

Francisco J. Beitia ● Marta Pérez-Hinarejos ● Sandra Santiago ● Eva Garzón ● Ignacio Tarazona
José Malagón* ● J. Vicente Falcó

EXPECTATIVAS EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Ceratitis capitata*: PARASITOIDES EXÓTICOS Y AUTÓCTONOS

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Unidad Asociada de Investigación IVIA/CIB-CSIC. Apartado Oficial. 46113 Montcada (Valencia).
* Servicio de Desarrollo Tecnológico, Conselleria de Agricultura, Generalitat Valenciana. Apartado Oficial. 46113 Montcada (Valencia).

En el marco del Plan Integral de Actuación contra la Mosca de la Fruta emprendido por la Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana, en el IVIA se está realizando el estudio de las posibilidades del control biológico de *Ceratitis capitata* por medio de himenópteros parasitoides, como un método más a utilizar frente a esta grave plaga de nuestra citricultura. Esta línea de trabajo se desarrolla con la participación en un proyecto de investigación del Plan Nacional de I+D+I, RTA03-103-C6 (2003-2005), de título "Control integrado de la Mosca Mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) en cítricos", así como en un proyecto FEOGA titulado "Control de la mosca de la fruta mediante métodos biológicos de bajo impacto ambiental".

Con la participación en estos dos proyectos se está actuando

paralelamente en el estudio de dos especies de parasitoides, los himenópteros braconídeos *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) que ataca larvas y *Fopius arisanus* Sonan que ataca huevos, importados en el año 2002 desde el U.S. Pacific Basin Agricultural Research Center (USDA-ARS) en Hawaii (USA) (Beitia *et al.*, 2003; Falcó *et al.*, 2003) y en la búsqueda de parasitoides autóctonos o ya presentes en la Comunidad Valenciana (Falcó *et al.*, 2004; Falcó *et al.*, 2005).

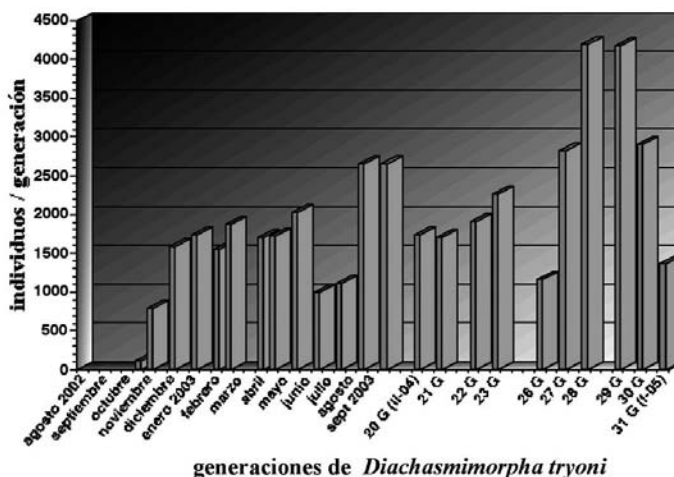
En este trabajo se presentan los avances realizados en el estudio de los dos parasitoides exóticos mencionados, así como se informa sobre las dos especies de himenópteros parasitoides de *C. capitata* encontradas hasta el momento en la Comunidad Valenciana.

Diachasmimorpha tryoni.

Cría en laboratorio.

Desde su importación al IVIA, se inició y se ha mantenido la cría controlada de esta especie, habiéndose llegado a la generación 31^ª en nuestro laboratorio.

La cría funciona correctamente y es relativamente fácil el mantenimiento de la población del parasitoides con la metodología que se utiliza de ofrecer larvas hospedadoras del estado adecuado a las hembras del himenóptero para que las parasite (Falcó *et al.*, 2003). Se está obteniendo un número total de adultos por generación suficiente para la realización de los experimentos dirigidos a conocer su biología en las condiciones mediterráneas (**Gráfica 1**).



Gráfica 1: Representa el número de generaciones y el número de individuos para cada generación de *Diachasmimorpha tryoni* en la cría general mantenida en el IVIA.

Experimentos de parasitismo.

