación de verano en diferentes parcelas de cítricos y olivos muestreadas en la Comunidad Valenciana entre 2003 y 2005.

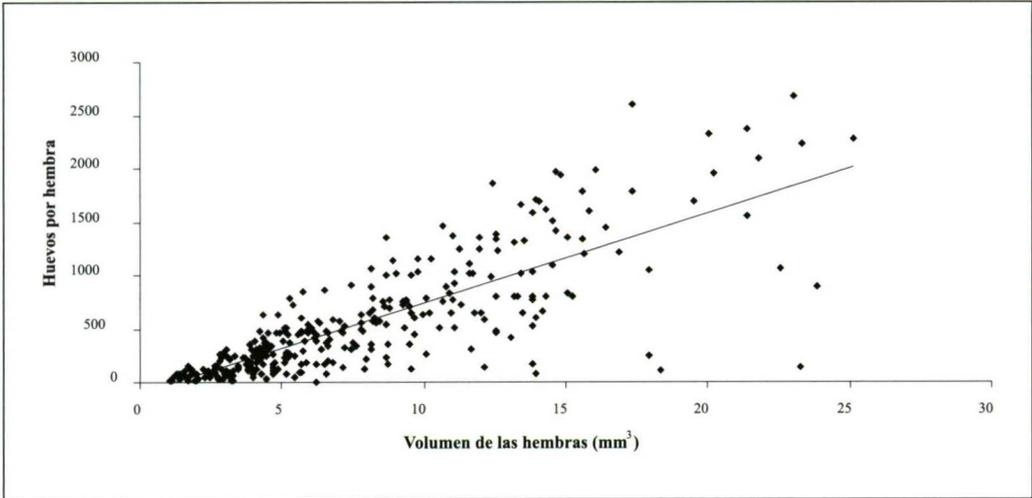


Figura 4. Relación entre el volumen ( $\text{mm}^3$ ) de las hembras adultas y el número de huevos encontrado debajo de su cuerpo. Datos de parcelas de cítricos y olivos de la Comunidad Valenciana en 2004 y 2005 ( $R^2 = 0.64$ ;  $P < 0.0001$ ;  $Y = -102.59 + 84.44X$ ).

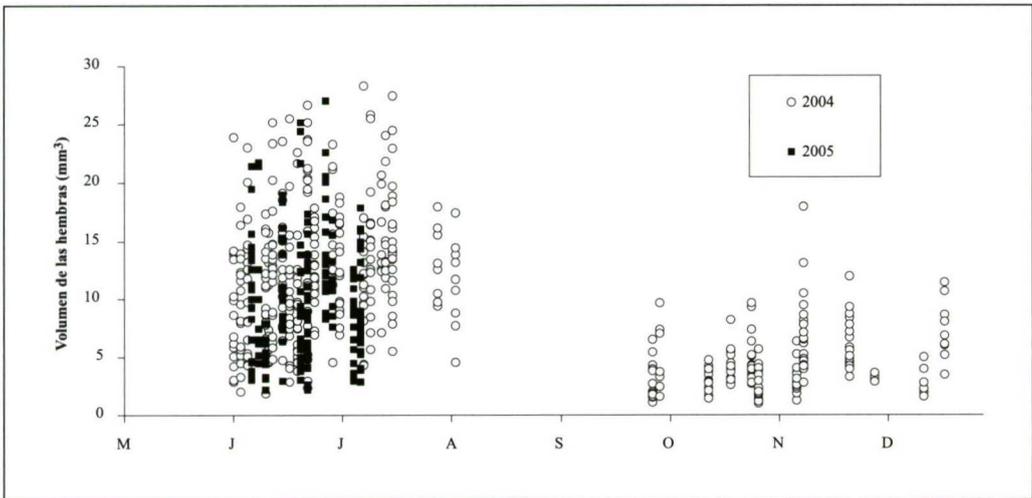


Figura 5. Evolución estacional del volumen ( $\text{mm}^3$ ) de las hembras adultas en parcelas de cítricos y olivos de la Comunidad Valenciana en 2004 y 2005.

## DISCUSIÓN

Las poblaciones de *Saissetia oleae* presentaron pautas de desarrollo similares en todos las parcelas de cítricos y olivos estudiadas, con una salida de ninfas importante y

concentrada en julio. Esta salida es pues generalizada para toda la Comunidad Valenciana. Además coincide con las observaciones realizadas anteriormente en otros estudios llevados a cabo en la Península Ibérica (SANTABALLA, 1972, BRIALES Y CAMPOS,

1986, ALVARADO *et al.*, 2002, NOGUERA *et al.*, 2003, PEREIRA, 2004). Algunos de estos autores también citan una segunda generación parcial o completa en otoño. En nuestro estudio aparece una segunda salida de ninfas desde septiembre hasta marzo, aunque esta fue parcial, dispersa en el tiempo y variable según cultivos, años y parcelas. Esta segunda salida no parece tener importancia en la densidad poblacional del cóccido, puesto que las poblaciones no aumentaron durante este periodo. Esto puede ser debido al efecto de las bajas temperaturas en invierno sobre las ninfas de primer estadio recién eclosionadas (CANARD Y LAUDEHO, 1977, PUCCI *et al.*, 1982). Además, las hembras adultas presentes en otoño fueron de menor tamaño y consecuentemente menos fértiles que las presentes en primavera-verano.

Las poblaciones de la caparreta negra sufrieron intensas fluctuaciones a lo largo del año. Tras alcanzar el máximo poblacional en julio las poblaciones disminuyeron, especialmente en verano, debido en gran parte a la alta mortalidad de los individuos de primer estadio. Este estadio es muy sensible a las altas temperaturas asociadas a las bajas humedades relativas típicas del clima mediterráneo en verano. Así, temperaturas > 30°C, asociadas a humedades relativas <

30% pueden causar mortalidades > 80% en el primer estadio de *S. oleae* (DE FREITAS, 1972, PUCCI *et al.*, 1982). Durante el invierno las poblaciones se estabilizaron y homogeneizaron, predominando el segundo y tercer estadio de desarrollo. Estas observaciones coinciden con las de otros autores tanto en cítricos como en olivos de la Comunidad Valenciana, Andalucía y Portugal (SANTABALLA, 1972, BRIALES Y CAMPOS, 1986, ALVARADO *et al.*, 2002, NOGUERA *et al.*, 2003, PEREIRA, 2004).

Por último, desde el punto de vista de control del cóccido, la segunda generación parcial descrita puede favorecer el establecimiento de ciertos parasitoides de *S. oleae* que no se establecen si el estadio del cóccido al cual parasitan está ausente durante gran parte del año (TENA *et al.*, en prensa), mejorando de esta forma el control biológico de la plaga. En el caso que las poblaciones de *S. oleae* sobrepasen los umbrales de tratamiento y sea necesario el uso de plaguicidas recomendaríamos que los tratamientos se realizaran a finales de julio principios de agosto, momento en el cual las poblaciones se encuentran sincronizadas, todas los huevos han eclosionado y las ninfas de primer y segundo estadio, más sensibles a los plaguicidas, predominan en las parcelas de cítricos y olivos.

#### ABSTRACT

TENA BARREDA, A., A. SOTO SÁNCHEZ, F. GARCIA MARÍ. 2008. Density and structure of *Saissetia oleae* (Hemiptera: Coccidae) populations on Citrus and Olives: relative importance of the two annual generations. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 211-218.

Black scale *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) is one of the most widely distributed pests of citrus and olives. The incidence of this scale is especially important along the Mediterranean basin, where olive and citrus groves are widely distributed and coexist locally. To improve integrated pest management (IPM) in both crops we have sought to determine the number and importance of black scale generations along 2003-05. Black scale populations presented a similar trend in both crops during the three years of study. Populations peaked in July, when crawlers emerged after the egg-laying period, and decreased during several months due to mortality of first instars in summer. A second crawler emergence period, with lower numbers and more variability from year to year, occurred in fall-winter. However, populations did not increase during this period, probably because most eggs and crawlers perished during the winter and also because females that gave rise to this fall-winter generation were half as big and fecund as spring females. The best seasonal period to apply pesticides to control *S. oleae* would be at the end of July, when populations are synchronous, all crawlers have already emerged, and first instars predominate.

**Key words:** black scale, number of generations, emergence period, instars development.

## REFERENCIAS

- ALVARADO, M., DURAN, J. M., GONZÁLEZ, M. I., MONTES, F., PÁEZ, J., SÁNCHEZ, A., SERRANO, A., VEGA, J. M. 2002. Plagas y Enfermedades del olivo. Junta de Andalucía. Sevilla. 21 pp.
- ARGYRIOU, L. 1963. Studies on the morphology and biology of the black scale (*Saissetia oleae* (Bernard)) in Greece. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S.* **5**: 353-377.
- BEN-DOV, Y., HODGSON, C. 1997. Soft scale insects: their biology, natural enemies and control. World Crop Pests. Elsevier Amsterdam, The Netherlands.
- BLUMBERG, D., SWIRSKI, E., GREENBERG, S. 1975. Evidence for bivoltine populations of the Mediterranean Black Scale *Saissetia oleae* (Olivier) on citrus in Israel. *Israel J. Entomol.* **10**: 19-24.
- BODENHEIMER, F. 1951. Citrus Entomology in the Middle East. Ed. W. Junk. Hoitsema Brothers-Groningen, The Hague, Holland.
- BRIALES, M. J., CAMPOS, M. 1986. Estudio de la biología de *Saissetia oleae* (Olivier, 1791) (Hom.: Coccidae) en Granada (España). *Boln. Asoc. esp. Ent.* **10**: 249-256.
- CANARD, M., LAUDEHO, Y. 1977. Etude d'une deuxième génération d'hiver de *Saissetia oleae* Oliv. (Hom., Coccidae) en Attique (Grèce) et de sa réduction par *Metaphycus lounsburyi* How. (Hym., Encyrtidae) et *Scutellista cynea* Motsch. (Hym., Pteromalidae). *Fruits* **32**: 554-561.
- DE FREITAS, A. 1972. A cochonilha-negra (*Saissetia oleae* (Oliv.)) em Oliveira. Bio-ecologia e influência dos tratamentos antidácicos. *Agr. Lusit.* **33**: 349-390.
- FERNÁNDEZ, J. M., MENDIVIL, Z., ALMAGRO, S. 1979. Estudio de *Saissetia oleae* en Córdoba. *Bol. Serv. Plagas.* **5**: 149-156.
- KATSOYANNOS, P. 1996. Integrated insect pest management for citrus in northern Mediterranean countries. Benaki Phytopatological Institute (BPI), Atenas, Grecia.
- MENDEL, Z., PODOLER, H., ROSEN, D. 1984. Population dynamics of the Mediterranean black scale, *Saissetia oleae* (Olivier), on the citrus in Israel. 4. The natural enemies. *J. ent. Soc. Sth. Afr.* **47**: 1-21.
- MONTIEL, A., SANTAELLA, S. 1995. Evolución de la población de *Saissetia oleae* Oliv en condiciones naturales. Periodos susceptibles de control biológico. *Bol. San. Veg. Plagas* **21**: 445-455.
- MORILLO, C. 1977. Morfología y biología de *Saissetia oleae* (Hemiptera Coccidae). *Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. Biol.* **75**: 87-108.
- NOGUERA, V., VERDÚ, M. J., GÓMEZ-CADENAS, A., JACAS, J. A. 2003. Ciclo biológico, dinámica poblacional y enemigos naturales de *Saissetia oleae* Olivier (Homoptera: Coccidae), en olivares del Alto Palencia (Castellón). *Bol. San. Veg. Plagas* **29**: 495-504.
- PANIS, A. 1977. Contribución al conocimiento de la biología de la "cochinilla negra de los agrios" (*Saissetia oleae* Olivier). *Bol. Serv. Plagas* **3**: 199-205.
- PASSOS DE CARVALHO, J., TORRES, L. M., PEREIRA, J. A., BENTO, A. A. 2003. A cochonilha-negra *Saissetia oleae* (Olivier, 1791) (Homoptera - Coccidae). Ed. Instituto Nacional de Investigação Agraria. Universidade de Trás-os-Montes e alto Douro. Escola Superior Agraria de Bragança. Bragança, Portugal.
- PEREIRA, J. A. C. 2004. Bioecologia da cochonilha negra *Saissetia oleae* (Olivier), na oliveira, em Trás-os-Montes. PhD dissertation. Unversidade de Trás-os-Montes e alto Douro. Vila Real.
- PUCCI, C., SALMISTRARO, D., FORCINA, A., MONTANARI, G. 1982. Incidenza dei fattori abiotici sulla mortalità della *Saissetia oleae* (Oliv.). *Redia* **5**: 355-366.
- SANTABALLA, E. 1972. La Caparreta (*Saissetia oleae*) en agrios. *Levante Agríc.* **22**: 20-25.
- STATGRAPHICS, 1994. Version 4.0 Plus. Statistical graphics system by Statistical Graphics Corporation. Manugistics, Rockville, MD.
- TENA, A., SOTO, A., GARCIA-MARI, F. 2008. Parasitoid complex of black scale *Saissetia oleae* on Citrus and Olives: parasitoid species composition and seasonal trend. Biocontrol Published article online: 2-August-2007 doi: 10.1007/s10526-007-9084-2.

(Recepción: 11 enero 2008)  
(Aceptación: 21 mayo 2008)



## Evolución del tamaño y edad fisiológica de los adultos en poblaciones de campo de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). Aplicación al análisis de su ciclo biológico

C. NAVARRO, J. ALCAIDE, L. BARGUES, C. MARZAL, F. GARCIA MARÍ

Se ha estudiado la variación estacional a lo largo del año del tamaño y la edad fisiológica de los adultos de la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) en poblaciones de campo. Desde mayo de 2003 a julio de 2005 se han realizado capturas de adultos de *C. capitata* en siete parcelas (seis de cítricos y una de frutales) en los municipios de Picassent, Carlet y Godella. Las capturas se realizaban utilizando mosqueros Tephritrap cebados con los atrayentes Tripack o Trimedlure. Por otra parte, se han recolectado muestras de diversos tipos de frutos picados por *C. capitata*, de los que se han obtenido las moscas adultas en evolucionarios. Se ha medido la longitud del ala los adultos como un estimador de su tamaño y, en el caso de las hembras, se ha estimado su edad fisiológica observando el desarrollo de los ovarios por disección del abdomen. Se ha encontrado una pauta estacional en la variación del tamaño de los adultos de *C. capitata* a lo largo del año relacionada con la temperatura. Los adultos de mayor tamaño los encontramos en abril y los de menor tamaño en agosto. El tamaño del adulto parece poco relacionado con el tipo de fruto en que se ha desarrollado la larva. Durante todo el año están presentes todos los estadios fisiológicos de las hembras, variando la proporción de hembras jóvenes en función de la temperatura ambiente y de la proximidad de la fruta madura a las trampas muestreadas. Estas observaciones permiten ampliar los conocimientos actuales sobre el comportamiento y ciclo estacional en campo de las poblaciones de *C. capitata* en la Comunitat Valenciana.

C. NAVARRO, J. ALCAIDE, L. BARGUES, C. MARZAL, F. GARCIA MARÍ. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. 46022-Valencia. E-mail: fgarciam@eaf.upv.es.

**Palabras clave:** mosca de las frutas, frutos, forma, longevidad.

### INTRODUCCIÓN

La mosca de las frutas (Figura 1), *Ceratitis capitata* (Wiedemann), es una de las plagas más importantes y que más daño causa en la fruticultura y citricultura de los países mediterráneos. Tradicionalmente se sigue la evolución estacional de la abundancia de dicha plaga mediante trampas de diversos tipos, para decidir las intervenciones con plaguicidas. Normalmente con las capturas de adultos de *C. capitata* en trampas únicamente se

determina el número de estos y en algunos casos la proporción de sexos. En la actualidad se están desarrollando técnicas de control alternativas a los tratamientos plaguicidas como la quimioesterilización (NAVARRO *et al.*, 2007), el trapeo masivo (FIBLA-QUE-RALT *et al.*, 2007), el control biológico de esta especie (FALCÓ *et al.*, 2006), o la liberación de machos estériles que ya se inició en el año 2003 en algunas zonas cítricas españolas (PRIMO MILLO *et al.*, 2003). Estas técnicas requieren un conocimiento muy preci-



Figura 1. Hembra adulta de *Ceratitits capitata*.

so del funcionamiento estacional de las poblaciones en campo y de su biología. Características como la edad que tienen en un momento dado los adultos, así como su madurez sexual y fisiológica, condicionarán la eficacia de los distintos métodos de control.

El tamaño que alcanzan los insectos adultos está influenciado por las condiciones ambientales en que viven (SCHACHTER-BROIDE *et al.* 2004; SCHNEIDER *et al.*, 2004). En la Figura 2 se puede observar dos machos de *Ceratitits capitata* de diferente tamaño. Diversos estudios han mostrado que las especies ectotérmicas alcanzan un tamaño mayor cuando se crían en condiciones frías (SANKARPERUMAL Y PANDIAN, 1991; ATKINSON Y SIBLY, 1997; ANGILLETTA Y DUNHAM, 2003). Este hecho se explica mediante la regla ecológica térmica de Bergmann formulada inicialmente para animales homeotermos y posteriormente extendida a organismos ectotermos (BLANCKENHORN Y HELLRIEGEL, 2002). Por otro lado, se han citado otros factores que también pueden influir en el tamaño de dípteros adultos como la cantidad de proteína en la dieta larvaria (KASPI *et al.*, 2002), la densidad larvaria (SIGURJONSDOTTIR, 1984) o la calidad del fruto donde se desarrollen las larvas (KRAINACKER *et al.*, 1987). Recientemente se ha publicado en nuestro país un estudio en otra especie pró-

xima, *Bactrocera oleae* (TORRES VILA *et al.*, 2006), en el que se comprueba y demuestra que este tefrítido muestra una pauta estacional consistente a lo largo del año en la frecuencia de hembras pre-reproductivas y en el tamaño de los adultos.

Normalmente, en los sistemas de muestreo y seguimiento de poblaciones de *C. capitata* en campo únicamente se determina el número de adultos capturados y en algunos casos la proporción de sexos y, la presencia de hembras grávidas (MARTÍNEZ-FERRER *et al.*, 2007). El objetivo de este trabajo ha sido ampliar la información que se obtiene de las capturas de adultos de *C. capitata* en trampas, estudiando las pautas estacionales y los factores que influyen en el tamaño y edad fisiológica de los insectos, con el fin de obtener nueva información sobre los cambios generacionales, los frutos de origen y la movilidad de las poblaciones de *C. capitata* en campo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Captura de adultos en campo mediante mosqueros

Los insectos estudiados han sido recolectados de siete parcelas cultivadas de la provincia de Valencia durante el periodo comprendido entre mayo del 2003 y julio del 2005. Tres de las parcelas estaban localiza-



Figura 2. Diferencia de tamaño entre dos machos de *Ceratitits capitata*

das en el término municipal de Picassent (naranja de la variedad Valencia Late, clementino Marisol e híbrido de mandarina Fortune), dos en Godella (clementino Clementpons e híbrido Fortune) y dos en Carlet (clementino Marisol y Nectarina Snow Queen).

Las capturas de adultos de *Ceratitis capitata* se han realizado colocando en cada parcela durante el periodo vegetativo (de mayo a noviembre) dos mosqueros tipo Tephritrap, uno cebado con la paraferomona Trimedlure y otro con el atrayente alimenticio Tripack. El resto del año se multiplicó el número de trampas por parcela a entre diez y veinte. Los mosqueros se muestrearon cada semana en el periodo vegetativo y cada dos semanas el resto del año. El atrayente de los mosqueros se reemplazaba cada 45 días.

### Muestreo de frutos picados en campo

Durante dos años, 2003 y 2004, y en un periodo de siete meses (de junio a diciembre) se recolectaron en campo frutos de diferentes especies de frutales que mostraban síntomas de estar picados por *C. capitata*. Se escogieron dichas épocas por ser aquellas en que se encuentran habitualmente frutos picados en el campo, con un número suficiente de larvas para obtener medias fiables. Una vez se encontraba una parcela con frutos infestados se volvían a recoger frutos perió-

dicamente hasta que ya no era posible la evolución de más moscas. En total se obtuvieron y procesaron 100 muestras de 18 frutales diferentes, obtenidas de 23 localidades.

Para permitir la evolución de las larvas a adultos, los frutos se colocaban a temperatura ambiente en un evolucionario constituido por una bandeja de plástico negro de dimensiones de 55 cm x 40 cm x 18 cm en el interior de la cual se disponían, en el fondo, dos hojas de papel de filtro absorbente, sobre ellas, separadas de cinco a diez centímetros, una malla metálica de un centímetro de luz, sobre la que se colocaba otra hoja de papel de filtro y sobre ella los frutos picados por *C. capitata*. Con este sistema evitábamos la pudrición excesiva de los frutos y permitíamos que las larvas, una vez completado su desarrollo, pasaran al estado de pupa entre los papeles de filtro del fondo o junto a los frutos. Las pupas eran recogidas periódicamente y colocadas en placas Petri hasta su evolución a adultos. Los adultos obtenidos de los frutos picados se mataban por congelación a los 4-6 días de edad.

### Medida de las alas

Se ha utilizado la medida de las alas como parámetro indicador del tamaño del adulto (RODRIGUERO *et al.*, 2002). Se han medido las alas tanto de los adultos capturados directamente en campo mediante mosqueros, como de los obtenidos por la evolución de larvas provenientes de frutos picados. Se separaban las alas de 20 hembras y 20 machos como máximo de cada mosquero o lote de frutos picados y se extendían totalmente en una gota de agua entre un portaobjetos y un cubreobjetos. La medición de las alas se ha realizado utilizando una lupa conectada a una cámara de video, de modo que se hacía una foto de cada ala y medíamos la longitud del ala por la distancia entre la intersección de la vena humeral con la costal y el extremo de la vena radial (Figura 3) (RODRIGUERO *et al.*, 2002). En cada sesión de medidas se hacía también una foto de una regla de 2 mm grabada sobre un porta y dividida en unidades de 100 micras que servía de patrón.

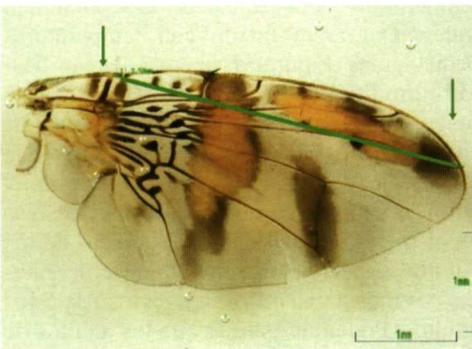


Figura 3. Ala de una hembra de *Ceratitis capitata*. La línea verde indica la longitud utilizada para evaluar el tamaño del ala.

### Estimación de la edad fisiológica de las hembras

Los diferentes estadios de madurez sexual de las hembras se obtenían de los 20 individuos a los que se les habían medido las alas. Se abría el abdomen estirando del tercer terguito abdominal, dejando al descubierto el interior del abdomen. De esta forma se podía observar mediante lupa binocular el estado de los ovarios, y contar, si estaban presentes, el número de ovariolos. La edad fisiológica se ha caracterizado clasificando las hembras mediante cuatro estadios:

1. Ovarios no desarrollados: ausencia de ovariolos en el abdomen.
2. Ovarios en desarrollo: número de ovariolos igual o menor de 15.
3. Ovarios desarrollados: desarrollo completo de los ovarios, con un número de ovariolos mayor de 15.
4. Ovarios senescentes: número reducido de ovariolos (menor de 15) y la mayoría son transparentes ya que solo queda la envoltura exterior.

Previamente se comprobó que la metodología era adecuada con moscas de edad conocida provenientes de una cría de laboratorio del departamento de Ecosistemas agroforestales en la Escuela Técnica Superior del Medio Rural y Enológico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Longitud del ala en adultos capturados en mosqueros y evolucionados de frutos

El tamaño de los adultos de *C. capitata* capturados en mosqueros en campo, definido a partir de la longitud del ala, muestra una tendencia bastante homogénea y similar en los tres años de muestreo, 2003, 2004 y 2005, por lo que los tres años se han representado conjuntamente (Figura 4). Se observa la influencia de la temperatura en la variación del tamaño a lo largo del año. Los individuos de mayor tamaño se encuentran en marzo, abril y mayo. En junio y julio disminuye el tamaño de los adultos, llegando al mínimo entre agosto y octubre, volviendo a aumentar en noviembre, definiéndose des-

pués otra época de tamaño estable entre diciembre y febrero. En estos tres meses parece que todavía los adultos no han alcanzado el tamaño máximo, especialmente en el caso de los machos. El tamaño del adulto nos define por lo tanto hasta cinco épocas a lo largo del año, con un máximo, un mínimo y tres periodos de transición. Las hembras tienen casi siempre mayor longitud alar que los machos, siendo sus valores promedio de  $3,543 \pm 0,004$  mm para las hembras y de  $3,446 \pm 0,003$  mm para los machos. Nuestras observaciones confirman la relación citada con frecuencia en los animales entre el tamaño de los adultos y la época en que se ha desarrollado la larva (la regla ecológica de Bergmann), según la cual, los individuos tienen el tamaño tanto mayor cuanto más baja sea la temperatura media del ambiente en que viven (MARGALEF, 1974). Los adultos de *C. capitata* alcanzan un tamaño mayor cuando se crían en condiciones frías cuando el desarrollo es más lento, y en cambio en condiciones más cálidas su desarrollo es mucho más rápido pero el tamaño final es menor.

En la evolución estacional representada en la Figura 4 un cambio del tamaño de los adultos significa presumiblemente que individuos anteriores mueren y son reemplazados por adultos recientemente desarrollados. Al comparar la representación del valor medio conjunto de la longitud del ala para los tres años en los que se han capturado individuos de *C. capitata* (Figura 4) con la temperatura media anual de la Comunidad Valenciana representada con temperaturas decrecientes (Figura 5), se pone de manifiesto la similitud de las dos curvas. A partir de mayo las variaciones de las curvas son casi simultáneas debido a que en este momento la longevidad de los insectos en campo es muy corta, mientras que en primavera el desfase en el inicio del descenso del tamaño de los adultos respecto al incremento de temperaturas nos indica una mayor longevidad de estos adultos. Podemos estimar que los adultos de primavera viven aproximadamente dos meses. Esta mayor longevidad podría ser debida al menor desgaste de los adultos por

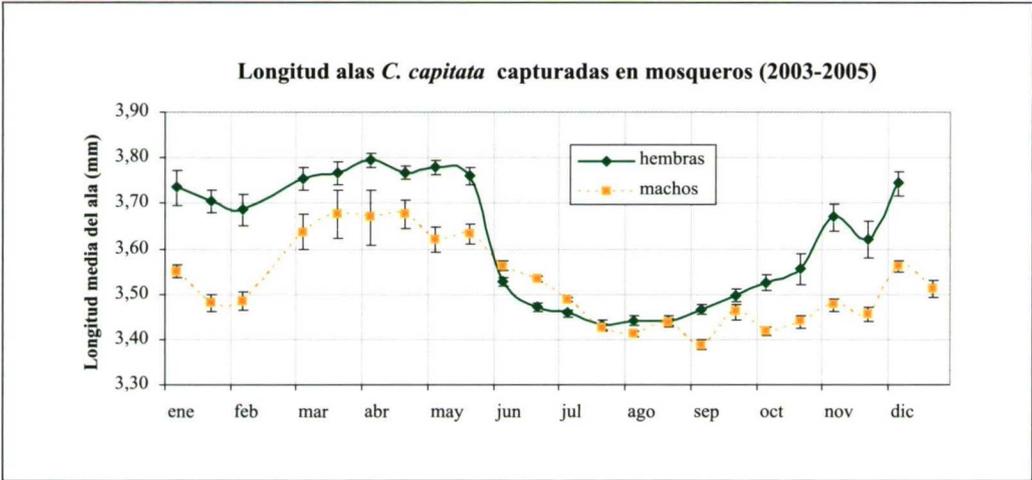


Figura 4. Longitud media del ala derecha en machos y hembras de *Ceratitis capitata* capturados en seis parcelas de cítricos y una de nectarinos, en tres municipios de la zona cítrica valenciana durante los años 2003, 2004 y 2005. Las líneas verticales indican el error estándar.



Figura 5. Promedio de la temperatura media diaria de 40 estaciones climatológicas distribuidas por toda la zona cítrica de la Comunidad Valenciana durante el periodo comprendido entre el 2003 y el 2005. La escala de temperaturas es decreciente para que se aprecie su similitud con la variación estacional del tamaño del ala en la figura 4.

su menor actividad metabólica y reproductiva debida a las bajas temperaturas primaverales.

Podemos asociar los cinco periodos o fases anuales en el tamaño de los adultos descritos con otras tantas generaciones anua-

les de *C. capitata*. El seguimiento del vuelo de adultos nos permite por tanto, de forma aproximada, definir las sucesivas generaciones de adultos que tienen lugar en la zona costera de la Comunitat Valenciana. Teniendo en cuenta que los requerimientos térmi-

cos de esta especie permiten la asignación de 5-8 generaciones (GÓMEZ CLEMENTE Y PLANES, 1952; GARCÍA-MARÍ *et al.*, 2002), la pauta descrita anteriormente se traduciría en seis generaciones: en marzo-abril la primera, en mayo-junio la segunda, desde julio a septiembre las tercera, cuarta y quinta, y entre octubre y diciembre la sexta.

Los datos obtenidos en la experiencia frutos no abarcan un periodo anual tan completo como los adultos capturados de trampas ya que en 2003 la experiencia se realiza desde junio a octubre y en el 2004 desde junio a diciembre. Por otra parte el ritmo de muestreo no fue constante ya que en unas épocas era más difícil conseguir frutos picados que en otras. En cualquier caso, y tal como habíamos observado anteriormente en las capturas de mosqueros, el tamaño de los adultos también parece estar relacionado con la época en que se han desarrollado las larvas. En 2003 las moscas que se obtienen en junio son de mayor tamaño que las que se observan entre julio y septiembre, volviendo a ascender de tamaño en octubre (Figura 6). En 2004 el descenso después de junio no se observa, aunque sí el incremento posterior de septiembre a diciembre. Parece existir poca diferencia del tamaño de los adultos en función del tipo de fruto en el que se han desarrollado como larvas, ya que estas pautas son comunes en general a todos los frutales muestreados. De la misma manera que en adultos capturados en mosqueros, las hembras tienen en general mayor longitud alar que los machos, siendo su valor promedio de  $3,38 \pm 0,01$  mm para las hembras y de  $3,28 \pm 0,01$  mm para los machos.

Tanto en los adultos capturados en trampas como en los evolucionados de frutos, observamos en los machos menos variación en el tamaño de los individuos a lo largo del año comparados con las hembras. Ello podría ser debido a la mayor presión de selección a que se ve sometido el macho ya que el tamaño de los machos adultos de *C. capitata* es un factor importante en los apareamientos, debido a que las hembras eligen a su pareja en función del tamaño (CHUR-

CHILL-STANLAND *et al.*, 1986; KASPI *et al.*, 2000; ROBINSON *et al.*, 2002) y a que los machos más grandes producen un sonido más atractivo para las hembras (WEBB *et al.*, 1984).

Por otro lado, comparando los valores medios de la longitud del ala entre moscas capturadas en trampas y moscas evolucionadas a partir de frutos infestados, observamos que las obtenidas a partir de frutos son más pequeñas que las capturadas en trampas, aún en las mismas épocas del año. En efecto, la media de la longitud del ala en las hembras nunca desciende por debajo de 3,40 mm en las moscas capturadas en las trampas (Figura 4), mientras que se encuentra por debajo de ese valor en muchas de las hembras obtenidas de frutos infestados (Figura 6). La razón de esta discrepancia podría encontrarse en la relación del tamaño del adulto con su movilidad y dispersión. Los individuos de mayor tamaño se desplazan más por lo que en trampas en campo se capturarían individuos grandes en mayor proporción, y en cambio en frutos infestados obtenemos todos los insectos que evolucionan de los frutos con independencia de su movilidad y capacidad de vuelo.

#### **Edad fisiológica de las hembras de *Ceratitis capitata* capturadas en campo**

La edad fisiológica de las hembras de *C. capitata* capturadas en campo mediante trampas Tephritrap cebadas con Tripack se ha estudiado obteniendo las gráficas con valores medios mensuales de diferentes trampas colocadas en las siete parcelas muestreadas durante 2003, 2004 y 2005. Se observa una cierta variabilidad al comparar parcelas. Por ejemplo, en la parcela de híbrido Fortune de Picassent se observó un descenso en el valor medio de la edad fisiológica comparado con las otras dos parcelas de Picassent muestreadas. Ello fue debido a que en la parcela de Fortune se dejaron los frutos sin recolectar durante los tres años que duró el muestreo. Pero a pesar de la variabilidad a nivel de parcela, parece existir una pauta general de variación estacional a lo largo del

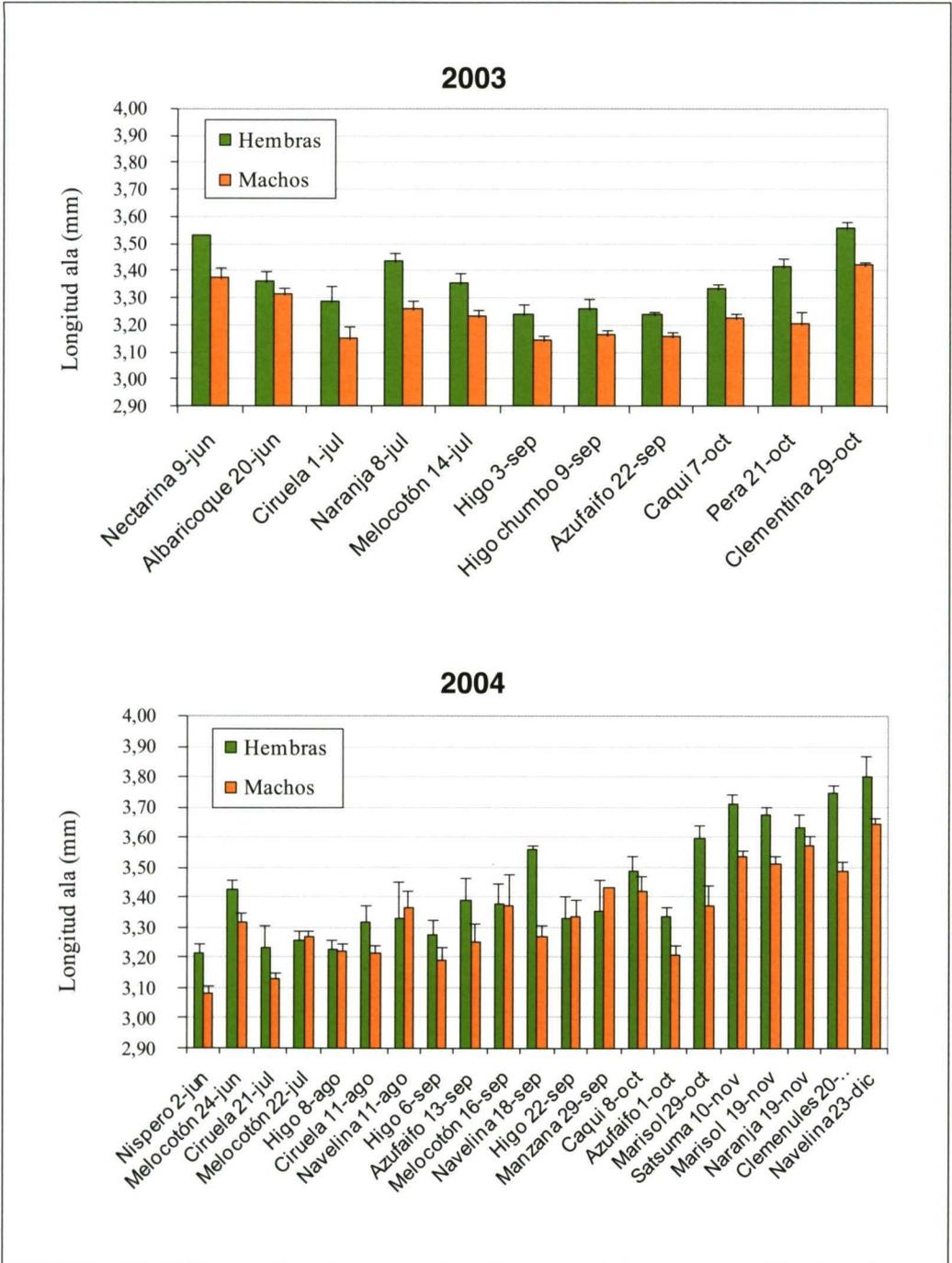


Figura 6. Tamaño de los adultos de *Ceratitis capitata* obtenidos de distintas especies de frutos atacados, muestreados en campo en 2003 y 2004.

año en la edad fisiológica de las hembras de *C. capitata* en campo en la zona citrícola valenciana, variación que podemos poner de manifiesto debido a que se han muestreado un gran número de hembras (2500 aproximadamente) en distintos municipios, parcelas y años. En la Figura 7 se ha representado el porcentaje de cada estadio fenológico respecto al número total mensual de las hembras de *Ceratitis capitata* capturadas en los mosqueros, para el conjunto de todas las trampas situadas en las siete parcelas muestreadas durante tres años (2003 a 2005). Observamos en primer lugar que durante todo el año están presentes los cuatro estadios fenológicos y ello indica que el ciclo reproductivo de *C. capitata* es continuo a lo largo del año y no existe por tanto ningún tipo de diapausa reproductiva. Esta diapausa reproductiva sí se observa en otra especie de la misma familia, *Bactrocera oleae* (TORRES-VILA *et al.*, 2006).

La variación estacional a lo largo del año observada en la Figura 7 hay que interpretarla teniendo en cuenta dos factores, la tempe-

ratura, ya que cuando las temperaturas son bajas el solape entre generaciones es presumiblemente menor y el periodo de preoviposición de las hembras mayor, y la distancia a la trampa de fruta madura en que se puede desarrollar *C. capitata*, ya que si las moscas proceden de frutos próximos serán más jóvenes que si han de desplazarse al proceder de frutos situados a cierta distancia de las trampas. El mayor porcentaje de hembras jóvenes que se observa en marzo respecto a los dos meses anteriores podría estar relacionado con el hecho de que en esa época empiezan a morir los adultos invernantes y empiezan a emerger hembras nuevas del año, que son mayoritariamente sin ovarios desarrollados por emerger relativamente próximas a las trampas (proviene de cítricos) y por mantenerse más tiempo en preoviposición debido a las bajas temperaturas. El incremento en el porcentaje de hembras grávidas en abril y mayo, y el mantenimiento de esos valores hasta septiembre parece estar relacionado con la mayor movilidad de los adultos que se desplazan de parcelas de fruta madura a más

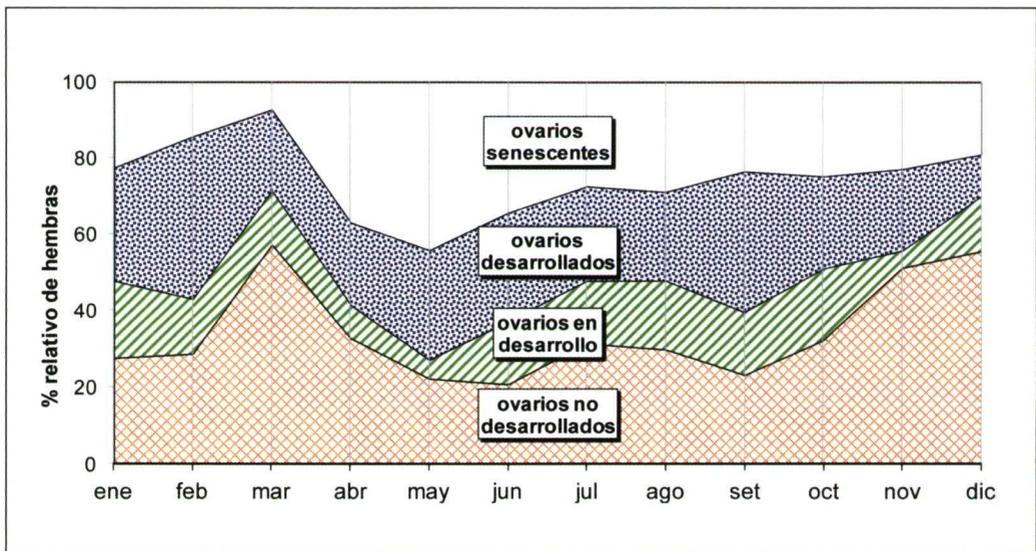


Figura 7. Evolución estacional a lo largo del año del estadio fisiológico de las hembras de *Ceratitis capitata*. Valores medios de hembras capturadas en trampas situadas en seis parcelas de cítricos y una de nectarinos, en los municipios de Picassent, Carlet y Godella, durante los años 2003 a 2005.

o menos distancia, ya que no se desarrollan en las parcelas de cítricos donde están colocadas las trampas sino en las de frutales próximas, lo que implica que no son hembras jóvenes sino que llevan varios días o semanas en el campo. En noviembre y diciembre

observamos de nuevo un incremento del porcentaje de hembras jóvenes debido a que emergen de cítricos, es decir, de frutos próximos a las trampas, y a que el periodo de preoviposición se alarga al descender la temperatura.

#### ABSTRACT

NAVARRO, C., J. ALCAIDE, L. BARGUES, C. MARZAL, F. GARCIA MARÍ. 2008. Evolution of size and physiological age in field populations of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) adults. Application to the analysis of its life cycle. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 219-228.

The seasonal change along the year of the size and physiological age of medfly *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) adults has been studied in field populations. From May 2003 to July 2005, *C. capitata* adults have been captured in seven orchards (six citrus and one of nectarines) in the localities of Picassent, Carlet and Godella. The captures were obtained with Tephritrap traps, with Tripack or Trimedlure as attractants. Besides, samples of several types of fruits infested with medfly larvae were collected to obtain medfly adults in evolutionaries. Wing size of adults captured has been measured as an estimate of its size and, in the case of females, the physiological age has been estimated observing the ovarian development by dissecting the abdomen. A seasonal trend along the year in the size of *C. capitata* adults has been found related with temperature. The biggest adults were found in April and the smallest in August. The size of the adult flies seems not to be related with type of fruit on which the larva developed. All the physiological stages of females were present throughout the year, changing the proportion of young females as a function of environmental temperature and proximity of the traps to mature fruits. These observations could improve our current background on the behaviour and seasonal cycle of *C. capitata* field populations in the Comunitat Valenciana.