Se están desarrollando dos líneas de investigación:

1. Estudio de la acción parasitaria de *D. tryoni* sobre larvas de *C. capitata* en fruta.

Se ha trabajado con diversas especies de frutales, presentes en la Comunidad Valenciana y susceptibles del ataque de la mosca de la fruta, a lo largo de todo el año. Las especies estudiadas han sido: melocotón, albaricoque, ciruela, níspero, caqui, higo chumbo, manzana Golden, manzana Fuji, nectarina, clemenules, satsuma y navelina.

En algunos casos la fruta ha sido recogida en campo, de parcelas experimentales y estando picada por *C. capitata*, de manera que la infestación ha sido natural. En otros casos, se ha inoculado las larvas del díptero en el interior de la fruta, en laboratorio.

Teniendo en cuenta el número de puparios obtenidos de las frutas y por comparación, en su caso, con el número de larvas introducidas, se ha calculado la tasa de emergencia de adultos de *D. tryoni* y la tasa de parasitismo o actividad parasitaria (adultos emergidos + parasitoides encontrados tras la disección de puparios cerrados). En base a estos valores, se ha determinado que las frutas que ejercen mayor atracción en el parasitoide son el melocotón, las dos variedades de manzana y el níspero. En estas frutas se consigue más parasitismo de la mosca y más emergen-

cia de adultos del parasitoide.

2. Estudio de la acción parasitaria en sistema artificial a diferentes temperaturas.

Se está analizando la actividad parasitaria de *D. tryoni*, con ofrecimiento de larvas provenientes de cría en dieta, ante diferentes condiciones climáticas. Un apartado importante son las experiencias sobre influencia de la temperatura en la tasa de parasitismo, el parasitismo diario, la longevidad de adultos, etc.

Se han ensayado dos temperaturas constantes (25°C y 30°C) y dos temperaturas variables (21-25°C, 25-30°C). De los resultados obtenidos cabe destacar que a 25°C y 21-25°C el comportamiento parasitario parece ser el óptimo, con elevada tasa de parasitismo. A 30°C se comprueba la existencia de parasitismo, pero los parasitoides no logran completar su desarrollo y mueren

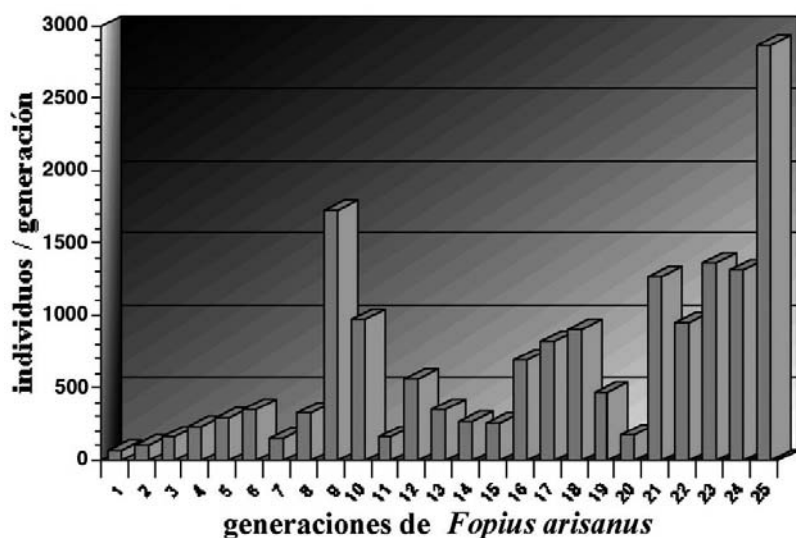
antes de salir del pupario hospedador; sin embargo, si esa temperatura de 30°C no es constante y se combina con una temperatura de 25°C, los parasitoides sí que logran llegar a adultos.

Esta línea de trabajo va a continuar con estudios biológicos en laboratorio, especialmente sobre influencia de la temperatura en el desarrollo del parasitoide, completándolos con análisis de parasitismo en semi-campo.

Fopius arisanus.

Cría en laboratorio.

Actualmente se ha alcanzado la 25ª generación de esta especie en laboratorio. El número de individuos por generación fue muy irregular en el comienzo de la cría, pero en las últimas generaciones se está obteniendo un población satisfactoria (**Gráfica 2**).



Gráfica 2: Representa el número de generaciones y el número de individuos para cada generación de *Fopius arisanus* en la cría general mantenida en el IVIA.