**Key words:** *Mediterranean Fruit Fly*, fruits, longevity.

#### REFERENCIAS

- ANGILLETTA, M. J., DUNHAM, A. E. 2003. The temperature-size rule in ectotherms: simple evolutionary explanations may not be general. *The American Naturalist*, **162** (3): 332-342.
- ATKINSON, D., SIBLY, R. M. 1997. Why are organisms usually bigger in colder environments? Making sense of a life history puzzle. *Trends Ecol. Evol.*, **12** (6): 235-239.
- BLANCKENHORN, W. U., HELLRIEGEL, B. 2002. Against Bergmann's rule: fly sperm size increases with temperature. *Ecology Lett.*, **5**: 7-10.
- CHURCHILL-STANLAND C., STANLAND R., WONG T. T., TANAKA N., MCINNIS D. O., DOWELL R. V. 1986. Size as a factor in the mating propensity of Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), in the laboratory. *J. Econ. Entomol.*, **79** (3): 614-619.
- FALCÓ, J. V., GARZON, E., PEREZ, M., TARAZONA, I., MALAGON, J., BEITIA, F. 2006. Two native pupal parasitoids of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) found in Spain. *Bull. OILB/SROP*, **29** (3): 71-74.
- FIBLA QUERALT, J. M., MARTINEZ-FERRER, M. T., CAMPOS, J. M., MONFORT, R., COLELL, R. 2007. Control de *Ceratitis capitata* Wied en variedades tempranas de cítricos y pequeñas superficies mediante diferentes estrategias de trampeo masivo. *Levante Agrícola*, **385**: 126-134.
- GARCÍA MARÍ, F., GARCÍA ÁLVAREZ-COQUE, J. M., MESADO, J. 2002. La mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*), pp: 9-37 *Quaderns medioambientals* N° 1. Fundació IVIFA. Ed. Edicamp. Valencia, 61pp.
- GÓMEZ CLEMENTE, F., PLANES, S. 1952. Algunas notas sobre la ecología de *Ceratitis capitata* en el Levante español sobre naranjos. *Bol. Patol. Veg. Ent. Agric.*, **19**: 37-48.
- KASPI, R., MOSSINSON, S., DREZNER, T., KAMENSKY, B., YUVAL, B. 2002. Effects of larval diet on development rates and reproductive maturation of male and female Mediterranean fruit flies. *Physiol. Entomol.*, **27**: 29-38.
- KASPI, R., TAYLOR, P. W., YUVAL, B. 2000. Diet and size influence sexual advertisement and copulatory suc-

- cess of males in Mediterranean fruit fly leks. *Ecol. Entomol.*, **25**: 279-284.
- KRAINACKER, D. A., CAREY, J. R., VARGAS, R. I. 1987. Effect of larval host on life history traits of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitits capitata*. *Oecología*, **73**: 583-590.
- MARGALEF, R. 1974. Ecología. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. 951pp.
- MARTÍNEZ-FERRER, M. T., ALONSO, A., CAMPOS, J. M., FIBLA QUERALT, J. M., GARCÍA-MARÍ, F. 2007. Dinámica poblacional de la mosca de la fruta *Ceratitits capitata* en tres zonas citrícolas mediterráneas. *Levante Agrícola*, **385**: 92-98.
- NAVARRO, V., SANCHIS, J., PRIMO-MILLO, J., PRIMO YUFERA, E. 2007. Chemosterilants as control agents of *Ceratitits capitata* (Diptera: Tephritidae) in field trials. *Bull. Entomol. Res.*, **97** (4): 359-368.
- PRIMO MILLO, E., ALFARO, F., ARGILÉS, R. 2003. Plan de Actuación contra la mosca de las frutas (*Ceratitits capitata*) en la Comunidad Valenciana. *Phytoma España*, **153**: 127-130.
- ROBINSON, A. S., CAYOL, J. P., HENDRICH, J. 2002. Recent findings on medfly sexual behavior: implications for SIT. *Fla. Entomol.*, **85** (1): 171-179.
- RODRIGUERO, M. S., VILARDI, J. C., VERA, M. T., CAYOL, J. P., RIAL, E. 2002. Morphometric traits and sexual selection medfly (Diptera: Tephritidae) under field cage conditions. *Fla. Entomol.*, **85** (1): 143-149.
- SANKARPERUMAL G., PANDIAN T. J. 1991. Effects of temperature and Chlorella density on growth and metamorphosis of *Chironomus circumdatus* (Kieffer) (Diptera). *Aquat. Insects*, **13** (3): 167-177.
- SCHACHTER-BROIDE, J., DUJARDIN, J., KITRON, U., GÜRTLER, R. E. 2004. Spatial Structuring of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) Populations from Northwestern Argentina Using Wing Geometric Morphometry. *Journal of Medical Entomology*, **41** (4): 643-649.
- SCHNEIDER, J. R., MORRISON, A. C., ASTETE, H., SCOTT, W., WILSON, M. L. 2004. Adult size and distribution of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) associated with larval habitats in Iquitos, Peru. *J. Med. Entomol.*, **41** (4): 634-642.
- SIGURJONSDOTTIR, H. 1984. Food competition among *Scatophaga stercoraria* larvae with emphasis on its effects on reproductive success. *Ecol. Entomol.*, **9** (1): 81-90.
- TORRES-VILA, L. M., SANCHEZ, A., PONCE, F., DELGADO, E., AZA, M. C., BARRENA, F., FERRERO, J. J., CRUCES, E., RODRIGUEZ, F. 2006. Dinámica poblacional de *Bractocera oleae* Gmelin en Extremadura: fluctuación estacional en el estado reproductivo y en el tamaño inaginal. *Bol. San. Veg. Plagas*, **32**: 57-69.
- WEBB, J. C., SIVINSKI, J., LITZKOW, C. 1984. Acoustical behavior and sexual success in the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera: Tephritidae). *Environ. entomol.*, **13** (3): 650-656.

(Recepción: 11 enero 2008)

(Aceptación: 22 mayo 2008)

## Trampas húmedas con dispositivo de llenado, para el seguimiento de la dinámica poblacional de pulgones

L. PULIDO, N. DE MENTEN, P. MEDINA, A. FRAILE, F. GARCÍA-ARENAL, E. VIÑUELA

El virus del mosaico del pepino CMV afecta a más de 1.000 huéspedes cultivados o silvestres y es transmitido de forma no-persistente por pulgones, por lo que tiene gran interés conocer sus dinámicas de poblaciones. Una trampa muy eficaz para muestrear pulgones es la húmeda tipo Irwin, pero en climas continentales con humedades ambientales bajas en verano y frecuentes vientos cálidos y secos, se vacía en un período inferior a las 24h. Para solucionar este problema se ha diseñado y patentado un dispositivo de llenado de metacrilato acoplable a la trampa y que permite el rellenado sin desmontarlo. Durante un año agrícola completo (2006) se siguió con la trampa modificada la dinámica poblacional de los pulgones de un melonar de la Vega del Tajo-Tajuña (zona Centro de España) y de la flora arvense. Se comprobó que el dispositivo de llenado de las trampas permitía mantener el nivel de líquido durante más de una semana; que *Aphis gossypii* Glover y *Aphis craccivora* Koch eran los pulgones más frecuentes; que el aumento de la incidencia del CMV en el melonar y en las malas hierbas del cultivo durante el verano estaba relacionado con las capturas de pulgones; y que aunque las malas hierbas podrían ser reservorios de inóculo en invierno, los máximos de vuelo de pulgones hacia el melonar al principio de la época de cultivo parecen estar relacionados con el inicio de las epidemias del virus.

L. PULIDO, N. DE MENTEN, A. FRAILE, F. GARCÍA-ARENAL. E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid. Av. Complutense s/n. 28040 Madrid.  
N. DE MENTEN, P. MEDINA, E. VIÑUELA. Unidad de Protección de Cultivos. E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid. Av. Complutense s/n. 28040 Madrid.

**Palabras claves:** melón, CMV, *Aphis gossypii*, *Aphis craccivora*, monitoreo.

### INTRODUCCIÓN

Muchas virosis de importancia económica son transmitidas por pulgones de manera no-persistente, como es el caso del virus del mosaico del pepino (CMV), un Cucumovirus que afecta a más de 1.000 especies huéspedes cultivadas o silvestres (ROOSSINCK, 1999). Este virus es muy frecuente sobre el melón tipo "piel de sapo" cultivado en la zona Centro de España, donde puede dar lugar a pérdidas del 50% si la infección es antes de la floración (ZAPOTA *et al.*, 1989; LUIS-ARTEAGA *et al.*, 1998).

Como no existen tratamientos curativos que detengan el proceso de la enfermedad una vez que el virus ha infectado una planta, las únicas herramientas de las que se dispone en la lucha contra las virosis, son las medidas preventivas, orientadas a: impedir la presencia del virus en el huésped, interferir en el comportamiento del vector y detener la dispersión (HULL, 2002). Entre las más de 80 especies de pulgones vectores del CMV, *Myzus persicae* Sultz y *Aphis gossypii* Glover destacan por su eficacia en la transmisión (ALONSO-PRADOS *et al.*, 2003; NEBREDA *et al.*, 2004). El virus también se puede trans-

mitir por semilla, cuscuta y mecánicamente (ROOSSINCK, 1999). Como la transmisión del CMV por pulgones es no-persistente (el virus se adquiere tras 10-20 segundos de alimentarse sobre una planta infectada, se transmite sin periodo de latencia y el pulgón pierde su capacidad de transmisión en menos de 1 hora), su control se complica aún más ya que en una cata alimentaria del vector sobre una planta puede transmitirle el virus (HARRIS, 1977 y ALONSO-PRADOS *et al.*, 2003).

Para el control de los vectores con plaguicidas, es fundamental conocer cuando aplicarlos exactamente, para lo cual hay que conocer sus dinámicas poblacionales. Para muestrear pulgones, una de las trampas más empleada por su eficacia, es la trampa húmeda tipo Irwin, que se coloca a unos 70 cm sobre el suelo (NEBREDA *et al.*, 2003). Consisten de dos cubetas de plástico, la exterior con una malla en el centro para retener los insectos capturados al ser atraídos por el azulejo de color verde situado en el fondo de la segunda cubeta, cuando el nivel de líquido de ésta (monoetilenglicol al 50%) rebosa por efecto de la lluvia. Estas trampas tienen el problema de que en climas secos y cálidos como el de la zona Centro de España donde además la humedad ambiental es muy baja en verano y son frecuentes los vientos cálidos y secos, se vacían en un período inferior a 24h, lo que obliga a aumentar la frecuencia de las visitas a las zonas de muestreo, con el consiguiente aumento del coste y el esfuerzo en el monitoreo.

El objetivo de este trabajo ha sido, en primer lugar, diseñar un dispositivo de llenado acoplable a trampas húmedas tipo Irwin con la finalidad de que el líquido se mantenga al menos una semana y poder hacer así muestreos con periodicidad semanal. En segundo lugar, se ha querido probar la eficacia de la trampa modificada, para lo cual, durante un año agrícola completo (2006) se ha seguido la dinámica poblacional de las especies de pulgones en un melonar de la Vega del Tajo-Tajuña (zona Centro) y en la flora arvense circundante, y se ha relacionado con la diná-

mica de la epidemia del CMV, principal virus que afecta al cultivo en la zona.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Dispositivo de dispensado automático de líquido para trampas húmedas*

Se diseñó un dispositivo de llenado acoplable a la trampa húmeda tipo Irwin, a base de metacrilato de 4 mm de espesor para aguantar la luz UV y permitir ver en todo momento el nivel de líquido (Figura 1). El dispositivo consta de un contenedor de líquido cilíndrico de 20 cm de alto y 10 cm de diámetro (1) y dos elementos de entrada y salida respectivamente, ambos de metacrilato de 2 mm de espesor, 6 cm de altura y 1,6 cm de diámetro. El elemento superior de entrada (2) se cierra con un corcho y se le puede acoplar un embudo para facilitar el rellenado (7). El elemento inferior de salida (3) lleva acoplada una goma de silicona (2 mm de espesor, 7 cm de largo y 1,6 cm de diámetro) con la finalidad de que no se reseque con el sol (4), y acaba en una llave de goteo de  $\frac{1}{4}$  de vuelta y 16 mm de diámetro para regular la salida del líquido de la trampa durante su montaje y rellenado (5), y ésta a su vez, en otra goma de silicona semejante a la descrita (6) que es la que entra en contacto con el líquido de la trampa (9) y que lleva en el extremo un filtro a base de visillo (luz <1mm y 3 cm de lado) que se sujeta con una goma elástica, para impedir que los insectos entren en el contenedor por un efecto de sifón.

Todo el dispositivo de dispensado automático del líquido, se coloca encima de la trampa húmeda tipo Irwin, que también está hecha de metacrilato de 4 cm de espesor y consta de dos recipientes de 5 cm de alto. El recipiente interior (9) de 16,5 cm de lado, lleva monoetilenglicol al 50% y un azulejo de color verde (15cm de lado) para atraer los pulgones (8). El recipiente exterior de 25 cm de lado (10), lleva en el fondo un agujero de 4,5 cm de diámetro cubierto de visillo de luz <1mm para retener los insectos, en caso que se desbordara el líquido de la trampa. La



Figura 1. Trampa húmeda tipo Irwin, con dispositivo de llenado acoplado.

goma de silicona inferior del dispositivo de llenado (6), debe estar justo al nivel al que se desea mantener el líquido de la trampa en el recipiente interior (9).

La trampa y el dispositivo de llenado se sujetan a una barra metálica cuya altura varía en función del cultivo donde se coloque (12). La trampa húmeda en su conjunto se sujeta con una pinza de tipo universal (Pinu0010, Pobel) y hasta 9 cm de apertura (11). El dispositivo de llenado se sujeta con dos abrazaderas metálicas. La superior (13) tiene 10 cm de diámetro interior y rodea el depósito impidiendo que se desplace en el eje hori-

zontal y lo orienta en la barra de sujeción. La abrazadera inferior (14) tiene 7,5 cm interior y se coloca en la base del depósito para mantenerlo a la distancia deseada del recipiente cuyo nivel de líquido se quiere mantener y evitar que se mueva en el eje vertical. Ambas abrazaderas llevan llaves de sujeción a la barra vertical.

Una vez está ajustado el depósito y la trampa húmeda a la barra de sujeción, se rellena del líquido deseado con sólo cerrar la llave de paso (5), a través de la abertura superior (2) usando un embudo (7), sin necesidad de desmontar el complejo, lo que facilita enorme-

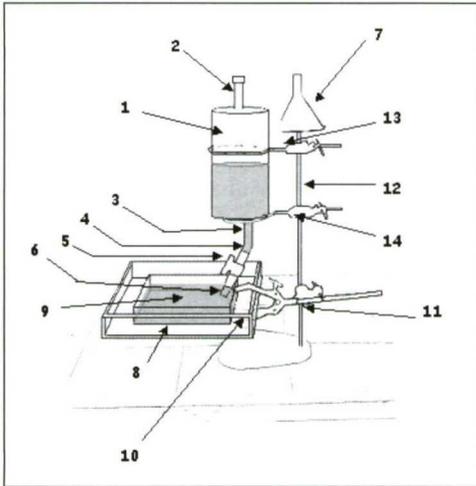


Figura 2. Colocación de la trampa húmeda tipo Irwin y su dispositivo de llenado en un cultivo

mente el manejo en campo. Una vez lleno el depósito, se procede a la apertura de la llave de paso (5) y así el líquido del depósito entra en contacto con el del recipiente a mantener.

Cuando por efecto de la evaporación baja el nivel del líquido en el recipiente interior de la trampa húmeda (9), si se rebasa el mínimo permitido que es el borde inferior de la goma de silicona con el filtro de visillo (6), en este momento entra aire al depósito y el líquido del contenedor (1) bajará hasta tapar de nuevo el borde inferior de ésta, impidiendo que entre aire y que por tanto salga más líquido. De esta manera se irá

reponiendo continuamente el líquido de la trampa hasta consumir el del depósito, lo cual en nuestras condiciones áridas y para el tamaño reseñado, se espera que sea de más de una semana en verano.

La colocación de la trampa y su dispositivo de llenado en un cultivo, se pueden ver en la Figura 2.

### Comprobación de la utilidad de la trampa Irwin modificada

Durante un año agrícola completo (2006), se probó la utilidad de la trampa Irwin modificada en una zona del municipio de Aranjuez (Vega del Tajo-Tajuña), entre el Real Cortijo de San Isidro y Balcón del Tajo, situada muy cerca de Villaconejos, localidad conocida por su cultivo tradicional del melón tipo *piel de sapo* (variedad *saccharinus* Naud), en la zona centro de España (INFOAGRO, 2007). Se emplearon 4 trampas Irwin modificadas para muestrear los pulgones (Figura 3).

Tres de las trampas se colocaron en el melonar y una de las lindes formando un triángulo isósceles (las dos colocadas en el melonar distaban 245 m (entre si) y la de la linde distaba 241 m de la trampa más distante del melonar y 82 m de la más cercana) (Figura 4). La cuarta trampa se colocó en un erial cercano, distante menos de 3 km. Se eligió un melonar de 7,7 ha con marco de plantación 140 x 160 cm. El melón se cultivó de forma tradicional siguiendo un ciclo medio-tardío (trasplante a mediados de mayo y recolección a partir de finales de agosto) y utilizándose un



Figura 3. Localización de la zona de estudio. Linde (1), melonar (2), erial (3).

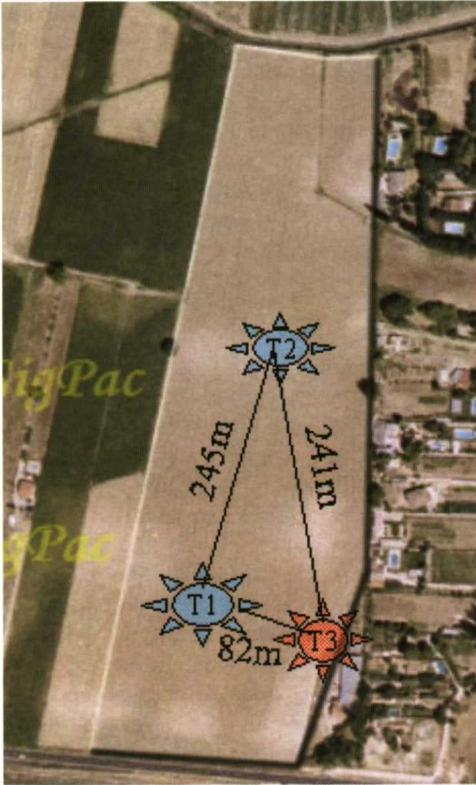


Figura 4. Colocación de las trampas Irwin modificadas en el melonar (T1 y T2) y linde (T3).

acolchado de polietileno transparente sobre los ramales de riego por goteo. Se decidió colocar trampas en la linde y el erial porque se quería ver que malas hierbas podían actuar de reservorio de los pulgones. Todas las trampas se muestrearon con periodicidad semanal. Los pulgones se separaban del resto de los insectos recolectados en las trampas y se identificaban con claves específicas (REMAUDIÈRE Y SECO FERNÁNDEZ, 1990).

Con la finalidad de tratar de relacionar las capturas de pulgones con la incidencia de CMV en el melonar, éste se muestreaba en cada día de control a lo largo de una diagonal constante en donde se cogían muestras de todos los melones con síntomas de virosis, para su análisis. Adicionalmente, se muestreaba la linde una vez al mes recogien-

do todas las plantas arvenses cada dos pasos hasta completar un total de 20 muestras, y cubriendo toda la flora menos las gramíneas, que no son reservorio de los virus del melón (SACRISTÁN, 2004).

Las plantas se analizaron en el laboratorio por el método ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) doble sándwich (ELISA-DAS: double antibody sandwich method) para detectar el CMV. Se usaron los anticuerpos policlonales comerciales de la casa Bio-Rad (Marnes-La-Coquette, Francia) así como los de la casa Agdia Incorporated (Elkhart, Indiana, USA). Las muestras se extrajeron en una solución fosfato salina (PBS-Tween) con una relación peso/volumen 1:20, con un 0,2% de BSA, un 2% de PVP 30K y un 0,02% de acida sódica. Como controles negativos se usaron extractos de las especies más frecuentes de cada muestreo, no infectadas por ningún virus y preparados en el laboratorio mismo. Como controles positivos se usaron o extractos de plantas inoculadas por el virus en el laboratorio o controles positivos comerciales de las mismas casas que los anticuerpos o extractos de plantas positivas de muestreos anteriores. Siguiendo los manuales de instrucción de los anticuerpos proporcionados por las casas comerciales y a SACRISTÁN (2004), se consideraron como positivos los extractos que dieron un valor de absorción a 405 nm mayor que el doble de la media de las lecturas de absorbancia de los controles negativos (melones sanos) [ej. si la media de la absorbancia de los controles negativos =  $X_{(Sano)}$ :  $(Abs_{(Muestra\ Enferma)} \geq 2 * X_{(Sano)})$ ].

**Estadística**

Se empleo análisis de regresión para relacionar el aumento de CMV en el melonar con la tasa de capturas de pulgones en el mismo (SOKAL Y ROHLF, 1995).

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Dispositivo de dispensado automático de líquido para trampas húmedas**

El dispositivo de llenado diseñado mantuvo el nivel de líquido en las trampas húme-

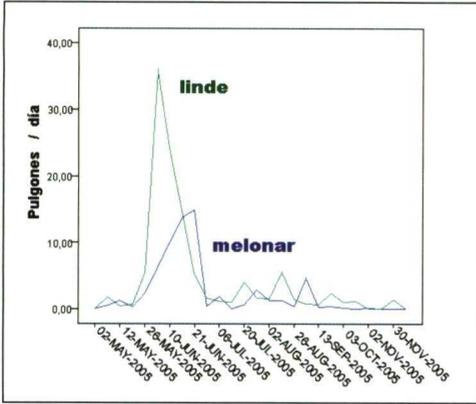


Figura 5. Dinámica de capturas de pulgones (individuos/día) a lo largo del ciclo del melonar (mayo-diciembre), en el cultivo y linde.

nivel de líquido, el poder ser rellenado sin ser desmontado (lo que ahorra tiempo y esfuerzo) y el aguantar bien la luz UV al ser de metacrilato, por lo que se puede utilizar en más de una campaña agrícola, sin pérdida de cualidades. Este dispositivo, que es muy versátil pues permite ser acoplado fácilmente a todo tipo de trampas húmedas, tiene concedida la patente el 16-06-08 (PULIDO *et al.*, 2007).

**Pulgones**

Las especies de pulgones más frecuentes en 2006 en la zona estudiada fueron *Aphis gossypii*, principal colonizador del melón en España (NIETO-NAFRÍA *et al.*, 1984) y *Aphis craccivora* Koch, ambas polífagas, cosmopolitas y transmisoras de más de 50 y 100 virusis, respectivamente.

La dinámica de capturas de los pulgones fue asíncrona durante el ciclo de cultivo, y las capturas en el melonar, estaban correlacionados significativamente con capturas anteriores en las lindes (Figura 5). El erial podría ser foco de pulgones y virus al inicio del cultivo, porque los máximos de capturas de pulgones en el erial fueron muy precoces (Figura 6). Al final del cultivo, los pulgones

das tipo Irwin durante más de una semana, cumpliendo por tanto las expectativas, y permitiendo que los muestreos se hicieran con periodicidad semanal sin pérdida de datos, ya que en ningún momento la trampa se secaba.

Se comprobó que el dispositivo reúne características muy apreciadas en trabajos de campo como el mostrar en todo momento el

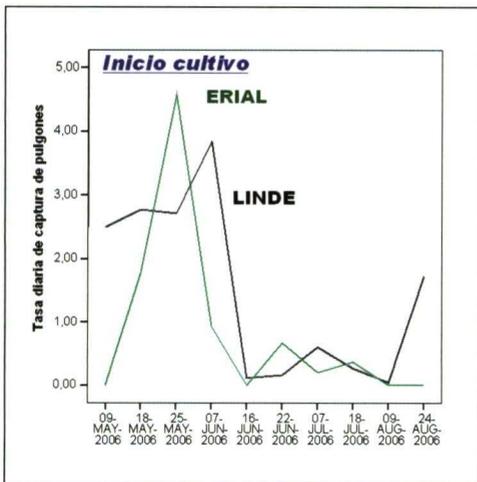


Figura 6. Capturas de pulgones en erial y linde al inicio del cultivo

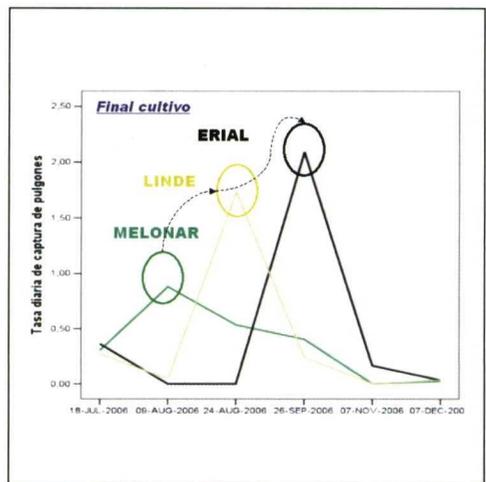


Figura 7. Dinámica de capturas de pulgones al final del ciclo de cultivo

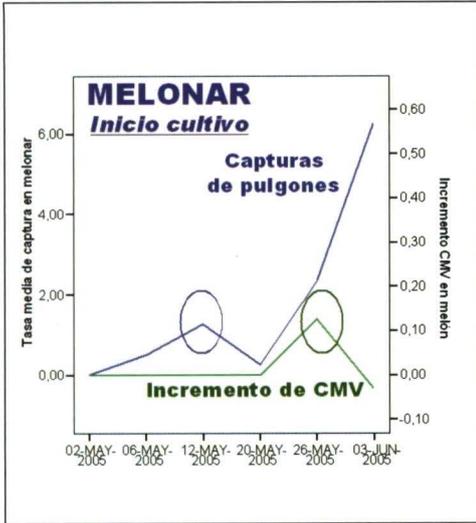


Figura 8. Relación entre capturas de pulgones e incidencia del CMV en el melonar.

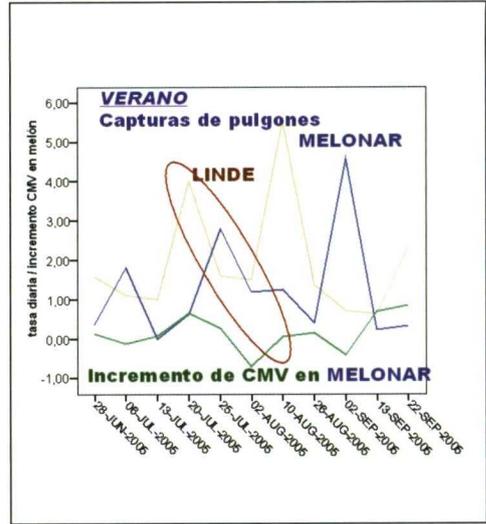


Figura 9. Dinámica de pulgones y CMV en el melonar en verano

parecen moverse desde el cultivo a la linde y de ésta al erial (Figura 7), que proporciona una vegetación segura y rica en huéspedes invernales para muchas especies, así como para los virus que transmiten, pues es allí donde se detecta la última actividad antes de los fríos de diciembre.

**Virosis**

El primer brote de CMV en el melonar, estuvo relacionado significativamente con un aumento previo de las capturas de pulgones ( $R^2= 0,82$ ;  $P= 0,094$ ) (Figura 8). En el verano, el aumento de la incidencia del CMV en el melonar viene precedido por un aumento de capturas de pulgones en el cultivo unos 15 días antes y éstas por un aumento de capturas en la linde también unos 15 días antes (Figura 9).

**Flora arvense**

Diecinueve especies de malas hierbas se detectaron con CMV, siendo las más frecuentes en verano *Cirsium arvense* (L.) Scop. (Asteraceae), *Medicago spp* (Fabaceae), *Convolvulus arvensis* L. (Convolvulaceae) y *Picris echioides* (L.) (Compositae) y en invierno *Sily-*

*bum marianum* (L.) Gaertner (Asteraceae).

La flora arvense podría ser un reservorio de inóculo para la siguiente estación, pues según vimos, los picos de vuelo de pulgones hacia el melonar al principio de la época de cultivo parecían estar claramente relacionados con el inicio de las epidemias (Figura 5).

**Conclusión**

La mejora de trampas húmedas mediante el acoplamiento de un dispositivo de llenado, permite mantener nivel de líquido más de una semana y facilita la realización de los muestreos de pulgones; los principales pulgones vectores fueron *A. craccivora* y *A. gossypii*; las malas hierbas son reservorio de pulgones en invierno pero el inicio de las epidemias de CMV depende de los vuelos de los pulgones en primavera por lo que las fuentes de inóculo primario para el cultivo del melón parecen ser externas al cultivo y no depender de las malas hierbas internas, donde el virus se transmite por semilla o inverna en órganos vegetativos; el aumento de este virus en el melonar está relacionado significativamente con los vuelos de pulgones en verano.

## AGRADECIMIENTOS

A Luis Ernesto Quirós López (Protección de Cultivos. E.T.S.I. Agrónomos

Madrid) por la asistencia técnica en la elaboración del prototipo, y a los revisores anónimos por su gran ayuda en la mejora del manuscrito.

## ABSTRACT

PULIDO, L., N. DE MENTEN, P. MEDINA, A. FRAILE, F. GARCÍA-ARENAL, E. VIÑUELA. 2008. Wet insect traps with refilling dispenser, for the study of population dynamics in aphid pests. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 229-237.

The cucumber mosaic virus CMV affects more than 1.000 cultivated or wild host plants, including the very appreciate variety of melon known as "piel de sapo" in Central Spain. The virus is transmitted by aphids in a non-persistent way, so knowing the population dynamics of vectors is a must in order to set up a control strategy. For monitoring aphids, one of the most valuable tools is the Irwin wet trap, but in continental climates with low relative humidity in summer and frequent wind storms, the liquid of the container evaporates in less than 24 hours. To solve this problem a methacrylate container, able to adjust easily to the trap and to be refilled without being dismantled, has been designed and patented. The modified Irwin traps were tested during 2006 in Central Spain, by following the population dynamics of the aphid species present in a melon crop and in the surrounding weeds. The patented dispenser was able to keep the level of liquid in the trap more than 1 week; *Aphis gossypii* Glover and *Aphis craccivora* Koch were the most frequent vector species; there was a relationship between the increase of CMV presence in the melon crop and in the weeds and the flies of the aphids on summer; weeds in the crop could act as a virus reservoir during winter but the pick of flies of aphids towards the melon crop at the beginning of the season is clearly related to the starting of the virus epidemic.

**Key words:** melon, CMV, *Aphis gossypii*, *Aphis craccivora*, monitoring.

## REFERENCIAS

- ALONSO-PRADOS, J. L., LUIS-ARTEAGA, M., ÁLVAREZ, J. M., MORIONES, E., BATLE, A., LAVIÑA, A., GARCÍA-ARENAL, F., FRAILE, A. 2003. Epidemics of Aphid-Transmitted Viruses in Melon Crops in Spain. *European J. Plant Pathol.* **109**, 129-138.
- HARRIS, K. F. 1977. An Ingestion-Egestion Hypothesis of Noncirculative Virus Transmission. En: *Aphids as Virus Vectors*. Harris, K.F., Maramorosch, K. Academic Press. New York, USA. 559 pp.
- HULL, R. 2002. *Matthew's Plant Virology*. Fourth Ed.. Academic Press. San Diego, USA. 1001 pp.
- INFOAGRO. 2007. *El cultivo del melón*. <http://www.infoagro.com>
- LUIS-ARTEAGA, M. 1994. Enfermedades Producidas por Virus. En: *Enfermedades de las Cucurbitáceas en España*. Díaz Ruíz, J.R., García-Jiménez, J. Monografías de la Sociedad Española de Fitopatología, nº1. España. 155 pp.
- NEBREDÁ, M., MORENO, A., PÉREZ, N., PALACIOS, I., SECO-FERNÁNDEZ, M. V., FEDERES, A. 2004. Activity of Aphids Associated with Lettuce and Broccoli in Spain and their Efficiency as Vectors of Lettuce Mosaic Virus. *Virus Research* **100**, 83-88.
- NEBREDÁ, M., SECO-FERNÁNDEZ, V., PÉREZ, N., FERERES, A. 2003. Comparación de Tres Tipos de Trampas para el Seguimiento de Poblaciones de Pulgones Vectores de Virus Asociados a Cultivos de Lechuga y Brócoli. Resúmenes del III Congreso Nacional de Entomología Aplicada: 306. Ávila 20-24 octubre 2003.
- NIETO-NAFRÍA, J. M., DÍAZ-GONZÁLEZ, T. E., MIER-DURANTE, M. P. 1984. *Catálogo de los pulgones (Homoptera: Aphidoidea) de España y de sus plantas hospedadoras*. Universidad de León. España. 174 pp.
- PULIDO, L., LÓPEZ-QUIRÓS, L., VIÑUELA, E. 2007. *Dispositivo de dispensado automático de líquido acoptable a todo tipo de trampas entomológicas húmedas*. UPM. España. P200700984. Boletín oficial de la propiedad industrial 1 de julio de 2008: pag. 6942.
- REMAUDIÈRE, G., SECO FERNÁNDEZ, M. V. 1990. *Claves de pulgones alados de la región mediterránea*. Vol. 1 y 2. Universidad de León. España. 205 pp.
- ROOSSINCK, M. J. 1999. Cucumoviruses (Bromoviridae). General Features and Molecular Biology. En:

- Encyclopedia of Virology. Second Edition. Vol. 1. Granoff, A., Webster, R.G. Academic Press. San Diego, California, USA. 1997 pp.
- SACRISTÁN, S. 2004. *Epidemiología y Adaptación a Huésped en el Virus del Mosaico del Pepino (CMV)*. Tesis Doctoral. UPM, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Departamento de Biotecnología. 150 pp.
- SOKAL, R. R., ROHLF, F. J. 1995. *Biometry*. Third Edition. W.H. Freeman and Company. New York. USA. 888 pp.
- ZAPOTA, M., CABRERA, P., BAÑON, S., ROTH, P. 1989. *El Melón*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 174 pp.
- (Recepción: 29 enero 2008)  
(Aceptación: 27 mayo 2008)



## Capacidade de Dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em Pomar Adulto de Macieira

P. L. PASTORI, L. B. MONTEIRO, M. BOTTON

A utilização, de agentes de controle biológico em pomares, requer estudos aplicados. Assim, a capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem bonagota em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae) foi estudada em pomar (1,5 x 4,5) comercial adulto de macieira em Fraiburgo, SC, Brasil (27°02' S & 50°55' W). O percentual médio de parasitismo de ovos de *B. salubricola* por *T. pretiosum*, decresceu com o aumento da distância do ponto de liberação, sendo observados 17,1% a 1 m e 4,0% a 10 m. A dispersão de *T. pretiosum* foi de 6,73 m o que corresponde a uma área de dispersão de 61,07 m<sup>2</sup>. A liberação dos parasitóides visando uniformidade de distribuição e controle de *B. salubricola* deve ser feita em 160 pontos por hectare em plantas adultas.

**Palavras-Chave:** Estratégias de controle, controle biológico, *Bonagota salubricola*, parasitóides.

### INTRODUÇÃO

A lagarta-enroladeira-da-maçã *Bonagota salubricola* (= *B. cranaodes*) (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae), desde a década de 80, quando foi relatada sua ocorrência (LORENZATO, 1984), vem causando prejuízos significativos à cultura da macieira nas principais regiões produtoras do Brasil, provocando perdas de 3 a 5% da produção (KOVLESKI *et al.*, 1998; BOTTON, 1999). O controle da praga é realizado basicamente com inseticidas fosforados os quais apresentam restrições de uso, principalmente quando o cultivo é realizado no sistema de produção integrada (BOTTON *et al.*, 2000).

A exigência do mercado nacional e internacional para redução do uso de produtos químicos, aliado a busca crescente por meios de produção que sejam sustentáveis, vem exigindo estudos para aplicação de outras táticas de controle em diversas culturas. Dentre estas, para a macieira, destaca-se o

controle biológico por meio de parasitóides do gênero *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae), uma vez que a ocorrência de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foi relatada por MONTEIRO *et al.* (2004) em ovos de *B. salubricola* na região de Fraiburgo, SC, Brasil.

De acordo com PARRA *et al.* (2002), a utilização de *T. pretiosum* requer que algumas etapas primordiais sejam obedecidas, dentre elas, destacam-se a coleta, identificação e seleção das linhagens ou espécies, desenvolvimento de uma metodologia de criação, conhecimento das exigências térmicas e hídricas, seletividade de agroquímicos, técnicas de liberação com avaliação da eficiência e estudos de modelos referentes à dinâmica do parasitóide e da praga-alvo no campo. Para NOGUEIRA DE SÁ *et al.* (1993) e ZACHRISSON & PARRA (1998), o conhecimento da capacidade de dispersão de um parasitóide é fundamental para se determinar o

número de pontos de liberação por unidade de área, pois deste número depende a maior ou menor eficiência de controle da praga-alvo.

Neste trabalho foi avaliada a capacidade de dispersão de *T. pretiosum* linhagem bonagota em pomar comercial adulto de macieiras visando verificar a uniformidade de distribuição do parasitóide na cultura para o controle de *B. salubricola*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na safra 2004/05, em pomar comercial adulto de macieira (*Malus domestica* Borkh.) plantado em 1988, no espaçamento de 1,5 x 4,5 m (plantas x linhas) com altura entre 3,0 a 3,5 m, pertencente à empresa Agrícola Fraiburgo S.A., Fraiburgo, SC, Brasil (27°02' S e 50°55' W). O pomar foi estabelecido numa combinação de onze plantas da cultivar

'Gala' (produtora) e uma da cultivar 'Fuji' (polinizadora) em cada linha de plantio sucessivamente. No período de condução do experimento, bem como duas semanas antes da instalação, não foram aplicados inseticidas no pomar.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com sete repetições, representadas por unidades experimentais de 1 ha cada, as quais possuíam 22 linhas de plantio, dispostas lado a lado, definindo-se pontos de observação nas cinco linhas centrais, sendo as demais consideradas bordadura.

A capacidade de dispersão foi avaliada dentro de cada unidade experimental, demarcando-se pontos de infestação à Norte, Sul, Leste e Oeste distanciados a 1; 4,5 e 10 m a partir de um ponto central de liberação do parasitóide (Fig. 1). Nos pontos de infestação foram instaladas gaiolas de madeira (50 x 40 x 40 cm), envoltas por tule de cor

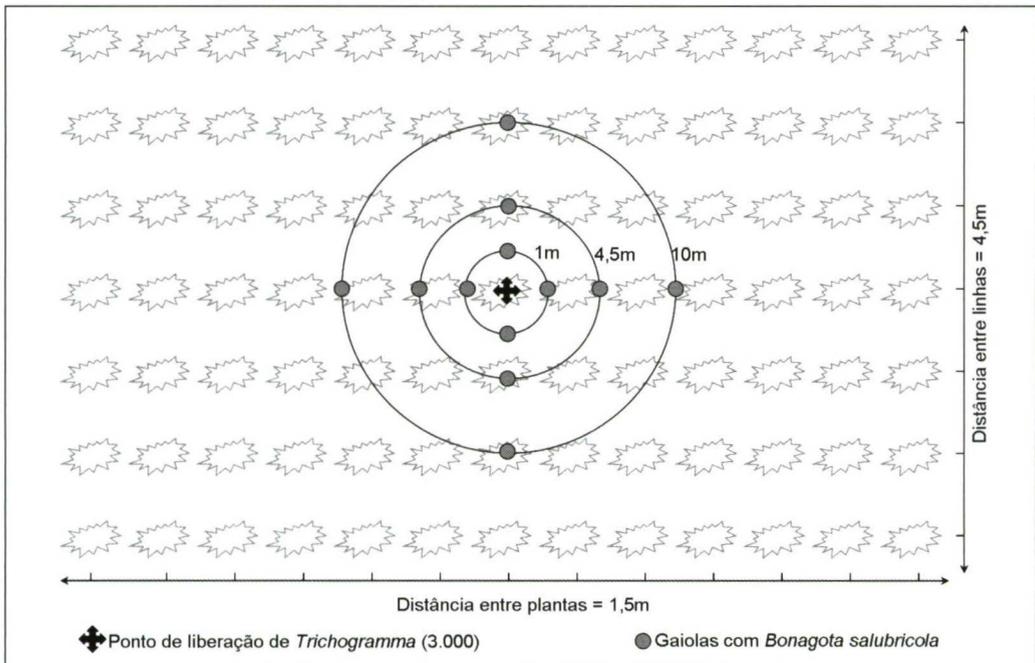


Figura 1. Representação esquemática da área experimental. Fraiburgo, SC, Brasil. 2004/05.

verde, fixadas a altura de 1,50 a 1,60 m acima da superfície do solo, as quais receberam 5 fêmeas e 3 machos de *B. salubricola*, criadas no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LMIP) da Universidade Federal do Paraná, seguindo metodologia descrita por PARRA *et al.* (1995). No interior das gaiolas foram introduzidos ramos de macieira, sem destacar das plantas, para que as mariposas fizessem posturas nas folhas. Como fonte de alimento, foi aspergido mel a 10% em algumas folhas.

A uma distância de 100 m das parcelas experimentais, foi delimitada uma área testemunha, onde foram instaladas 2 gaiolas, para detectar-se o parasitismo natural.

A espécie do parasitóide utilizada foi *T. pretiosum*, coletada em ovos de *B. salubricola* na cultura da macieira (MONTEIRO *et al.*, 2004), denominada linhagem bonagota, sendo sua manutenção e multiplicação realizada no laboratório da Associação de Fruticultores de Fraiburgo (AFF), utilizando ovos do hospedeiro alternativo *S. cerealella*, criado segundo metodologia de HASSAN (1997).

Cartelas (4,0 x 2,0 cm) contendo ovos de *S. cerealella* parasitados e próximos ao horário de emergência, foram colocadas nos pontos centrais de liberação 48 h após a colocação de *B. salubricola* nas gaiolas. As cartelas foram fixadas nas macieiras à altura de 1,70 m acima da superfície do solo, protegidas por uma tela de náilon branco no formato de envelope a fim de se evitar que os ovos parasitados fossem predados. Em cada ponto de liberação foram liberados 3.000 parasitóides, correspondente a 150.000 parasitóides/ha, número este, definido a partir de testes preliminares.

des/ha, número este, definido a partir de testes preliminares.

As folhas contendo posturas de *B. salubricola* foram coletadas 10 dias após a liberação de *T. pretiosum* sendo avaliado o parasitismo. A contagem foi realizada com o auxílio de um microscópio estereoscópico com aumento de 10 vezes.

A distância média de dispersão e as áreas atingidas pelo parasitóide foram calculadas segundo DOBZHANSKI & WRIGHT (1943). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na área testemunha não se observou parasitismo dos ovos de *B. salubricola*. É possível que a ausência do parasitóide na área esteja associada à dificuldade em encontrar o mesmo na cultura como relatado por BOTTON *et al.* (2002). Dessa forma, um programa de controle biológico com o parasitóide na cultura deve ter como base liberações inundativas.

Houve correlação negativa e significativa entre a distância do ponto de liberação e a intensidade de parasitismo demonstrando redução no percentual de ovos parasitados à medida que se aumentou a distância do ponto de liberação (Tabela 1). Quando foram analisadas as direções (Norte, Sul, Leste e Oeste), não foram observadas diferenças significativas, demonstrando uniformidade na distribuição dos parasitóides após a liberação no pomar (Tabela 2). O percentual médio de parasitismo a 1 m do ponto de libe-

Tabela 1. Distância média de dispersão (DM) e área de dispersão ( $S^2$ ), com os respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e de correlação ( $r$ ), para *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem bonagota em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) em macieiras adultas, Fraiburgo, SC, 2004/05.

Parâmetros	Estimativas
DM (m)	6,73
$S^2$ (m <sup>2</sup> )	61,07
Modelo matemático	$Y = 24,399x^{-0,3075}$
$R^2$ (%)	99,95
$r$	-0,7929

Tabela 2. Parasitismo (%  $\pm$  Erro Padrão) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) linhagem bonagota em ovos de *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) colocados a diferentes direções e distâncias de um mesmo ponto central de liberação dos parasitóides, em macieiras adultas. Fraiburgo, SC. 2004/05.

Distância (m)	Parasitismo (%) <sup>1</sup>			
	Norte	Sul	Leste	Oeste
1	19,10 $\pm$ 2,66 Aa	18,16 $\pm$ 3,37 Aa	17,16 $\pm$ 1,99 Aa	14,14 $\pm$ 2,07 Aa
4,5	6,78 $\pm$ 0,55 Ab	7,01 $\pm$ 0,78 Ab	7,10 $\pm$ 0,88 Ab	6,92 $\pm$ 0,67 Ab
10	4,08 $\pm$ 0,54 Ab	4,19 $\pm$ 0,56 Ab	4,27 $\pm$ 0,88 Ab	3,51 $\pm$ 0,77 Ab

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

ração (17,1%) foi 2,5 e 4 vezes maior que a 4,5 (6,95%) e 10 m (4,01%), respectivamente, observando-se diferenças significativas entre as taxas de parasitismo (Tabela 2). As menores taxas de parasitismo (3,51 a 4,27%) observadas a 10 m do ponto de liberação em hipótese, podem ser explicadas pela ausência de plantas próximo umas das outras, exigindo vôos longos dos parasitóides para alcançarem os ovos localizados mais distantes do ponto de liberação. No entanto, variações na capacidade de “busca” do parasitóide também podem ocorrer devido às características intrínsecas da espécie (PRATISSOLI *et al.*, 2005) e de fatores climáticos como temperatura (BIEVER, 1972) e vento (HENDRICKS, 1967; YU *et al.* 1984).