La cría de este parasitoide fue incrementándose desde su importación en las sucesivas generaciones. Sin embargo, en las generaciones 11 a 15 se produjo un descenso en el número de individuos que se achaca al elevado número de hembras presentes en esas poblaciones y que no se correspondió con el ofrecimiento de un número suficiente de huevos de *C. capitata*. Parece ser que, para la cría de *F. arisanus*, esta especie necesita mucha cantidad de huevos del hospedador para poder mantener una población estable, porque además de ejercer el parasitismo también mata gran número de ellos al introducirles el ovipositor. La disminución producida en la generación 20ª fue debida a problemas técnicos habidos en el correcto funcionamiento de la cámara de cría.

Actualmente, después de corregidos todos estos problemas, la especie se mantiene en unos 1000-1500 individuos adultos por generación, siendo este nivel de población suficiente para mantener la cría y para suministrar los individuos necesarios para realizar las diversas experiencias. Como puede apreciarse en la generación 25ª, es posible inducir un incremento sustancial de los adultos en una generación simplemente aumentando el número de días de puesta de los parasitoides de la generación anterior.

Sabedores, por las referencias bibliográficas, de la gran mortalidad producida por la hembra de *F. arisanus* sobre los huevos de *C. capitata* al introducir su ovipositor en su interior, ya haga o no puesta de huevos, se efectuó un análisis

comparativo de la mortalidad observada en la mosca de la fruta desde el estado de huevo (número de huevos sembrados en dieta artificial) hasta la obtención de pupas (pupas recogidas de esa siembra), entre la cría de laboratorio del díptero y la cría del parasitoide sobre la mosca (mortalidad ocurrida en los huevos ofrecidos a *F. arisanus*). Se ha encontrado que, efectivamente, la mortalidad natural ocurrida en nuestra cría de *C. capitata* es de un 14'3% de media, mientras que la media de mortalidad de las moscas ofrecidas a *F. arisanus*, descontando las pupas que dan lugar a adultos del parasitoide, es del 76%. Es decir, existe una notable diferencia que cabe atribuirle a la acción de *F. arisanus*. O sea, que la actividad de *F. arisanus* responsable de muerte de huevos y larvas de *C. capitata* es tan importante, o más si cabe, que la acción misma de parasitismo del insecto.

Experimentos de parasitismo.

Una línea de experimentos en laboratorio se ha enfocado a determinar la capacidad parasitaria de *F. arisanus* en parejas y en pequeños grupos, pues los trabajos conocidos a nivel mundial se centran en experimentos con grupos de entre 30 a 60 parejas de parasitoides y por tanto no se conoce la actividad de una hembra individualizada.

Se ha puesto a punto una metodología de ofrecimiento de huevos de *C. capitata* a las hembras de *F. arisanus*, que permite controlar el número de huevos

puestos a parasitar y recuperarlos en su totalidad para efectuar un seguimiento de su evolución. Con ello, se ha estudiado la acción parasitaria del insecto en bioensayos con parejas aisladas y con grupos de 5 parejas. En el primer caso, no se obtuvo descendencia en ninguna de las repeticiones, mientras que, en el segundo caso, sí se obtuvo descendencia aunque no en todas las repeticiones. Además, paralelamente, en ambos casos se comprobó la introducción de huevos por parte de la hembra de *F. arisanus* en el huevo hospedador mediante la técnica de aclarado del corion del huevo de *C. capitata* con lejía y observación de la presencia en su interior de un huevo de *F. arisanus*. Con este sistema se comprobó que nunca se obtenía puesta en el caso de parejas y, en el caso de grupos de 5 parejas, en ocasiones se obtenía puesta y en otras nunca. Además se observó la existencia de un superparasitismo esporádico, con presencia de hasta tres huevos del parasitoide dentro de un mismo huevo de la mosca.

Con estos resultados se ha comprobado la dificultad en efectuar bioensayos con pequeños grupos aislados de individuos y se confirma la importancia del proceso de "aprendizaje" de puesta por parte de las hembras del parasitoide y de agrupación de individuos para inducir el parasitismo.

Estos resultados han sido similares cuando, en lugar de emplear un sistema artificial de ofrecimiento de huevos en placa Petri, se utilizaba fruta en la que se

introducían huevos de *C. capitata* en orificios practicados en su superficie. Estos huevos, tras un periodo de 24 horas de exposición a las hembras del parasitoide, eran recuperados de la fruta y "sembrados" en dieta artificial para permitir el desarrollo larvario de la mosca y, por ende, del parasitoide (Figuras 5 y 6).

No obstante, como resultado claramente positivo, señalar que sí se ha logrado parasitismo en laboratorio al realizar bioensayos con ofrecimiento de fruta picada por *C. capitata* (y por tanto con huevos del díptero) a hembras de *F. arisanus*, dejando evolucionar posteriormente las larvas del complejo mosca-parasitoide de forma natural, en el interior de la fruta. Los diferentes frutos ensayados han sido: plátano, melocotón, ciruela, mango, papaya y Clementina.

Para el futuro se plantea completar el estudio de laboratorio a fin de obtener datos más precisos sobre el comportamiento parasitario del insecto. Y también, realizar bioensayos en semi-campo, en árboles frutales aislados o bien en ramas enmalladas, que nos permitan comprobar la actuación del insecto en condiciones naturales y sobre distintos frutos susceptibles del ataque de *C. capitata* en la Comunidad Valenciana.

Parasitoides "autóctonos".

En el año 2003 se planteó desarrollar un método de búsqueda y recolección de parasitoides autóctonos de *C. capitata* presentes en la Comunidad Valenciana.

Para ello, en colaboración con el Dr. José Malagón, Jefe de Sección de Frutales en el Servicio de Desarrollo Tecnológico de la Conselleria de Agricultura de la Generalitat Valenciana, se seleccionaron varias parcelas de frutales y cítricos en 8 localidades de las tres provincias de la Comunidad Valenciana. Estas parcelas de muestreo no están sometidas a tratamientos fitosanitarios, los cuales pueden impedir el desarrollo de poblaciones de parasitoides. Las localidades son:

1. Segorbe (Castellón). Cultivos: cerezo, peral, albaricoquero y caqui.

2. Alpatró (Alicante). Cultivo: cerezo.

3. Altea (Alicante). Cultivo: níspero

4. Liria (Valencia). Cultivos: níspero, higuera, peral, melocotonero, albaricoquero.

5. Moncada (Valencia). Cultivos: melocotonero, níspero, albaricoquero, nectarina.

6. Bétera (Valencia). Cultivo: cítricos con frutales aislados como manzano, níspero, higuera, albaricoquero, melocotonero.

7. Albalat dels Tarongers (Valencia). Cultivo: cítricos, con algún frutal disperso: níspero, melocotón, azufaífo.

8. L'Alcudia (Valencia). Cultivo: caqui.

El procedimiento de recolección de parasitoides autóctonos se resume así:

Primero se realiza la recogida de la fruta picada por la mosca de los árboles de fruta picada por la mosca. Esta fruta se coloca en bandejas de plástico, con sustrato

inerte (perlita, arena, etc) en el fondo, que se dejan en la misma parcela de recogida. Las larvas de la mosca que salen del fruto se entierran y realizan la pupación en el sustrato de las bandejas. Se dejan evolucionar los huevos, larvas y pupas en las bandejas, a fin de permitir la acción parasitaria de algún himenóptero presente en la zona y sobre cualquiera de los tres estados de desarrollo juvenil de la mosca. Este periodo se estima en unos 15-20 días.

Posteriormente se efectúa la recogida de todos los puparios que se encuentren en las bandejas y se trasladan al Laboratorio de Entomología del IVIA. Los puparios se colocan en "cajas de eclosión" y con condiciones climáticas controladas, a fin de determinar la emergencia de moscas y, en su caso, de los adultos de alguna especie de himenóptero parasitoide. Se procede a la disección de los puparios que no han tenido emergencia de ningún individuo, para determinar la causa de la muerte. En el caso de recuperar algún adulto de parasitoide, se realiza su determinación específica.

Este procedimiento se ha complementado con la colocación, en las bandejas de muestreo con fruta, de pupas de *C. capitata* procedentes de nuestra cría de laboratorio, con lo cual se incrementa la posibilidad de detectar especies de parasitoides de pupas del díptero.