As reduzidas taxas de parasitismo, inferiores a 20%, em hipótese podem estar relacionadas ao fato de que na área, os parasitóides liberados, poderiam encontrar ovos de outros lepidópteros pertencentes às famílias Noctuidae e Geometridae (FONSECA, 2006), preferindo assim, parasitar estes ovos aos de *B. salubricola* que possuem uma camada de secreção sobre os mesmos, o que dificulta o parasitismo por *Trichogramma* (BASSO *et al.*, 1998). Outro fator pode estar relacionado à quantidade de caiomônios, importantes componentes químicos para que *Trichogramma* localize o hospedeiro (LEWIS *et al.*, 1972; PRATISSOLI, 1990), uma vez que estudos com estas substâncias ainda não foram conduzidos para os principais lepidópteros que atacam a cultura da macieira. Em hipótese, uma parte dos parasitóides liberados

pode ter encontrado com maior facilidade outras posturas preferindo-as em relação aos ovos de *B. salubricola*.

Os resultados obtidos neste estudo são semelhantes aos de LOPES (1988), trabalhando com *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar, de NOGUEIRA DE SÁ *et al.* (1993) e GARCIA (1998) com *T. pretiosum* para o controle de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho e de *Ecdytelopha aurantiana* (Lima) (Lepidoptera: Tortricidae) em citrus, respectivamente. A mesma tendência também foi observada para *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis e *Trichogramma maidis* Pintureau & Voegelé (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (KANOUR JUNIOR & BURBUTIS, 1984; BIGLER *et al.*, 1988).

O raio de ação médio e a área de dispersão do parasitóide em pomar adulto de macieira, em relação a ovos de *B. salubricola*, foram de 6,73 m e 61,07 m<sup>2</sup>, respectivamente (Tabela 1). Estes parâmetros foram semelhantes àqueles obtidos por NOGUEIRA DE SÁ *et al.* (1993), para *T. pretiosum*, na cultura de milho em Santo Antônio da Posse, SP. No entanto, este mesmo autor, observou variações quando comparado com Piracicaba, SP. De maneira geral, a dispersão das espécies de *Trichogramma* fica em torno de 10 m (KANOUR JUNIOR & BURBUTIS, 1984; BIGLER *et al.*, 1988; LOPES, 1988; NOGUEIRA DE SÁ *et al.*, 1993; ZACHRISSON & PARRA, 1997; GARCIA, 1998; PRATISSOLI *et al.*, 2005) e variações em

torno desta média podem ser atribuídas às características intrínsecas do parasitóide e da cultura (PRATISSOLI *et al.*, 2005) além de fatores climáticos (BIEVER, 1972).

O número de pontos de liberação de *T. pretiosum* linhagem bonagota, determinado por meio da área de dispersão (Tabela 1), visando ao controle de *B. salubricola* em pomar adulto de macieira deve ser de 160 pontos/ha, para que haja uma distribuição homogênea na área tratada. O método de liberação e a distribuição uniforme do parasitóide podem influenciar sua eficiência (BOTELHO, 1997; ZACHRISSON & PARRA, 1998; MILLS *et al.*, 2000; PINTO & PARRA, 2002), assim como a localidade e temperatura (PRATISSOLI *et al.*, 2003), além da direção e velocidade do vento (HINDS & OSTERBERGER, 1932; SCHREAD, 1932; HENDRICKS, 1967; YU *et al.*, 1984).

Os resultados indicam que *T. pretiosum* linhagem bonagota mostrou relativa capaci-

dade de dispersão em pomar de macieira, podendo ser um componente adicional em programas de manejo de pragas complementando outras medidas de controle. Estudos visando ampliar o escopo de pragas controladas pelo parasitóide com destaque para *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) e lepidópteros das famílias Geometridae e Noctuidae ampliariam os benefícios do emprego de *T. pretiosum* na cultura, porém, estes trabalhos ainda não foram conduzidos.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico de Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas, a Universidade Federal do Paraná, a Agrícola Fraiburgo S. A. e a Associação de Fruticultores de Fraiburgo por possibilitarem a execução da presente pesquisa.

## RESUMEN

PASTORI, P. L., L. B. MONTEIRO, M. BOTTON. 2008. Capacidad de dispersión de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en manzano adulto. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 239-245.

El uso de los agentes biológicos del control, en cultivos frutales, requiere estudios aplicados. Así pues, la capacidad de dispersión de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) cepa bonagota sobre huevos del tortricidío *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae) fue estudiado en un manzano adulto en Fraiburgo, SC, Brasil (27°02' S y 50°55' W). El porcentaje medio de parasitismo de huevos de *B. salubricola* por *T. pretiosum* disminuyó con el aumento de la distancia del punto de suelta, 17.14% a 1m, 6.9% a 4.5 m y 4.01% a 10m. La distancia media de dispersión de *T. pretiosum* fue 6.73 m y la correspondiente área fue de 61.07 m<sup>2</sup>. Los resultados obtenidos indican que la suelta del parasitoide debe realizarse en 160 puntos/ha para alcanzar una distribución uniforme de parasitismo sobre los huevos de *B. salubricola*.

**Palabras clave:** Estrategias de control, control biológico, *Bonagota salubricola*, parasitoides.

## ABSTRACT

PASTORI, P. L., L. B. MONTEIRO, M. BOTTON. 2008. Dispersion Capacity of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Adult Apple Orchard. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 239-245.

The use of biological control agents, in orchard, requires studies. So, the dispersion capacity of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) strain bonagota in relation to *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae) eggs, was studied in adult apple orchard in Fraiburgo, SC, Brazil (27°02' S & 50°55' W). Egg parasitism of *B. salubricola* for *T. pretiosum* decreased with the distance

increase of the distance of the release point, being observed 17.14% (1m) to 4.01% (10m). The dispersion capacity of *T. pretiosum* attained 6,73 m. The dispersion area was 61,07 m<sup>2</sup>. The results obtained indicate that release of the parasitoids aiming at uniformity of distribution for control *B. salubricola* should be made at 160 points/ha.

**Key words:** Control strategies, biological control, *Bonagota salubricola*, parasitoids.

#### REFERÊNCIAS

- BASSO, C., GRILLE, G., POMPANON, F., ALLEMAND, R., PINTUREAU, B. 1998. Comparación de los caracteres biológicos y etológicos de *Trichogramma pretiosum* y de *T. exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Rev. Chilena Ent.* **25** (1): 45-53.
- BIEVER, K. D. 1972. Effect of the temperature on the rate of search by *Trichogramma* and its potential application in field releases. *Environ. Entomol.* **1** (1): 194-197.
- BIGLER, F., BIERI, M., FRITSCHY, A., SEIDEL, K. 1988. Variation in locomotion between strains of *Trichogramma maidis* and its impact on parasitism of eggs of *Ostrinia nubilalis* in the field. *Entom. Exp. Appl.* **49**: 283-290.
- BOTELHO, P. M. 1997. Eficiência de *Trichogramma* em campo. In: J. R. P. PARRA & R. A. ZUCCHI. (Eds.). *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, p. 303-318.
- BOTTON, M. 1999. Bioecologia e controle de *Bonagota cranaodes* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae) na cultura da macieira. Piracicaba, 73p. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP.
- BOTTON, M., NAKANO, O., KOVALESKI, A. 2000. Controle químico da lagarta-enroladeira (*Bonagota cranaodes*) Meyrick na cultura da macieira. *Pesq. Agropec. Bras.* **35** (11): 2139-2144.
- BOTTON, M., NAKANO, O., KOVALESKI, A. 2002. Parasitóides associados à lagarta-enroladeira *Bonagota cranaodes* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae) na cultura da macieira. *Ciênc. Rural* **32** (2): 341-343.
- DOBZANSKY, T., WRIGHT, S. 1943. Genetics of natural populations. X. Dispersion rates in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* **28** (4): 304-340.
- FONSECA, F. L. 2006. Ocorrência, monitoramento, caracterização de danos e parasitismo de Noctuidae e Geometridae em pomares comerciais de macieira em Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil. Curitiba, 97p. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Paraná.
- GARCIA, M. S. 1998. Bioecologia e potencial de controle biológico de *Ecdytelopa aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae), o bicho-furão-dos-citrus, através de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Piracicaba, 118p. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP.
- HASSAN, S. A. 1997. Criação da traça do milho, *Sitotroga cerealella*, para a produção massal de *Trichogramma*. In: J. R. P. PARRA & R. A. ZUCCHI (Eds.). *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, p. 173-182.
- HENDRICKS, D. E. 1967. Effect of wind on dispersal of *Trichogramma semifumatum*. *J. Econ. Entomol.* **60** (5): 1367-1371.
- HINDS, W. E., OSTERBERGER, B. A. 1932. Results of *Trichogramma minutum* for control of sugar cane borer. *J. Econ. Entomol.* **25** (1): 57-64.
- KANOUR JUNIOR, W. W., BURBUTIS, P. P. 1984. *Trichogramma nubilale* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) field releases in the corn and hypothetical model for control of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* **77** (1): 103-107.
- KOVALESKI, A., BOTTON, M., EIRAS, A. E., VILELA, E. F. 1998. *Lagarta-enroladeira da macieira: Bioecologia e controle*. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 22 p. (Embrapa CNPUV. Circular Técnica, 24).
- LEWIS, W. J., JONES, R. L., SPARKS, A. N. 1972. A host-seeking stimulant for the egg parasite *Trichogramma evanescens*: Its source and a demonstration of its laboratory and field activity. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **65** (5): 1087-1089.
- LOPES, J. R. S. 1988. Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) (Hym., Trichogrammatidae) para controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae). Piracicaba, 141p. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP.
- LORENZATO, D. 1984. Ensaio laboratorial de controle da "traça-da-maçã" *Phthochoera cranaodes* Meyrick, 1937 com *Bacillus thuringiensis* Berliner e inseticidas químicos. *Agron. Sulriograndense* **20** (1): 157-163.
- MILLS, N., PICKEL, C., MASFIELD, S., MCDUGALL, S., BUCHNER, R., CAPRILE, J., EDSTRON, J., ELKINS, R., HASEY, J., KELLEY, K., KRUEGER, B., OLSON, B., STOCKER, R. 2000. Mass releases of *Trichogramma* wasps can reduce damage from codling moth. *Cal. Agric.* **54** (6): 22-25.
- MONTEIRO, L. B., SOUZA, A. DE, BELLI, E. L., SILVA, R. B. Q. DA, ZUCCHI, R. A. 2004. Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) em macieira. *Rev. Bras. Frut.* **26** (1): 171-172.
- NOGUEIRA DE SÁ, L. A., PARRA, J. R. P., SILVEIRA NETO, S. 1993. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para controle de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em milho. *Sci. Agr.* **50** (2): 226-231.

- PARRA, J. R. P., EIRAS, A. E., HADDAD, M. L., VILELA, E. F., KOVALESKI, A. 1995. Técnica de criação de *Phthorochroa cranaodes* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae) em dieta artificial. *Rev. Bras. Biol.* **55** (4): 537-543.
- PARRA, J. R. P., BOTELHO, P. S. M., CORRÊA-FERREIRA, B. S., BENTO, J. M. S. 2002. Controle biológico: Uma visão inter e multidisciplinar. In: J. R. P. PARRA, P. S. M. BOTELHO, B. S. CORRÊA-FERREIRA, J. M. S. BENTO (Eds.). *Controle biológico no Brasil: Parasitóides e predadores*. Piracicaba: Manole, p.125-142.
- PINTO, A. S., PARRA, J. R. P. 2002. Liberações de inimigos naturais. In: J. R. P. PARRA, P. S. M. BOTELHO, B. S. CORRÊA-FERREIRA, J. M. S. BENTO (Eds.). *Controle biológico no Brasil: Parasitóides e predadores*. Piracicaba: Manole, p. 325-342.
- PRATISSOLI, D. 1990. Efeito da escama de *Ephestia khueniella* sobre o comportamento de *Trichogramma pretiosum*. *Boletim Agrônomo* **2**: 07-09.
- PRATISSOLI, D., FORNAZIER, M. J., HOLTZ, A. M., GONÇALVES, J. R., CHIORAMITAL, A. B., ZAGO, H. B. 2003. Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* em áreas comerciais de tomate, no Espírito Santo, em regiões de diferentes altitudes. *Hortic. Bras.* **21** (1): 73-76.
- PRATISSOLI, D., VIANNA, U. R., ZAGO, H. B., PASTORI, P. L. 2005. Capacidade de dispersão de *Trichogramma* em tomateiro estaqueado. *Pesq. Agropec. Bras.* **40** (6): 613-616.
- SCHREAD, J. C. 1932. Behaviour of *Trichogramma* in field liberations. *J. Econ. Entomol.* **25** (1): 370-374.
- ZACHRISSON, B., PARRA, J. R. P. 1998. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 em soja. *Sci. Agr.* **55** (1): 133-137.
- YU, D. S. K., LAING, J. E., HAGLEY, A. C. 1984. Dispersal of *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in an apple orchard after inundative releases. *Environ. Entomol.* **13** (2): 371-374.

(Recepción: 29 enero 2008)

(Aceptación: 26 mayo 2008)



## Efecto de la alimentación polífaga sobre la reproducción y otros parámetros biológicos de *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae)

N. AGUSTÍ, R. GABARRA

*Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) es un depredador nativo, polífago y utilizado en control biológico de cultivos hortícolas, especialmente de tomate, en el área Mediterránea. Esta especie puede alimentarse de un gran número de especies que afectan al cultivo de tomate y no se conoce que efecto puede tener esta alimentación polífaga sobre el "buen estado físico" (*fitness*) y la reproducción. El objetivo de este experimento es el de evaluar el efecto de la disponibilidad de más de una presa sobre la descendencia, la fecundidad y el peso de los adultos de *D. tamaninii*. A las ninfas y a los adultos de este depredador se les ofrecieron: larvas de *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Homoptera: Aleyrodidae), huevos de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), y una dieta mixta de larvas de *T. vaporariorum* y huevos de *E. kuehniella* en igual proporción. La descendencia se redujo cuando se alimentaron con larvas de *T. vaporariorum* en lugar de huevos de *E. kuehniella* o de la dieta mixta, aunque las diferencias no fueron significativas. La fecundidad y el peso de los adultos sí se vieron significativamente afectados por la alimentación. Los resultados fueron siempre más bajos si se alimentaron con larvas de *T. vaporariorum*. Se evaluó también el efecto del cambio de dieta en el estado adulto durante las últimas 72 horas. La dieta de *E. kuehniella* produjo un incremento en la fecundidad y un consecuente incremento en la descendencia del depredador.

N. AGUSTÍ, R. GABARRA. Protección Vegetal (Entomología), IRTA (Recerca i Tecnologia Agroalimentàries), Ctra. de Cabrils, Km 2, E-08348 Cabrils (Barcelona). E-mail: nuria.agusti@irta.es

**Palabras clave:** dieta, *Ephestia kuehniella*, fecundidad, polifagia, *Trialeurodes vaporariorum*.

### INTRODUCCIÓN

La aplicación de un programa de control biológico basado en la conservación de poblaciones naturales de los depredadores polípagos *Dicyphus tamaninii* Wagner y *Macrolophus caliginosus* Wagner (Heteroptera: Miridae) proporciona un buen control de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Homoptera: Aleyrodidae) en cultivos de tomate de aire libre (ALOMAR *et al.*, 1996). *D. tamaninii* es un buen enemi-

go natural para programas de control biológico en cultivos hortícolas debido a su presencia en el área Mediterránea, su polifagia y su voracidad (ALBAJES *et al.*, 1996; CASTAÑÉ *et al.* 1996). Este depredador es capaz de alimentarse de diferentes especies plaga como moscas blancas (*T. vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae)), lepidópteros (*Helicoverpa armigera* (Hübner), *Chrysodeixis chalcites* Esper y *Autographa gamma* L. (Lepidoptera: Noctuidae)), trips (*Frankliniella occidentalis*

(Pergande) (Thysanoptera: Thripidae)), pulgones (*Aphis gossypii* Glover y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Homoptera: Aphididae)), ácaros (*Tetranychus* spp. (Acari: Tetranychidae)) y minadoras (*Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae)) (SALAMERO *et al.*, 1987; RIUDAVETS *et al.*, 1993; ALVARADO *et al.*, 1997; BARNADAS *et al.*, 1998).

*D. tamaninii* pone los huevos dentro de los tejidos vegetales, lo cual asegura la humedad suficiente para su desarrollo. Estos huevos son blancos y externamente visibles únicamente por su opérculo de forma elíptica. La duración del desarrollo del embrión a 25°C es de 11 días sobre judía verde (ARNÓ, 1997), 11.8 días sobre tabaco (IRIARTE Y CASTAÑÉ, 2001), y 12 días sobre tomate (RIUDAVETS Y CASTAÑÉ 1998). La duración del desarrollo ninfal a 25°C, ha sido descrita entre 7.7 días y 21.5 días, dependiendo de la dieta (ALVARADO *et al.*, 1997, BARNADAS *et al.*, 1998; RIUDAVETS Y CASTAÑÉ, 1998).

La eficacia de un depredador depende, a menudo, de su "buen estado físico" (*fitness*). Éste podría ir asociado al consumo de una dieta polífaga y es un factor muy importante a la hora de realizar liberaciones de enemigos naturales en campo de manera eficiente. Una técnica ampliamente utilizada para mejorar la instalación de algunos depredadores polípagos, como *D. tamaninii* y *M. caliginosus*, es el suministro de huevos de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) en el cultivo. En este trabajo se han analizado tres dietas: larvas de *T. vaporariorum*, huevos de *E. kuehniella*, y una dieta mixta con igual proporción de larvas de *T. vaporariorum* y huevos de *E. kuehniella*. Estas dietas fueron escogidas por las razones siguientes: *T. vaporariorum* es una de las presas plaga más abundantes en cultivos hortícolas y *D. tamaninii* es capaz de controlarla al alimentarse de todos sus estadios de desarrollo; los huevos de *E. kuehniella* son el alimento más comúnmente utilizado para la cría masiva de diferentes especies de míridos depredadores, como *D. tamaninii* y *M. caliginosus* (FAUVEL *et al.*, 1987; CONSTANT *et al.*, 1996, IRIARTE Y

CASTAÑÉ 2001) y también se añaden en el cultivo para mejorar la instalación de los depredadores, tal como se ha mencionado anteriormente; y una dieta mixta que combine ambas presas en igual proporción para comprobar el efecto de una alimentación polífaga sobre algunos parámetros biológicos del depredador. Se ha demostrado que producir otras especies de depredadores polípagos con una dieta mixta mejora algunos parámetros biológicos. BILDE Y TOFT (1994) mostraron como la fecundidad del carábido *Agonum dorsale* (Pont.) aumentó cuando se alimentó con una dieta mixta compuesta de tres presas con respecto a las mismas dietas por separado. TAMAKI Y WEEKS (1972) también mostraron que se incrementaba la fecundidad de dos especies del género *Geocoris* cuando se alimentaron con una dieta mixta compuesta por dos especies.

Así pues, el principal objetivo de este trabajo fue el de determinar el efecto de las tres dietas (larvas de *T. vaporariorum*, huevos de *E. kuehniella* y la dieta mixta de ambas) en el "buen estado físico" de los adultos de *D. tamaninii*. Para ello se evaluó el efecto de la alimentación ninfal sobre los siguientes parámetros biológicos: la descendencia, la fecundidad y el peso de los adultos. Se evaluó también la influencia del cambio de dieta sólo durante las últimas 72 h en los adultos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Insectos y condiciones*

Los adultos y las ninfas de *D. tamaninii* utilizados en todos los experimentos procedieron de crías mantenidas sobre judía verde en nuestro laboratorio bajo condiciones controladas. Fueron originariamente recolectados en cultivos de tomate en Cataluña, en la zona de El Maresme. Las larvas de *T. vaporariorum* procedieron de crías mantenidas en el IRTA sobre tabaco en invernadero. Los huevos de *E. kuehniella* se compraron en Biotop Co., Valbonne, Francia. Todos los experimentos se llevaron a cabo en cámaras climáticas a 25±1°C y con un fotoperíodo de 16:8 h (luz:oscuridad).

### *Descendencia y porcentaje de adultos*

Para este experimento se utilizaron plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L., cv. Brazilian Blend) de unos 15 cm de altura y una superficie foliar de unos 600 cm<sup>2</sup>, y se colocaron individualmente en 27 jaulas de metacrilato ventiladas (40 x 50 x 50 cm). En el interior de cada jaula se introdujeron 150 adultos de entre 1-7 días durante 24 h para hacer la puesta sobre la planta. Durante este tiempo, se alimentaron con una dieta mixta de igual proporción de larvas de *T. vaporariorum* y de huevos de *E. kuehniella*. Las ninfas emergentes de estos huevos se alimentaron con tres dietas diferentes durante 4 semanas. Se analizaron 9 réplicas (9 jaulas de 150 adultos) para cada una de las siguientes dietas: 1) larvas de *T. vaporariorum*, 2) huevos de *E. kuehniella*, y 3) una dieta mixta con igual proporción de larvas de *T. vaporariorum* y de huevos de *E. kuehniella*. La cantidad de alimento administrada se basó en los resultados de BARNADAS *et al.* (1998), quienes determinaron un consumo diario de 15 larvas de mosca blanca/día para el adulto de *D. tamaninii*. En base a esto, se proporcionaron 20 unidades (10 larvas de *T. vaporariorum* y 10 huevos de *E. kuehniella*) por individuo y por día para asegurar un exceso. El día 29<sup>eno</sup> se hizo el recuento de ninfas y adultos obtenidos en cada jaula y se calculó el número de descendientes por hembra (# adultos+ninfas/hembra/día) así como el porcentaje de adultos a partir del número total de individuos obtenidos ((# adultos/ # ninfas+adultos)\*100) para los tres tratamientos para poder estimar la duración del desarrollo ninfal. El recuento de adultos y ninfas se hizo el día 29<sup>eno</sup> para asegurar la ausencia de adultos, ya que está descrito que el período de desarrollo de huevo a adulto para *D. tamaninii* alimentado con *Bemisia tabaci* es de 32 días (ALBAJES *et al.*, 1996).

### *Efecto de la dieta sobre la fecundidad y el peso*

Los adultos de *D. tamaninii* recién emergidos de las jaulas que contenían las tres dietas se colocaron durante 10 días en botes de

crystal de 2 litros de capacidad ventilados para asegurar el acoplamiento y el haber pasado el período de pre-ovoposición. Este período tiene una duración de  $6.7 \pm 0.47$  días para *D. tamaninii* criado sobre tabaco y alimentado con huevos de *E. kuehniella* (IRIARTE Y CASTAÑÉ 2001). Cada bote de cristal contenía una planta de tabaco de 10 cm de altura y la misma dieta que las ninfas de las cuales provenían.

Después de 10 días, se determinó la fecundidad contando el número de huevos puestos sobre discos de tabaco mediante el siguiente protocolo: se utilizaron 60 placas de Petri de 7.5 cm de diámetro a las cuales les añadió 20 ml de agar al 5%. Sobre esta capa de agar se dispuso un disco de hoja de tabaco de 5 cm de diámetro al cual se habían eliminado las venas principales y se dejó solidificar. Cada hembra procedente de los botes de cristal (con una edad de 10 a 17 días) se colocó individualmente sobre cada disco de hoja durante 72 h a 25°C con la misma dieta que se había estado alimentando hasta entonces (asegurando un mínimo de 20 unidades/día). Se analizaron 20 hembras por dieta. Los huevos puestos fueron contados mediante observación directa dando la vuelta a la placa y contando los huevos por la base a través de la capa de agar bajo una lupa binocular a 40 aumentos, tal como describen AGUSTÍ *et al.* (1996). La media de la fecundidad (n° huevos/hembra/día) se calculó para cada dieta.

Las hembras (con una edad entre 13 y 20 días) procedentes de las placas Petri se pesaron individualmente en una balanza de precisión Mettler AJ100 0.1 mg. Los machos se guardaron en los mismos botes de cristal durante 10 días más las 72 h que las hembras estuvieron en las placas Petri y también se pesaron posteriormente. Por lo tanto, tenían exactamente la misma edad y fueron alimentados con la misma dieta que sus correspondientes hermanas.

### *Influencia del cambio de dieta en los adultos*

Los materiales y el diseño experimental fueron los mismos que los utilizados ante-

Cuadro 1 Efecto de la dieta en la descendencia y porcentaje de adultos de *D. tamaninii* (media  $\pm$  SD) (TV= larvas de *T. vaporariorum*; EK= huevos de *E. kuehniella*) (n= 9 jaulas de 150 adultos).

Dieta	Descendencia (# adultos+ninfas/hembra/día)	% adultos
TV	0.79 $\pm$ 0.106a	26.45 $\pm$ 7.065a
EK	1.07 $\pm$ 0.169a	37.25 $\pm$ 6.182a
1/2 TV+ 1/2 EK	1.12 $\pm$ 0.157a	39.51 $\pm$ 8.445a

Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ , test de Tukey).

riormente, es decir, se prepararon 27 jaulas con una planta de tabaco y se introdujeron 150 adultos en cada caja, donde se dejaron acoplado durante 24 h. Pero en este caso se les proporcionó únicamente larvas de *T. vaporariorum* a todos los individuos. El día 29eno, los adultos obtenidos se colocaron en botes de cristal durante 10 días, tal como se describió anteriormente. Pero también en los botes de cristal se les proporciono únicamente larvas de *T. vaporariorum*. El protocolo utilizado para estimar la fecundidad fue el mismo que el descrito previamente (n = 60 placas Petri). A partir de ahí, 20 de estas hembras se las colocó en placas Petri y se alimentaron con larvas de *T. vaporariorum*, otras 20 se alimentaron con huevos de *E. kuehniella*, y las otras 20 con la dieta mixta. Pasadas 72 h, se evaluó la fecundidad tal como se ha descrito previamente. Tanto las hembras de estas placas Petri como los machos de los botes de cristal (todos con una edad de entre 13 y 20 días) se pesaron individualmente siguiendo el protocolo anterior.

#### Análisis estadísticos

Todos los resultados de descendencia, fecundidad y peso obtenidos para las tres dietas se compararon estadísticamente mediante análisis de la varianza (ANOVA) y el test de Tukey ( $P=0.05$ ) (MANUGISTICS, 1998). Los valores del peso de las hembras se transformaron ( $\log x+1$ ) previamente a los análisis para corregir la heterogeneidad de la varianza.

Tanto los valores de fecundidad, como de peso de hembras y machos obtenidos para los adultos que se habían alimentado con

dietas diferentes desde el nacimiento fueron comparados estadísticamente con los valores obtenidos a partir de los adultos a los cuales se les había cambiado la dieta durante 72 h a través de un análisis mediante una t-Student (MANUGISTICS, 1998).

## RESULTADOS

#### Descendencia y porcentaje de adultos

Los valores de descendencia (# adultos+ninfas/hembra/día) obtenidos cuando las ninfas se habían alimentado de las tres dietas no fueron significativamente diferentes ( $F = 1.49$ ,  $gl = 2$ ;  $24$ ,  $P = 0.25$ ). Sin embargo, los valores fueron más bajos cuando las ninfas se alimentaron de larvas de *T. vaporariorum* que cuando se alimentaron de huevos de *E. kuehniella* o de la dieta mixta (Cuadro 1). No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de adultos procedentes de ninfas alimentadas con las tres dietas durante 29 días ( $F = 0.92$ ,  $gl = 2$ ;  $24$ ,  $P = 0.41$ ). Los valores más bajos se obtuvieron para las ninfas alimentadas exclusivamente de larvas de *T. vaporariorum*, sugiriendo un cierto retraso en el desarrollo ninfal debido a la baja calidad nutricional de la presa.

#### Efecto de la dieta sobre la fecundidad y el peso

Las hembras que procedían de ninfas alimentadas exclusivamente de larvas de *T. vaporariorum* presentaron valores de fecundidad significativamente más bajos que aquellas que procedían de ninfas alimentadas exclusivamente con huevos de *E. kuehniella* o bien con la dieta mixta ( $F = 11.19$ ,

Cuadro 2 Efecto de la dieta sobre la fecundidad de *D. tamaninii* y peso de las hembras y los machos (media  $\pm$  SD) (TV = larvas de *T. vaporariorum*; EK= huevos de *E. kuehniella*) (n= 20).

Dieta	Fecundidad (# huevos/hembra/día)	Peso hembras (mg)	Peso machos (mg)
TV	1.45 $\pm$ 0.254b	1.74 $\pm$ 0.058b	1.31 $\pm$ 0.030b
EK	4.80 $\pm$ 0.697a	2.81 $\pm$ 0.070a	1.33 $\pm$ 0.032ab
1/2 TV+ 1/2 EK	4.78 $\pm$ 0.668a	2.83 $\pm$ 0.077a	1.42 $\pm$ 0.024a

Los valores seguidos por letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ , Tukey test).

Cuadro 3 Efecto del cambio de dieta durante 72 h en los adultos, fecundidad, y peso de las hembras y los machos de *D. tamaninii* (media  $\pm$  SD) (TV= larvas de *T. vaporariorum*; EK= huevos de *E. kuehniella*) (n= 20).

Dieta	Fecundidad (# huevos/hembra/día)	Peso hembras * (mg)	Peso machos (mg)
TV	1.92 $\pm$ 0.320b	1.97 $\pm$ 0.058b	1.30 $\pm$ 0.024a
EK	3.50 $\pm$ 0.440a	2.86 $\pm$ 0.170a	1.33 $\pm$ 0.031a
1/2 TV+ 1/2 EK	2.92 $\pm$ 0.340ab	2.80 $\pm$ 0.073a	1.37 $\pm$ 0.023a

Los valores seguidos por letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ , Tukey test).

\* El análisis estadístico se llevó a cabo con la transformación log (x+1) en los datos.

dl = 2; 57,  $P < 0.05$ ) (Cuadro 2).

El peso de las hembras procedentes de ninfas alimentadas exclusivamente con larvas *T. vaporariorum* fue significativamente más bajo ( $F = 82.15$ , gl = 2; 57,  $P < 0.05$ ) que el de aquellas ninfas que se habían alimentado exclusivamente con huevos de *E. kuehniella* o bien con la dieta mixta (Cuadro 2). El tipo de dieta afectó significativamente también el peso de los machos ( $F = 4.58$ , gl = 2; 57,  $P < 0.05$ ). En este caso, el peso fue significativamente más alto cuando las ninfas se alimentaron con la dieta mixta. El peso de los machos procedentes de ninfas alimentadas con huevos de *E. kuehniella* no fue significativamente diferente de aquellos procedentes de ninfas que se habían alimentado con las otras dos dietas (Cuadro 2).

#### Influencia del cambio de dieta en los adultos

Cuando las hembras que se habían alimentado con larvas de *T. vaporariorum* desde el nacimiento fueron alimentadas con huevos de *E. kuehniella* durante 72 h, la fecundidad fue significativamente más elevada que aquellas que continuaron alimentándose de larvas de *T. vaporariorum* ( $F = 4.57$ , gl = 2; 57,  $P < 0.05$ ). Sin embargo, incluso cuando la fecundidad de

las hembras que se habían estado alimentando con las dos presas fue más elevada que la de aquellas hembras que se habían alimentado con larvas de *T. vaporariorum*, no se encontraron diferencias significativas. Tampoco se observaron diferencias significativas entre la fecundidad de las hembras que habían estado alimentándose de huevos de *E. kuehniella* y las que se habían alimentado de la dieta mixta (Cuadro 3).

El peso de las hembras también fue afectado por la alimentación que recibieron durante las últimas 72 h. El Cuadro 3 muestra como las hembras alimentadas con huevos de *E. kuehniella* o con la dieta mixta durante 72 h presentaron valores de peso significativamente superiores que aquellas que se habían alimentado únicamente de larvas de *T. vaporariorum* ( $F = 38.12$ , gl = 2; 57,  $P < 0.05$ ). El peso de los machos no difirió significativamente ( $F = 1.56$ , gl = 2; 57,  $P = 0.22$ ), aunque los valores fueron ligeramente más elevados en aquellos machos alimentados con la dieta mixta durante las últimas 72 h. Estos resultados confirman los obtenidos previamente en referencia al efecto de la dieta sobre las ninfas, aunque en ese caso no se encontraron diferencias significativas.

Al comparar los valores de fecundidad entre los adultos a los que se les había cambiado la dieta durante 72 h con aquellos adultos alimentados con dietas diferentes desde el nacimiento, está claro que las hembras alimentadas exclusivamente de larvas de *T. vaporariorum* desde el nacimiento presentaron una fecundidad más baja que aquellas hembras alimentadas toda su vida con huevos de *E. kuehniella* o con la dieta mixta (Figura 1). Los valores de fecundidad comparados mediante una t-Student fueron significativamente más altos ( $t = 2.48$ ,  $gl = 38$ ,  $P < 0.05$ ) para las hembras alimentadas con una dieta mixta desde el nacimiento que aquellas hembras que se habían alimentado con una dieta mixta durante las últimas 72 h. Cuando la dieta fue solo compuesta de huevos de *E. kuehniella* las diferencias obtenidas no fueron significativas ( $t = 1.57$ ,  $gl = 38$ ,  $P = 0.125$ ), aunque los valores más elevados se obtuvieron con aquellas hembras que se habían alimentado con la misma presa durante todo el ciclo.

Cuando se comparó el peso de los adultos en función del tiempo que estos fueron expuestos a una de las dietas en particular, no se encontraron diferencias significativas entre los adultos que habían sido alimentados con esa dieta desde el nacimiento y los que les había proporcionado los últimos 72 h. Esto fue cierto para las tres dietas analizadas, con la excepción del peso de las hembras alimentadas exclusivamente con larvas de *T. vaporariorum* ( $t = 2.82$ ,  $gl = 38$ ,  $P < 0.05$ ). Resultó curioso que se obtuvieran valores más altos de peso en las hembras que se habían alimentado en las últimas 72 h con esta dieta, ya que de hecho se trataba del mismo tratamiento. El peso de las hembras no difirió significativamente entre los dos tratamientos ni para la dieta mixta ( $t = 0.23$ ,  $gl = 38$ ,  $P = 0.815$ ) ni para la dieta de huevos de *E. kuehniella* ( $t = 0.35$ ,  $gl = 38$ ,  $P = 0.728$ ). El peso de los machos no presentó diferencias significativas entre los dos tratamientos, tanto para la dieta compuesta exclusivamente de larvas de *T. vaporariorum* ( $t = 0.13$ ,  $gl = 38$ ,  $P = 0.898$ ), como

para la dieta mixta ( $t = 1.66$ ,  $gl = 38$ ,  $P = 0.105$ ), o la dieta de huevos de *E. kuehniella* ( $t = 0$ ,  $gl = 38$ ,  $P = 1$ ).

## DISCUSIÓN

Cuando las ninfas de *D. tamaninii* se alimentaron desde el nacimiento con tres dietas no hubo un efecto significativo en la descendencia o en el porcentaje de adultos obtenido. Sin embargo, los valores obtenidos para ambos parámetros fueron más bajos para los individuos alimentados exclusivamente con larvas de *T. vaporariorum*, mostrando un cierto retraso en el desarrollo ninfal. Tal como está descrito en otros trabajos, la duración del desarrollo ninfal de *D. tamaninii* puede verse afectado por la dieta. Por ejemplo, este período fue de 19.3 días para *D. tamaninii* alimentado con huevos de *E. kuehniella* (IRIARTE Y CASTAÑÉ, 2001), 20.2 días al alimentarse con *B. tabaci* (BARNADAS *et al.*, 1998), 18.9 días al alimentarse con *F. occidentalis* (RIUDAVETS, 1998) y 21.5 días cuando se alimentaron con *A. gossypii* (ALVARADO *et al.*, 1997).

Cuando los adultos se alimentaron de dietas diferentes desde el nacimiento, la fecundidad se vio fuertemente afectada por la dieta. Las hembras procedentes de ninfas alimentadas exclusivamente con larvas de *T. vaporariorum* mostraron una fecundidad mucho más baja que aquellas alimentadas exclusivamente con huevos de *E. kuehniella* o con una dieta mixta de larvas de *T. vaporariorum* y huevos de *E. kuehniella*, poniendo en evidencia el beneficio potencial de una dieta mixta para *D. tamaninii*.

Existen algunos estudios en los cuales la fecundidad de *D. tamaninii* ha sido analizada en relación a la presa ingerida. Cuando este depredador consumió *F. occidentalis*, su fecundidad fue de 0.15 huevos/hembra/día, pero cuando consumió *T. vaporariorum* o *E. kuehniella*, la fecundidad fue mucho más elevada (1.20 y 4.45 huevos/hembra/día, respectivamente) (RIUDAVETS, 1995, IRIARTE Y CASTAÑÉ 2001). Estos resultados son similares a los obtenidos en el presente estudio (1.45 y

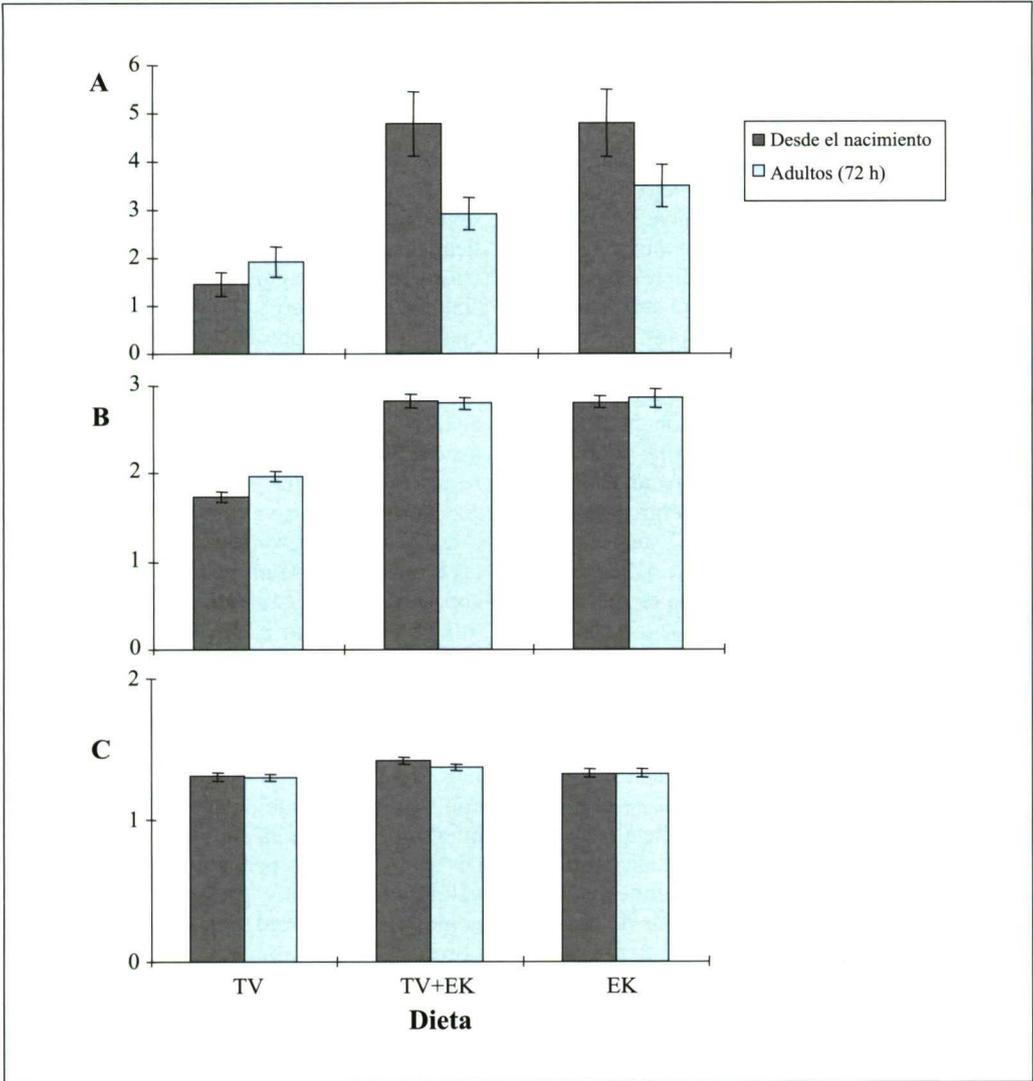


Figura 1 Comparación de la fecundidad (A), peso de las hembras (B) y de los machos (C) de *D. tamaninii* después de haber sido alimentados con tres dietas diferentes (mediana  $\pm$  SD). Se incluyen los datos de la comparación respecto a si esta dieta en particular fue suministrada desde el nacimiento o bien las ultimas 72 h en estado adulto (TV = larvas de *T. vaporariorum*; EK= huevos de *E. kuehniella*).

4.80 huevos/hembra/día para *T. vaporariorum* y *E. kuehniella*, respectivamente). Por lo tanto, se confirma que la fecundidad de *D. tamaninii* está estrechamente relacionada con la calidad de la presa ingerida. Este hecho podría tener implicaciones muy importantes

para la puesta a punto de una cría masiva de este depredador, así como para favorecer la instalación de estos depredadores en los cultivos mediante la introducción de una dieta de elevada calidad en el cultivo (como los huevos de *E. kuehniella*).

La fecundidad es un parámetro muy útil a la hora de determinar la calidad de las hembras, pero no para determinar la calidad de los machos. El peso es un parámetro que proporciona información útil acerca de la calidad de la dieta de un insecto y además es también útil para evaluar el efecto en los machos. Los resultados obtenidos en este estudio muestran como el peso tanto de las hembras como de los machos difiere significativamente en función de la dieta suministrada desde el nacimiento. El peso de las hembras no varió tanto como el peso de los machos al cambio de dieta. En algunos estudios ha sido descrita una relación positiva entre el peso del cuerpo o la talla y otras variables relacionadas con la fecundidad, como el número de ovarios dentro de la hembra y el número de huevos. Este fue el caso de los trabajos de JULIANO (1985) y ZANUNCIO *et al.*, (2002), en los cuales se describe que las hembras de *Podisus rostralis* más pesadas producen un número más elevado de huevos; o el de EVANS (1982) en el cual se observó una relación positiva entre la fecundidad y la talla del cuerpo para *P. maculiventris*. Sin embargo, éste no es siempre el caso. Según ZAPATA *et al.* (2005), las hembras *D. tamaninii* alimentadas con una dieta artificial presentaron valores de fecundidad más elevados que los que se habían alimentado con huevos de *E. kuehniella*, a pesar de presentar valores más bajos de peso. Esto podría estar ligado tanto con la especie como con la dieta en cuestión. El presente estudio analiza tres dietas de insectos y se observa una relación positiva entre el peso y la dieta. En otros estudios se midió, o bien el peso, o la talla del cuerpo (longitud y anchura), o de diferentes partes del cuerpo, como la cabeza, el tórax o la tibia posterior (JERVIS Y COPLAND 1996). Acorde con estos autores, uno de los factores principales que pueden influenciar en la talla del cuerpo o del peso de los depredadores es la cantidad y la calidad del alimento ofrecido a las ninfas. Sus resultados mostraron como esos parámetros fueron significativamente afectados por la dieta (KESTER Y SMITH, 1984; BUSH *et al.*, 1993). A partir de los

resultados de fecundidad obtenidos, éstos parecen indicar que la dieta compuesta exclusivamente de larvas de *T. vaporariorum* fue de menor calidad que las otras, ya que se obtuvieron los valores más bajos de peso para ambos sexos. La dieta mixta proporcionó los valores de peso más elevados para ambos sexos, aunque las diferencias no fueron significativas respecto la dieta de huevos de *E. kuehniella*. Esto significaría una mejora en su "buen estado físico", y por lo tanto una ventaja a la hora de producir una mayor descendencia en el cultivo.

También se analizó el efecto del cambio de dieta, durante un período de 72 h, en adultos que fueron criados con larvas de *T. vaporariorum* desde su nacimiento con huevos de *E. kuehniella*. Los valores de fecundidad de estas hembras fueron tan altos como los de las hembras que se alimentaron toda su vida con huevos de *E. kuehniella* o con la dieta mixta. Este hecho es muy importante para poder garantizar una buena instalación y reproducción de los individuos liberados en campo. Incluso si los depredadores se han alimentado toda su vida con una dieta de más baja calidad, el hecho de alimentarlos con una dieta de mejor calidad (en este caso huevos de *E. kuehniella*) durante 72 h antes de ser liberados permite incrementar los valores de algunos parámetros biológicos como la fecundidad. El mismo efecto se observó con los valores del peso de las hembras para los adultos alimentados durante 72 h con dietas diferentes. Los pesos más elevados se asociaron con individuos alimentados con huevos de *E. kuehniella* y no se observaron diferencias significativas con la dieta mixta. Esto confirma lo mencionado anteriormente en cuanto a la relación entre el peso de las hembras y la fecundidad, ya que los valores de peso más elevados se asociaron con los valores más elevados de fecundidad. Por otra parte, en cuanto al peso de los machos no se observaron diferencias significativas cuando los insectos fueron alimentados durante 72 h con dietas diferentes.

En conclusión, la introducción de huevos de *E. kuehniella* en el cultivo, aunque sea

durante un período corto de tiempo como 72h, puede mejorar la instalación de estos depredadores en los cultivos ya que presentan los valores de fecundidad más elevados. Esto implica que el “buen estado físico” de los individuos alimentados con una presa de menor calidad puede mejorar significativamente con la introducción de una dieta de más calidad (como los huevos de *E. kuehniella*) y mejorar la descendencia del depredador en campo, lo cual puede ser especialmente interesante en épocas de bajas tempe-

raturas que ralentizan el desarrollo del depredador (ARNÓ, 1997).

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Cristina Castañé sus comentarios, así como a Pilar Hernandez y Victor Muñoz por su asistencia en el laboratorio. Este estudio fue financiado por el MEC (proyecto AGL 2007-60371). La Dra. Nuria Agustí goza de un contrato Ramón y Cajal del Ministerio de Educación y Ciencia.

## ABSTRACT

AGUSTÍ, N., R. GABARRA. 2008. Effect of polyphagous feeding on reproduction and other biological parameters of *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 247-256.

*Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) is a native polyphagous predator used in pest control on Mediterranean vegetable crops. This species is able to feed on a big number of species commonly found in tomato crops and is not known the effect this polyphagous diet could have on the fitness of this predator and its reproduction. The objective of this research is to evaluate the effect of the availability of more than one prey on female's progeny, fecundity and adult weight of *D. tamaninii*. Nymphs and adults of this predator were fed on: *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Homoptera: Aleyrodidae) larvae, *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) eggs, and a mixed diet of *T. vaporariorum* larvae and *E. kuehniella* eggs in equal proportion. Even though female progeny was reduced when fed on *T. vaporariorum* larvae rather than on *E. kuehniella* eggs or on the mixed prey diet, the values were not significantly different. On the other hand, fecundity and adult weight were significantly affected by the prey source: results were always poorer if predators fed on *T. vaporariorum* larvae. The effect of diet change on the adult stage during 72 h was also evaluated. *E. kuehniella* diet leads to an increment in female fecundity and therefore a corresponding increment in predator offspring.

**Key words:** diet, *Ephestia kuehniella*, fecundity; polyphagy, *Trialeurodes vaporariorum*.

## REFERENCIAS

- AGUSTÍ, N., RIUDAVETS, J., CASTAÑÉ, C. 1996. A substrate for measuring fecundity on mirid bugs. (Poster). *XX International Congress of Entomology*. Firenze, Italia.
- ALBAJES, R., ALOMAR, O., RIUDAVETS, J., CASTAÑÉ, C., ARNÓ, J., GABARRA, R. 1996. The mirid bug *Dicyphus tamaninii*: an effective predator for vegetable crops. *IOBC/WPRS Bull.*, **19**(1): 1-4.
- ALOMAR, O., ALBAJES R. 1996. Greenhouse whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) predation and tomato fruit injury by the zoo-phytophagous predator *Dicyphus tamaninii* (Heteroptera: Miridae). In: Alomar O, Wiedenmann R (eds) *Zoophytophagous Heteroptera: Implications for Life History y IPM*, Thomas Say Special Publications in Entomology, Entomological Society of America, 155-177.
- ALVARADO, P., BALTÀ, O., ALOMAR, O. 1997. Efficiency of four Heteroptera as predators of *Aphis gossypii* and *Macrosiphum euforbiae* (Hom.: Aphididae). *Entomophaga*, **42**: 215-226.
- ARNÓ, J. 1997. Bases biològiques per al disseny d'un programa de control integrat de plagues en tomàqueres de tardor-hivern sota plàstic. Tesis Doctoral. Universitat de Lleida.
- BARNADAS, I., GABARRA, R., ALBAJES, R. 1998. Predatory capacity of two mirid bugs preying on *Bemisia tabaci*. *Ent Exp Appl.* **86**: 215-219.

- BILDE, T., TOFT, S. 1994. Prey preference and egg production of the carabid beetle *Agonum dorsale*. *Ent Exp Appl*, **73**: 151-156.
- BUSH, L., KRING, T. J., RUBERSON, J. R. 1993. Suitability of greebugs, cotton aphids, and *Heliothis virescens* eggs for development and reproduction of *Orius insidiosus*. *Ent Exp Appl*, **67**: 217-222.
- CASTAÑÉ, C., ALOMAR, O., RIUDAVETS, J. 1996. Management of western flower thrips on cucumber with *Dicyphus tamaninii* (Heteroptera: Miridae). *Biol Control*, **7**: 114-120.
- CONSTANT, B., GRENIER, S., BONNOT, G. 1996. Artificial substrate for egg laying and embryonic development by the predatory bug *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae). *Biol Control*, **7**: 140-147.
- EVANS, E. W. 1982. Consequences of body size for fecundity in the predatory stinkbug, *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). *Ann Entomol Soc Am*, **75** (4):418-420.
- FAUVEL, G., MALAUSA, J. C., KASPAR, B. 1987. Etude en laboratoire des principales caractéristiques biologiques de *Macrolophus caliginosus* (Het.: Miridae). *Entomophaga*, **32**(5): 529-543.
- IRIARTE, J., CASTAÑÉ, C. 2001. Artificial rearing of *Dicyphus tamaninii* (Heteroptera: Miridae) on a meat-based diet. *Biol Control*, **22**(1): 98-102.
- JERVIS, M. A., COPLAND, M. J. W. 1996. The life cycle. In: Jervis MA, Kidd N (eds) *Insect natural enemies. Practical approaches to their study and evaluation*. Chapman & Hall, London, 63-160.
- JULIANO, S. A. 1985. The effects of body size on mating and reproduction in *Brachinus lateralis* (Coleoptera: Carabidae). *Ecol Entomol*, **10**: 271-280.
- KESTER, K. M., SMITH, M. 1984. Effects of diet on growth, fecundity and duration of tethered flight of *Nezara viridula*. *Ent Exp Appl*, **35**: 75-81.
- MANUGISTICS INC. 2000. StatGraphics Plus version 5. Manugistics, Inc., Rockville, MD
- RIUDAVETS, J., GABARRA, R., CASTAÑÉ, C. 1993. *Frankliniella occidentalis* predation by native natural enemies. *IOBC/WPRS Bull*, **16**(2): 137-140.
- RIUDAVETS, J., CASTAÑÉ, C. 1998. Identification and evaluation of native predators of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) in the Mediterranean. *Environ Entomol*, **27**: 86-93.
- TAMAKI, G., WEEKS, R. E. 1972. Biology and ecology of two predators, *Greocoris pallens* Stal and *G. bullatus* (Say). *USDA Tech Bull*, **1446**: 1-45.
- ZANUNCIO, J. C., MOLINA-RUGAMA, A. J., SANTOS, G. P., RAMALHO, F. S. 2002. Effect of body weight on fecundity and longevity of the stinkbug predator *Podisus rostralis*. *Pesq Agropec Bras*, **37**:1225-1230.
- ZAPATA, R., SPECTY, O., GRENIER, S., FEBVAY, G., PAGEAUX, J. F., DELOBEL, B., CASTAÑÉ, C. 2005. Carcass analysis to improve a meat-based diet for the artificial rearing of the predatory mirid bug *Dicyphus tamaninii*. *Arch Insect Biochem Physiol*, **60**(2): 84-92.

(Recepción: 5 febrero 2008)

(Aceptación: 21 mayo 2008)

## Efecto del fotoperiodo en la terminación de la diapausa de larvas de los taladros del maíz, *Sesamia nonagrioides* y *Ostrinia nubilalis*, desarrolladas en distintas variedades de maíz transgénico y sus isogénicas correspondientes

M. PÉREZ, C. LÓPEZ, M. EIZAGUIRRE

La creciente implantación de maíz transgénico en España está ocasionando cambios importantes en las poblaciones de taladros de maíz y en su ecofisiología, cambios que están por estudiar. En el evento de maíz transgénico Bt 176, hoy en día no autorizado, la concentración de proteína de *Bacillus thuringiensis* decrecía en el maíz senescente de forma que en otoño se podían encontrar en campos con este evento alguna larva de taladros. La implantación de maíz con el evento MON 810 sugirió la posibilidad de estudiar la posible supervivencia de larvas en maíz senescente y algunos aspectos de la diapausa de estas larvas. Para ello se infestaron 6 variedades de maíz, una con el evento Bt 176, dos con el evento MON 810 y las tres isogénicas correspondientes, con larvas neonatas de *Sesamia nonagrioides* (Lefèbvre), confiando en una infestación natural de *Ostrinia nubilalis* (Hübner). Las larvas de *S. nonagrioides* recogidas en el evento Bt176 suponían el 14% del total de larvas de esta especie muestreadas, mientras que las de *O. nubilalis* recogidas en el maíz Bt suponían un 25% del total de esta especie. Sin embargo en las variedades con el evento MON 810 apenas se recogieron un 0,25% y un 1,9% de larvas de *S. nonagrioides* y *O. nubilalis* respectivamente. Las larvas recogidas en el evento Bt 176 no mostraron diferencias en su intensidad de diapausa con las recogidas en las isogénicas correspondientes. El efecto del fotoperiodo en la terminación de la diapausa fue diferente en ambas especies: mientras que el fotoperiodo largo aceleraba la terminación de diapausa en *S. nonagrioides* pero no en *O. nubilalis* pareciendo tener un efecto más pronunciado la oscuridad completa. El parasitismo por parte de *Lydella thompsoni* (Herting) fue del 5% para el total de larvas de *O. nubilalis* mientras que para el total de larvas de *S. nonagrioides* fue del 0,4% lo que indica la preferencia de esta taquínido por el pirálido.

M. PÉREZ, C. LÓPEZ, M. EIZAGUIRRE. Centro UdL-IRTA de R+D, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España. meritxell. E-mail: perez@pvcf.udl.cat

**Palabras clave:** Maíz Bt, parasitismo.

### INTRODUCCIÓN

Los taladros del maíz *Ostrinia nubilalis* (Hübner) y *Sesamia nonagrioides* (Lefèbvre), son las principales plagas de este cultivo en el área mediterránea, reduciendo su rendimiento de manera importante. Estos taladros presentan comportamiento endófito, por lo

tanto completan el desarrollo larvario y pupal dentro de la caña de maíz, haciendo difícil la eficacia de los métodos de control químicos convencionales (ALFARO, 1972). El número de generaciones que presentan cada año varía según la zona geográfica en que se desarrollan ambas especies. En la zona de este estudio, noreste de la Península Ibérica, Lleida,

Cuadro 1. Variedades experimentales.

Variedades Transgénicas	Variedades Isogénicas
Bt1: Compa (Bt 176)	Test 1: Dracma
Bt2: DKC 6575 (Mon 810)	Test 2: Tietar
Bt3: PR 33P67 (Mon 810)	Test 3: PR 32 P66

presentan dos generaciones completas y una incompleta (EIZAGUIRRE *et al.* 2002). La importancia de esta tercera generación incompleta depende del porcentaje de larvas de segunda generación que entran en diapausa. Los taladros de maíz detectan en verano, mediante el fotoperiodo, la llegada del otoño, entrando en diapausa y deteniendo su desarrollo para así adaptarse a las condiciones desfavorables del invierno como son el frío y la falta de alimento durante meses (EIZAGUIRRE, 1989). Para ambas especies el factor inductor de diapausa es el fotoperiodo corto, aunque el efecto del fotoperiodo puede ser modificado por la temperatura, el termoperiodo o la fenología del maíz (EIZAGUIRRE, ALBAJES, 1992). En *S. nonagrioides* los estadios larvarios sensibles al fotoperiodo son el primero y el segundo, sin embargo, pasa el invierno como larva desarrollada en diapausa en los rastrojos del maíz, larva que sigue alimentándose, moviéndose y mudando (FANTINOU *et al.* 1995), mientras en *O. nubilalis* las larvas son sensibles a la inducción de diapausa hasta el quinto estadio larvario y pasa el invierno como larva desarrollada permaneciendo inmóvil, sin alimentarse ni mudar, en los rastrojos del maíz (HUDON AND LEROUX, 1986).

En España el maíz Bt que se cultiva, es aquel que lleva incorporado el evento MON810, pero hasta el año 2005 el maíz transgénico predominante fue el que incorporaba el evento 176, hoy en día no autorizado.

El objetivo de este trabajo es determinar el efecto del fotoperiodo en la terminación de la diapausa de larvas de los taladros del maíz, *S. nonagrioides* y *O. nubilalis*, desarrolladas en distintas variedades de maíz transgénico y sus isogénicas correspondien-

tes. Este objetivo se enmarca en otro más general que pretende conocer los efectos subletales de las nuevas variedades de maíz transgénico sobre los taladros del maíz.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El campo de experimentación, situado en la ETSEA de la Universidad de Lleida (Coordenadas: 41° 37' 24.78" N, 0° 34' 33.44" E), se dividió en 4 bloques con 6 parcelas en cada bloque, tres de las cuales fueron cultivadas con variedades de maíz transgénico y las restantes con las variedades isogénicas correspondientes, estas se muestran en el cuadro 1. Se infestaron las parcelas con larvas de *S. nonagrioides* neonatas en el mes de septiembre, simulando una tercera generación de la especie. Esta infestación se llevó a cabo en cuatro plantas por parcela con una cantidad de 25 larvas/planta. Se confió en una infestación natural de *O. nubilalis*. En Diciembre se realizó un muestreo de las larvas invernantes en diapausa. Así, las plantas muestreadas en cada parcela, fueron las 4 plantas infestadas más 4 plantas adyacentes sin infestar, por lo tanto 8 plantas por parcela y bloque.

Las larvas recogidas en campo se colocaron individualmente en cajas de plástico de 5cm de diámetro y 3.2cm de altura, en cámaras climatizadas en 3 diferentes condiciones de fotoperiodo, 12 horas de luz y 12 de oscuridad (12:12), 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad (16:8) y 24 horas de oscuridad (0:24). La temperatura para todas ellas fue constante de 15±1C° y se alimentaron con dieta artificial descrita por Eizaguirre (1989). Se realizaron observaciones periódicas de las larvas hasta pupación, se evaluó la mortalidad, el tiempo que tardaron en pupar,

los pesos y sexos de las pupas, el número de mudas y el parasitismo.

Se realizaron análisis ANOVA trifactoriales, y cuando convino se realizó una separación de medias (Duncan) o se estudiaron las interacciones significativas. La comparación de la proporción de larvas parasitadas desarrolladas en variedades transgénicas y variedades testigos se realizó mediante una prueba chi cuadrado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las variedades transgénicas 2 y 3 que contienen el evento MON810 no se encontró prácticamente ninguna larva, pudiendo deberse a que la toxina de *Bacillus thuringiensis* se mantiene en alta concentración hasta final del cultivo y la infestación se llevó a cabo con larvas recién nacidas que no pudieron soportar tales concentraciones. Ha sido diferente para el Bt1 (evento Bt176), en este evento va disminuyendo la concentración de la toxina a partir de floración (FEARING *et al.* 1997), con lo que en el momento de la infestación las pequeñas larvas pudieron sobrevivir en un número mayor a las bajas concentraciones de toxina. El número de larvas por planta encontradas en las diversas variedades isogénicas fueron similares entre ellas (Cuadro 2).

En las Figuras 1 y 2 se refleja la duración de la diapausa de larvas de *S. nonagrioides*, medida como el número de días necesarios para pupar en los distintos fotoperiodos ensayados. En ambas figuras se observa que

las larvas sometidas a un fotoperiodo inductor de diapausa 12:12 necesitaron más tiempo para pupar que las sometidas a 0:24 (oscuridad completa). A su vez, las larvas que estuvieron bajo la condición de fotoperiodo 16:8 fueron las que puparon en menos tiempo ( $x \leq 0.05$ ), hecho que se ve repetido en el estudio de FANTINO *et al.* (1998) que afirma que el fotoperiodo de día largo acelera la terminación de diapausa en *S. nonagrioides*. No hubo diferencias en el tiempo que tardaron en pupar entre las larvas desarrolladas en la variedad Bt1, bajo concentraciones subletales de la toxina, y la variedad testigo 1, lo que difiere del trabajo de EIZAGUIRRE *et al.* (2005) en el cual observaron que las larvas de *S. nonagrioides* diapausantes recogidas en campos de maíz Bt obtuvieron un desarrollo más largo de diapausa que las muestreadas en la variedad no transgénica. Además, se observó que las larvas alimentadas sobre la variedad testigo 3 necesitaron menos días para pupar que aquellas que se encontraron sobre los testigos 1 y 2 ( $x \leq 0.05$ ), resultado difícil de explicar y en estudio. Sin embargo, no hubo en ningún caso diferencias en la duración de diapausa de las larvas que dieron lugar a pupas macho o hembras ( $x \geq 0.05$ ).

El peso medio de las pupas hembra y macho de *S. nonagrioides* según el fotoperiodo ensayado y las variedades en que se han desarrollado las larvas se muestra en la figura 3. El peso de las pupas resultó distinto según el sexo de las mismas y el fotoperiodo al que se desarrollaron las larvas

Cuadro 2. Larvas por planta de *S. nonagrioides* y *O. nubilalis* recogidas en diversas variedades transgénicas y sus isogénicas correspondientes.

Variedad	Larvas/planta <i>S. nonagrioides</i>	Larvas/planta <i>O. nubilalis</i>
Bt1	2.3	1.6
Testigo1	3.1	1.7
Bt2	0.0	0.03
Testigo2	4.4	1.8
Bt3	0.1	0.1
Testigo3	4.9	1.4

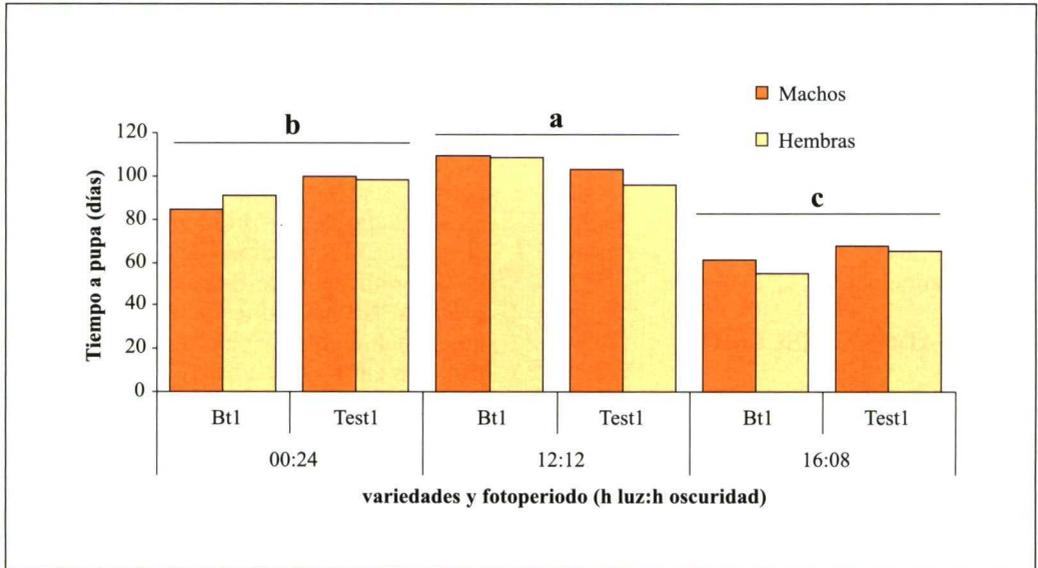


Figura 1. Duración de la diapausa de las larvas de *S. nonagrioides* desarrolladas en la variedad Bt1 (Compa con el evento 176) y testigo 1 (Dracma) en diferentes fotoperiodos. Diferentes letras sobre las columnas correspondientes de cada fotoperiodo indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la duración del desarrollo para cada fotoperiodo.

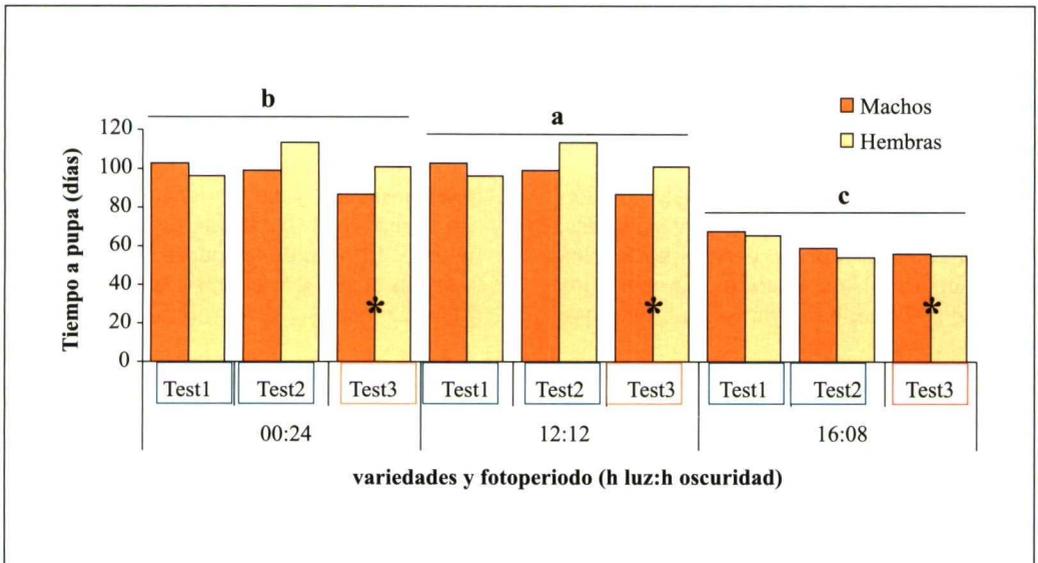


Figura 2. Duración de la diapausa de las larvas de *S. nonagrioides* desarrolladas en las variedades isogénicas (testigo 1, testigo 2 y testigo 3) en diferentes fotoperiodos. Diferentes letras sobre las columnas correspondientes a cada fotoperiodo indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la duración del desarrollo para cada fotoperiodo. En cada fotoperiodo, las columnas correspondientes a cada variedad con asteriscos indican duración del desarrollo significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ).

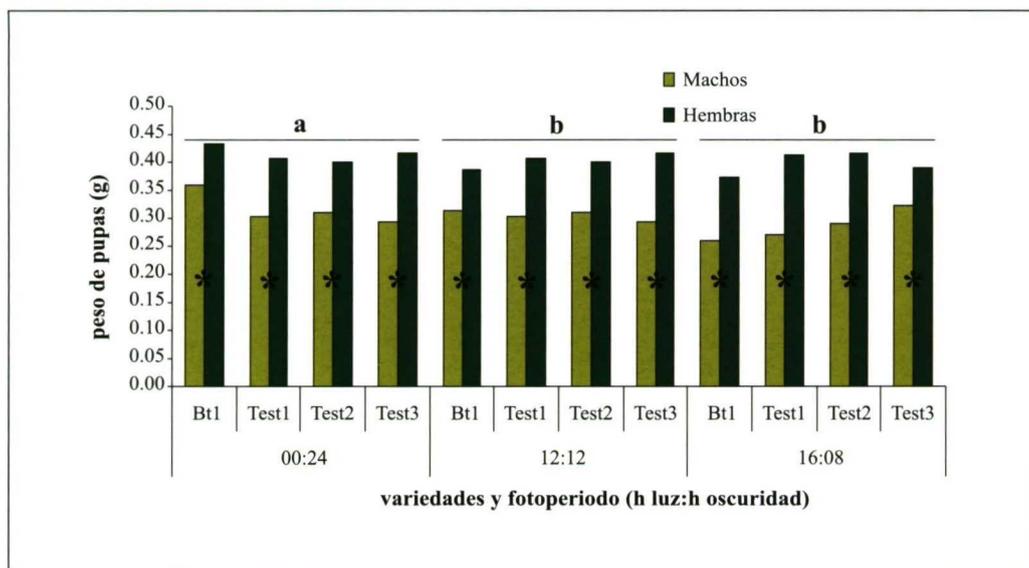


Figura 3. Peso medio de las pupas de *S. nonagrioides* desarrolladas sobre las variedades isogénicas y la variedad Bt1 en diferentes fotoperiodos. Diferentes letras sobre las columnas correspondientes a cada fotoperiodo indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el peso de las pupas para cada fotoperiodo. Los asteriscos sobre las columnas indican diferencias significativas entre sexos para cada variedad y fotoperiodo.

( $\chi \leq 0.05$ ). En todos los casos las larvas sometidas a oscuridad completa alcanzaron unos pesos de pupas más elevados que aquellas sometidas a un fotoperiodo de 12:12 o de 16:8, pudiendo ser debido a que las larvas de *S. nonagrioides* en oscuridad completa se alimenten durante más tiempo que las larvas sometidas a noches cortas. Además, como se ha explicado con anterioridad las larvas de *S. nonagrioides* en diapausa siguen alimentándose y mudando, por tanto no paran su crecimiento. FANTINO *et al.* (2004) observaron una correlación positiva entre el peso de las pupas y la duración de diapausa. A su vez las hembras en todos los casos obtuvieron pesos superiores al de los machos. No hubo diferencias en el peso de las pupas entre las larvas desarrolladas en las diferentes variedades ensayadas, hecho que se ve repetido en otras especies de Noctuidos, como en *Heliothis virescens* (Fabricius) y *Helicoverpa zea* (Boddie) en las que no se encontraron diferencias entre los pesos de las pupas de ambas

especies desarrolladas en cultivo de algodón transgénico y no transgénico (HALCOMB *et al.*, 1996).

Las figuras 4 y 5 muestran la duración de diapausa de las larvas de *O. nubilalis*, medida como el número de días necesarios para pupar en los distintos fotoperiodos ensayados. En este caso ni los diferentes fotoperiodos estudiados, ni la procedencia de las larvas, ni el sexo modificaron el desarrollo de diapausa, aunque sí existe una tendencia a que las larvas sometidas a oscuridad completa se desarrollen en menos tiempo que las larvas sometidas a los otros dos fotoperiodos (12:12 y 16:8). Los resultados obtenidos difieren de los obtenidos con *S. nonagrioides* en el sentido de que en esta especie el fotoperiodo largo acelera la terminación de la diapausa mientras que en *O. nubilalis* parece acelerarla la oscuridad completa. Sin embargo, MCLEOD Y BECK (1963) mostraron que el desarrollo de diapausa en *O. nubilalis* fue acelerado por fotoperiodo de día

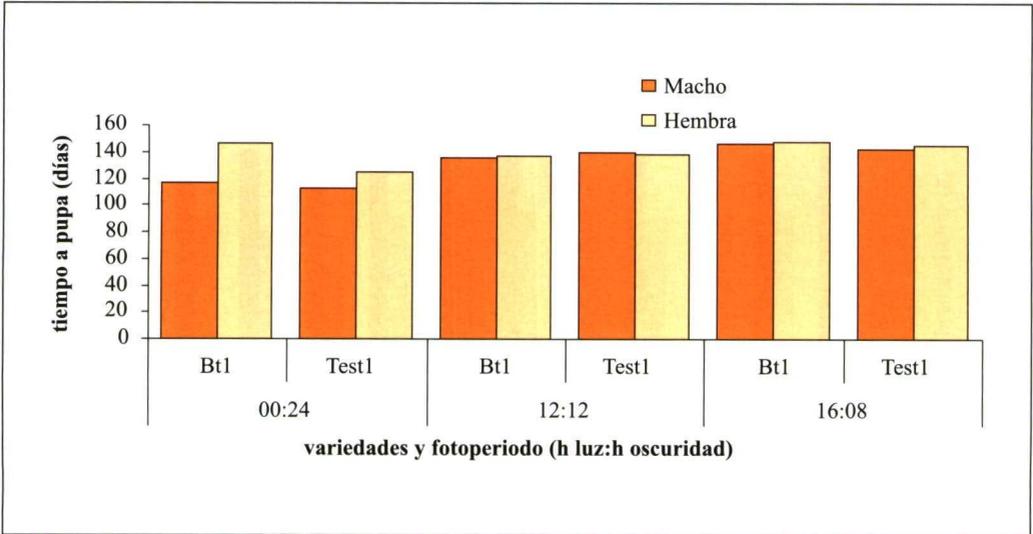


Figura 4. Duración de diapausa de las larvas de *O. nubilalis* desarrolladas en la variedad Bt1 (Compa con el evento 176) y testigo 1 (Dracma) en diferentes fotoperiodos.

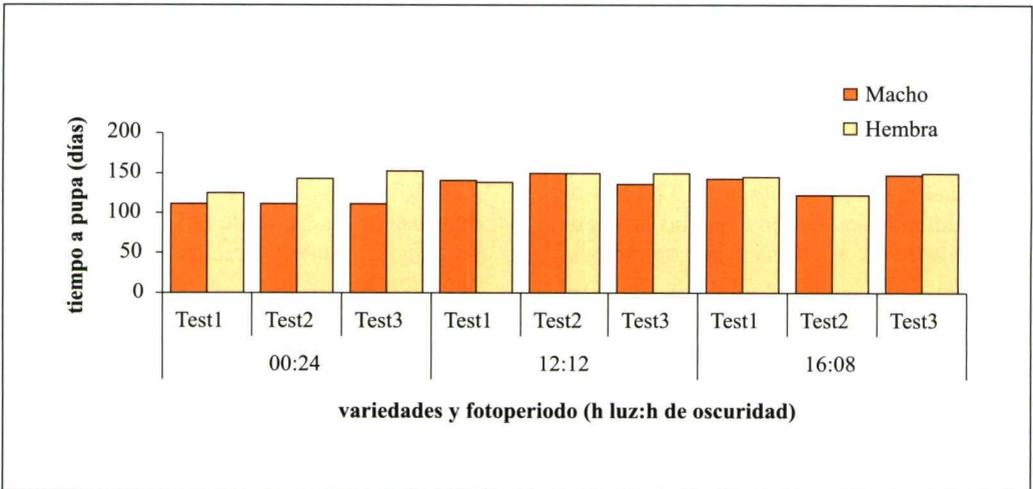


Figura 5. Duración de la diapausa de las larvas de *O. nubilalis* desarrolladas en las variedades isogénicas (testigo 1, testigo 2 y testigo 3) en diferentes fotoperiodos.

largo, de forma similar a lo que ocurre con *S. nonagrioides*.

Como se observa en la figura 6, tanto el fotoperiodo como el sexo y las variedades tuvieron influencia sobre el peso de las pupas resultantes ( $\chi \leq 0.05$ ). Las larvas que se

desarrollaron en oscuridad completa dieron lugar a las pupas de mayor peso como en el caso de *S. nonagrioides*, aunque las larvas diapausantes de *O. nubilalis* a diferencia de las de *S. nonagrioides* no se alimentan, y por lo tanto no van aumentando de peso. El

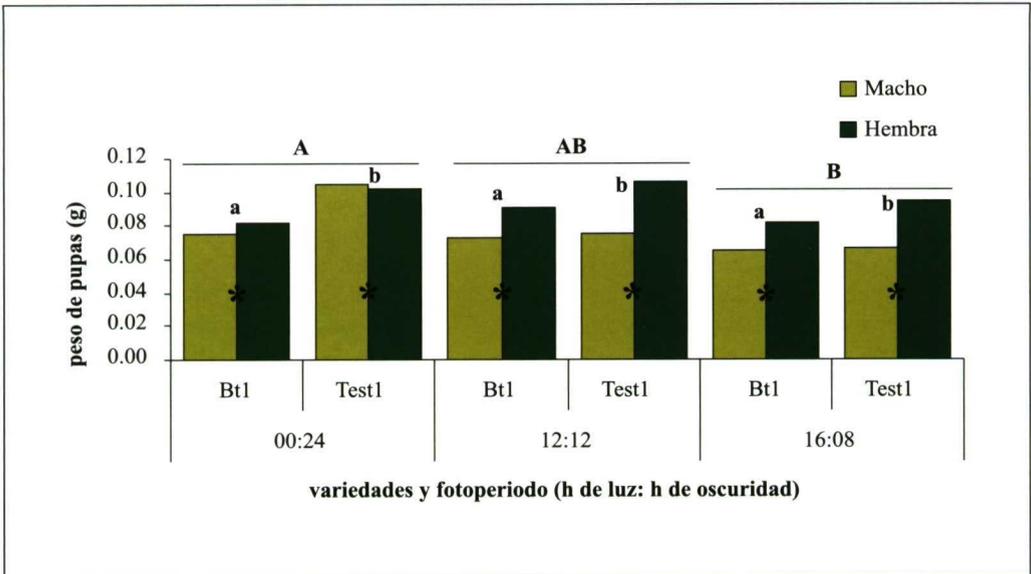


Figura 6. Peso medio de las pupas de *O. nubilalis* desarrolladas sobre la variedad Bt1 y testigo 1 en diferentes fotoperiodos. Diferentes letras mayúsculas sobre las columnas correspondientes indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el peso de las pupas entre fotoperiodos. Diferentes letras minúsculas sobre las columnas en cada fotoperiodo indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre variedades. Los asteriscos indican las diferencias significativas entre sexos.

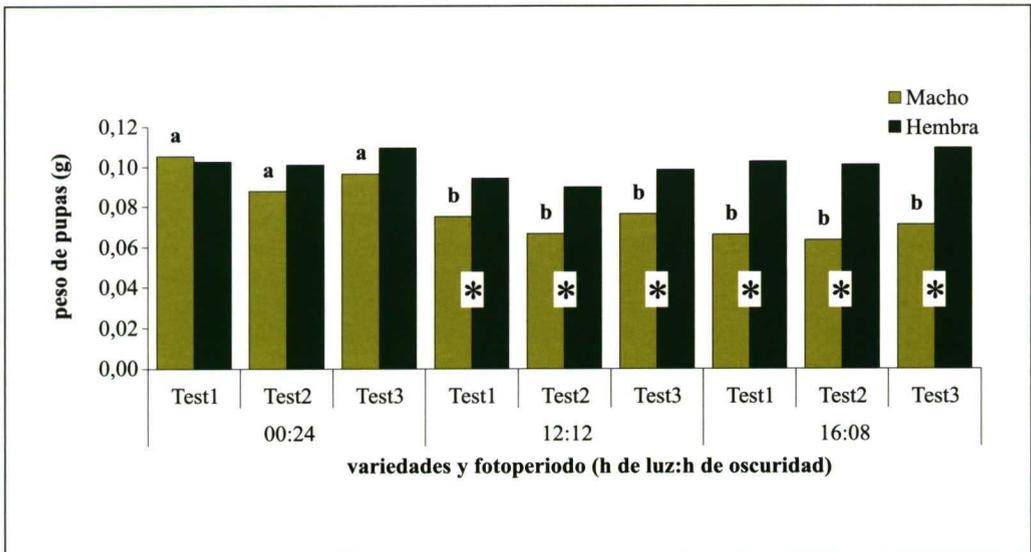


Figura 7. Peso medio de las pupas de *O. nubilalis* desarrolladas sobre las variedades isogénicas (testigo 1, testigo 2 y testigo 3) en diferentes fotoperiodos. Letras distintas sobre las columnas del peso de los machos indican diferencias significativas en el fotoperiodo correspondiente. Dentro de cada variedad y fotoperiodo, los asteriscos sobre las columnas indican pesos distintos entre machos y hembras.

Cuadro 3. Porcentaje de parasitismos de *S. nonagrioides* y *O. nubilalis*.

	% Parasitismo	Larvas totales
<i>S. nonagrioides</i>	0.4	494
<i>O. nubilalis</i>	5.41	185

hecho de que las larvas de *O. nubilalis* completen su diapausa más rápidamente en oscuridad completa que en los otros fotoperiodos (figura 4 y 5) puede conllevar que las larvas, que no se alimentan, pierdan menos peso por deshidratación y las pupas resultantes pesen más, resultado por contrastar. Como se va repitiendo en todos los análisis las hembras alcanzaron pesos superiores a los machos. Además, en el presente análisis se observó que las larvas que se recogieron de las parcelas testigo 1 (*Dracma*) alcanzaron pesos más elevados que aquellas que se encontraron en las parcelas con la variedad Bt1 (*Compa*) manifestando así cierto efecto la variedad transgénica en la que se alimentaron. Este efecto se debe ratificar, ya que en otros estudios realizados no se detectaron diferencias en el peso de las pupas de *O. nubilalis* cuyas larvas fueron o no expuestas a dosis subletales de la toxina (SIEGFRIED *et al.* 2001), pero sí que las larvas de *Helicoverpa Zea* que crecieron sobre maíz Bt alcanzaron un menor peso de las pupas de aquellas que se desarrollaron sobre plantas isogénicas (STORER *et al.* 2001).

En la figura 7 se refleja el peso medio de las pupas de hembras y de machos de *O. nubilalis* según el fotoperiodo ensayado y las variedades isogénicas en las que se desarrollaron las larvas. El fotoperiodo, el sexo y las variedades tuvieron influencia sobre el peso de las pupas resultantes ( $\chi \leq 0.05$ ). La diferencia de peso de las pupas según el fotoperiodo se dio sólo en los macho (interacción

fotoperiodo\*sexo significativa), así las pupas machos resultantes de larvas desarrolladas en oscuridad completa alcanzaron un peso mayor que las restantes. No hubo diferencias de peso en las pupas hembras resultantes de larvas desarrolladas en distintos fotoperiodos o en distintas variedades. Las pupas hembras alcanzaron pesos superiores a los machos, excepto en las larvas desarrolladas en oscuridad completa en las que no hubo diferencias entre sexos.

El único parásito encontrado en las larvas de ambas especies muestreadas en campo fue *Lydella thompsoni* (Herting), el porcentaje de parasitismo por el taquírido se muestra en el cuadro 3. Como ya indican Monetti *et al.* (2003) este díptero muestra una preferencia de huésped para parasitar las larvas invernantes de *O. nubilalis* a las de *S. nonagrioides*. Sin embargo, cuando se realizó una prueba chi-cuadrado (cuadro 4) para comparar la proporción de larvas de *O. nubilalis* parasitadas entre las plantas transgénicas y sus isogénicas correspondientes (testigos) no se observaron diferencias entre tratamientos (Bt vs noBT) ( $\chi \geq 0.05$ ), observación diferente a los datos obtenidos por Siegfried *et al.* (2001) o BOURGUET *et al.* (2002), quienes observaron que las larvas de *O. nubilalis* que se habían desarrollado sobre maíz Bt tenían un menor índice de parasitismo que aquellas larvas que habían completado su desarrollo sobre maíz convencional.

En resumen se puede decir que el número de larvas neonatas por planta recogido en las

Cuadro 4. Número de larvas observadas en las diferentes condiciones de *O. nubilalis*.

	Parasitada	No Parasitada	Total
<b>Bt</b>	2	46	48
<b>No Bt</b>	8	129	137
<b>Total</b>	10	175	185



Figura 8. Cadáver de larva de *S. nonagrioides* parasitada. Exuvio de pupa y adulto recién emergido de *L. thompsoni*

variedades de maíz transgénico con el evento MON810 ha sido prácticamente nulo, por lo que los estudios posteriores deberán realizarse con larvas de mayor edad. El evento Bt 176 ha permitido la supervivencia de larvas neonatas tanto de *S. nonagrioides* como de *O. nubilalis*, lo que indica un bajo contenido en Bt en otoño.

No ha habido diferencias ni en la duración de la diapausa de *S. nonagrioides* ni en el peso de las pupas resultantes entre las larvas desarrolladas en variedades transgénicas o sus isogénicas correspondientes. La duración de la diapausa de las larvas desarrolladas en las tres variedades isogénicas y en la

variedad que contiene el evento 176 fue más corta a fotoperiodo de 16:8 y el peso de las pupas más elevado se dió en un fotoperiodo de 0:24.

La duración de diapausa de las larvas de *O. nubilalis* desarrolladas en las variedades Bt1 y Test1 fue igual en los tres fotoperiodos ensayados, aunque se observó una tendencia repetida a que la duración de la diapausa en larvas sometidas a oscuridad completa fuera menor. Las pupas resultantes de larvas de *O. nubilalis* sometidas a oscuridad completa presentaron, en general, pesos más elevados. Las pupas de *O. nubilalis* de las larvas desarrolladas en la variedad testigo 1 (Dracma) resultaron tener más peso que las pupas de las larvas desarrolladas en la variedad transgénica (Compa).

El parásito *L. thompsoni* prefirió como huésped las larvas de *O. nubilalis* a las de *S. nonagrioides*. La proporción de larvas de *O. nubilalis* parasitadas fue la misma entre plantas transgénicas y sus isogénicas correspondientes.

## AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a Joan Safont por su ayuda en las labores de campo. Los resultados incluidos en el presente artículo fueron financiados por el proyecto AGL2005-06485.

## ABSTRACT

PÉREZ, M., C. LÓPEZ, M. EIZAGUIRRE. 2008. Effect of the photoperiod in the diapause termination in larvae of *Sesamia nonagrioides* and *Ostrinia nubilalis* developed in different varieties of transgenic maize and the corresponding isogenics. *Bol. San. Veg. Plagas*, 34: 257-266.

The increasing introduction of transgenic maize in Spain is causing important changes in the populations of corn borers and its ecophysiology, changes still remain to be studied. In the event Bt 176 of transgenic maize nowadays not authorized, the concentration of protein of *Bacillus thuringiensis* was decreasing in old corn, so that in autumn some larvae could be found in the fields. The implementation of maize with the event MON810 suggested the possibility of studying the survival of larvae in old corn and some aspects of their diapause. To accomplish this, 6 varieties of corn, one with the event Bt 176, two with the event MON 810 and the corresponding three isogenics with neonate larvae of *Sesamia nonagrioides* (Lefèbvre) and hopping for a natural infestation of *Ostrinia nubi-*

*lalis* (Hübner). The larvae of *S. nonagrioides* withdrawals from the event Bt176 supposed 14% of the total of larvae sampled for this of this species, whereas 25% was the total sampled for *O. nubilalis*. Nevertheless, in the varieties with the event MON 810 only 0,25% and a 1,9% of *S. nonagrioides* and *O. nubilalis* larvae were found, respectively. Larvae gathered in the event Bt 176 did not show differences in the diapause intensity. The effect of the photoperiod in the completion of the diapause was different for both species, the long photoperiod was accelerating the completion of diapause in *S. nonagrioides* whereas darkness seemed to have a more pronounced effect in *O. nubilalis*. Parasitism of *Lydella thompsoni* was of 5% for the total of *O. nubilalis* larvae and 0,4% for *S. nonagrioides*. This indicates the preference of this taquinid to the European corn borer.

**Key words:** Corn borers, parasitism.

#### REFERENCIAS

- ALFARO, A. 1972. Notas sobre *Ostrinia nubilalis* (Hüb.) *Sesamia nonagrioides* (Lef.). *An. INIA Ser. Prot.* **2**: 145-170.
- BOURGUET, D., CHAUFAX, J., MICOUD, A., DELOS, M., NAIBO, B., BOMBARDE, F., MARQUE, G., EYCHENNE, N., PAGLIARI, C. 2002. *Ostrinia nubilalis* parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacillus thuringiensis* corn (*Zea mays*). *Environ. Biosaf. Res.* **1**: 49-60.
- EIZAGUIRRE, M. 1989. Inducción de la diapausa en *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae) y su papel en el ciclo biológico en la comarcas de Lérida. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Catalunya. Lleida.
- EIZAGUIRRE, M., ALBAJES, R. 1992. Diapausa induction in the stem corn borer, *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomol. Gen.* **17**: 277-283.
- EIZAGUIRRE, M., LÓPEZ, C., SANS, A. 2002. Maize phenology influences field diapause induction of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera:Noctuidae). *Bull. Entomol. Res.* **92**: 439-443.
- EIZAGUIRRE, M., TORT, S., LÓPEZ, C., ALBAJES, R. 2005. Effects of sublethal concentrations of *Bacillus thuringiensis* on larval development of *Sesamia nonagrioides*. *J. Econ. Entomol.* **98**: 464-470.
- FANTINOU, A. A., KARANDINOS, M. G., TSITSIPIS, J. A. 1995. Diapause induction in the *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera:Noctuidae) effect of photoperiod and temperature. *Environ. Entomol.* **24**: 1458-1466.
- FANTINOU, A. A., TSITSIPIS, J. A., KARANDINOS, M. G. 1998. Diapause terminacion in *Sesamia* under laboratory and field condition. *Environ. Entomol.* **27**: 53-57.
- FANTINOU, A. A., PERDIKIS, D. C. H., ZOTA, K. F. 2004. Reproductive responses to photoperiod and temperature by diapausing and nondiapausing populations of *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera-Noctuidae). *Physiol. Entomol.* **29**: 169-175.
- FEARING, P. L., BROWN, D., VLACHOS, D., MEGHJI, M., PRIVALLE, L. 1997. Quantitative analysis of CryIA (b) expression in Bt maize plants, tissues and silage and establiity of expression over successive generation. *Mol. Breed.* **3**: 169-176.
- HALCOMB, J. L., BENEDICT, J. H., COOK, B., RING, D. R. 1996. Survival and growth of bollworm and tobacco budworm on nontransgenic and transgenic cotton expressing a CryIA insecticidal protein (Lepidoptera:Noctuidae). *Environ. Entomol.* **25**: 250-255.
- HUDON, M., LEROUX, E. J. 1986. Biology and populations dynamics of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* whit special reference to sweet corn in Québec. Systematics, morphology, geographical distribution, host range economic importance. *Phytoprotect.* **67**: 39-54.
- MCLEOD, D. G. R., BECK, S. D. 1963. Photoperiodic termination of diapausa in an insect. *Bio. Bull.* **124**: 84-96.
- MONETTI, L., MALVAR, R. A., ORDAS, A., CORDERO-RIVERA, A. 2003. Parasitoids incidents and diversity on maize stem borers *Sesamia nonagrioides* Lefebvre and *Ostrinia nubilalis* Hübner in NW Spain. *Maydica* **48**: 133-139.
- SAS Institute. 2001. SAS/STAT user's guide, version 8.2, CARY, NC.
- SIEGFRIED, B. D., ZOERB, A. C., SPENCER, T. 2001. Development of European corn borer larvae on event 176 Bt corn: influence on survival and fitness. *Entomol. Exp. Appl.* **100**: 15-20.
- STORER, N. P., VAN DUYN, J. W., KENNEDY, G. G. 2001. Life history traits of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera:Noctuidae) on non-Bt and Bt transgenic corn hybrids in North Carolina. *J. Econ. Entomol.* **94**: 1268-1279.

(Recepción: 6 febrero 2008)

(Aceptación: 28 mayo 2008)

## Desarrollo larvario y número de estadios larvarios de *Pseudaletia unipuncta* alimentada con dos variedades de maíz y dos dietas semisintéticas

C. LÓPEZ, F. MADEIRA, X. PONS, M. EIZAGUIRRE

*Pseudaletia (Mythimna) unipuncta* (Haworth) es una plaga defoliadora del maíz presente año tras año en la Cuenca del Ebro, que realiza en el maíz daños esporádicos pero a veces devastadores. La implantación creciente de maíz resistente a taladros ha producido, en la zona del presente estudio, la disminución casi total de los daños debidos a los taladros *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) y *Ostrinia nubilalis* (Hübner). Sin embargo, no se sabe aún cómo el incremento de maíz transgénico puede afectar a las poblaciones de *P. unipuncta*.

Actualmente no hay datos sobre biología o parámetros del desarrollo de la especie en la Península Ibérica necesarios para evaluar los posibles efectos de las nuevas variedades utilizadas. Para ello es necesario primero establecer un método de cría adecuado y posteriormente iniciar los estudios sobre la biología de la misma.

En el presente trabajo se planteó conocer diferentes parámetros del desarrollo larvario de poblaciones locales de *P. unipuncta* alimentada sobre hoja de maíz (variedades Tietar y PR33P66) y sobre dos dietas semisintéticas, una a base de alubias, *Phaseolus vulgaris*, y otra a base de maíz, *Zea mays*. Los resultados mostraron que las larvas desarrolladas en dieta a base de alubias sufrieron menor mortalidad, que las desarrolladas con planta o sobre la otra dieta, además el peso de las pupas resultantes fue mayor y presentaron menos malformaciones. En cuanto al número de estadios larvarios, la mayoría pupó tras seis mudas larvarias, necesitando, las de dieta de maíz, estadios larvarios adicionales. Estos resultados indican que la dieta a base de alubias es la más adecuada para posteriores trabajos con esta especie.

C. LÓPEZ, F. MADEIRA, X. PONS, M. EIZAGUIRRE. Centre UdL-IRTA Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida. E-mail: carmen.lopez@pvcf.udl.cat

**Palabras clave:** cría

### INTRODUCCIÓN

*Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera: Noctuidae) es una especie polífaga cuyas voraces larvas se alimentan de un gran número de gramíneas y otras plantas herbáceas (BALACHOWSKY, 1972; MAUND, 2002; CAPINERA, 2006). Está presente en los cinco continentes pero su biología en la Península Ibérica no es muy conocida. En Cataluña presenta cuatro vuelos. La segunda genera-

ción causa daños de importancia en campos de maíz y la tercera en céspedes de jardín (LÓPEZ *et al.* 2000). La importancia de los ataques al maíz ha crecido en los últimos años; este hecho unido al incremento de la superficie de maíz transgénico sugiere la necesidad de estudiar el efecto de estas nuevas variedades sobre el insecto. Antes de iniciar estudios de este tipo es necesario obtener datos sobre la biología y metodologías de cría del insecto en laboratorio para poder



Figura 1. Adultos de *P. unipuncta* apareándose sobre caña de maíz.



Figura 2. Larva desarrollada de *P. unipuncta* alimentándose de hoja de maíz.

posteriormente hacer estudios comparativos, tanto en el campo como en el laboratorio. El objetivo de este trabajo es el conocimiento de los parámetros biológicos básicos del desarrollo de la población de *P. unipuncta* en condiciones de laboratorio con dos dietas semisintéticas y dos variedades de maíz.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Población de partida

La población originaria fueron adultos procedentes de campos de maíz en la zona del Segrià (Lleida, Cataluña) capturados con trampas de luz. Los adultos, machos y hembras, se dispusieron en jaulas de reproducción con plantas de maíz. Las hembras apareadas, previamente en el campo o ya en las

jaulas, realizaron la puesta sobre las plantas de maíz. Las larvas que resultaron de estas puestas fueron las utilizadas en los ensayos.

### Alimentación

El factor que se analizó fue la alimentación. Las larvas fueron alimentadas con dietas semisintéticas o con hojas de planta de maíz.

Las dietas semisintéticas utilizadas fueron una a base de alubias (*Phaseolus vulgaris*) modificada de SHOREY & HALE (1965) y otra a base de maíz utilizada para *Sesamia nonagrioides* por EIZAGUIRRE Y ALBAJES (1992). Las composiciones respectivas se recogen en el cuadro 1. Para preparar la primera de estas dietas se utilizaron alubias comerciales para consumo humano blancas largas de la marca Garrido, éstas se dejaron en remojo durante

Cuadro1. Composición de las dietas semisintéticas.

Componentes	Dieta alubias	Dieta maíz
Alubias	100g	
Levadura de cerveza	30g	30g
Germen de Trigo		30g
Harina de maíz		110g
Ácido Ascórbico	3g	5g
Ácido Sórbico	1g	2g
Methyl-4-hidroxibenzoato	2g	
Formaldehido	2ml	
Agar-agar	12g	16g
Agua	600ml	700ml

24 horas y posteriormente se trituraron antes de ser utilizadas, el peso referido en el cuadro 1 corresponde a las alubias secas antes de poner en remojo.

Las variedades de maíz utilizadas fueron Tietar (Monsanto Co) ciclo 700 y PR33P66 (P66) (Pioneer) ciclo 600. Se utilizaron hojas de plantas criadas en macetas en invernadero; el tamaño de las mismas en el momento de la utilización fue V6 (RITCHIE Y HANWAY, 1982). Las hojas se lavaron y secaron antes de ser utilizadas, se cortaron en trozos de aproximadamente  $3 \times 2 \text{ cm}^2$ .

En todos los casos, las larvas se alimentaron *ad libitum* desde la eclosión de los huevos hasta la pupación, añadiendo hoja o dieta, según el tratamiento, cuando fue necesario, es decir cuando faltó alimento o éste estaba deteriorado.

#### Condiciones de cría

Estas larvas se desarrollaron individualmente en cajas de cría de material plástico translúcido (53 mm de  $\varnothing$  y 32 mm de altura)

en unas condiciones de  $25^\circ\text{C} \pm 1$  y 16:8 (h luz: h oscuridad). El número de larvas utilizado fue el mismo para todos los tratamientos.

#### Registro y análisis de datos

Se realizaron observaciones diarias de mortalidad, número de estadios larvarios, duración del desarrollo, peso de las pupas y malformación de las mismas.

Se analizaron los diferentes tratamientos mediante pruebas ANOVA ( $P < 0,05$ ) y cuando existieron diferencias significativas se realizó una separación de medias mediante la Prueba de Duncan de Rangos Múltiples, todo ello mediante el paquete estadístico SAS (SAS, 2001)

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Porcentaje de mortalidad

Los porcentajes de mortalidad para cada tratamiento están recogidos en la figura 3.

La mortalidad de las larvas desarrolladas en dieta de alubias fue menor del 7% y sig-

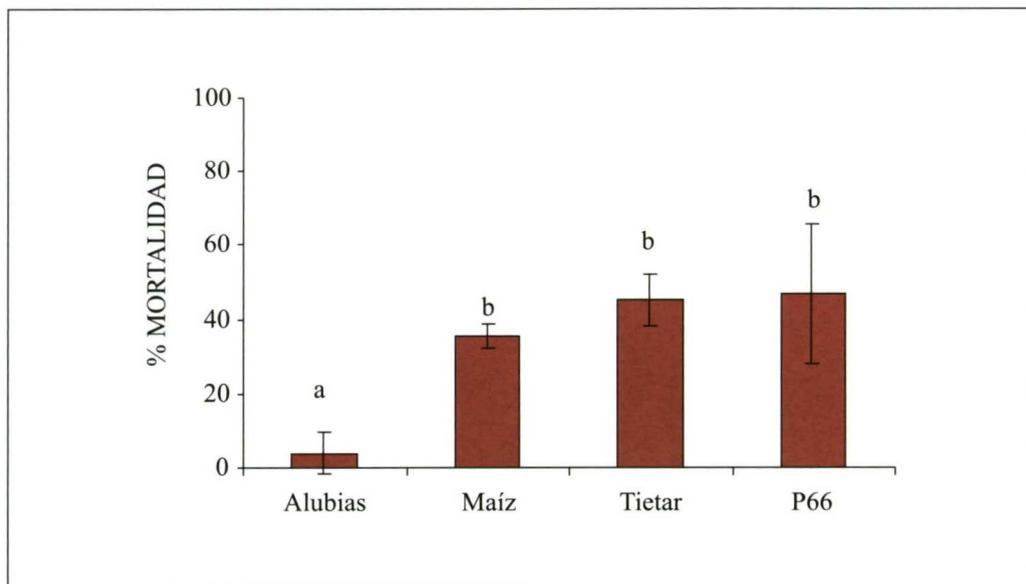


Figura 3. Porcentaje de mortalidad de individuos de *P. unipuncta* alimentados con dieta de alubias, dieta de maíz y plantas de maíz de las variedades Tietar y P66. Las barras con las mismas letras no presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

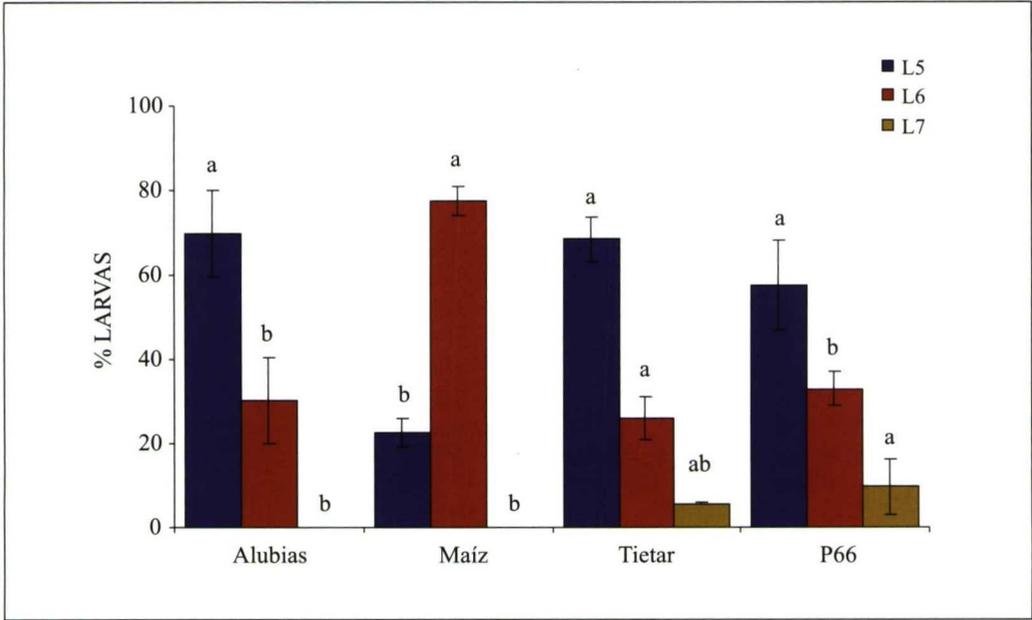


Figura 4. Porcentaje del número de estadios larvarios de *P. unipuncta* alimentadas con dieta alubias, dieta de maíz y plantas de maíz de las variedades Tietar y P66. Las barras con las mismas letras no representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

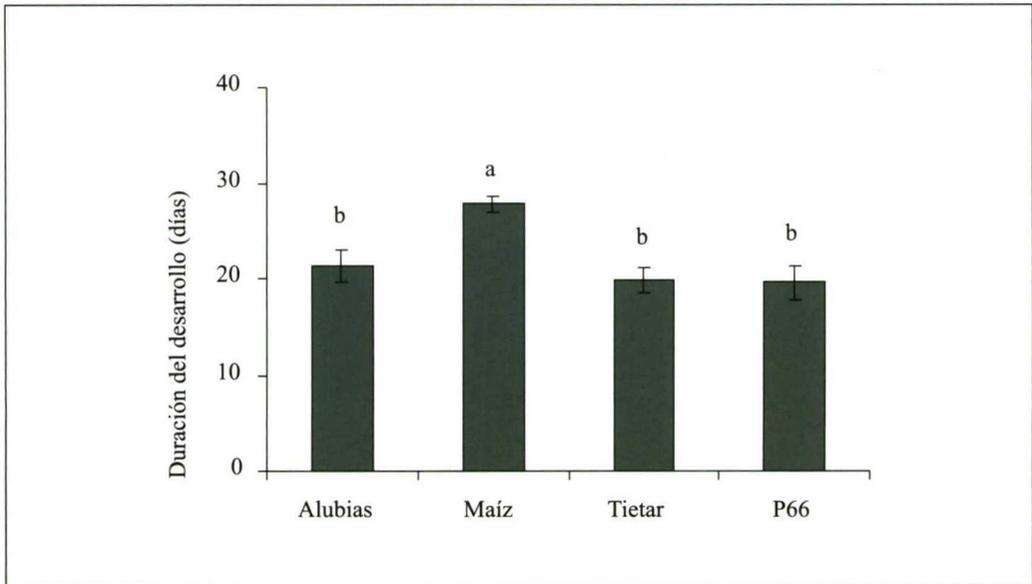


Figura 5. Duración del desarrollo larvario en días de larvas de *P. unipuncta* alimentadas con dieta de alubias, dieta de maíz y plantas de maíz de las variedades Tietar y P66. Las barras con las mismas letras no representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

nificativamente inferior a las obtenidas con las larvas desarrolladas tanto en la dieta como en las plantas de maíz siendo en estos casos superior al 40 %. Además se ha constatado que la mortalidad fue más elevada en los primeros estadios que en los últimos.

**Número de estadios larvarios**

El número de estadios larvarios por los que pasaron las larvas antes de pupar están recogidos en la figura 4. En conjunto, las larvas se desarrollaron en 5, 6 ó 7 estadios larvarios antes de pupar. Las larvas desarrolladas en dieta pasaron por 5 ó 6 estadios y las desarrolladas en planta por 5, 6 ó 7. Lo que indica que la planta produjo mayor variabilidad en cuanto al número de estadios.

Las larvas alimentadas con dieta de alubias y planta (ambas variedades) pasaron mayoritariamente por 5 estadios mientras que las desarrolladas en la dieta de maíz,

mayoritariamente en 6 estadios larvarios. Un mayor número de estadios larvarios puede ser un indicio de un menor valor nutricional de una dieta (SLANSKY Y RODRIGUEZ, 1987)

**Duración del desarrollo**

En condiciones de laboratorio a 25°C la dieta a base de maíz alargó significativamente el desarrollo de las larvas (figura 5). Este hecho probablemente esté relacionado con el número de estadios, ya que con este tipo de alimentación, como dijimos anteriormente, la mayoría de larvas pasaron por 6 estadios. Otros autores han constatado el aumento de la duración del desarrollo con el aumento del número de estadios (EIZAGUIRRE *et al.* 1994).

También ha sido demostrado por SINGH Y REMBOLD (1998) que las larvas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) requieren un estadio adicional y un mayor periodo de desarrollo al alimentar-

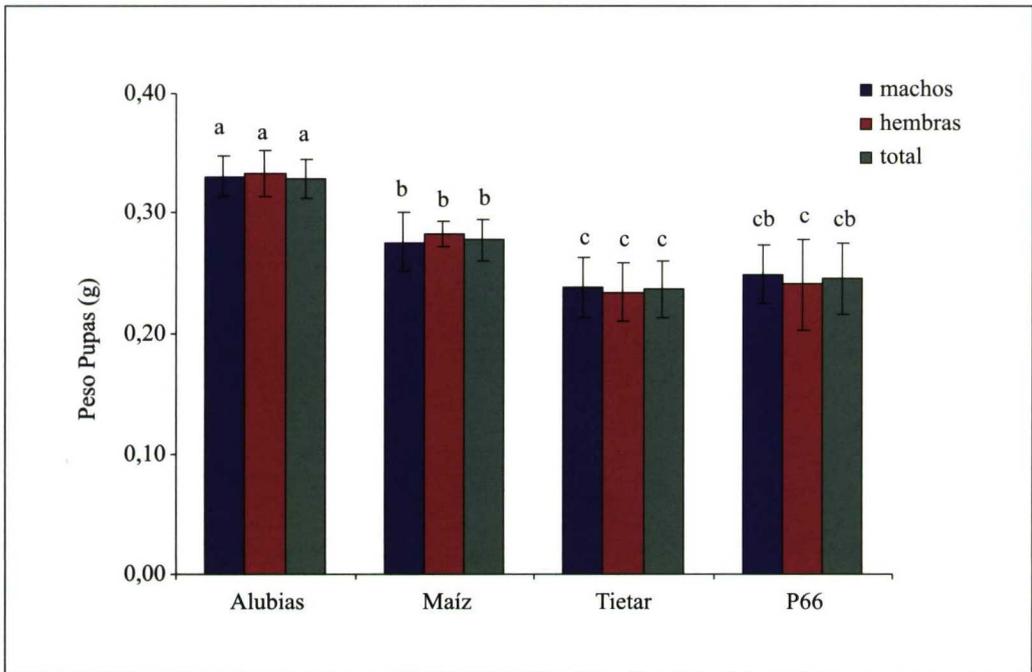


Figura 6. Peso de las pupas de *P. unipuncta* alimentadas con dieta de alubias, dieta de maíz y plantas de maíz de las variedades Tietar y P66. Las barras con las mismas letras no representan diferencias significativas (p<0.05).

se con dieta a base de maíz que al hacerlo con la dieta de soja o la de garbanzos. Singh (1999) además evidencia que este hecho es debido tanto al bajo valor nutricional de la dieta de maíz como a la baja tasa de consumo de las larvas en esta dieta y añade que estos dos factores retardan el crecimiento y el desarrollo de las larvas. En nuestro caso, no podemos constatar este hecho ya que no hemos calculado la cantidad de alimento, dieta o planta, ingerida por cada larva.

### Peso de las pupas

Las larvas alimentadas con dieta de alubias dieron lugar a las pupas de mayor peso (figura 6) siendo la diferencia significativa en los dos sexos. Este hecho sólo se explica por el hecho de que este tipo de alimentación tenga mayor valor nutricional, ya que normalmente, insectos que se desarrollan en más tiempo, suelen tener mayores pesos.

Un mayor peso de las pupas puede ser un factor importante para la fecundidad de la especie. En trabajos previos (resultados sin publicar) hemos observado que adultos procedentes de cría con dieta a base de maíz presentaban problemas al aparearse y en muchos casos no se obtuvo descendencia. En este sentido, NAVA Y PARRA (2005) concluyen que una mayor fecundidad de *Stenona catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae) podría estar relacionada con la diferencia de peso de las pupas y de los adultos procedentes de éstas, y que adultos con mayor peso produjeron mayor número de huevos por adulto.

### Malformación de pupas

Consideramos como pupa malformada (figura 7 a, b) cualquier desviación, por ligera que sea, de la pupa perfecta (Figura 7c) ya que hemos comprobado que pupas con una leve franja sin esclerotizar (<1 mm) producía adultos que presentaron problemas al volar.

El porcentaje de pupas malformadas fue inferior al 18% en las larvas desarrolladas en plantas de maíz o dieta de alubias, sin embargo el porcentaje de pupas malformadas fue significativamente superior en las desarrolladas en la dieta de maíz (>50%) (figura 8). Como en el caso anterior, este hecho podría achacarse al valor nutricional del maíz, pero este hecho está por determinar. Algunos autores relacionan la baja permeabilidad de los contenedores de cría con el desarrollo de adultos deformes y con la mortalidad de las larvas en varias especies de noctuidos (SHOREY *et al*, 1965); en nuestro caso, todas las cajitas de cría utilizadas fueron iguales por lo que su posible efecto sobre los tratamientos puede suponerse igual.

Para posteriores estudios necesitamos una dieta que permita un desarrollo rápido de los insectos, una supervivencia alta de las larvas, que sea fácil y barata de preparar y con la que se obtengan individuos viables. Según SINGH (1983) una dieta sólo puede considerarse adecuada para la cría de un insecto cuando presenta una supervivencia en la fase larvaria superior 75%.

Acorde con este autor, la dieta a base de maíz, que resulta adecuada para la cría de otras especies como *S. nonagriorides* (EIZA-

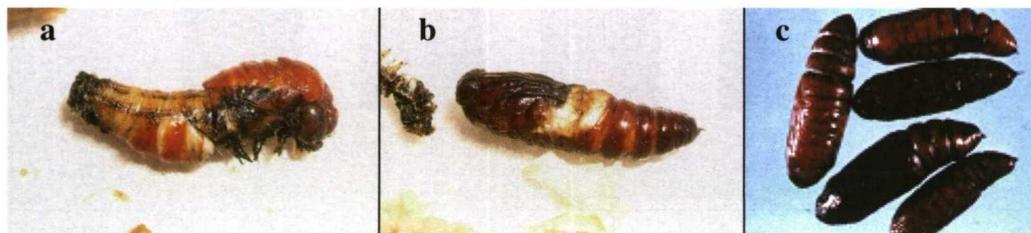


Figura 7. Pupas de *P. unipuncta*: (a) y (b) malformadas, (c) normales.

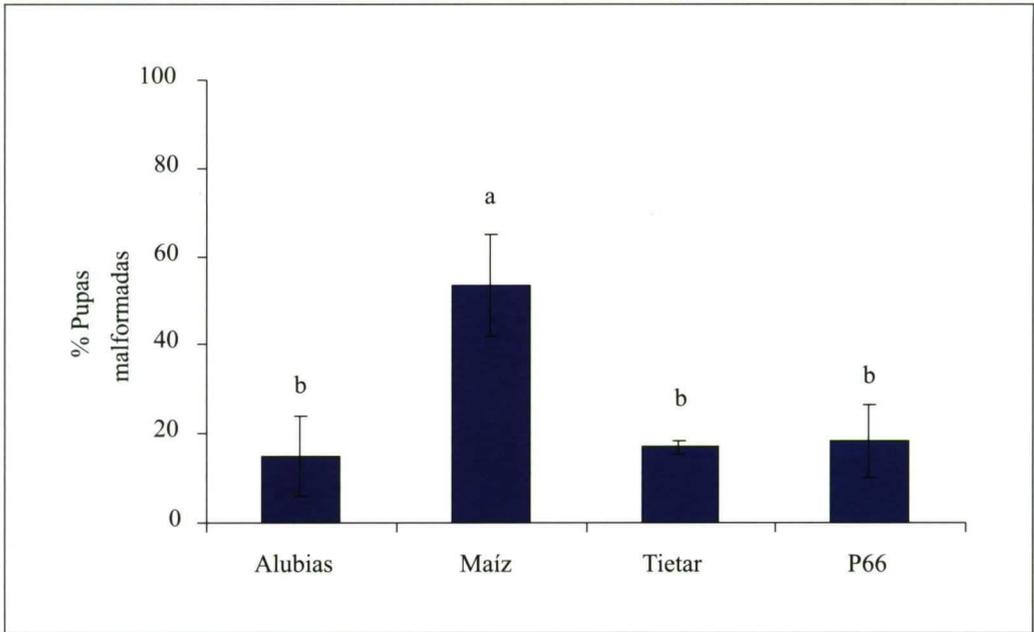


Figura 8. Porcentaje de pupas malformadas de *P. unipuncta* alimentadas con dieta de alubias, dieta de maíz y plantas de maíz de las variedades Tietar y P66. Las barras con las mismas letras no representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

GUIRRE Y ALBAJES, 1992) no es nada adecuada para la cría de *P. unipuncta* ya que alarga el desarrollo larvario, produce menos pupas debido a la mayor mortalidad larvaria y a que muchas de las pupas obtenidas presentan malformaciones (cerca del 50 %), por lo que no se recomienda su utilización.

La alimentación a base de hoja de maíz, a pesar de tener resultados semejantes a los de la dieta a base de alubias respecto a la duración del desarrollo y al porcentaje de pupas malformadas, produce una alta mortalidad entre las larvas por lo que sólo se

recomienda en caso de que por necesidades del estudio fuera necesario utilizar planta; además, estas dietas son más costosas de producir por la necesidad de disponer de planta continuamente con los inconvenientes y encarecimiento del método que esto conlleva.

La alimentación recomendada para la cría de *P. unipuncta* y en estudios posteriores es la elaborada a base de alubias ya que produce mayor número de pupas, de mayor tamaño y menor número de pupas malformadas (<20%).

#### ABSTRACT

LÓPEZ, C., F. MADEIRA, X. PONS, M. EIZAGUIRRE. 2008. Larval development and number of larval instars of *Pseudaletia unipuncta* fed with two maize varieties and two artificial diets. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 267-274.

*Pseudaletia (Mythimna) unipuncta* (Haworth) is a maize leaf feeder pest occurring every year in the Ebro Valley that causes occasional but sometimes devastating damages. The increasing cultivation of Bt maize in Spain has reduced very much the damage of

corn borers, *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) and *Ostrinia nubilalis* (Hübner). However, it is not known how Bt maize can affect populations of *P. unipuncta*.

It doesn't exist published information about development and other biological parameters of *P. unipuncta* in the Iberian Peninsula and this information is needed to evaluate the effects of the new corn varieties on the local populations. To get it we need first to establish an adequate rearing method and then to start studying insect biology.

In the present paper we study the larval development of a local population of *P. unipuncta* fed with leaves of two varieties of maize (Tietar and PR33P66) and two artificial diets, one made with beans, *Phaseolus vulgaris*, and another with flour of corn, *Zea mays*. Larvae developed on the bean diet undergo lower mortality than those developed with plant or on the maize diet. Moreover, pupae reared on the bean diet had higher weight and showed lower deformities than those reared with the other foods. Most of the larvae pupate after six larval instars, but those fed with the maize diet needed additional larval instars. These results indicate that the bean diet is good for future studies in this species and a better than the other food tested.

**Key words:** rearing.

#### REFERENCIAS

- BALACHOWSKY, A. S. 1972. Entomologie appliquée à l'agriculture. Tome II. Lepidoptères, deuxième volume, pp: 1345 – 1354. Paris: Masson et Cie, Editeurs.
- CAPINERA, J. L. 2006. University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences. Department of Entomology and Nematology, 2006. "[http://creatures.ifas.edu/field/true\\_armyworm.htm](http://creatures.ifas.edu/field/true_armyworm.htm)" [September, 2007].
- EIZAGUIRRE, M., ALBAJES, R. 1992. Diapause induction in the stem corn-borer, *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera, Noctuidae). *Entomol. Gen.* **17** (4): 277-283.
- EIZAGUIRRE, M., MASSANES, J., ALBAJES, R. 1994. Foto-periodo y desarrollo larvario en el taladro del maíz, *Sesamia nonagrioides* Lefebvre. *Inv. Agr. Prod. Prot. Veg. Fuera de Serie* **2**: 65-73.
- LÓPEZ, C., SANS, A., EIZAGUIRRE, M. 2000. Vuelos de la defoliadora de maíz, pastos y céspedes, *Mythimna (Pseudaletia) unipuncta* (Haworth) en la zona de Lleida. *Bol. San. Veg. Plagas*, **26**: 255-259.
- MAUND, C. 2002. Armyworm. New Brunswick Department of Agriculture, Fisheries and Aquaculture. Agriculture Development Branch. Integrated Pest Management Section. Fredericton, New Brunswick. En : <http://www.gnb.ca/0057/armyworm.pdf> (Dic 2005)
- NAVA, D. E., PARRA, J. R. P. 2005. Biología de *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae) em dieta natural e artificial e estabelecimento de um sistema de criação. *Neotrop. Entomol.*, **34**: 751-759.
- RITCHIE, S., HANWAY, J. J. 1982. How a corn plant develops. Iowa State Univ. of Science and Technology. Coop. Ext. Service. 48 pp.
- S.A.S. INSTITUTE 2001: SAS/STAT user's guide, version 8.2 CARY, NC
- SHOREY, H. H., HALE, R. L. 1965. Mass-Rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. *J. Econ. Entomol.*, **58**: 522-524.
- SINGH, P. A. 1983 General-purpose laboratory diet mixture for rearing insects. *Insect. Sci. Appl.* **4** (4): 357-362.
- SINGH, A. K. 1999. Growth and induction in food consumption of *Helicoverpa armigera* Hbn. (Lep., Noctuidae) larvae on chickpea, soybean, and maize diets. *J. Appl. Entomol.* **123**, 335-339.
- SING, A. K., REMBOLD, H. 1998. Developmental value of chickpea, *Cicer-arietinum*, soybean, *Glycine max*, and maize, *Zea-mays*, flour for *Heliothis armigera* (Lep. Noctuidae) larvae. *J. Appl. Entomol.* **106** (3): 286-296
- SLANSKY, J. F., RODRÍGUEZ, J. G. 1987. Nutritional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates. In: Slansky, J. F.; Rodriguez, J. G. (eds). Nutritional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates. John Wiley & Sons, New York: 1-69.

(Recepción: 6 febrero 2008)

(Aceptación: 28 mayo 2008)

## Umbral de temperatura para el inicio del vuelo de los pulgones de la lechuga, *Nasonovia ribisnigri* y *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae)

I. MORALES, A. FERERES

Los pulgones *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Hemiptera: Aphididae) y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae), son dos de las principales plagas de los cultivos de la lechuga. La dispersión de dichos pulgones por el cultivo tiene una gran importancia tanto por los daños directos que producen como por la transmisión de virus. En este trabajo se estudiaron los umbrales de temperatura para el inicio del vuelo de estas dos especies de pulgones, en condiciones de campo (*M. euphorbiae*) y laboratorio (*N. ribisnigri*). En el caso de *N. ribisnigri* se estudió en condiciones controladas los distintos comportamientos en el comienzo del vuelo sobre distintas plataformas de despegue: una planta huésped (lechuga), una planta no huésped (pimiento) y una plataforma de vuelo inerte de color negro. La temperatura a la que alzó el primer vuelo *N. ribisnigri* fue de 15 °C desde pimiento, de 16 °C desde la plataforma inerte y 17 °C desde la lechuga, por lo que el umbral de vuelo de este pulgón se puede situar entre 15 y 17 °C. Los resultados obtenidos muestran que los pulgones situados sobre el pimiento y la plataforma inerte vuelan prácticamente en su totalidad (98,5% y 99%) mientras que únicamente alzaron el vuelo el 8,4% del total de los pulgones ensayados sobre la planta huésped (lechuga). Para el caso de *M. euphorbiae*, se realizaron numerosas capturas en diferentes días mediante una malla de hilos situada en una finca experimental en la zona Centro de España y se correlacionaron dichas capturas con los valores de temperatura. En este caso, el umbral mínimo de vuelo resultó ser de 14,7°C.

I. MORALES, A. FERERES. Departamento de Protección Vegetal. Instituto de Ciencias Agrarias (ICA-CSIC). C/ Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid. E-mail: afereres@cma.csic.es

**Palabras clave:** virus, vector, despegue, trampa vertical de hilos.

### INTRODUCCIÓN

El cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) tiene una gran importancia en la agricultura española. En la actualidad están destinadas 36.200 hectáreas a su cultivo, llegándose a una producción que supera el millón de toneladas (FAO, 2005). Entre los agentes que producen un mayor daño en lechuga, destaca el grupo de los pulgones (Hemiptera: Aphididae). Estos constituyen la plaga más importante que asola este cultivo en Europa (PARKER *et al.*, 2002). Dichos insectos atacan a la

lechuga produciendo daños directos a la planta, como puede ser la secreción de melaza que impide el buen funcionamiento de los estomas y promueve la aparición de negrilla. Sin embargo, el daño directo más perjudicial es el de tipo cosmético, ya que la presencia de pulgones en la lechuga produce rechazo en el mercado, provocando un descenso en el valor comercial de la planta. También producen daños indirectos muy importantes debido a que actúan como vectores de virus tales como el virus del mosaico de la lechuga, LMV (NEBREA *et al.*, 2004).

Dos de las principales especies de pulgones que aparecen habitualmente atacando cultivos de lechuga en la Comunidad de Madrid son *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) y *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (NEBREDÁ *et al.*, 2005). El control rutinario de esta plaga se realiza mediante aplicaciones reiteradas de insecticidas que suponen un riesgo importante para el medioambiente y para la salud pública (KIFT *et al.*, 2004).

La dispersión de los pulgones por vuelo activo sobre la vegetación local o vuelo pasivo transportados por los vientos para alcanzar largas distancias, es una buena estrategia vital que utilizan para localizar su planta huésped (DIXON Y LAIRD, 1967; DIXON *et al.*, 1968; DIXON, 1969; KRING, 1972; ROBERT, 1987). Los umbrales de temperatura para el inicio del vuelo vienen definidos principalmente por factores ambientales como son la luz y la temperatura (TAYLOR, 1965). Aun así, entre las variables ambientales que afectan a los pulgones, la reacción del vuelo frente a la luz parece menos sensible que su respuesta frente a la temperatura (DRY Y TAYLOR, 1970).

A parte de los factores meteorológicos hay otros factores ambientales que pueden afectar al comportamiento del inicio del vuelo de los pulgones como son la calidad de la planta huésped o si están situados sobre hojas jóvenes o maduras en la planta (DIXON Y MERCER, 1983).

El vuelo de los pulgones tiene una clara relación con la propagación de los virus que transmiten a los cultivos como han podido comprobar muchos autores como por ejemplo VAN HARTEN (1983), el cual observó una buena correlación entre la dispersión del virus Y de la patata (PVY<sup>N</sup>) y los vuelos del pulgón *M. persicae*.

Debido a la importancia que tiene el vuelo tanto en la migración y dispersión de los pulgones dentro del propio cultivo como en la propagación de los virus que transmiten, es indispensable conocer el umbral de temperatura en el que inician los vuelos estos insectos con el fin de llegar a implementar medidas de control en el momento oportuno.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Ensayos de campo

Los ensayos se han llevado a cabo en la finca experimental del CSIC "La Poveda" (Arganda del Rey) durante la primavera y el otoño de 2004, y la primavera de 2005. Todos ellos han sido realizados sobre un cultivo de lechuga en una parcela experimental de 1092 m<sup>2</sup> infestados artificialmente con las especies de pulgón *N. ribisnigri* (0,5 pulgones/planta) y de manera espontánea por la especie *M. euphorbiae*, que ya estaba instalada en la finca en el momento de los ensayos.

Para llevar a cabo la captura de pulgones utilizamos una trampa vertical de hilos similar a la descrita por HALBERT *et al.* (1981). Esta trampa consiste en una malla de 2,08 m de ancho y 3,08 m de largo, con 8x8 hilos por cm<sup>2</sup>. La trampa se sujetó mediante una serie de cuerdas a unos postes de hierro de 2,5 m de altura clavados fuertemente al suelo. Posteriormente esta tela se tensó mediante la ayuda de cuerdas fijadas al suelo con piquetas. Esta trampa se instaló en la parcela experimental antes aludida en sentido perpendicular a la dirección del viento dominante.

El muestreo se realizó dos veces por semana, si la climatología era propicia, durante el ciclo de crecimiento del cultivo en los periodos mencionados anteriormente, desde las 9:00 hasta las 13:30 horas, hasta disponer de alrededor de un total de cien conteos por ciclo de cultivo. Se tomaron con ayuda de un pincel todos los pulgones que interceptaban la trampa de las especies *M. euphorbiae* y *N. ribisnigri* a intervalos de media hora con un registro continuo de la temperatura siguiendo la metodología descrita por TAYLOR (1963). Los pulgones capturados se introdujeron en tubos de ensayo rellenos de alcohol al 70% para mantener las muestras en buen estado hasta su posterior identificación en el laboratorio mediante las claves de REMADIÈRE Y SECO (1990).

El umbral de temperatura se obtuvo mediante una correlación entre el porcentaje



Figura 1. Captura de pulgones atrapados en la trampa vertical de hilos

de frecuencia de capturas positivas, sin tener en cuenta el tamaño de captura y la temperatura a la que se obtuvieron dichas capturas. La temperatura a la que corresponde el 50% de frecuencia de capturas es el umbral de temperatura para el inicio del vuelo (TAYLOR, 1963).

### Ensayos de laboratorio

Estos experimentos fueron llevados a cabo en un fitotrón con control de temperatura, luz y fotoperiodo. Para iniciar los ensayos se sincronizó una cría de pulgones de la especie *N. ribisnigri* con el objetivo de disponer de adultos alados de la misma edad y peso aproximado. Para ello se seleccionaron adultos alados que fueron colocados sobre una hoja de lechuga en el interior de cajas redondas de 9 cm de diámetro y 3 cm de

altura con ventilación central en su tapadera. El peciolo de la hoja se envolvió en papel absorbente y se introdujo en un tubo Eppendorf® de 1,5 ml desprovisto de tapa y lleno de agua para mantener la turgencia de la hoja. En la base de la caja se colocaron dos discos de papel de filtro y luego entre la caja y la tapa se colocó papel absorbente para reducir la condensación y otorgarles mayor oscuridad. 24 horas después se retiraron los adultos, dejando únicamente las ninfas nacidas en ese periodo de tiempo. Éstas se introdujeron en un jaulón y se dejaron crecer hasta su emergencia como adultos alados.

Los pulgones alados adultos recién emergidos se mantuvieron durante 24 horas a 23 °C en la cámara de crecimiento, para que pudieran evolucionar en individuos maduros y aptos para el vuelo siguiendo una metodo-

logía similar a la descrita por DRY Y TAYLOR (1970). Posteriormente, y con el fin de que no iniciaran el vuelo hasta comenzar el ensayo, los pulgones fueron mantenidos a 10 °C en cajas petri con ventilación dentro del fitotrón en el que se iban a realizar los experimentos, durante toda la noche anterior al ensayo.

A la mañana siguiente los pulgones fueron dispuestos en el fitotrón donde se realizó el ensayo con una luz de 94  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$  y a una temperatura inicial de 10 °C que fue incrementándose grado a grado hasta los 40 °C manteniendo a los pulgones alrededor de 5 minutos en cada uno de los intervalos de temperatura. El número de despegues fueron contados a intervalos de 1 °C y se fue retirando cada pulgón de la cámara después de haber realizado el vuelo. Se llevaron a cabo distintos ensayos en los que grupos de aproximadamente 50 pulgones fueron colocados en distintas plataformas de despegue: una planta huésped (lechuga), una planta no huésped (pimiento) y una plataforma de plástico de color negro suspendida en el aire. Estos ensayos se repitieron en varias ocasiones hasta disponer de datos suficientes (un mínimo de 200 intentos de vuelo en cada una de las plataformas). Se tomó como umbral de vuelo aquella temperatura a la que volaron el 50% de los pulgones sin contar aquellos que permanecieron en la plataforma una vez alcanzados los 40 °C (DRY Y TAYLOR, 1970). Para ello, se llevó a cabo el test estadístico de Kaplan-Meier.

Todos los análisis estadísticos y regresiones realizadas en este trabajo fueron llevados a cabo con el programa informático SPSS statistical package, version 14.01 (SPSS, 2003).

## RESULTADOS

### Umbral de temperatura para el inicio de vuelo de *M. euphorbiae* y *N. ribisnigri* en condiciones de campo

Las capturas obtenidas de alados de *M. euphorbiae* fueron muy abundantes durante el ciclo de cultivo de primavera de 2004. En este periodo se realizó un total de 105 observaciones (conteos) sumando tanto las veces en las que hubo captura como en las que no la hubo.

Los valores obtenidos en cuanto a capturas a las diferentes temperaturas fueron ajustados a una regresión curvilínea cúbica ( $Y = -1,56 - 3,51x + 0,77x^2 - 0,02x^3$ ) que dio un muy buen ajuste ( $R^2: 0,892$ ). El valor correspondiente a la temperatura a la que se registraron el 50 % de las capturas de alados de *M. euphorbiae* (umbral para el inicio del vuelo) se situó en 14 ,7 °C (Figura 2).

En el caso del pulgón *N. ribisnigri* se intentó hallar dicho umbral en la primavera y en otoño de 2004 y en primavera de 2005. En todos los casos fue imposible calcularlo por falta de una frecuencia suficiente de capturas en la trampa de hilos a pesar de la presencia abundante de alados en el cultivo de lechuga próximo. El año en el que más frecuencia de capturas hubo en la trampa únicamente se superó el 50 % a una sola temperatura (25 °C). Por ello, decidimos realizar los experimentos de laboratorio antes descritos en condiciones de temperatura controlada para conocer el comportamiento de vuelo de esta especie en diferentes plataformas de despegue.

Cuadro 1. Tasa de vuelo y temperatura a la que se inicia el primero vuelo de *N. ribisnigri* sobre las distintas plataformas de despegue

<i>N. ribisnigri</i>			
Plataforma	Tasa de vuelo	% de vuelo	T <sup>a</sup> (°C) a la que se produce el 1º vuelo
Pimiento	202/205	98,5	15
Plataforma Inerte	199/201	99	16
Lechuga	17/203	8,4	17

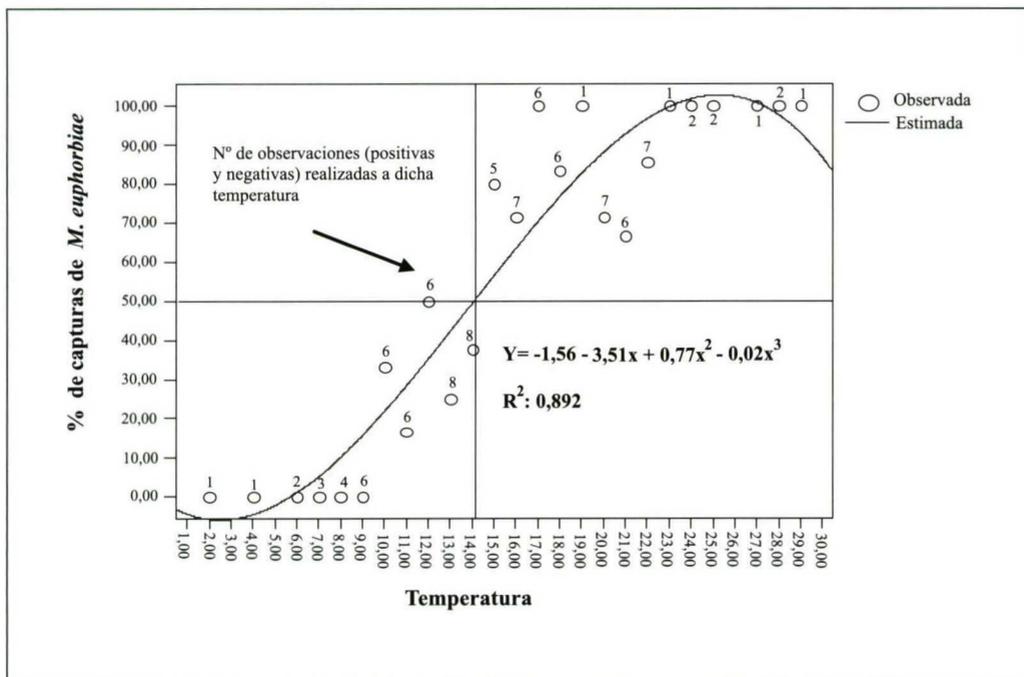


Figura 2. Cálculo del umbral de temperatura para el inicio del vuelo de *M. euphorbiae* en condiciones de campo.

**Comportamiento de vuelo del pulgón *N. ribisnigri* en laboratorio sobre diferentes plataformas de despegue**

La temperatura a la que alzó el primer vuelo *N. ribisnigri* en laboratorio fue de 15 °C desde pimiento, de 16 °C desde la plataforma inerte y 17 °C desde la lechuga. Ningún pulgón de los ensayados alzó el vuelo por debajo de los 15 °C (Cuadro 1) y la mayoría requirió de temperaturas superiores a los 20 °C para realizar el despegue. El intervalo de temperatura en el que volaron los pulgones sobre la plataforma inerte es mucho mayor que el intervalo de temperaturas en el que volaron sobre pimiento (Figura 2). Esto nos indica que los pulgones optan por volar antes desde la planta no huésped que desde la plataforma inerte. Ello sugiere que de alguna manera esta planta repele al pulgón incluso más que un sustrato no vegetal. Tanto los pulgones ensayados sobre pimiento como en los ensayados sobre la plataforma de plástico

sufren un descenso en el número de vuelos realizados a partir de los 25 °C. La mayoría de los pulgones que alzaron el vuelo desde la lechuga lo hicieron a temperaturas superiores a los 30 °C (Figura 2).

En los ensayos realizados sobre pimiento y sobre la plataforma inerte, el conjunto de los pulgones volaron prácticamente en su totalidad (98,5% en el caso del pimiento y 99% en el caso de la plataforma inerte). Sin embargo, cuando los pulgones partieron desde la planta huésped (lechuga) únicamente alzaron el vuelo el 8,4% del total de los pulgones ensayados (Cuadro 1), a pesar de que las temperaturas alcanzaron valores muy elevados (40°C).

Los valores calculados para los umbrales de vuelo según el procedimiento descrito por DRY Y TAYLOR (1970) resultaron ser muy elevados. En el caso de los pulgones situados sobre el pimiento y la plataforma inerte dichos umbrales distaron únicamente en un

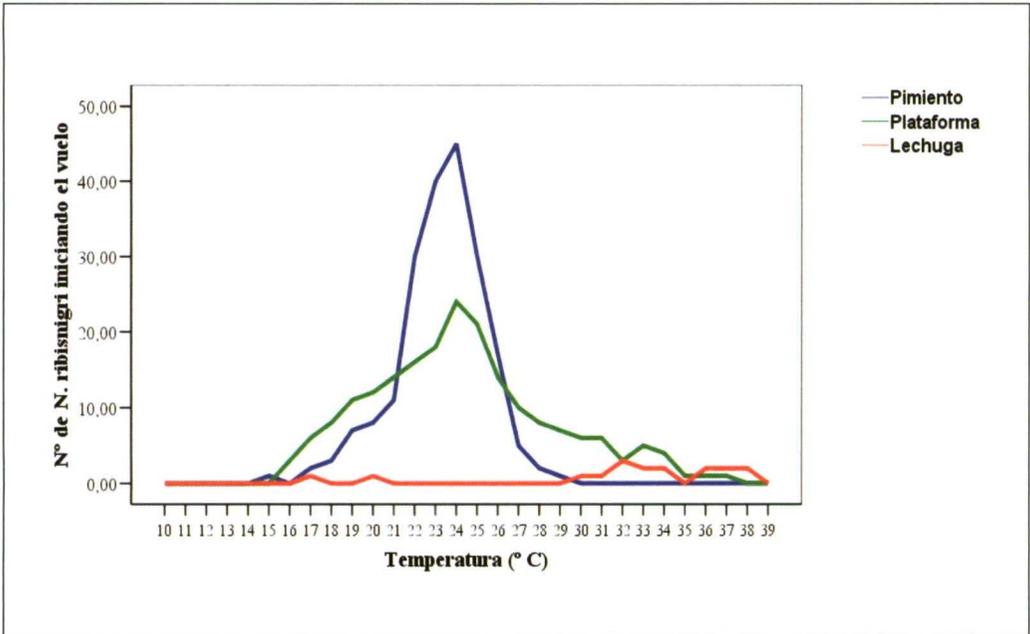


Figura 3. Número de *N. ribisnigri* que inician el vuelo desde distintos tipos de plataformas a las temperaturas de ensayo.

grado centígrado (23 °C y 24 °C respectivamente) mientras que para los pulgones situados sobre la lechuga, el bajo porcentaje de vuelos obtenidos hace imposible establecer un umbral válido para el inicio del vuelo (Cuadro 2).

**DISCUSIÓN**

Para realizar un buen control de una plaga es muy importante conocer en que momento se producen los vuelos migratorios y la colonización del cultivo por los pulgones. Por

ello, desde hace tiempo se han elaborado distintos trabajos para poder modelizar y pronosticarla llegada de diferentes plagas al cultivo. Algunos de estos trabajos tienen por objetivo conocer los umbrales de temperatura para el inicio del vuelo o la creación de modelos matemáticos de migración para diferentes pulgones como *Sitobion avenae* (Fabricius) y *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus) sobre cultivos de cereal (HANSEN, 2006).

Se han hallado umbrales de temperatura para el inicio del vuelo de muchas especies

Cuadro 2. Umbral de temperatura (según Dry y Taylor, 1970) para el inicio del vuelo de *N. ribisnigri* sobre las diferentes superficies ensayadas.

Especie de pulgón	Superficie de despegue	Umbral de T <sup>o</sup> (°C) para el inicio del vuelo (Mediana ± error típico)
<i>Nasonovia ribisnigri</i>	Pimiento (no huésped)	23 ± 0,167
	Plataforma inerte	24 ± 0,292
	Lechuga (huésped)	-

de pulgones. Ejemplos de estos umbrales son el que hallaron ROHITHA Y PENMAN (1986) para *Acyrtosiphon kondoi* Shinji estimado en 8,75 °C o los hallados por WALTERS Y DIXON (1984) para *S. avenae* en campo (16 °C) y en laboratorio (17,5 °C). En algunos casos la misma especie de pulgón puede presentar diferente umbral de temperatura para el vuelo dependiendo de la estación del año. Así *R. padi* presentó un umbral de 16-17 °C en primavera, 9-10 °C durante el otoño y 13-14 °C durante el verano (WIKTELIUS, 1981).

El umbral de temperatura que hemos determinado en nuestras condiciones experimentales para el inicio del vuelo de *M. euphorbiae* en cultivos de lechuga al aire libre es de 14,7 °C. Este umbral no difiere mucho de los 16 °C obtenido por BOITEAU (1986) para la misma especie de pulgón con la misma metodología y sobre cultivos de patata en New Brunswick, Canadá. Esta diferencia podría ser atribuible a los diferentes factores meteorológicos de las zonas de estudio (DIXON Y MERCER, 1983) o a las distintas plantas huésped utilizadas. Esta especie de pulgón es bastante polífaga y dependiendo de la atracción que tenga por cada especie de cultivo tardará más o menos en alzar el vuelo (BOITEAU, 1986).

El alto coeficiente de correlación de la regresión obtenida y el hecho de que el umbral calculado para el vuelo de *M. euphorbiae* se asemeje al hallado sobre patata por BOITEAU (1986), hacen que este resultado esté bien contrastado.

El umbral de temperatura para el inicio del vuelo de *M. euphorbiae* no es muy alto por lo que se capturan alados volando durante todo el ciclo de cultivo de lechuga tanto de primavera como de otoño. Este aspecto unido a que esta especie es un vector eficaz del virus del mosaico de la lechuga (LMV) (NEBREDA *et al.*, 2004), hace que sea imprescindible elaborar una buena estrategia de control en la que es fundamental conocer el momento de inicio de vuelo del pulgón.

La temperatura a la que alzó el primer vuelo *N. ribisnigri* en laboratorio fue de 15 °C desde pimiento, de 16 °C desde la plata-

forma inerte y 17 °C desde la lechuga. Los umbrales obtenidos para el pulgón *N. ribisnigri* sobre el pimiento y sobre la plataforma inerte en el laboratorio según el procedimiento descrito por Dry & Taylor 1970 son demasiado altos como para poder extrapolarlos al campo. Esta misma especie en campo probablemente tiene unos umbrales de vuelo en campo mucho menores a los obtenidos en laboratorio desde las distintas superficies de despegue, ya que su llegada a los primeros cultivos de lechuga de la Comunidad de Madrid se observan en primavera a mediados de marzo donde la temperatura máxima no alcanza valores superiores a los 20 °C a lo largo del día (datos no publicados). Los altos umbrales obtenidos son debidos en parte a la metodología llevada a cabo similar a la descrita por DRY Y TAYLOR (1970) puesto que también en sus estudios los umbrales de temperatura dieron valores altos. Este es el caso de *Aphis fabae* Scopoli, pulgón que en campo dio un umbral de 17,5 °C para el inicio del vuelo desde judía (TAYLOR, 1963), y en los ensayos de laboratorio para este mismo pulgón DRY Y TAYLOR (1970) obtuvieron un umbral superior a 21 °C. Esto puede ser debido a que la cámara en la que se han llevado a cabo los ensayos no está adaptada para el vuelo de insectos como las elaboradas por investigadores como KENNEDY Y BOOTH (1963) y KRING (1966) en la que hay un punto de entrada de aire y de luz al que se dirigen los pulgones. En nuestro caso no hay entrada de aire y la luz se encuentra en todos los puntos de la cámara lo que puede distraer al pulgón retrasando el inicio del vuelo. Por ello, creemos que es más útil en términos epidemiológicos conocer la temperatura a la que el primer pulgón alzó el vuelo en cada una de las plataformas que marcar un umbral de temperatura erróneo. Otras metodologías usadas en laboratorio para hallar el umbral de temperatura para el inicio del vuelo como la de BOITEAU (1986) también utilizan como temperatura umbral la que corresponde al vuelo del primer pulgón en lugar de utilizar la temperatura a la que inicia el vuelo el 50 % de los pul-

gones. Este autor no utilizó ninguna plataforma de despegue en sus experimentos, sino que dejaba caer desde un pincel a 1 metro de altura al pulgón y veía si antes de caer realizaba un vuelo corto. Esta metodología obliga al pulgón a volar pero no permite apreciar diferencias de comportamiento del pulgón en diferentes situaciones, razón por la que no fue seguida a la hora de realizar nuestro trabajo. La metodología de DRY Y TAYLOR (1970) puede ser poco apropiada para estimar un umbral que se pueda extrapolar al campo pero nos permite comparar los distintos comportamientos de los pulgones dependiendo de si la planta en la que se encuentra en un determinado momento es planta huésped y se encuentra a gusto sobre ella, o si es una planta no huésped de la que no se puede alimentar.

El umbral de temperatura para el vuelo obtenido sobre la planta no huésped de pimiento es menor que el obtenido sobre la plataforma inerte. Esto nos indica que el pimiento repele de alguna manera al "pulgón de la lechuga". La razón por la que esto sucede puede deberse a que esta especie de pulgón es oligófago y éstos muestran más rechazo a las ceras de las plantas no huésped que los pulgones polífagos. Esto ocurre debido a que los pulgones polífagos tienden a encontrar sus plantas huésped utilizando principalmente el sentido de la vista mientras que los pulgones oligófagos o monófagos tienden a utilizar también el sentido del olfato además del de la vista para localizar a sus plantas huésped (HORI, 1999).

Un 1,5 % de los pulgones situados sobre pimiento y un 1 % situados sobre la plataforma inerte no despegaron de sus respectivas plataformas durante los ensayos. Las principales razones de estos fallos pueden estar relacionados con daños en las alas durante la última muda o por la manipulación del insecto antes de iniciar el ensayo o bien a que el pulgón puede estar en proceso reproductivo tal como sugieren DRY Y TAYLOR (1970).

Los resultados de *N. ribisnigri* sobre lechuga no nos permitieron hallar un umbral

de temperatura para el vuelo cuando fueron colocados sobre plantas de lechuga, ya que para que este umbral fuera estadísticamente fiable deberían haber volado como mínimo el 50% de los pulgones ensayados. En este caso sólo alzó el vuelo un 8,4% de los pulgones colocados sobre lechuga. El 91,6% prefirió quedarse en la planta a pesar de que la temperatura ascendió hasta los 40 °C. Sin embargo, podríamos concluir a la vista de nuestros resultados (Cuadro 1) que el umbral de vuelo para esta especie se sitúa entre los 15 y 17°C.

Estos resultados hallados indican que mientras la planta de lechuga se encuentre en condiciones óptimas, *N. ribisnigri* no alza el vuelo hasta que se produzcan temperaturas superiores a los 17°C. Por ello creemos que su distribución dentro del cultivo se realiza mayoritariamente por individuos ápteros que andan de una planta a otra. Estos resultados coinciden con los obtenidos por DÍAZ DESANI (2005) que indican la importancia de los adultos ápteros de *N. ribisnigri* en la colonización de nuevas plantas caminando de una hoja a otra de la planta huésped y entre plantas sobre el suelo desnudo, lo que resulta en una permanente redistribución de los elementos demográficos de la población de pulgones en un cultivo. Esta capacidad de caminar sobre el suelo desnudo fue estudiada para pulgones que colonizan patata, para determinar como sus movimientos influyen sobre los patrones de dispersión espacio-temporal de virus dentro de un cultivo de patata (ALYOKHIN Y SEWELL, 2003) ya sea por el aumento de los focos de plantas enfermas como en la creación de nuevos focos dentro de un campo (IRWIN Y THRESH 1990).

Existen distintas teorías a cerca de la disminución de la población de *N. ribisnigri* a medida que las plantas maduran y se aproxima el día de la cosecha. Una aboga por el abandono de las lechugas por los adultos alados que mayoritariamente aparecen en las colonias cuando las hojas se endurecen (PASCUAL-VILLALOBOS *et al.*, 2003) mientras que la otra aboga por la acción de los enemigos naturales, particularmente depredadores

(ARNÓ *et al.*, 2002). Según los resultados obtenidos en este trabajo, en los que se muestran que sólo una proporción muy pequeña de la población de pulgones (8,4%) alza el vuelo ni siquiera cuando las temperaturas son extremas, creemos que la segunda teoría mencionada es la más acertada.

El hecho de conocer el momento en el que se produce el inicio del vuelo de los distintos pulgones puede ser también importante por otros motivos. Siempre se ha mirado la migración de los pulgones como algo negativo para los cultivos debido a las virosis que transmiten y al daño directo que producen en el cultivo. Pero esta visión puede virar a un aspecto positivo. Así, existen estudios que demuestran que con la migración de los pulgones alados también se produce la entrada de agentes entomopatógenos como hongos o bacterias provenientes de los pulgones inmigrantes del cultivo, que a su vez inician epizootias en las colonias sanas de pulgones que ya estaban asentados previamente en el cultivo (FENG Y CHEN, 2002; CHEN Y FENG, 2006; FENG *et al.*, 2007). Dichos autores demuestran la entrada de pulgones con hongos entomofthorales entre los que predomina *Pandora neoaphidis* (Remaudière y Hennebert) Humber (Zygomycetes: Entomophth-

horales), cuyas epizootias son unas de las principales causantes del descenso de la población de los pulgones que atacan los cultivos de lechuga de la comunidad de Madrid durante los ciclos de primavera (MORALES *et al.*, 2006; MORALES *et al.*, 2007).

Estos estudios abren alternativas muy interesantes en las que la migración de las plagas puede ser utilizada de forma beneficiosa. Si se consiguiera producir un formulado a partir de hongos entomopatógenos y aplicarlo sobre una población de pulgones que no fueran colonizadores ni vectores de virus de la lechuga pero que aterricen en el cultivo de forma abundante, o sobre una población que pudieran establecerse en los márgenes del cultivo sobre flora espontánea, podría utilizarse para diseminar las esporas del hongo sobre el resto de pulgones que constituyen plaga para el cultivo.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por la beca predoctoral del Ministerio de Ciencia y tecnología AGL2003-0753-C03-01 y forma parte de la Tesis Doctoral de I. Morales (BES-2004-5217).

## ABSTRACT

MORALES, I., A. FERERES. 2008. Temperature threshold for take-off of *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) and *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera : Aphididae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 275-285.

*Nasonovia ribisnigri* (Mosley) and *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Homoptera:Aphididae) are two of the main pests of lettuce. These aphids cause significant direct and indirect damage due to the transmission of virus diseases. We determined the temperature thresholds for the beginning of flight of *M. euphorbiae* and *N. ribisnigri*. Different take-off platforms were used to study the temperature threshold needed for flight of *N. ribisnigri* under controlled conditions: a host plant (lettuce), a non-host plant (pepper) and an inert black flying platform. The temperature in which *N. ribisnigri* made its first flight was 15 °C in pepper, 16 °C in the inert platform and 17 °C in lettuce. Therefore, we concluded that the temperature threshold for this aphid species varied within the range of 15-17 °C. Our results showed that almost all of the aphids took-off from the pepper plant and from the inert platform (98,5% and 99%, respectively), while only 8.4% of the aphids took-off from lettuce. In the case of *M. euphorbiae*, the occurrence of catches on a vertical net trap placed in an experimental farm in the Central region of Spain was correlated with the air temperature on different sampling dates. In this case, the temperature threshold for the flight of *M. euphorbiae* was 14,7 °C.

**Key words:** virus, vector, take-off, vertical net trap.

## REFERENCIAS

- ALYOKHIN, A., SEWELL, G. 2003. On-soil movement and plant colonization by walking wingless morphs of three aphid species (Homoptera: Aphididae) in greenhouse arenas. *Environmental Entomology* **32**: 1393-1398.
- ARNÓ, J., ROIG, J., GABARRA, R. 2002. Avaluació de varietats d'enciam resistent al pugo *Nasonovia ribisnigri*. *Catalunya Rural, Agraria* 34-37.
- BOITEAU, G. 1986. Diurnal flight periodicities and temperature thresholds for three potato-colonizing aphids (Homoptera: Aphididae) in New Brunswick. *Annals of the Entomological Society of America* **79**: 989-993.
- CHEN, C., FENG, M. G. 2006. Probability model for the postflight fecundity of viviparous alatae infected pre-flight by the obligate aphid pathogen *Pandora neoaphidis*. *Biological Control* **39**: 26-31.
- DÍAZ DESANI, B. M. 2005. Bioecología, modelización del pulgón *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) y evaluación de barreras fotoselectivas para el control de plagas de la lechuga. Tesis Doctoral. Depto. de Producción Vegetal: Botánica y Protección Vegetal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.
- DIXON, R. C., LAIRD, E. F. 1967. Fall dispersal of green peach aphids to desert valleys. *Annals of the Entomological Society of America* **60**: 1088-1091.
- DIXON, A. F. G., BURNS, M. D., WANGBOONKONG, S. 1968. Migration in aphids: response to current adversity. *Nature* **220**: 1337-1338.
- DIXON, A. F. G. 1969. Population dynamics of the sycamore aphid *Drepanosiphum platanoides* (Schr.) (Homoptera: Aphididae): migratory and trivial flight activity. *Journal of Animal Ecology* **38**: 585-606.
- DIXON, A. F. G., MERCER, D. R. 1983. Flight behaviour in the sycamore aphid: Factors affecting take-off. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **33**: 43-49.
- DRY, W. W., TAYLOR, L. R. 1970. Light and temperature thresholds for take-off by aphids. *Journal of Animal Ecology* **39**: 493-504.
- FAO. 2005. Base de datos FAOSTAT. 3-02-2007. <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=567&lang=es>
- FENG, M. G., CHENG, C. 2002. Incidence of infected *Myzus persicae* alatae trapped in flight imply place-to-place dissemination of entomophthoralean fungi in aphid populations through migration. *Journal of Invertebrate Pathology* **81**: 53-56.
- FENG, M. G., CHENG, C., SHANG, S. W., YING, S. H., SHEN, Z. C., CHEN, X. X. 2007. Aphid dispersal flight disseminates fungal pathogens and parasitoids as natural control agents of aphids. *Ecological Entomology* **32**: 97-104.
- HALBERT, S. E., IRWIN, M. E., GOODMAN, R. M. 1981. Alate aphid (Homoptera: Aphididae) species and their relative importance as field vectors of soybean mosaic virus. *Annals of Applied Biology* **97**: 1-9.
- HANSEN, L. M. 2006. Models for spring migration of two aphid species *Stiabion avenae* (F.) and *Rhopalosiphum padi* (L.) infesting cereals in areas where they are entirely holocyclic. *Agricultural and Forest Entomology* **8**: 83-88.
- HORI, M. 1999. Role of host plant in the host finding behaviors of aphids. *Applied Entomology and Zoology* **34** (3): 293-298.
- IRWIN, M. E., THRESH, J. M. 1990. Epidemiology of barley yellow dwarf a study in ecological complexity. *Annual Review of Phytopathology* **28**: 393-424.
- KENNEDY, J. S., BOOTH, C. O. 1963. Free flight of aphids in the laboratory. *Journal of Experimental Biology* **40**: 67-85.
- KIFT, N. B., MEAD, A., REYNOLDS, K., SIME, S., BARBER, M. D., DENHOLM, L., TATCHELL, G. M. 2004. The impact of insecticide resistance in the currant-lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri*, on pest management in lettuce. *Agricultural and Forest Entomology* **6** (4): 295-309.
- KRING, J. B. 1966. An aphid flight chamber: construction and operation. *Journal of Economic Entomology* **59**: 1518-1520.
- KRING, J. B. 1972. Flight behaviour of aphids. *Annual Review of Entomology* **17**: 461-491.
- MORALES, I., AGUADO, J. M., NEBREDÁ, M., DÍAZ, B. M., ROMERO, A., PINEDA, A., MARCOS-GARCÍA, M. A., FERERES, A. 2006. Diversidad de enemigos naturales de pulgones en cultivos de lechuga. *Cuadernos de Biodiversidad* **21**: 15-19.
- MORALES, I., AGUADO, J. M., DÍAZ, B. M., NEBREDÁ, M., LOPEZ-LASTRA, C., GOLDARAZENA, A., SANCHEZ, J. A., PINEDA, A., MARCOS-GARCÍA, M. A., FERERES, A. 2007. Principales agentes de biocontrol en cultivos de lechuga en la zona centro de España. *Horticultura* **201**: 46-49.
- NEBREDÁ, M., MORENO, A., PÉREZ, N., PALACIOS, I., SECO-FERNANDEZ, V., FERERES, A. 2004. Activity of aphids associated with lettuce and brócoli in Spain and their efficiency as vectors of *Lettuce mosaic virus*. *Virus Research* **100**: 83-88.
- NEBREDÁ, M., MICHELENA, J. M., FERERES, A. 2005. Seasonal abundance of aphid species on lettuce crops in Central Spain and identification of their main parasitoids. *Journal of Plant Disease and Protection* **112** (4): 405-415.
- PARKER, W. E., COLLIER, R. H., ELLIS, P. R., MEAD, A., CHANDLER, D., BLOOD SMYTH, J. A., TATCHELL, G. M. 2002. Matching control options to a pest complex: the integrated pest management of aphids in sequentially-planted crops of outdoor lettuce. *Crop Protection* **21**: 235-248.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M. J., SANCHEZ, J. A., KABALUK, T., LACASA, A., GONZÁLEZ, A., VARÓ, P. 2003. Distribución espacial del pulgón *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) en un cultivo intercalado de lechugas ecológico. III Congreso Nacional de Entomología Aplicada de la SEEA, Ávila, 20-24 de octubre.
- REMADIÉRE, G., SECO, M. V. 1990. Claves de pulgones alados de la región mediterránea. *Rústica*. **2** Vol. 110p.
- ROBERT, Y. 1987. Dispersion and migration. In: A. K. Minks and P. Harrewijn (eds.) Aphids, their biology, natural enemies and control, **vol. 2A**. Elsevier, Amsterdam. p. 299-314.
- ROHITHA, B. H., PENMAN, D. R. 1986. Flight of the blue-green aphid, *Acyrtosiphon kondoi* Shinji (Homop-

- tera: Aphididae). II. The effect of weather: multiple regression and flight threshold analyses. . *New Zealand Journal of Zoology* **13**: 209-214.
- SPSS. 2003. SPSS statistical package, version 14.01. SPSS, Chicago, IL.
- TAYLOR, L. R. 1963. Analysis of the effect of temperature on insects in flight. *Journal of Animal Ecology* **32**: 99-117.
- TAYLOR, L. R. 1965. Flight behaviour and aphid migration. *Proc. N. Centr. Br. Entomol. Soc. Am.* **20**: 9-19.
- VAN HARTEN, A. 1983. The relation between aphid flights and the spread of potato virus Y<sup>N</sup> (PVY<sup>N</sup>) in the Netherlands. *Potato Research* **26**: 1-15.
- WALTERS, K. F. A., DIXON, A. F. K. 1984. The effect of temperature and wind on the flight activity of cereal aphids. *Annals of Applied Biology* **104**: 17-26.
- WIKTELIUS, S. 1981. Diurnal flight periodicities and temperature thresholds for flight for different migrant forms of *Rhopalosiphum padi* L. (Hom., Aphididae). *Z. angew. Entomology* **92**: 449-457.

(Recepción: 11 febrero 2008)

(Aceptación: 21 mayo 2008)



## Identificación de hongos entomopatógenos asociados a pulgones en cultivos hortícolas en la zona centro de la Península Ibérica

B. M. DÍAZ, C. C. LÓPEZ LASTRA, M. OGGERIN, A. FERERES, V. RUBIO

El objetivo de este trabajo fue identificar las especies de hongos entomopatógenos asociados a distintas especies de pulgones de los principales cultivos hortícolas de la región central de la Península Ibérica

Los muestreos se realizaron en cultivos hortícolas al aire libre y en invernadero, durante la primavera de 2006 y el otoño de 2006 y 2007. Para la identificación de las estructuras de los hongos se realizaron preparados coloreados y montados en acetoorceína 1%. Los aislamientos se hicieron en medio Sabouraud dextrosa agar + 1% de extracto de levadura enriquecido con yema de huevo + leche.

Los hongos identificados correspondieron al orden Entomophthorales, siendo *Pandora neoaphidis* (Remaudière & Hennebert) Humber la especie predominante sobre *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) y *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) en lechuga, sobre *Aphis fabae* (Scopoli) en acelga tanto en otoño como en primavera y sobre *Aphis gossypii* (Glover) en cultivos de pepino en primavera y calabacín en otoño. También se identificó la especie *Conidiobolus coronatus* (Constantin) en individuos de *A. fabae* recogidos en acelga durante la primavera y en *M. euphorbiae* en cultivos de lechuga en otoño.

Los resultados obtenidos por taxonomía clásica fueron confirmados por análisis molecular de la región ITS, usando primers generales y específicos para *P. neoaphidis*. En estas mismas muestras no se obtuvieron productos de amplificación cuando se utilizaron primers específicos para *Entomophthora planchoniana* Cornu, por lo que se descartan infecciones mixtas con estas dos especies de hongos.

Se obtuvieron sólo tres cultivos puros de *P. neoaphidis* a partir de *A. fabae*. La dificultad de aislamiento y producción artificial del hongo sugiere que sería recomendable desarrollar una estrategia de control de estos pulgones de hortícolas basada en Control Biológico por Conservación

B. M. DÍAZ, M. OGGERIN, A. FERERES, V. RUBIO. Instituto de Ciencias Agrarias, Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid. E-mail: vrubio@ccma.csic.es

C. C. LÓPEZ LASTRA. Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores CONICET-CEPAVE-UNLP, Calle 2 N° 584, 1900 La Plata, Argentina.

**Palabras clave:** Entomophthorales, *Pandora neoaphidis*, *Conidiobolus coronatus*, Aphididae, PCR, Control Biológico

### INTRODUCCIÓN

Los pulgones constituyen una de las plagas más importantes de los cultivos hortícolas, ya que reducen el rendimiento y/o calidad de los productos de cosecha, debido a los daños directos e indirectos que

ocasionan en los mismos, constituyéndose en los principales agentes transmisores de virus vegetales.

Estos insectos son capaces de producir en un tiempo corto una gran cantidad de biomasa que provee de alimento para muchos depredadores, parasitoides y microorganismos.

mos patógenos (KELLER, 2006). Este último grupo constituye uno de los componentes principales del complejo de enemigos naturales de los pulgones, destacándose principalmente a los hongos, ya que la infección se inicia con la adhesión y posterior germinación de los conidios sobre el tegumento del insecto, posibilitando así el desarrollo de enfermedades en estos insectos con aparato bucal chupador-suctor (MILNER, 1997).

Los hongos que afectan a los pulgones pertenecen al orden Hypocreales, destacándose los géneros, *Beauveria*, *Lecanicillium* (= *Verticillium*) e *Isaria* (= *Paecilomyces*) (MILNER, 1997), sin embargo, dentro del orden Entomophthorales se han descrito 29 especies que afectan a pulgones en Europa, pertenecientes a los géneros *Conidiobolus*, *Batkoa*, *Entomophaga*, *Entomophthora*, *Erynia*, *Neozygites*, *Pandora*, *Tarichium* y *Zoophthora* (KELLER, 2006). De esta manera los Entomophthorales se constituyen, como importantes antagonistas de los pulgones, causando epizootias naturales capaces de reducir drásticamente sus poblaciones (NIELSEN, 2002, KELLER, 2006, MORALES *et al.*, 2006). El desarrollo de estas epizootias se ve facilitado por una serie de características morfológicas (cuerpo blando y tamaño pequeño) y biológicas (ciclo de vida corto, a menudo partenogenéticos, vivíparos, las formas ápteras y aladas del adulto) propias de los pulgones que favorecen la transmisión de los hongos entre los individuos de una población y el medio donde habitan (STEINKRAUS, 2006). Por ello, es interesante su consideración como agentes de biocontrol dentro del Control Biológico de pulgones.

Estudios previos realizados en otros sistemas hortícolas del mundo han permitido identificar a 6 especies del orden Entomophthorales parasitando a distintas especies de pulgones en cultivos protegidos y al aire libre (SCORSETTI *et al.*, 2007). En la zona centro de España, se ha determinado que los hongos entomopatógenos y los sírfidos son los principales enemigos naturales de los pulgones que afectan lechuga (MORALES *et al.*, 2006; MORALES *et al.*, 2007). Sin embar-

go, hasta el momento existe muy escasa información sobre las especies de hongos entomopatógenos causante de la mortalidad de pulgones en otros cultivos hortícolas de la Península Ibérica. Es por ello, que el objetivo del presente trabajo fue identificar por taxonomía clásica y molecular a los hongos entomopatógenos que parasitan a los pulgones presentes en los cultivos hortícolas de la zona central de España.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La prospección de hongos entomopatógenos en pulgones presentes en cultivos de acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla*), pepino (*Cucumis sativus*), repollo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*), calabacín (*Cucurbita pepo*), calabaza (*Cucurbita máxima*); judías (*Phaseolus vulgaris* var. *vulgaris*), berenjena (*Solanum melongena*), tomate (*Solanum lycopersicum*), pimiento (*Capsicum annum*) coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) y lechuga (*Lactuca sativa*) de la región central de España. Los muestreos se realizaron durante el otoño y primavera de 2006 y en otoño de 2007, en las localidades de Villa del Prado (Madrid) (Lat. 40° 16' N; Long. 4° 18' O) y La Poveda (Arganda del Rey, Madrid) (lat. 40° 18' N; Long. 3° 28' O). En el Cuadro 1 se presentan los cultivos muestreados en cada localidad de estudio, así como las características de los mismos y las especies de pulgones presentes en cada ciclo de producción, cuando la plaga estaba presente.

El muestreo se realizó por observación visual de las plantas, deteniéndose en aquellas hojas con desarrollo de colonias de pulgones para retirar los cadáveres de los individuos que presentaban síntomas de mortalidad por hongos entomopatógenos. Dado que los síntomas externos varían en función del momento del ciclo de la infección, los pulgones que no presentaban desarrollo externo de micelio fueron transportados al laboratorio y allí fueron colocados en cámara húmeda para favorecer el desarrollo externo de las estructuras fúngicas. En todos los casos, los insectos fueron colectados con un trozo de

material vegetal y de forma individual fueron colocados dentro de un tubo Eppendorf de 1,5 ml hasta su llegada al laboratorio.

### Identificación de los hongos entomopatógenos por microscopía óptica

La realización de preparados microscópicos se llevó a cabo colocando una gota de aceto-orceína (1%) sobre un portaobjeto, sobre la que se colocó la mitad de cuerpo del pulgón, cubriéndose la preparación con un cubreobjeto de 18 mm. Los preparados fueron observados al microscopio óptico con contraste de fases (Nikon Contrast Phase 2) con un aumento de 40X. Las estructuras externas del hongo, como conidios primarios y secundarios, conidióforos, cistidios, y presencia de rizoides fueron tenidas en cuenta para la identificación. Para determinar el género y la especie se utilizaron claves generales (HUMBER, 1997) y específicas para Entomophthorales (KELLER, 1987, 1991, 2006; BALAZY, 1993). La mitad restante del cuerpo de cada pulgón se mantuvo en nevera a 4°C en Eppendorf estériles como material de herbario.

### Identificación molecular

Para la identificación molecular se tomaron muestras representativas de pulgones de cada lugar de muestreo, las cuales fueron conservadas en etanol (96%) a 4°C hasta la realización extracción de ADN. Para ello, se utilizó el kit PowerSoil (MO BIO) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. En primer lugar se amplificó la región ITS completa usando los primers específicos ITS1F (GARDES y BURNS, 1993) e ITS4 (WHITE *et al.*, 1990). Las reacciones de PCR se desarrollaron en un volumen de 50  $\mu$ l añadiendo 1X de buffer de reacción que contenía 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> (Roche Diagnostics Ltd.), 0,25% (v/v) Tween 20 (Merck), 5% dimetil sulfóxido (v/v) (Merck), 0,25 mM de cada dNTP (GE Healthcare), 2  $\mu$ M de cada primer, 1,25 unidades de Taq ADN polimerasa (Roche Diagnostics Ltd.) y 5  $\mu$ l de ADN fúngico diluido (alrededor 10 ng de ADN), como control negativo se empleó agua

miliQ estéril. Las amplificaciones fueron realizadas con un termociclador Perkin-Elmer CETUS 480 usando un ciclo de desnaturalización de 2,5 min a 94°C, seguido de 40 ciclos cada uno de los cuales constaba de tres pasos: un paso de desnaturalización de 30 seg a 94°C, un paso de anillamiento de 30 s a 57°C, un paso de extensión de 1,5 min a 72°C, la amplificación se finalizó con un ciclo de extensión de 10 min a 72°C. Los productos fueron posteriormente secuenciados siguiendo la metodología de MOORE *et al.* (1999).

Las secuencias obtenidas de la región ITS completa fueron comparadas con las secuencias existentes en la base de datos del GenBank (National Center for Biotechnology Information) usando BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, National Center for Biotechnology Information; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

Se realizaron, además, otra serie de PCR utilizando primers específicos para *Pandora neoaphidis* y *Entomophthora planchoniana*. En este caso se colocó a cada pulgón en un tubo de PCR de 0,2 ml y la extracción de ADN se realizó añadiendo a cada tubo 50  $\mu$ l 0,7M NH<sub>4</sub>OH y posteriormente el pulgón se trituró con una punta de micropipeta, según la metodología de RIJMKEMA *et al.* (1996) ligeramente modificada. El ADN extraído fue diluido 10 veces en agua miliQ estéril. La reacción de PCR fue preparada con 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> (Roche Diagnostics Ltd.), 0,20 mM de cada dNTP (GE Healthcare), 1  $\mu$ M de cada primer, 1 unidad de Taq ADN polimerasa (Sigma Aldrich Co.) y 1  $\mu$ l de ADN fúngico diluido (10X). Los primers específicos utilizados para *P. neoaphidis* fueron ITS4 e ITS1-E432 (TYMON *et al.*, 2004) y para *E. planchoniana*, ML2 y 5,8-3' (TYMON *et al.*, 2004). En ambas PCR se colocó un control negativo (agua miliQ estéril) y tres controles positivos (ADN de *E. planchoniana*, *C. obscurus* y *P. neoaphidis*). Las amplificaciones fueron realizadas con un termociclador Perkin-Elmer GeneAmp (Mod. 9600) usando un ciclo de desnaturalización de 3 min a 96°C, seguido de 38 ciclos que incluían un



Fig. 1. Adulto alado de *Macrosiphum euphorbiae* infectado con *Pandora neoaphidis*.

primer paso de desnaturalización de 10 seg a 94°C, un segundo paso de anillamiento de 20 s a 55°C, y un tercer paso de extensión de 1 min a 72°C finalizando la amplificación con un ciclo de extensión de 10 min a 72°C. Los productos de PCR fueron analizados mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,5% (p/v) en TBE 1X a 100 v durante 2,5 horas en el que se incluyó bromuro de etidio. Para la electroforesis se tomaron unas alícuotas de 5 µl de cada reacción de PCR a las que se les añadieron 2 µl de tampón de carga. Como patrón de referencia de peso molecular se emplearon 5 µl de marcador molecular de 100 bp. Los resultados se fotografiaron exponiendo el gel de agarosa en un transiluminador de luz ultravioleta.

#### Aislamiento de hongos Entomophthorales

Se siguió el método descendiente de lluvia de conidios, propuesta por PAPIEROK & HAJEK (1997). La misma consistió en realizar una esterilización superficial del insecto y posteriormente el pulgón se pegó con una cinta adhesiva de doble cara a la tapa de una placa Petri de 60 mm de diámetro, con medio de cultivo Sabouraud Maltosa Agar con extracto de levadura 1% y suplementado con yema de huevo y leche (SEMA). Las placas fueron incubadas durante 12 h a 20°C y en oscuridad, para permitir la descarga de conidios. Al cabo de ese tiempo la tapa fue reemplazada por una nueva manteniendo las

condiciones de esterilidad. Los cultivos se mantuvieron a 24°C y en oscuridad durante 7 días y posteriormente en nevera a 4°C.

Además, se utilizó otra metodología para inducir la descarga de conidios de los pulgones recogidos en campo, realizando una cámara húmeda en placas de Petri de 6 cm y colocando al pulgón sobre un portaobjeto estéril. Las placas fueron incubadas como se describió anteriormente.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el período de muestreo realizado durante la primavera así como en otoño sobre cultivos hortícolas de la región central de la Península Ibérica, se registró la presencia de hongos entomopatógenos pertenecientes al orden Entomophthorales (Clase Zygomycetes) produciendo mortalidad sobre distintas especies de pulgones. Se determinaron dos especies fúngicas *Conidiobolus coronatus* (Constantin) perteneciente a la familia Ancylistaceae y *Pandora neoaphidis* (Remaudière & Hennebert) Humber perteneciente a la familia Entomophthoraceae (Fig.1). Estos dos géneros forman parte de los ocho descritos por KELLER (2006) parasitando pulgones en Europa.

Considerando, cada situación en particular se pudo observar que en la localidad de Villa del Prado se encontraron durante la primavera de 2006 pulgones parasitados con hongos entomopatógenos sólo en cultivos bajo plástico (acelga y pepino), mientras que en repollo cultivado al aire libre se registró la presencia de *Brevicoryne brassicae*, sin encontrar individuos muertos por hongos. En los cultivos de acelga se analizaron 24 cadáveres de *Aphis fabae* (Scopoli) en los que se identificó a *P. neoaphidis* en el 17% de las muestras analizadas, a lo que debe agregarse que en el 33% de las muestras restantes se observó la presencia de micelio inmaduro de Entomophthorales por lo cual no se pudo llegar a determinar la especie, pero si es importante tener en cuenta este valor a la hora de considerar la incidencia de este hongo en la mortalidad natural de la mencionada especie

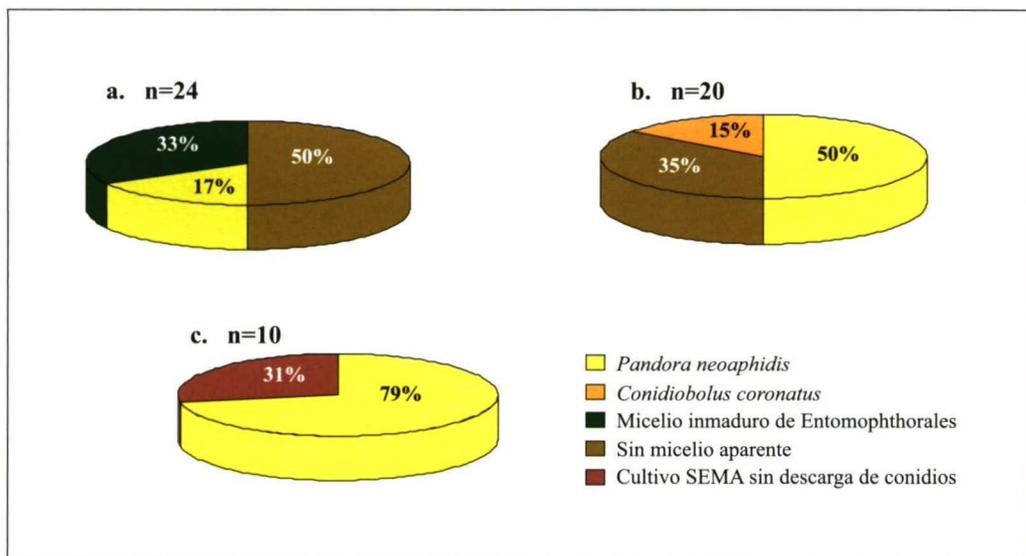


Fig. 2. Incidencia de hongos entomopatógenos en *Aphis fabae* en cultivos de acelga de primavera y otoño en Villa del Prado (Madrid). a. Cultivo de primavera, b y c. Cultivos de otoño.

de pulgón (Fig. 2a). En cultivos de pepino muestreados en primavera sobre un total de 30 muestras se detectó la presencia de *P. neoaphidis* sobre *Aphis gossypii* (Glover) en el 80% de las mismas, mientras que la incidencia de este hongo sobre la misma especie de pulgón en cultivos de calabacín fue del 42% calculado sobre un total de 12 pulgones analizados (Fig. 3a y b).

En otoño de 2006 no se registró la presencia de pulgones en los cultivos producidos a campo de repollo, pimiento, tomate y berenjena producido en invernadero. Sin embargo, en los cultivos de judías y calabaza en invernadero se registró la presencia de *Aphis craccivora* y *Aphis gossypii* respectivamente sin registrar mortalidad por hongos. Una situación similar a la anterior se observó en un cultivo de coliflor con alta densidad de *Brevicoryne brassicae* en el cual no se registraron hongos.

Sin embargo en dos cultivos de acelga bajo plástico, al igual que en primavera se identificó a *P. neoaphidis* en el 79% de las 10 individuos de *A. fabae* y en otro cultivo de acelga se identificó el mismo hongo en el

50% de muestras analizadas, sobre un total de 20 ejemplares de la misma especie. (Fig. 2b y 2c). En este último caso se detectó además la presencia de *C. coronatus* en 3 individuos (15%) de *A. fabae* de las 20 muestras analizadas (Fig. 2b).

En la localidad de La Poveda, durante la primavera en cultivos de lechuga al aire libre se determinó la presencia de *P. neoaphidis* sobre el 42% de un total de 10 individuos de *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) que fueron analizados, mientras que en un 6% la mortalidad de los individuos se debió al hongo *C. coronatus* (Fig. 4a). Sobre un cultivo de lechuga de otoño el hongo *P. neoaphidis* fue identificado en un 50% de los 10 individuos examinados de *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Fig. 4b). La identificación de *P. neoaphidis* afectando a *M. euphorbiae* y *N. ribisnigri* en cultivos de lechuga de región central confirma lo hallado por MORALES *et al.* (2007) en un trabajo previo realizado en la misma región de estudio.

El hongo *C. coronatus* ha sido identificado en este estudio parasitando a *A. fabae* y *M. euphorbiae*, mientras que no se registró

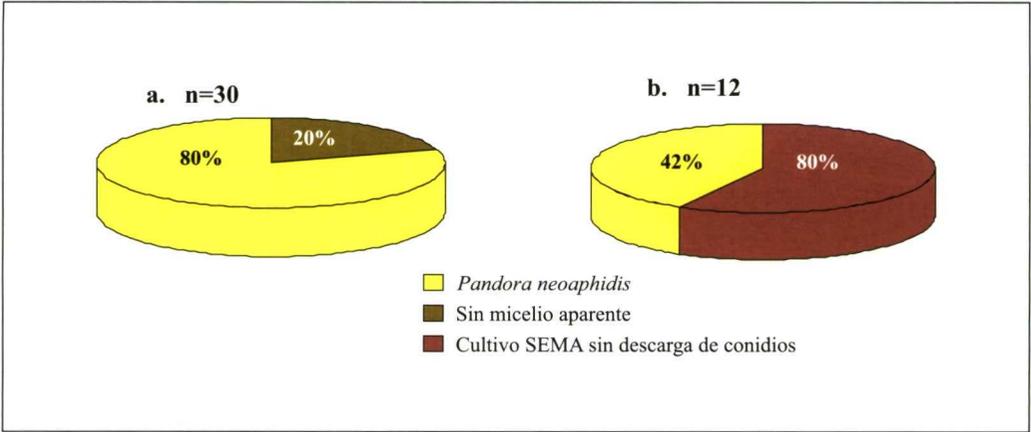


Fig. 3. Incidencia de hongos entomopatógenos en *Aphis gossypii* en a. cultivo de pepino y b. calabacín en primavera y otoño, respectivamente en Villa del Prado (Madrid).

parasitando a *N. ribisnigri* ni a *A. gossypii*. Sobre ésta última especie fue identificado sólo a nivel de género, como *Conidiobolus sp.* en Argentina (LÓPEZ LASTRAS y SCORSETTI, 2007). La especie *C. coronatus* tiene una amplia distribución mundial y ha sido identificado como agente de mortalidad en distintas especies de pulgones entre los que cita a

*A. fabae*, coincidiendo con los resultados obtenidos en este estudio (KELLER, 2006). Cabe mencionar también que a diferencia de *P. neoaphidis*, que es especialista de pulgones, *C. coronatus* posee un amplio rango de hospedadores y ha sido aislado además de detritos (KELLER, 2006). Este hecho se suma a que estudios realizados señalan su poten-

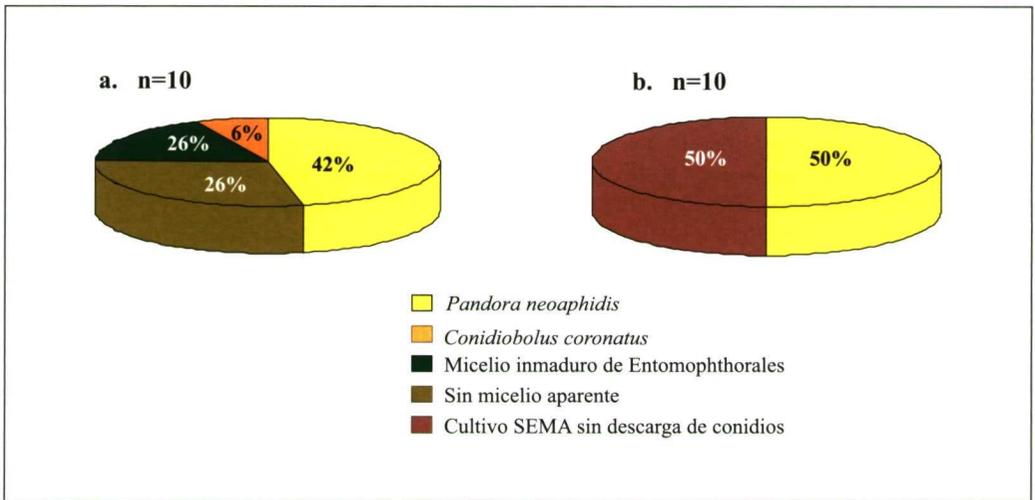


Fig. 4. Incidencia de hongos entomopatógenos en *Macrosiphum euphorbiae* y *Nasonovia ribisnigri* en cultivo de lechuga en La Poveda (Madrid).

cial patogenicidad hacia el ser humano y otros animales (SUTTON *et al.*, 1998), causando alergias e infecciones respiratorias con lo cual no es posible su uso en el Control Biológico de plagas.

En el muestreo realizado en el año 2007 no se detectaron focos de pulgones en cultivos de repollo y lechuga (Cuadro 1) a excepción del de acelga en invernadero donde se registraron pequeños focos de *A. fabae* sin evidenciar la presencia de hongos entomopatógenos. Una situación similar se registró en el cultivo de lechuga al aire libre de La Poveda, donde no se registraron prácticamente presencia de pulgones desde su transplante en setiembre hasta la cosecha en noviembre, lo cual no permitió tener datos sobre los enemigos naturales presentes en este ciclo de producción.

De los resultados obtenidos se concluye que la especie *P. neoaphidis* fue la más frecuente y abundante afectando a los pulgones presentes en los cultivos hortícolas de la región de estudio. La especie *P. neoaphidis* junto a *E. planchoniana*, *Conidiobolus obscurus* (Hall & Dunn) y *Neozygites frenesii* (Nowakowski) Remaudière & Keller, poseen el mayor impacto sobre los pulgones presentes en diferentes sistemas agrícolas de Europa Central (BARTA, 2004). En otros agroecosistemas hortícolas del mundo, como los de la región central de Argentina, *P. neoaphidis* fue determinada como la especie con mayor abundancia en diferentes cultivos y especies de pulgones, siendo mayor su prevalencia en el otoño y primavera y menor en invierno y verano (SCORSETTI *et al.*, 2007).

Cuadro 1. Características de los cultivos hortícolas y especies de pulgones presentes en las localidades de muestreo

Localidad: Villa del Prado		Año: 2006	
Cultivo	Ciclo de producción	Modo de producción	Especie de pulgón
Acelga	Primavera	Invernadero	<i>Aphis fabae</i>
Pepino	Primavera	Invernadero	<i>Aphis gossypii</i>
Repollo	Primavera	Aire libre	<i>Brevicoryne brassicae</i>
Calabacín	Otoño	Invernadero	<i>Aphis gossypii</i>
Acelga	Otoño	Invernadero	<i>Aphis fabae</i>
Calabaza	Otoño	Invernadero	<i>Aphis gossypii</i>
Judías	Otoño	Invernadero	<i>Aphis craccivora</i>
Berenjena	Otoño	Invernadero	—
Tomate	Otoño	Invernadero	—
Pimiento	Otoño	Aire libre	—
Coliflor	Otoño	Aire libre	<i>Brevicoryne brassicae</i>
Repollo	Otoño	Aire libre	—
Localidad: La Poveda		Año: 2006	
Cultivo	Ciclo de producción	Modo de producción	Especie de pulgón
Lechuga	Primavera/otoño	Aire libre	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> <i>Nasonovia ribisnigri</i>
Localidad: Villa del Prado		Año: 2007	
Cultivo	Ciclo de producción	Modo de producción	Especie de pulgón
Acelga	Otoño	Invernadero	<i>Aphis fabae</i>
Repollo	Otoño	Aire libre	—
Localidad: La Poveda		Año: 2007	
Cultivo	Ciclo de producción	Modo de producción	Especie de pulgón
Lechuga	Primavera/otoño	Aire libre	—

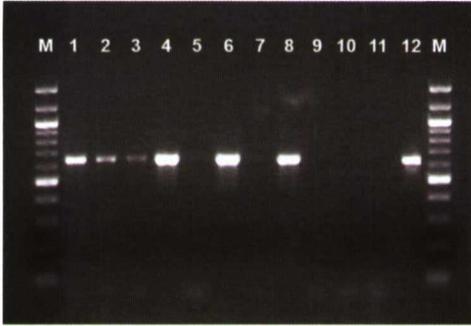


Fig. 5. Análisis molecular por PCR de la región ITS usando primers específicos (ITS4 e ITS1-E432) para *Pandora neoaphidis*. Muestras 1, 2, 3, 4, 5: *Macrosiphum euphorbiae*; 6, 7 y 8: *Aphis fabae*; 9: Control negativo; 10: Control positivo, *Entomophthora planchoniana*; 11: Control positivo, *Conidiobolus obscurus*; 12: Control positivo, *Pandora neoaphidis*, M: marcador de peso molecular.

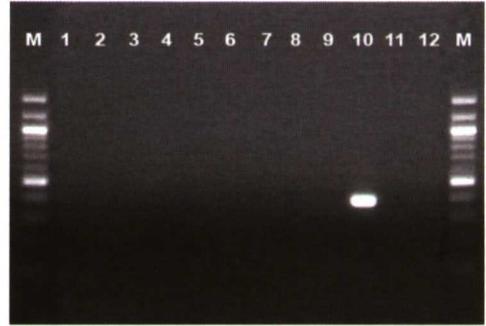


Fig. 6. Análisis molecular por PCR de la región ITS usando primers específicos (ML2 y 5,8-3') para *Entomophthora planchoniana*. Muestras 1, 2, 3, 4, 5: *Macrosiphum euphorbiae*; 6, 7 y 8: *Aphis fabae*; 9: Control negativo; 10: Control positivo, *Entomophthora planchoniana*; 11: Control positivo, *Conidiobolus obscurus*; 12: Control positivo, *Pandora neoaphidis*, M: marcador de peso molecular.

La identificación de *P. neoaphidis* obtenida por taxonomía clásica fue confirmada mediante técnicas moleculares de PCR. Así, cuando se amplificó la región ITS total se identificó a *P. neoaphidis* con una banda de ADN de alrededor de 1100 bp. Los alineamientos con la secuencia obtenida permitieron determinar un 100% de homología con el aislado ARSEF 1609 que fue aislada del pulgón *Acyrtosiphon pisum* en Francia y un 99% de homología con los aislados ARSEF 835, NW 415, NW 356, NW 316, NW 327, ARSEF 5374 y NW343, depositados todos en GenBank. Cuando se utilizaron primers específicos para *P. neoaphidis*, se logró amplificar una banda de ADN correspondiente a este hongo de alrededor de 650 bp en 6 de las 8 muestras estudiadas, las primeras 3 corresponden a *M. euphorbiae* colectados en primavera sobre lechuga en La Poveda y las 3 últimas a *A. fabae* colectados en otoño sobre acelga en Villa del Prado (Fig. 5). Cabe destacar que cuando las mismas muestras fueron analizadas utilizando primers específicos para *E. planchoniana* no se obtuvo amplificación en ninguna de ellas (Fig. 6), descartándose así la existencia de infecciones mixtas con estas dos especies de hongos. Si bien en este estudio no se ha iden-

tificado a *E. planchoniana*, este hongo ha sido encontrado parasitando a *N. ribisnigri* en lechuga y *A. fabae* en berenjena en sistemas hortícolas de Argentina (SCORSETTI *et al.*, 2007), lo cual indica que habría que seguir realizando muestreos en los cultivos hortícolas de la región central, así como otras regiones de España para determinar o descartar su presencia.

La obtención de aislados puros de *P. neoaphidis* presentó dificultad en muchos de los casos para obtener la descarga de conidios sobre el medio de cultivo artificial (SEMA), con lo cual un porcentaje de las muestras no pudieron ser identificadas, especialmente como se indica en las Fig. 2c, 3b y 4b. Mientras que cuando se realizó la descarga directa de conidios sobre un portaobjetos dentro de una cámara húmeda, los mismos fueron obtenidos sin dificultad y luego fueron transferidos a placas de Petri con medio SEMA a fin de obtener un cultivo puro. De todas las muestras (50 individuos) se obtuvieron solo 3 cultivos puros de *P. neoaphidis* a partir de *A. fabae* en cultivos de acelga de otoño en la localidad de Villa del Prado, que se conservan en la colección de hongos entomopatógenos del ICA-CCMA-CSIC (Madrid) junto con ejemplares de distintas especies de pul-

gones infectados con *P. neoaphidis* conservados como material de herbario. Por ello, se aconsejaría realizar este paso previo al aislamiento para obtener mayor probabilidad de aislar a *P. neoaphidis*, aunque esta especie está considerada en la literatura como una de las que puede ser aislada de la mayoría de las especies de pulgones, mientras que de algunas pocas como *Brevicoryne brassicae* (L.) no es posible (KELLER, 1991). En nuestro caso hemos tenido dificultad de obtener aislados partiendo de otras especies de pulgones, por causas que no han podido ser determinadas.

Ante la dificultad presentada por los hongos Entomophthorales para su aislamiento y por consiguiente su posterior producción masiva, la estrategia del Control Biológico por Conservación es la más recomendable para favorecer e incrementar el desarrollo de epizootias y por consi-

guiente reducir las poblaciones de pulgones plaga en hortícolas.

## AGRADECIMIENTOS

Al Ministerio de Educación y Ciencia de España por financiar el proyecto AGL-2005-01449/AGR y al Programa de Promoción de Colaboración Internacional del CSIC con Instituciones Científicas Extranjeras, que me permitió realizar una estancia en el Laboratorio de Ecología y Biología Molecular de la Faculty of Life Sciences de la Universidad de Copenhagen, donde se realizaron parte de los estudios moleculares. Se agradece la colaboración prestada por los Dres. J. Eilenberg y A. Jensen, de la Universidad de Copenhagen, así como la asistencia técnica de M. del Mar de la Torre del ICA-CCMA-CSIC y C. Wolsted de la Universidad de Copenhagen.

## ABSTRACT

DÍAZ B. M., C. C. LÓPEZ LASTRA, M. OGGERIN, A. FERERES, V. RUBIO. 2008. Identification of entomopathogenic fungi attacking aphids in horticultural crops in the central region of the Iberian Peninsula. *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 287-296.

The aim of this work was to identify entomopathogenic fungi attacking different aphid species in several horticultural crops cultivated in the central region of the Iberian Peninsula. Surveys were conducted in open-grown crops and in greenhouse crops, during the Spring 2006 and the Autumn 2006 and 2007. For identification of the samples, fungal structures were mounted and stained in aceto-orcein (1%). Isolation was made using an artificial media; Sabourand dextrose agar + 1% yeast extract + egg yolk and milk.

Fungi belonging to the order Entomophthorales. *Pandora neoaphidis* (Remaudière & Hennebert) Humber was determined as the predominant specie affecting *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) and *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) on lettuce, *Aphis fabae* (Scopoli) on chard in Spring and Autumn and *Aphis gossypii* (Glover) on cucumber in Spring and zucchini during the Autumn growing season. Also, the species *Conidiobolus coronatus* (Constantin) was found attacking *A. fabae* collected on swiss chard during Spring and on *M. euphorbiae* in lettuce crops during Autumn.

The results obtained by classical taxonomy were confirmed by molecular techniques, by amplification of the ITS region, using general and specific primers for *P. neoaphidis*. In the same samples no amplification products were obtained when specific primers for *Entomophthora planchoniana* Cornu were used, concluding that no mixed infections were found.

Only three pure cultures of *P. neoaphidis* were obtained from *A. fabae*. Therefore, Conservation Biological Control is the most recommended strategy for managing aphid pests in horticultural systems due to problems related to isolation and artificial production of this group of fungi.

**Key words:** Entomophthorales, *Pandora neoaphidis*, *Conidiobolus coronatus*, Aphididae, PCR, Biological Control.

## REFERENCIAS

- BALAZI, S. 1993. Flora of Poland. Fungi (Mycota), vol. 24., Entomophthorales. Polish Academy of Sciences, 356 pp.
- BARTA, M. 2004. Fungi of the order Entomophthorales infecting aphids in Slovakia. PhD Tesis. Slovak University of Agriculture, Nitra.
- GARDES, M., BRUNS, T. D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* **2**, 113-118.
- HUMBER, R. A. 1997. Fungi: Identification. In: Lacey L. ed. *Manual of Techniques in insect pathology*. San Diego, California. Academic Press.
- KELLER, S. 1987. Arthropods-pathogenic Entomophthorales in Switzerland. I. *Conidiobolus*, Entomophaga and Entomophthora. *Sydowia* **40**: 122-167.
- KELLER, S. 1991. Arthropods-pathogenic Entomophthorales in Switzerland. II. *Erynia*, *Eryniopsis*, *Neozygites*, *Zoophthora* and *Tarichium*. *Sydowia* **43**: 39-122.
- KELLER, S. 2006. Species of Entomophthorales attacking aphids with description of two new species. *Sydowia*, **58**(3): 38-74.
- LÓPEZ LASTRA, C. C., SCORSETTI, A. C. 2007. Revisión de los hongos Entomophthorales (Zygomycota: Zygomycetes) patógenos de insectos de la República Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* **42**(1-2): 33-37.
- MILNER, R. J. 1997. Prospects for bioinsecticide for aphid control. *Entomophaga* **42**(1-2): 227-239.
- MOORE, E. R. B., ARNSCHIEDT, A., KRÜGER, A., STRÖMPL, C., MAU, M. 1999. Simplified protocols for the preparation of genomic DNA from bacterial cultures. In *Molecular Microbial Ecology Manual*, pp. 1.6.1.1-1.6.1.15. edited by A.D.L. Akkermans, J.D van Elsas & F.J. de Bruijn. Dordrecht: Kluwer Academic.
- MORALES, I., AGUADO, J. M., NEBRED, M., DIAZ, B. M., ROMERO, A., PINEDA, A., MARCOS-GARCÍA, M. A., FERERES, A. 2006. Enemigos naturales de pulgones en cultivos de lechuga en la región de Madrid. *Cuadernos CIBIO*, Universidad de Alicante, **21**(2): 15-19.
- MORALES, I., AGUADO, J. M., DIAZ, B. M., NEBRED, M., LOPEZ-LASTRA, C., GOLDARAZENA, A., SÁNCHEZ, J. A., PINEDA, A., MARCOS-GARCÍA, M. A., FERERES, A. 2007. Principales agentes de biocontrol de pulgones en cultivos de lechuga en la zona centro de España. Consideraciones sobre su conservación. *Horticultura* **201**: 46-49.
- NIELSEN, C. 2002. Interaction between aphids and entomophthorean fungi. Characterisation, epizootiology and potencial for microbial control. Ph.D Tesis, Royal Veterinary and Agricultural University of Copenhagen, Denmark.
- PAPIEROK, B., HAJEK, A. E. 1997. Fungi Entomophthorales. In: Lacey L. (ed.) *Manual of Techniques in insect pathology*. San Diego, California. Academic Press. p. 187-211.
- RUIJKEMA, S., GOLUBIC, D., MOLKENBOER, M., VERBEK-DE KRUIF, SCHELLEKENS, J. 1996. Identification of four groups of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected in a Lyme borreliosis region of northern Croatia. *Experimental and Applied Acarology* **29**: 23-40.
- SCORSETTI, A. C., HUMBER, R. A., GARCÍA, J. J., LÓPEZ LASTRA, C. C. 2007. Natural occurrence of entomopathogenic fungi (Zygomycota: Entomophthorales) of aphid (Hemiptera: Aphididae) pests of horticultural crops in Argentina. *BioControl* **52**(2): 641-655.
- STEINKRAUS, D. C. 2006. Factors affecting transmission of fungal pathogens of aphids. *J. Invertebr. Pathol.* **92**: 125-131.
- SUTTON, D. A., A. W. FOTHERGILL, RINALDI, M.G. 1998. *Guide to Clinically Significant Fungi*, 1st ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
- TYMON, A. M., SHAH, P. A., PELL, J. K. 2004. PCR-based molecular discrimination of *Pandora neoaphidis* isolates from related entomopathogenic fungi and development of species-specific diagnostic primers. *Mycol. Res.* **108**: 419-433.
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S., TAYLOR, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, White, T.J. (Eds.) *PCR Protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press Inc. San Diego, California. pp. 315-322.

(Recepción: 11 febrero 2008)

(Aceptación: 29 abril 2008)

## Emisión de la feromona del difusor Isonet-L en una experiencia de confusión sexual contra *Lobesia botrana* Den. y Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae)

F. HONORIO GUIADO, J. A. RODRIGUEZ BERNABÉ

En una parcela de 9 hectáreas de viñedo tradicional de la comarca de Tierra de Barros (Badajoz), se hizo una experiencia de confusión sexual contra *Lobesia botrana* Den. y Schiff. Los difusores empleados fueron Isonet-L (E/Z - 7,9-Dodecadienil acetato 67%) sin ser reemplazados durante el tiempo que duró la experiencia. Periódicamente se midió la emisión de la feromona mediante diferencia de peso de los difusores.

Mediante un sensor colocado "in situ" se obtuvieron datos de temperatura y humedad. También se colocaron trampas tipo delta con feromonas sexuales, en distintos puntos de la zona del ensayo y de las zonas limítrofes para el seguimiento de los vuelos de adultos machos y obtener así las curvas de vuelo de las distintas generaciones.

Se ha estudiado de esta forma la cinética de emisión de la feromona, su relación con la humedad y la temperatura y con la curva de vuelo de la polilla del racimo *Lobesia botrana* Den. y Schiff.

F. HONORIO GUIADO, J. A. RODRIGUEZ BERNABÉ. Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura. Carretera de Cáceres s/n 06071. Badajoz. e-mail: fhguidado@unex.es; jantonio@unex.es

**Palabras clave:** E/Z - 7,9-Dodecadienil acetato 67%, cinética de emisión, curva de vuelo, temperatura y humedad.

### INTRODUCCIÓN

Los difusores cebados con feromona sexual son cada vez más utilizados en el control de plagas mediante la técnica, ya probada, de la confusión sexual (ARIAS, A. 1990). El empleo de estos difusores requiere de planificación y tecnología puesto que contienen compuestos volátiles y hay que liberarlos de forma constante y continua para mantener la concentración necesaria en el ambiente (GONÇAL BARRIOS, J. C. 2005), siendo éste uno de los factores clave para su eficacia (COCOLLÁ R. y otros 2005). El conocimiento de la ecología de la especie (TORRES VILA L. M. et al. 1993) a controlar son factores esenciales (COSCOLLÁ R., 1980) que deben cono-

cerse bien a nivel local para ajustar y delimitar bien su aplicación. Varios factores afectan a la permanencia de la "nube feromonal", como son los meteorológicos, las características del cultivo y del suelo. Hay que tener en cuenta que la única herramienta que se dispone para aplicarlo es su distribución en el cultivo, por ello, es importante relacionar los datos que se dispongan del cultivo con dichos factores. Se ha estudiado la cinética de emisión de la feromona, su relación con la humedad y temperatura y con la curva de vuelo de la polilla del racimo de la vid *Lobesia botrana* Den. y Schiff, aspectos muy importantes puesto que estos parámetros meteorológicos afectan al comportamiento de esta plaga (TORRES-VILA L. M., 1996).



Figura 1. Detalle del difusor.



Figura 2. Colocación del difusor.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La experiencia se localizó en la localidad de Corte de Peleas, comarca de Tierra de Barros, en Badajoz, siendo una de las zonas de mayor densidad de población de la polilla del racimo de la comarca (ARIAS, A. NIETO, J. 1981). La parcela consta de 9.0 ha, el cultivo de vid es de la variedad Pardina, con una edad de 9 años y con el sistema de aporte hídrico localizado. La orografía es con pendiente suave y una altitud media de 270 m. El marco de plantación es el tradicional de la zona, es decir de 2,8 x 2,8 m, con una densidad de 1.275 plantas por hectárea.

El difusor utilizado fue ISONET L de Shin Etsu Chemical, de emisión controlada, que contiene la feromona sintética, químicamente análoga a la natural de *Lobesia botrana*. Están constituidos por dos tubos extruidos paralelos de material polimérico (polietileno) de 20 cm. de longitud. Un tubo contiene un hilo de aluminio para permitir la colocación (Fig. 1), mientras que el otro contiene la feromona específica en su interior. La composición de la feromona es E/Z - 7,9- Dodecadienil acetato al 67%, como componente principal con un contenido mínimo de 172 mgp/p por difusor, aunque contando los isómeros el total de los componentes evaporables se sitúa en torno a los 250 mg. También incorpora el tubo que contiene la feromona un conservante de esta y un protector de los rayos UVA, pero ninguno de estos dos componentes son evaporables.

La colocación fue un difusor por cada tres cepas, distribuyéndose a tres bolillos. También se reforzaron las cinco primeras líneas perimetrales con un difusor en cada cepa con 7,8 m<sup>2</sup> por difusor (ARIAS A. et al., 1992). La densidad media fue de 500 difusores/ha, con 20 m<sup>2</sup> por difusor (Fig. 2).

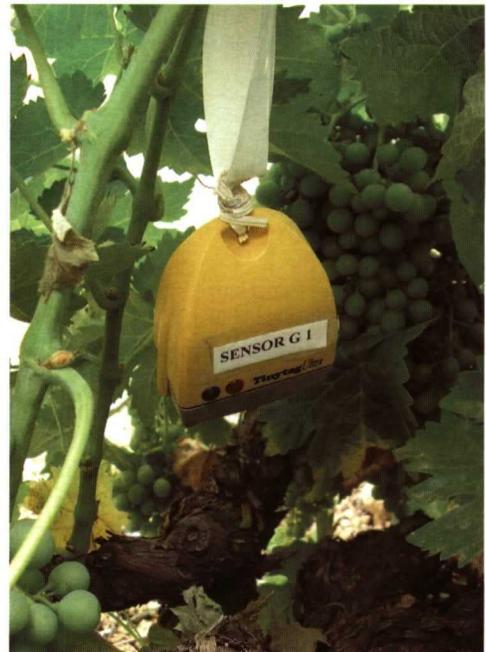


Figura 3. Sensor Tinytag Ultra colocado en el interior de la cepa.

Para la obtención de los miligramos de feromona evaporados se contó con una balanza con una sensibilidad de diezmilésima de gramo, se pesaron 60 difusores en grupos de diez (siempre los mismos) antes de la colocación y periódicamente durante su envejecimiento en campo.

Con las trampas tipo delta y cebadas con feromona sexual de la hembra de *Lobesia botrana*, colocadas en otra parcela y alejadas de la zona de confusión, se obtuvo las curvas de vuelo de los adultos machos.

La temperatura y humedad fue recogida "in situ" mediante un sensor Tinytag Ultra (Fig. 3) colocado en el interior de una cepa, las lecturas eran realizadas cada 30 minutos

**RESULTADOS Y DISCUSION**

Perdida de peso de los difusores:

Desde la colocación en campo (28 abril de 2005) se realizan 13 pesadas, el peso medio inicial del difusor fue de 1,1491 g. (Fig. 4), la pérdida de peso fue progresiva hasta mediados de septiembre. La media total de miligramos perdidos fue de 245.

Difusión de la feromona y capturas de *Lobesia botrana*:

El total de feromona media difundida por difusor fue 245 mg. Después de 111 días (16 de agosto) la emisión media fue de 216 mg, suponiendo el 88% del total. A los 140 días (15 de septiembre) había perdido el 98%, 240 mg. Los 245 mg. fueron evaporados en 170 días.

Hubo variaciones en la difusión durante ese período con importante descenso en la emisión a partir de los 111 días (Fig. 5 y 6). Durante 89 días (del 22 al 111) la emisión por tramos de pesada fue parecidavariando desde 39,8 a 43,7 mg/ha y hora.

La difusión total por hectárea en los 170 días fue de 122,5 g, con 1,44 mg/día evaporados por difusor. Difundidos 720,6 mg/ha y día en ese periodo y 30 mg por hectárea y hora.

El vuelo de la segunda generación ocurre entre el 31 de mayo a 22 de junio (Fig.8), en este período la emisión de la feromona fue de 43,7 mg/ha y hora hasta el 9 de junio y a partir de aquí hasta el día 22 de junio de 39.8 mg/ha y hora, difusión

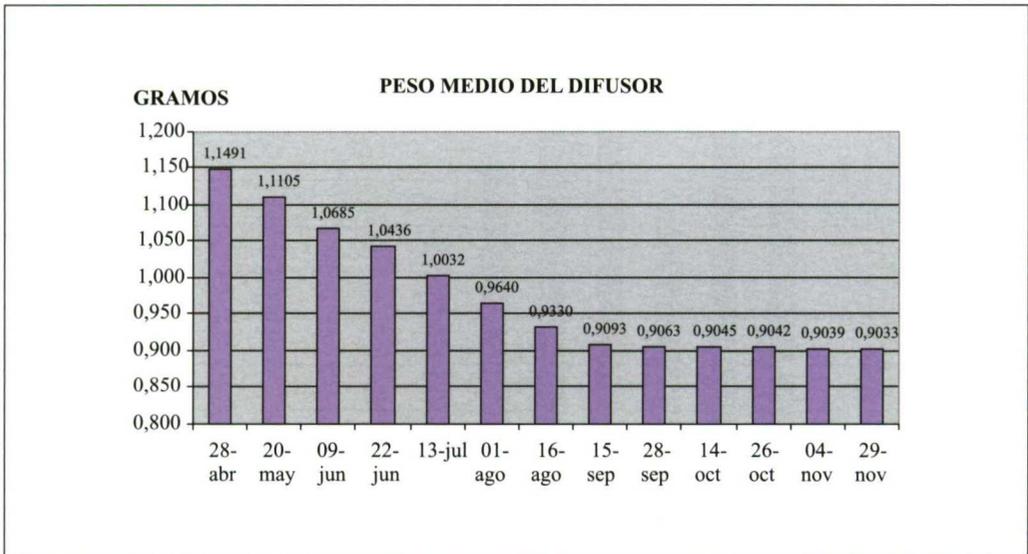


Figura 4. Peso medio del difusor.

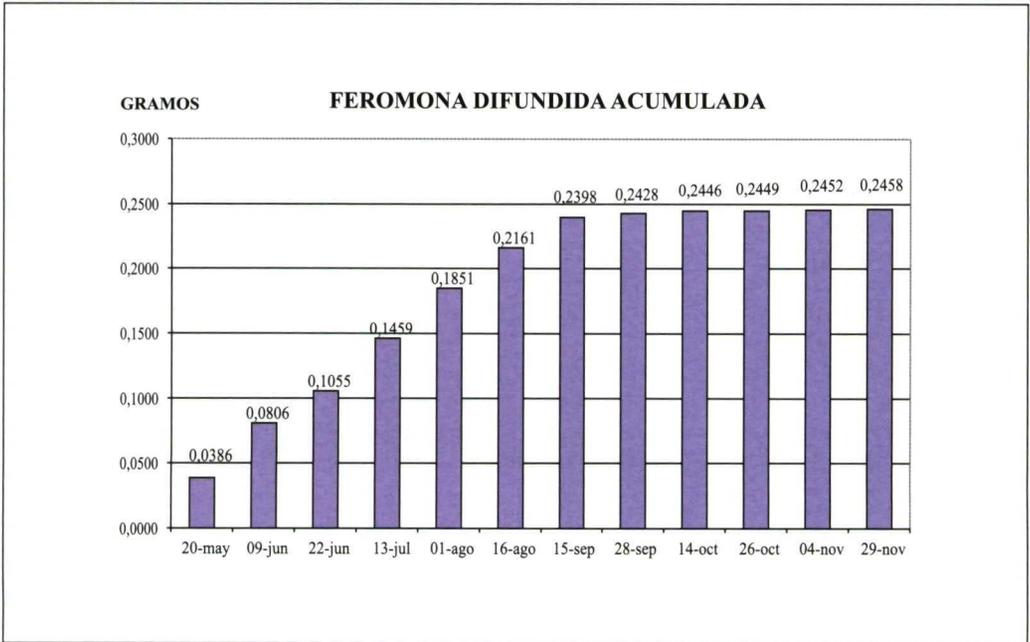


Figura 5. Cantidad de feromona difundida acumulada.

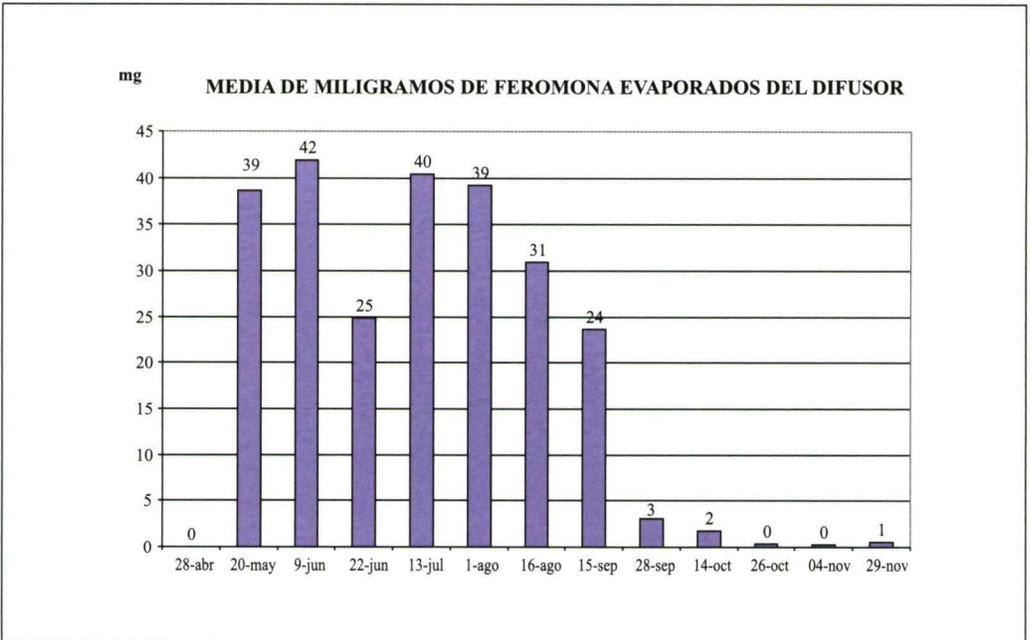


Figura 6. Media de miligramos evaporados por pesada.

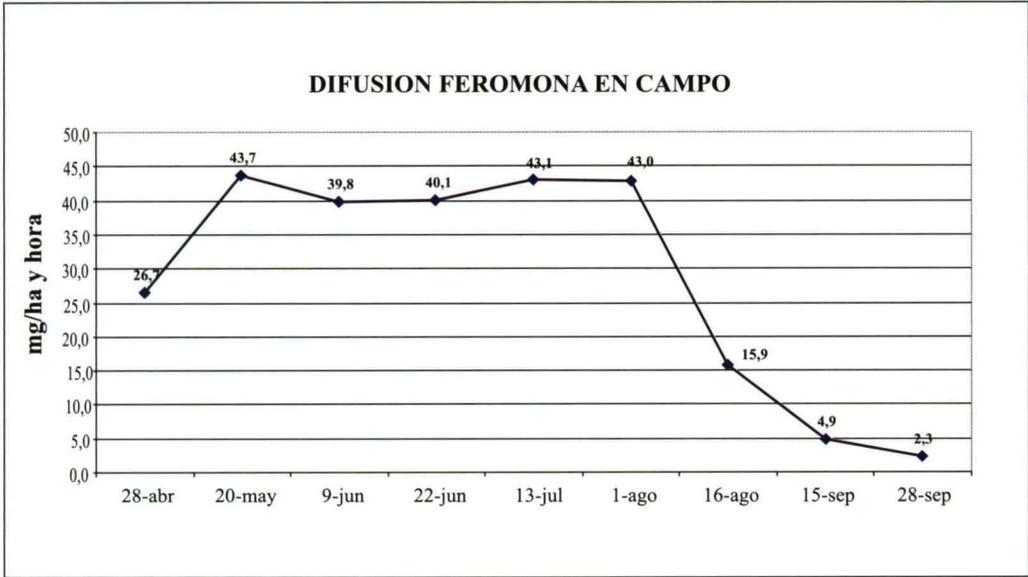


Figura 7. Curva de difusión de la feromona.

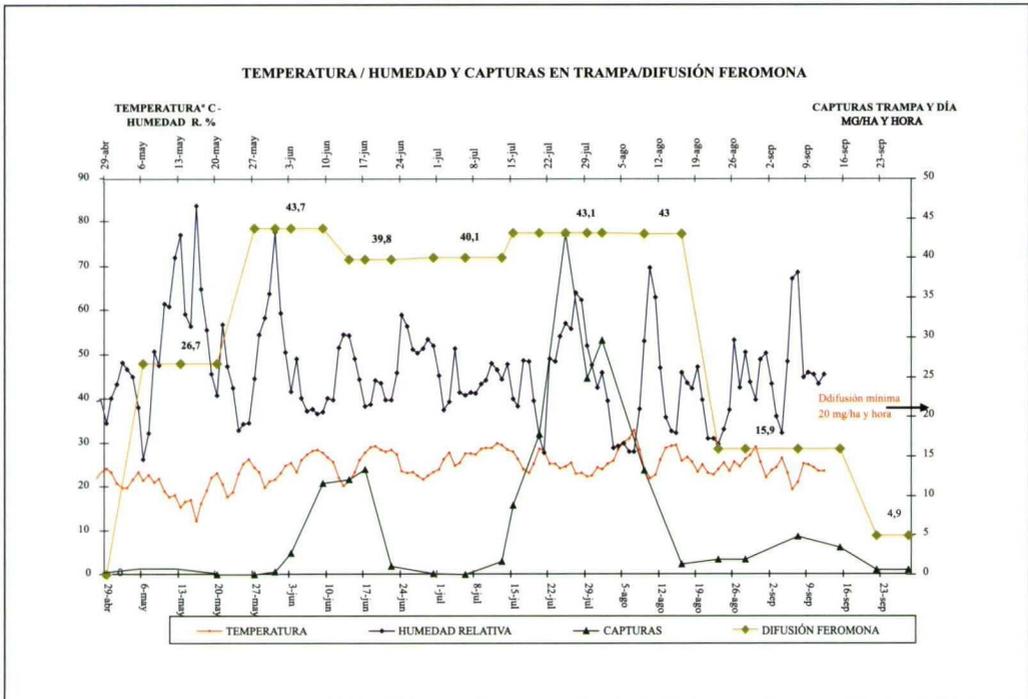


Figura 8. Gráfico que engloba la temperatura, humedad, capturas en trampa y difusión de la feromona.

suficiente teniendo en cuenta la difusión mínima recomendada de 20 mg/ha y hora (COSCOLLÁ R., 1997) (Fig. 7).

El vuelo de la tercera generación ocurre entre el 13 de julio y el 16 de agosto en este período la difusión fue de 43.0 mg/ha y hora también superior a la mínima. La difusión fue suficiente para provocar confusión durante el vuelo de 2ª y 3ª generación, teniendo en cuenta que estas son las de mayor daño en la zona (ARIAS, A. NIETO, J. 1980 y COSCOLLÁ R. y otros 1982).

En la Fig. 8 puede apreciarse como "coinciden" en el tiempo la emisión de la feromona con las capturas de *Lobesia botrana* en la 2ª, 3ª y 4ª generación.

Datos meteorológicos:

En los primeros 22 días (20 de mayo) después de su colocación la temperatura media diaria oscilo entre los 12 y 22 °C (Fig. 8) , teniendo en estos días una emisión de 26,7 mg por ha y hora, también se produce entre los días 12 y 20 una subida de la humedad relativa provocada por precipitaciones. A partir de ese período y hasta alcanzar los 111 días la temperatura media diaria experimenta un crecimiento, teniendo valores medios comprendidos entre los 20 y 30 °C y es a partir de aquí cuando la difusión sube de forma importante, manteniendo una emisión cercana a los 40 mg

por ha y hora en este periodo, por el contrario la humedad relativa se mantiene en niveles bajos comprendidos entre el 35 y el 60 % valores comprendidos entre los óptimos para *Lobesia botrana* (ARIAS, A. et al., 1992).

La emisión de la feromona ha sido de forma progresiva a pesar de las variaciones de humedad y temperatura en los primeros 111 días.

Entre los 111 y los 170 días a pesar de ser muy parecidas las oscilaciones de temperatura y humedad al periodo anterior, la difusión cae a 15.9 mg/ha y hora hasta los 140 días y menos de 5 mg/ha y hora en el resto, no manteniendo en este período la difusión mínima de 20 mg/ha y hora.

## CONCLUSIONES

El difusor Isonet-L se ha mantenido 111 días con una difusión por encima de la mínima recomendada 20 mg/ha y hora.

Los difusores empleados liberan la feromona de una forma continua y suficiente como para provocar confusión durante el vuelo de la segunda y tercera generación de *Lobesia botrana*.

Se aprecia cierta influencia de la temperatura y de la humedad en la cinética de emisión de la feromona.

## ABSTRACT

HONORIO GUISADO F., J. A. RODRIGUEZ BERNABÉ. 2008. Emission of pheromone diffuser Isonet-L in an experience of sexual confusion against *Lobesia botrana* Den. And Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 297-303.

The present paper shows the result obtained in an experiment carried out in a nine-hectare traditional vineyard located in Tierra de Barros (Badajoz, Spain). It consisted in creating sexual confusion against *Lobesia botrana* Den. y Schiff. The diffuser used was Isonet-L (E/Z - 7,9-Dodecadienil acetate 67%) and the dose was 500 diffusers per hectare, in a single application. The emission of the pheromone was measured periodically by weighing the diffuser.

Temperature and humidity data were obtained using a sensor placed "in situ". Delta traps with sexual pheromones were also placed at different points in the testing and adjacent areas to follow up the flights of adult males and to get the flight curves of different generations.

This way, it has been studied the kinetics of the pheromone emission, its relationship with humidity and temperature and also with the grapevine moth flight curve. (*Lobesia botrana* Den. & Schiff).

**Key words:** E / Z-7,9-Dodecadienil acetate 67%, kinetic emission, flight curve, temperature and humidity.

## REFERENCIAS

- ARIAS, A., NIETO, J. 1980. *Observaciones sobre el ataque de "polilla del racimo" (Lobesia botrana Den y Schiff.), y ensayo de simulación de daños, en primera generación en "Tierra de Barros", (Badajoz), 1979.* Comunicaciones del Servicio de Defensa Contra Plagas. Serie Estudios y Experiencias. Separata nº 3, MAPA.- Servicio de Plagas, Madrid. 15 pp.
- ARIAS, A., NIETO, J. 1981. Eficacia de dos insecticidas fosforados orgánicos y dos piretroides, contra "Polilla del racimo" (*Lobesia botrana* Den y Schiff.) y efecto secundario sobre "Araña Amarilla Común" (*Tetranychus urticae* Koch.). Boletín Servicio de plagas volumen 7 tomo 1-2 MAPA, Madrid.
- ARIAS, A. 1990. *La protección integrada de la vid en España. Estrategias y límites actuales.- 4º Symposium Nacional de Agroquímicos.* Sevilla, 198-224.
- ARIAS, A. et al. 1992. *Essais de confusion sexuelle de Lobesia botrana* Den. & Schiff. Pendant 1989 et 1990 dans "Tierra de Barros" (Espagne). Bull. OILB/SROP XV (2), 18.
- ARIAS, A. et al. 1992. Los parásitos de la vid. Estrategias de protección razonada. (3ª edición).-ED: MAPA-MUNDI-Prensa, Madrid.
- COSCOLLÁ, R. 1980b. Incidencia de los factores climatológicos en la evolución de las plagas y enfermedades de las plantas. *Bol. San. Veg. Plagas*, 6: 123-139.
- COSCOLLÁ, R. 1981. Algunas consideraciones sobre la dinámica poblacional de *Lobesia botrana* Den. y Schiff. en las comarcas vitícolas valencianas. *Bol. San. Veg. Plagas*, 7: 169-184.
- COSCOLLÁ, R., ARIAS, A., CORTÉS, J.A., ESTEVE, R., MARTÍNEZ-MORGA, F., NIETO, J., PÉREZ-MARÍN, J.L., RODRÍGUEZ-PÉREZ, M., SÁNCHEZ GARCÍA, J., TOLEDO, J. 1982. Estudio de los daños producidos por la 1ª generación de la polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.). *Bol. San. Veg. Plagas*, 8: 215-223.
- COSCOLLÁ, R., SÁNCHEZ, J., BELTRÁN V. 1986. Estudio preliminar sobre la mortalidad de huevos de *Lobesia botrana* Den. & Schiff. por efecto de altas temperaturas y bajas humedades relativas en laboratorio. *Bol. San. Veg. Plagas*, 12: 3-7.
- COSCOLLÁ, R. 1997. *La polilla del racimo de la vid (Lobesia botrana Den. y Schiff.)*. Generalitat Valenciana, Consejería de Agricultura, Pesca y Alimentación, Valencia, 613 pp.
- COSCOLLÁ, R., BADÍA I BALLESTER, V. 2005. *Ensayo de lucha contra la polilla del racimo de la vid (Lobesia botrana Deny Schiff) por confusión sexual mediante difusores "ISONET-L"*. Com. XXXI Reunión del Grupo de la Vid, Aranjuez (Madrid), 7,8,y 9 de febrero de 2006.
- GONÇAL BARRIOS, J. C. , FERRÉ, C., ORIOL SANTOS, S. B. 2005. *Ensayo de lucha contra la polilla del racimo (Lobesia botrana) por confusión sexual.* Com. XXXI Reunión del Grupo de la Vid, Aranjuez (Madrid), 7,8,y 9 de febrero de 2006.
- TORRES-VILA, L. M. 1996. Efecto de la temperatura de desarrollo preimaginal sobre el potencial biótico de la polilla del racimo de la vid, *Lobesia botrana* (Denis y Schiffermüller, [1775]) (Lepidoptera: Tortricidae). *SHILAP Revta. lepid.*, 24: 197-206.
- TORRES VILA, L. M., OUSTRY, L., SCHMITZ, V., ROEHRICH, R., STOCKEL, J. 1993. Acción de la humedad relativa y la fluctuación térmica sobre la crisálida no diapausante de la "polilla del racimo", *Lobesia botrana* Den. y Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 19: 79-92.

(Recepción: 11 enero 2008)

(Aceptación: 21 mayo 2008)



## La polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.) en nueve zonas vitivinícolas de Castilla y León: años 2000 a 2006

I. ARMENDÁRIZ, A. PÉREZ-SANZ, G. CAMPILLO, L. MIRANDA, J. S. JUÁREZ

Durante los años 2000 a 2006 se ha procedido al seguimiento mediante trampas de feromonas de la polilla del racimo (*Lobesia botrana*) en 9 zonas vitivinícolas de Castilla y León. El número de generaciones normales de la polilla es de tres, aunque en algunos casos se encuentren sólo dos o sean cuatro, como en la D.O. Bierzo. La presencia de la polilla es desigual entre las áreas estudiadas, pudiéndose distinguir zonas con elevada presencia como Cigales, Rueda, Toro, Tierra del Vino de Zamora y Tierras de León. Igualmente se constata el incremento en dos de las zonas, Tierra del Vino de Zamora y la D.O. Tierras de León y un aumento general a partir de 2004. En general se encuentra bastante coincidencia entre los momentos de máximo de vuelo a lo largo de los años de estudio para las distintas zonas.

I. ARMENDÁRIZ, A. PÉREZ-SANZ, G. CAMPILLO, L. MIRANDA, J. S. JUÁREZ. Dpto. de Hortofruticultura. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Ctra. Burgos Km. 119, 47071 Valladolid (España). e-mail: ita-armgonig@itacyl.es

**Palabras clave:** Curvas de vuelo, seguimiento, plagas.

### INTRODUCCIÓN

La polilla del racimo (*Lobesia botrana*) es uno de los insectos que más pérdidas ocasiona en los viñedos del área mediterránea, siendo la plaga clave de este cultivo (COSCOLLÁ, 1997). Se trata de una plaga reciente y dinámica, ya que los primeros ataques fueron apreciados a finales del s. XIX en Austria, estando ya presente en el primer tercio del s. XX en todas las zonas vitivinícolas europeas.

Además de los ataques directos que inciden sobre la producción, existe una clara relación entre los mismos y la aparición de podredumbres del racimo, como es el caso de *Botrytis cinerea*.

El potencial biótico de la polilla del racimo se ve influenciado, entre otros factores, por las condiciones ambientales, principalmente temperatura y humedad relativa. Ello

provoca que tanto el ciclo biológico como las densidades de población varíen según las condiciones meteorológicas de cada año.

La confusión que puede haber en los viticultores a la hora de reconocer la polilla, junto con la particularidad de que se puede dar la aparición de daños por la plaga independientemente de la presencia de adultos en las trampas, hace que el control no se haga siempre de forma racional y efectiva, realizándose tratamientos en momentos no adecuados y con materias activas de muy amplio espectro que afectan negativamente al equilibrio del medio.

Por todo ello en el año 2000 el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León inició el estudio de esta plaga en las DD.OO. Cigales (PELÁEZ *et al.* 2005) y Rueda (SANTIAGO *et al.* 2005). A partir de ese año el trabajo se fue ampliando a otras zonas vitivinícolas tales como las actualmente DD.OO.

Bierzo, Ribera del Duero, Toro, Arribes, Vino de Zamora y Tierras de León y la V.C.P.R.D. Valles de Benavente, abarcando así las principales zonas vitivinícolas de Castilla y León. Durante los años 2005 a 2007 y dentro del proyecto INTERREG III-A "MOABEPE" se ha estudiado también la zona fronteriza de los Arribes. Información más amplia puede ser obtenida en SANTIAGO *et al.* (2008).

## METODOLOGÍA

Se eligieron un número de parcelas distribuidas por las distintas zonas vitivinícolas en función de la concentración de viñedo, buscando distintas áreas mesoclimáticas que pudieran condicionar el ciclo biológico de la plaga. Este número de parcelas dependió principalmente de la superficie de viñedo de cada zona estudiada.

En el Cuadro I aparece el número de parcelas utilizadas por año y zona estudiada. En total son 569 las parcelas muestreadas en estos siete años.

En cada parcela se colocaron dos trampas, con una distancia entre ellas no inferior a 50 metros. Cada trampa consiste en una caseta tipo Delta sujeta a una estaca de madera de 1,5 m y una placa engomada en la que se

deposita una cápsula de feromona que se cambia cada 6 semanas. Su interés reside en conocer en qué momentos tienen lugar los vuelos y poder determinar los tiempos oportunos de realización de los tratamientos (COSCOLLÁ, 1997), racionalizando así el seguimiento de esta plaga (PELÁEZ *et al.*, 2003; PELÁEZ *et al.*, 2004).

Los muestreos fueron semanales, desde abril a octubre en la mayoría de los casos, haciendo el recuento del número de adultos que habían caído en las placas engomadas, registrando igualmente el estado fenológico predominante de las cepas. Estos muestreos sirven igualmente para el mantenimiento de las trampas, desde el cambio de placas y feromonas a cualquier incidencia debida a factores externos.

En la elección de las parcelas se tuvo en cuenta las variedades representativas de las zonas, al igual que el sistema de conducción más frecuente, en vaso o en espaldera. La edad de las viñas es muy variable, desde jóvenes a algunas casi centenarias.

Para la confección de las curvas de vuelo por zonas se ha tomado la media del total de las parcelas estudiadas, considerando que ésta es representativa de cada área y año. El dato empleado es del polilla/trampa/día.

Cuadro 1. Parcelas muestreadas en cada Zona Vitivinícola para la monitorización de *Lobesia botrana*. Años 2000 a 2006.

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
D.O. CIGALES	26	26	26	12	27	6	
D.O. RUEDA	25	25	24	11	10	11	11
D.O. TORO			23	22	22	22	7
D.O. RIBERA DEL DUERO					28	25	9
D.O. BIERZO					28	25	22
D.O. ARRIBES					10	10	10
D.O. TIERRA DEL VINO DE ZAMORA					5	5	5
D.O. TIERRAS DE LEÓN					25	14	2
V.C.P.R.D. VALLES DE BENAVENTE					5	5	
TOTAL	51	51	73	45	160	123	66

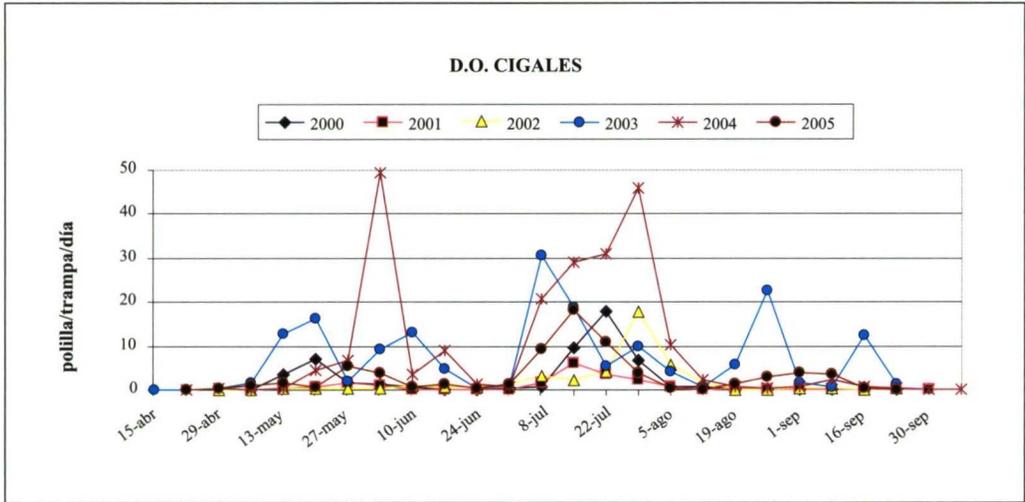


Figura 1. Curva general de vuelo de *Lobesia botrana* en la D.O. Cigales. Años 2000 a 2005.

En todo el proceso han colaborado los técnicos de las distintas zonas, especialmente implicados en la transmisión de la información a los viticultores.

**RESULTADOS**

**D.O. CIGALES**

El estudio se ha realizado en esta D.O. entre los años 2000 a 2005 (Fig. 1). En 2000 y 2001 sólo se dieron dos generaciones. Es a partir de 2002 cuando se comienza a observar de forma clara la presencia de tres generaciones.

El segundo vuelo es el que tiene unos valores más altos durante prácticamente todas las campañas, a excepción de 2004, en el que el primer vuelo fue el más abundante, condicionados en ese año los posteriores seguramente por la bajada de temperaturas y la aparición de lluvias. La diferencia entre el número de adultos capturados en las trampas varía de un año a otro. Así en 2001 el máximo de polilla fue de 6,1 adultos/trampa/día mientras que en 2004 se alcanzaron los 49,5 adultos/trampa/día. En cuanto a los máximos de los diferentes vuelos han variado en una o dos semanas,

según las condiciones climáticas de los años, situándose entre la segunda y tercera decena de julio para la segunda generación y en las condiciones climatológicas más extremas en la primera decena de agosto (año 2002).

**D.O. RUEDA**

Esta es la zona más ampliamente estudiada, con datos comprendidos entre los años 2000 a 2006. En 2000 sólo se observaron dos vuelos en la zona (Fig. 2). Es a partir de 2001 cuando comienzan a observarse tres vuelos. El máximo de vuelo se registra durante la segunda o tercera generación en todas las campañas.

Exceptuando 2002, en el que varió el máximo del segundo vuelo adelantándose unos veinte días, los máximos de este vuelo se han producido durante las mismas decenas en los seis años, la segunda de julio.

Las condiciones ambientales han modificado en cierta medida la aparición de los máximos dándose varios máximos relativos, como es el caso de 2001. Aunque esta Denominación presenta menores variaciones en los valores máximos de captura a lo largo de los años, éstos son siempre mayo-

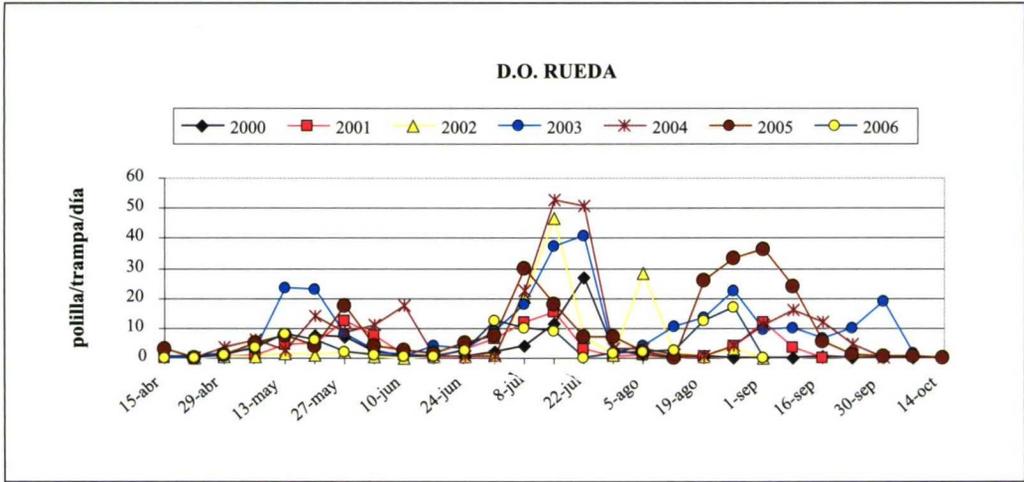


Figura 2. Curva general de vuelo de *Lobesia botrana* en la D.O. Rueda. Años 2001 a 2006.

res a los de la D.O. Cigales: entre 12,6 polillas/trampa/día en 2001 a 52,6 polillas/trampa/día en 2003.

**D.O. TORO**

Esta D.O. ha sido monitorizada entre los años 2002 a 2006. En 2002 cuando las trampas se pusieron ya había comenzado el vuelo de *L. botrana* (Fig. 3). Es probable que en este tiem-

po, tercera decena de mayo, se estuviese produciendo el máximo de emergencia ya que, como se comprobaría en años posteriores, es en esta época cuando se produce el máximo de este vuelo. Además en 2002 es en el primer vuelo cuando se presenta el máximo de polilla/trampa/día, mientras que en el resto de años es el máximo del segundo vuelo el más abundante o, en el caso de 2006, en el tercer vuelo.

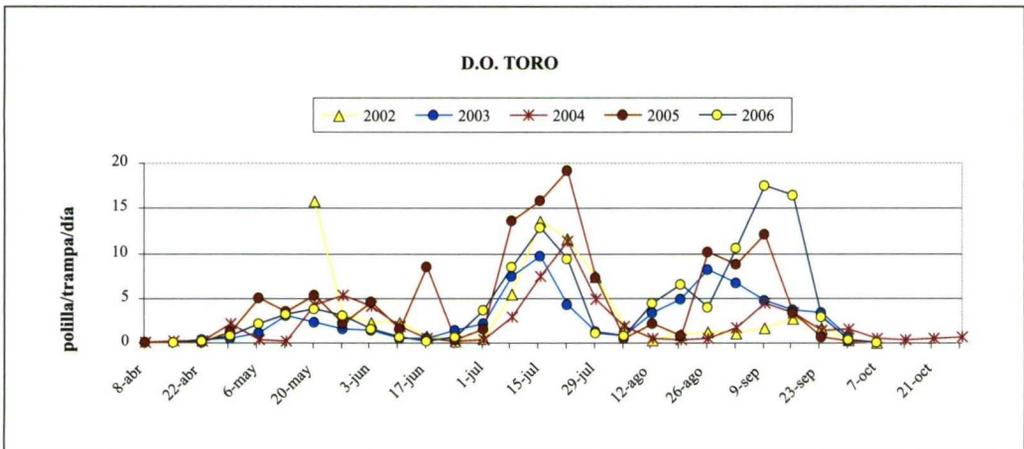


Figura 3. Curva general de vuelo de *Lobesia botrana* en la D.O. Toro. Años 2002 a 2006.

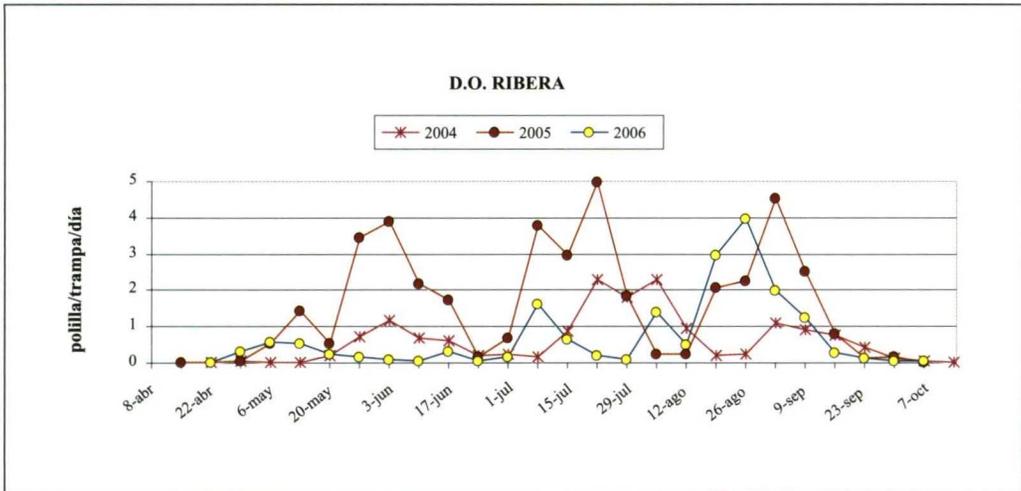


Figura 4. Curva general de vuelo de *Lobesia botrana* en la D.O. Ribera del Duero. Años 2004 a 2006.

Los tres vuelos se comportan de forma bastante homogénea a lo largo de todas las campañas de estudio, produciéndose los máximos en los mismos momentos y con intensidad semejante, variando la máxima intensidad entre 9,7 y 19,1 polillas/trampa/día. Los tres vuelos se observan de forma clara en todas las campañas.

**D.O. RIBERA DEL DUERO**

Los muestreos realizados en las tres campañas, 2004 a 2006, han mostrado que en esta Denominación la presencia de *L. botrana* es baja, no superando en ningún caso las 5 polillas por trampa y día (Fig. 4). Es en 2005 cuando la presencia de la polilla es máxima en los tres vuelos.

Los tres vuelos han sido similares en cuanto a la captura de adultos, destacando en 2005 el segundo y en 2006 el tercero. Referido a los momentos de máximo vuelo, coinciden en los tres años las épocas de aparición.

**D.O. BIERZO**

Las trampas en la D.O. Bierzo se pusieron por vez primera durante la campaña de 2004 (Fig. 5). Esta zona geográfica presenta particularidades climáticas que se traducen en

variaciones en el ciclo biológico de la polilla. Así los adultos del primer vuelo aparecen con anterioridad a otras zonas vitivinícolas. Por ello en la curvas de vuelo desde el primer momento hay capturas. En general los máximos de población están por debajo de 12,1 polillas/trampa/día, lo que permite considerarlos como moderados. Además no existen grandes diferencias entre unos vuelos y otros en cuanto al número de adultos de polilla capturados en las trampas.

En 2004 destaca la aparición de capturas más altas en el tercer vuelo con respecto a los dos vuelos anteriores.

En 2005 cabe destacar la aparición de un cuarto vuelo en octubre, con unos valores más bajos que el resto. El segundo vuelo se sucede durante los meses de junio y agosto produciéndose un máximo a primeros de julio. Destaca el tercer vuelo con una aparición temprana y con valores altos, lo que aconseja prestar atención a los posibles daños, sobre todo en variedades tardías cuya vendimia es posterior y donde la polilla todavía tiene tiempo de provocar daños.

En 2006 sobresale de nuevo el tercer vuelo aunque se mantiene el equilibrio de número de adultos entre los vuelos.

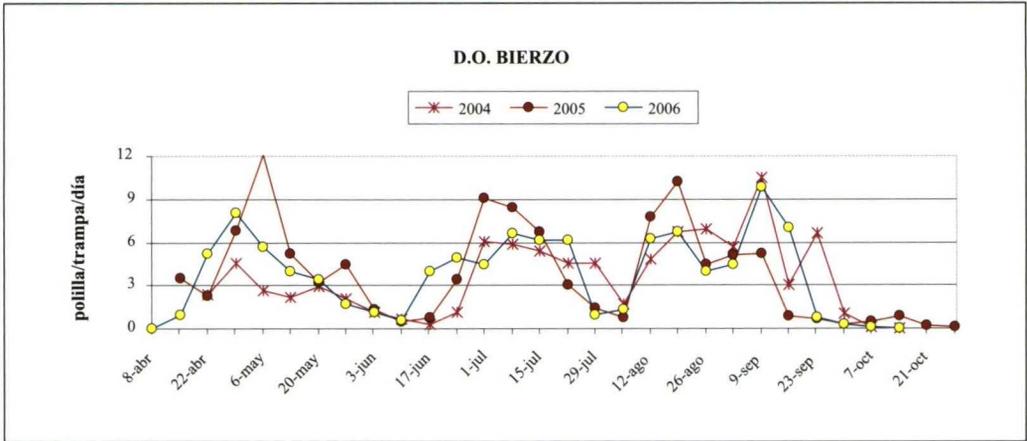


Figura 5. Curva general de vuelo de *Lobesia botrana* en la D.O. Bierzo. Años 2004 a 2006.

**D.O. ARRIBES**

Durante 2004 (Fig. 6) los vuelos tuvieron un número de capturas similar, destacando el tercer vuelo con unas capturas algo mayores que el resto.

En 2005 únicamente el primer vuelo presenta valores elevados, con un máximo que supera las 11,3 polillas/trampa/día. El resto de vuelos desciende notoriamente en su valor debido posiblemente a las altas tempe-

raturas y a la baja humedad, que condicionan significativamente el desarrollo del adulto y su fecundidad, y que no son favorables para el desarrollo del insecto.

En 2006 el número de capturas fue menor en toda la campaña, destacando el segundo vuelo.

**D.O. TIERRA DEL VINO DE ZAMORA**

En 2004 (Fig. 7) se detectaron tres vuelos, con un segundo vuelo con mayores

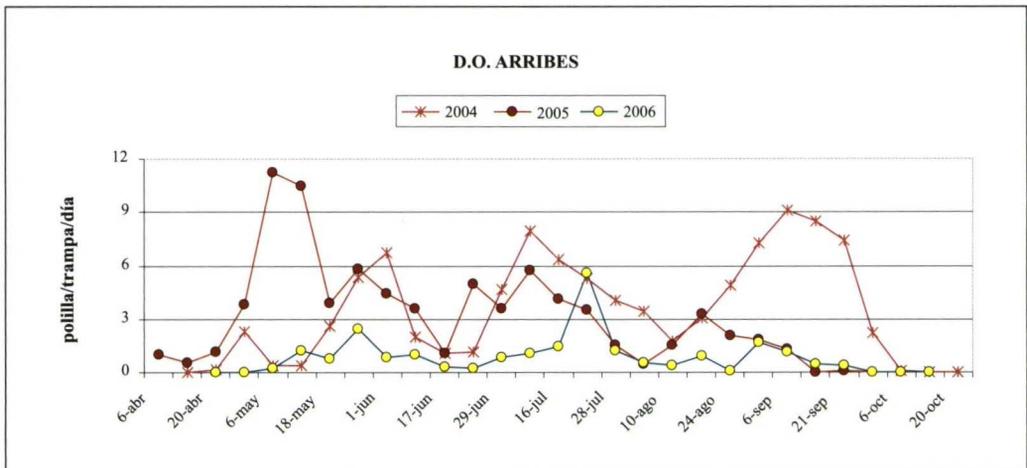


Figura 6. Curva general de vuelo de *Lobesia botrana* en la D.O. Arribes. Años 2004 a 2006.

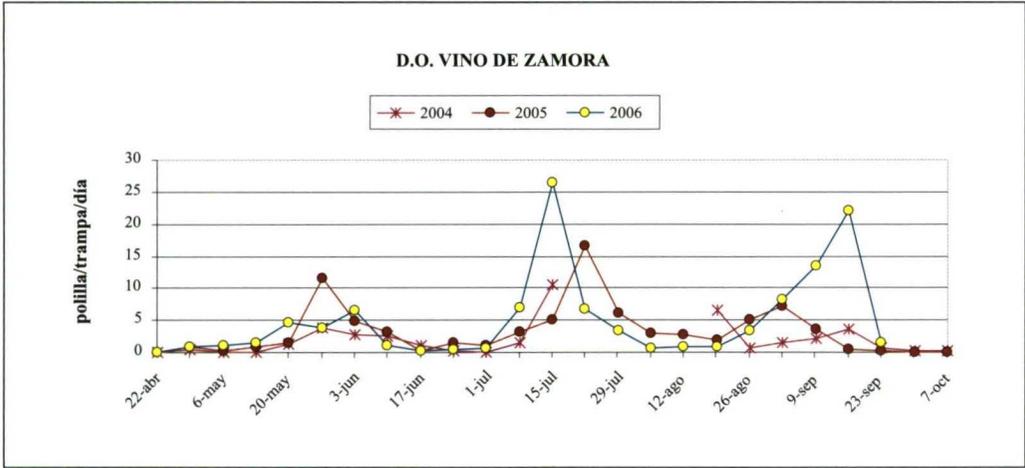


Figura 7. Curva general de vuelo de *Lobesia botrana* en la D.O. Tierra del Vino de Zamora. Años 2004 a 2006.

capturas y valores superiores a 10 polillas/trampa/día, máximo que se pudo superar durante este tiempo, ya que el muestreo no fue continuo.

En 2005 los valores de las capturas fueron algo superiores (16,6), pero los máximos de vuelo de las distintas generaciones se dieron durante las mismas fechas.

En 2006 aumenta la presencia de la polilla con un máximo en segundo vuelo de 26,5

polilla/trampa/día y un tercer vuelo también importante. Esta es una zona en la que se ha constatado el aumento de la polilla en los tres años de estudio.

**D.O. TIERRAS DE LEÓN**

Durante 2004 se detectaron tres vuelos, con un segundo vuelo con mayores capturas que los otros y un máximo de 7,9 polillas/trampa/día (Fig. 8). El primer vuelo

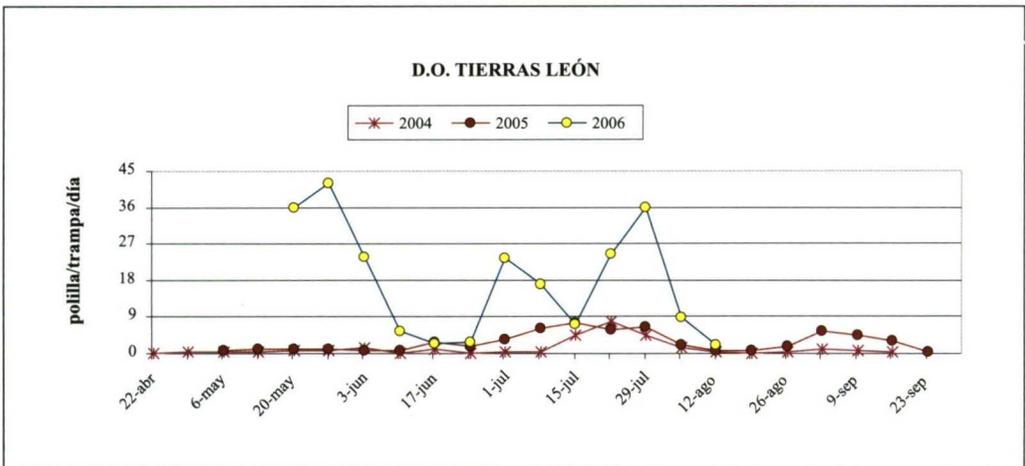


Figura 8. Curva general de vuelo de *Lobesia botrana* en la D.O. Tierras de León. Años 2004 a 2006.

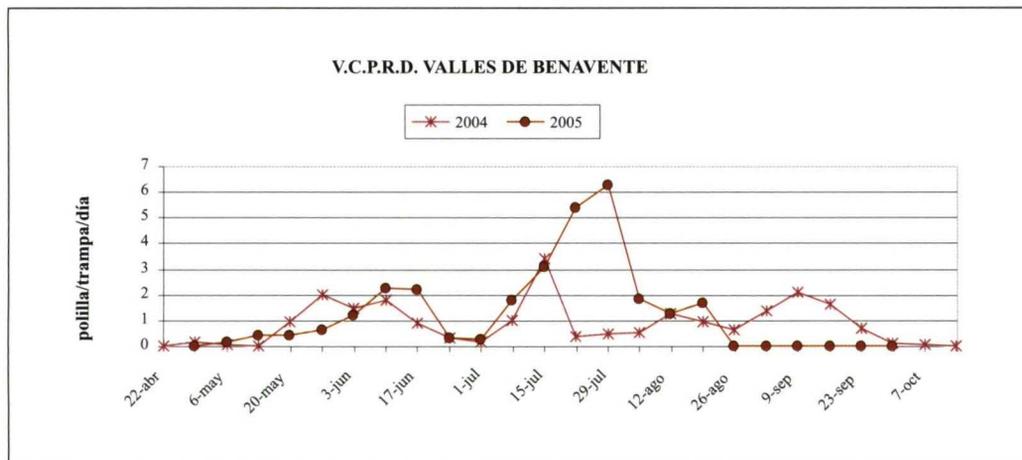


Figura 9. Curva general de vuelo de *Lobesia botrana* en la V.C.P.R.D. Valles de Benavente. Años 2004 y 2005.

tuvo varios picos. En 2005 los vuelos ganan intensidad respecto al año anterior, con un máximo de 7,1 polillas/trampa/día en el segundo vuelo. En 2006 la toma de datos fue parcial, entre los meses de mayo y agosto. Sin embargo se observan los dos primeros vuelos que en esta ocasión alcanzan picos más altos, especialmente el 1º con 41,9 polillas/trampa/día y el segundo vuelo cuyo máximo es de 36,0 polillas/trampa/día. De nuevo se constata un aumento importante en las poblaciones de polilla en esta zona.

#### V.C.P.R.D. VALLES DE BENAVENTE

Esta es la zona menos estudiada con únicamente dos años, 2004 y 2005. En 2004 se observan claramente los tres vuelos. Las capturas son algo mayores en el segundo vuelo que se solapa con el tercero (Fig. 9).

Durante 2005, sólo son perceptibles dos vuelos, apareciendo los últimos adultos a mediados de agosto. Ello fue debido probablemente a la sequía. El máximo se alcanza con 6,3 polilla/trampa/día en la 2ª generación.

En el cuadro 2 pueden verse los valores medios de polilla/trampa/día para el total del tiempo muestreado en cada zona vitivinícola. Hay que matizar que los distintos períodos de muestreo por años condicionan

estos valores. Es observable un aumento entre los años 2004 y 2005 en todas las zonas estudiadas y, en general, un aumento o mantenimiento de 2005 a 2006 como se refleja en los valores medios anuales, salvo para el caso de Arribes y Ribera que disminuyen entre esos años.

Las condiciones meteorológicas influyen directamente en el desarrollo de esta plaga. En especial los grados-día están correlacionados de forma clara con el porcentaje de población capturada. En la figura 10 puede verse un ejemplo de una parcela en los Arribes en el año 2004.

#### DISCUSIÓN

El estudio ha abarcado nueve de las principales zonas vitivinícolas de Castilla y León. Sin embargo no ha sido realizado aún en las cuatro comarcas vitivinícolas restantes (Cebreros, Sierra de Salamanca, Valtiendas y Arlanza). Ojalá en un futuro cercano se puedan llevar a cabo estas prospecciones y así completar el mapa de zonas vitivinícolas de Castilla y León y transmitir los datos puntualmente a los viticultores.

El estudio de las curvas de vuelo de la polilla del racimo en Castilla y León entre

Cuadro 2. Valores medios de polilla/trampa/día para el total del tiempo muestreado en cada zona vitivinícola.

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	MEDIA
<b>Cigales</b>	1,11	0,43	0,26	2,36	2,4	3,12		1,61
<b>Rueda</b>	1,69	1,06	0,94	5,71	5,72	10,96	5,15	4,46
<b>Toro</b>			0,65	2,46	2,03	4,53	4,26	2,79
<b>Ribera</b>					0,53	1,29	0,6	0,81
<b>Bierzo</b>					3,03	3,80	3,63	3,49
<b>Arribes</b>					1,36	2,96	0,84	1,72
<b>Zamora</b>					2,68	4,60	4,82	4,03
<b>León</b>					0,71	2,67	13,33	5,57
<b>Benavente</b>					0,96	1,41		1,19
<b>Medias</b>	1,40	0,75	0,62	3,51	2,26	4,05	5,30	2,99

los años 2000 a 2006 nos permite agrupar las zonas en dos categorías:

A/ Zonas con **presencia importante de la polilla**: Cigales, Rueda, Toro, Tierra del Vino de Zamora y Tierras de León.

B/ Zonas con **presencia menos importante** de polilla: Ribera del Duero, Bierzo, Arribes y Valles de Benavente.

Por otra parte la presencia de la polilla del racimo muestra un incremento a lo largo de los años en algunas zonas, caso de la

D.O. Tierra del Vino de Zamora y la D.O. Tierras de León.

En general se encuentra bastante coincidencia entre los momentos de máximo de vuelo a lo largo de los años de estudio para las distintas zonas. Las condiciones meteorológicas influyen directamente en el desarrollo de esta plaga. Un mayor detalle al respecto en relación con la D.O. Arribes puede encontrarse en ARMENDÁRIZ *et al.* (2007).

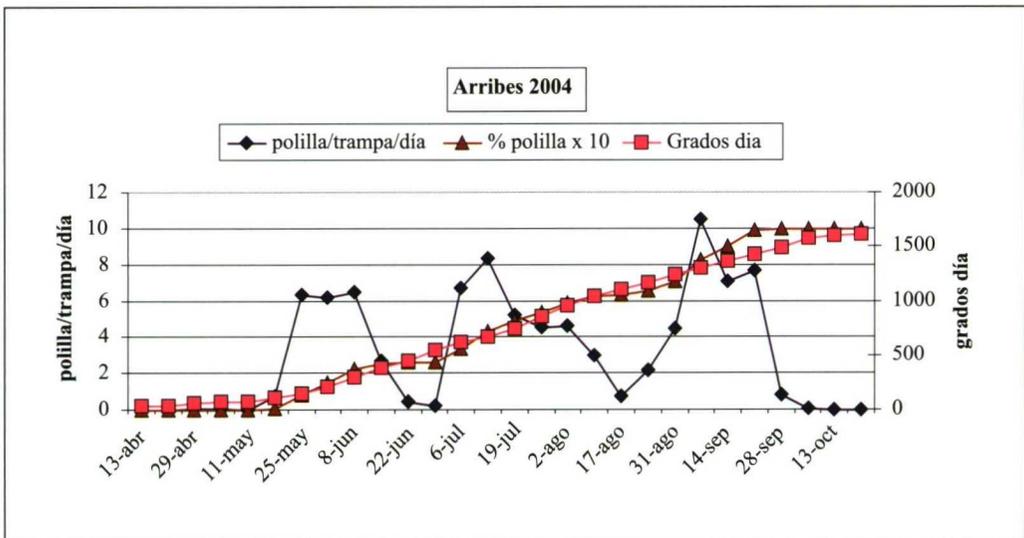


Figura 10. Curva de vuelo, grados-día y porcentaje de la población de *Lobesia botrana* para una parcela de los Arribes en 2004.

El estudio geoestadístico (PELÁEZ *et al.*, 2004) ha permitido reducir el nº de parcelas de seguimiento en cuatro de las áreas de estudio; Cigales, Rueda, Toro y Ribera del Duero (Cuadro 1). Por otra parte la labor de los técnicos locales ha sido fundamental a la hora de transmitir con puntualidad los datos de capturas a los viticultores y los avisos de posibles tratamientos. En el caso de los Arribes esta transmisión se ha realizado también a través de la página web <http://www.esa.ipb.pt/~moabepe>.

La importancia del sector vitivinícola en Castilla y León, aunado a un escenario de cambio climático, con una extensión del clima mediterráneo (OFICINA NACIONAL

DEL CAMBIO CLIMÁTICO 2005), justifican la continuación y ampliación de la monitorización de la polilla del racimo en esta Comunidad.

## AGRADECIMIENTOS

A los Consejos Reguladores de las Denominaciones de Origen y demás figuras legales, a los técnicos de las Estaciones de Avisos de la Junta de Castilla y León y a todo el personal implicado en la toma de datos en el campo. A todos aquellos que han colaborado en mayor o menor medida para la elaboración de este estudio: Muchas gracias.

## ABSTRACT

ARMENDÁRIZ, I., A. PÉREZ-SANZ, G. CAMPILLO, L. MIRANDA, J. S. JUÁREZ. 2008. The grapevine moth (*Lobesia botrana* Den. and Schiff.) in nine vine zones of Castilla y León: 2000 to 2006. Bol. San. Veg. Plagas, **34**: 305-315.

During years 2000 to 2006 has been come to the pursuit by means of traps of pheromones from grapevine moth (*Lobesia botrana*) in 9 vine zones of Castilla y León. The number of normal generations of grapevine moth is of three, although in some cases are only two or four, like in the D.O. Bierzo. The presence of grapevine moth is unequal between the studied areas, being able to distinguish zones with high presence like Cigales, Rueda, Toro, Tierra del Vino de Zamora and Tierras de León. Also the increase in two of the zones, Tierra del Vino de Zamora and the D.O. Tierras de León is stated. A general increase from 2004 is evidenced. In general there is enough coincidence between the moments of maximum of flight throughout the years of study for the different zones.

**Key words:** Flight curves, survey, pests.

## REFERENCIAS

- ARMENDÁRIZ, I., CAMPILLO, G., PÉREZ-SANZ, A., CAPI-LLA, C., JUÁREZ, J. S., MIRANDA, L. 2007. La polilla del racimo (*Lobesia botrana*) en la D.O. Arribes, años 2004 a 2006. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, **33**: 477-488.
- COSCOLLÁ, R. 1997. La polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.). Generalitat Valenciana. Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación. 613 pp.
- OFICINA NACIONAL DEL CAMBIO CLIMÁTICO. 2005. Principales Conclusiones de la Evaluación Preliminar de los Impactos en España por efecto del Cambio Climático. Secretaría General Técnica. Ministerio de Medio Ambiente. 39 pp.
- PELÁEZ, H., BARRIGÓN, J., MORENO, C., MARTÍN, M. C., SANTIAGO, Y. 2005 La polilla del racimo en la Denominación de Origen Cigales. Años 2000-2004. Publicaciones del Instituto Tecnológico agrario de Castilla y León. 51 pp.
- PELÁEZ, H., GARCÍA-SINOVAS, D., MORENO, C. M., MARTÍN, M. C., SANTIAGO, Y., MORO, S. 2003. Estudio de la distribución espacial y optimización en la monitorización con trampas de feromonas de la polilla del racimo *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller (Lepidoptera: Tortricidae). Actas III Congreso Nacional de Entomología Aplicada – IX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Entomología Aplicada. Ávila.
- PELÁEZ, H., SANTIAGO, Y., GARCÍA-SINOVAS, D., MARTÍN, M. C., MORO, S., ARMENDÁRIZ, I., UTSET, A., BARRIGÓN, J., PÉREZ, A., MANZANO, A., SINOVAS, M., MORENO, C. M. 2004. Distribución espacial y su aplicación en la monitorización de la polilla del racimo *Lobesia botrana* Denis & Schiffermüller

- (Lepidoptera: Tortricidae). *Phytoma España*, **164**: 149-150.
- SANTIAGO, Y., MORENO, C., MARTÍN M. C., TÉCNICOS DEL CONSEJO REGULADOR DE LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN RUEDA, PELÁEZ, H. 2005. La polilla del racimo en la Denominación de Origen Rueda. Años 2000-2004. Publicaciones del Instituto Tecnológico agrario de Castilla y León. 49 pp.
- SANTIAGO, Y., PELÁEZ H., PÉREZ-SANZ, A., DE LA IGLESIA, L., CAMPILLO, G., MORENO, C., ALBERTE, C., MIRANDA, L., JUÁREZ, J. S., MARTÍN, M. C., MARAÑA, R., MORO, S., SINOVAS, M., TÉCNICOS DE LOS CONSEJOS REGULADORES Y ASOCIACIONES DE VINOS DE CALIDAD DE CASTILLA Y LEÓN, ARMENDÁRIZ I. 2008. La polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.) en Castilla y León: años 2000 a 2006. Publicaciones del ITACYL. 134 pp.

(Recepción: 23 enero 2008)

(Aceptación: 2 junio 2008)





## SUMARIO DEL VOL. 34 (2)

### ENTOMOLOGÍA

- S. A. DE BORTOLI, R. J. FERREIRA. Consumo e ganho de peso de larvas de *Chrysoperla Externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) de diferentes Populações e Gerações de Laboratório ..... 167
- E. L. L. BALDIN, J. M. PEREIRA, M. H. F. A. DAL POGETTO, R. S. CHRISTOVAM, A. C. CAETANO. Efeitos de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijão armazenado .... 177
- M. JUAN-BLASCO, M. J. VERDÚ, A. URBANEJA. Depredación del piojo rojo de California, *Aonidiella aurantii* (Maskell), por fitoseidos depredadores ..... 187
- J. J. SORRIBAS, R. RODRIGUEZ, E. RODRIGO, F. GARCIA MARÍ. Niveles de parasitismo y especies de parasitoides del piojo rojo de California *Aonidiella aurantii* (Hemiptera: Diaspididae) en cítricos de la Comunidad Valenciana ..... 201
- A. TENA BARREDA, A. SOTO SÁNCHEZ, F. GARCIA MARÍ. Densidad y estructura poblacional de *Saissetia oleae* Olivier (Hemiptera: Coccidae) en cítricos y olivos: importancia relativa de las dos generaciones anuales ..... 211
- C. NAVARRO, J. ALCAIDE, L. BARGUES, C. MARZAL, F. GARCIA MARÍ. Evolución del tamaño y edad fisiológica de los adultos en poblaciones de campo de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). Aplicación al análisis de su ciclo biológico ..... 219
- L. PULIDO, N. DE MENTEN, P. MEDINA, A. FRAILE, F. GARCÍA-ARENAL, E. VIÑUELA. Trampas húmedas con dispositivo de llenado, para el seguimiento de la dinámica poblacional de pulgones ..... 229
- P. L. PASTORI, L. B. MONTEIRO, M. BOTTON. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em pomar adulto de Macieira ..... 239
- N. AGUSTÍ, R. GABARRA. Efecto de la alimentación polífaga sobre la reproducción y otros parámetros biológicos de *Dicyphus tamaninii* Wagner (Heteroptera: Miridae) ..... 247
- M. PÉREZ, C. LÓPEZ, M. EIZAGUIRRE. Efecto del fotoperiodo en la terminación de la diapausa de larvas de los taladros del maíz, *Sesamia nonagrioides* y *Ostrinia nubilalis*, desarrolladas en distintas variedades de maíz transgénico y sus isogénicas correspondientes ..... 257
- C. LÓPEZ, F. MADEIRA, X. PONS, M. EIZAGUIRRE. Desarrollo larvario y número de estadios larvarios de *Pseudaletia unipuncta* alimentada con dos variedades de maíz y dos dietas semisintéticas ..... 267
- I. MORALES, A. FERERES. Umbral de temperatura para el inicio del vuelo de los pulgones de la lechuga, *Nasonovia ribisnigri* y *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae) ..... 275

### PATOLOGÍA

- B. M. DÍAZ, C. C. LÓPEZ LASTRA, M. OGGERIN, A. FERERES, V. RUBIO. Identificación de hongos entomopatógenos asociados a pulgones en cultivos hortícolas en la zona centro de la Península Ibérica .... 287

### TERAPÉUTICA

- F. HONORIO GUIADO, J. A. RODRIGUEZ BERNABÉ. Emisión de la feromona del difusor Isonet-L en una experiencia de confusión sexual contra *Lobesia botrana* Den. y Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae) ..... 297

### OTROS TEMAS

- I. ARMENDÁRIZ, A. PÉREZ-SANZ, G. CAMPILLO, L. MIRANDA, J. S. JUÁREZ. La polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.) en nueve zonas vitivinícolas de Castilla y León: años 2000 a 2006 ..... 305



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE MEDIO AMBIENTE  
Y MEDIO RURAL Y MARINO