Utilizando esta metodología se han detectado e identificado dos especies de himenópteros parasitoides de pupas de *C. capitata*,

ambas pertenecientes a la familia Pteromalidae: *Spalangia cameroni* Perkins y *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani). La identificación se ha efectuado con la colaboración de nuestra compañera en el IVIA, la Dra. M^a Jesús Verdú.

Se pretende continuar con esta labor de búsqueda de especies de himenópteros parasitoides de *C. capitata* en la Comunidad Valenciana, y ya se han iniciado los contactos con diversos grupos de Sanidad Vegetal, a fin de extender la zona geográfica de actuación a otras Comunidades Autónomas afectadas por esta plaga, lo que podría ampliar las opciones de localizar parasitoides de interés práctico.

Spalangia cameroni Perkins.

Esta especie fue detectada a finales del año 2003. Se localizó en la zona de muestreo de Bétera (Valencia) y, concretamente, se obtuvo de pupas de la mosca de la fruta que atacaba manzanas. Tras obtener los primeros ejemplares en el laboratorio, se procedió a continuar su cría en las instalaciones del IVIA, en una cámara climática con unas condiciones de 21-26°C de temperatura, humedad relativa de 55-85% y 16:8 (L:O) de fotoperiodo; el hospedador ha sido pupas de *C. capitata*.

Las primeras generaciones se sucedieron con cierta lentitud y bajo número de individuos. Sin embargo se ha logrado llevar la cría con éxito y actualmente se trabaja ya con la 12^a generación del insecto

Se han empezado trabajos encaminados a la caracterización de los principales parámetros biológicos de *S. cameroni*: longevidad de adultos y puesta en función de la temperatura, preferencia por la "edad" del estado pupal de *C. capitata*, etc. Todo ello encaminado a conocer el potencial de esta especie como agente de control biológico de *C. capitata* en nuestras condiciones.

Es conveniente señalar que *S. cameroni* es un parasitoide de dípteros en general, es decir, no específico sólo de tefritidos o moscas de las frutas. De hecho, es bien conocido a nivel mundial su uso en el control biológico de la mosca doméstica y de moscas de establos. Aunque debe remarcar-se que nuestra cita de esta especie es la primera a nivel mundial en cuanto a parasitismo de *S. cameroni* sobre *C. capitata*, así como a la presencia del insecto en España.

Se pretende continuar con la caracterización biológica del insecto en laboratorio y observar si es detectado nuevamente, de forma natural, en campo.

Pachycrepoideus vindemmiae (Rondani).

Este parasitoide ha sido detectado en las zonas de muestreo de Bétera y L'Alcudia, encontrándose sobre *C. capitata* en manzana y clemenules y en caqui. Al igual que con *S. cameroni*, se ha iniciado su cría en cámara climática sobre pupas de la mosca y actualmente se ha alcanzado la 6^a generación en laboratorio de esta especie.

Se trata de un parasitoide cosmopolita que ejerce su acción parasitaria sobre una amplia variedad de dípteros de diversas familias. Sin embargo, su papel en el control de la mosca de la fruta podría ser muy interesante puesto que en algunos países americanos, como es el caso de Costa Rica y USA (en Hawaii), está señalado como un organismo muy útil en el control biológico de poblaciones de *C. capitata*.

Se pretende mantener una cría del insecto y realizar su caracterización biológica en laboratorio, así como buscar nuevamente su presencia, de forma natural, en campo.

Expectativas futuras.

Por su actividad sobre las poblaciones de *C. capitata*, no sólo por su acción parasitaria sino también por la elevada mortalidad que producen en los huevos y las larvas del díptero, cabe confiar en que las dos especies de parasitoides importadas puedan ser capaces de jugar un papel importante en el control poblacional de *C. capitata*; tal vez en la época primaveral y sobre frutales diferentes a cítricos, pero que son los que favorecen los elevados niveles de la mosca a lo largo del año. Si además contamos con la posibilidad de utilización de las dos especies autóctonas, ya presentes en nuestra zona geográfica, las expectativas en la implantación de un control biológico de *C. capitata* no son, ni mucho menos, especulativas. Además, hay que considerar la posibilidad de importar e introducir en nues-

tro país otra especie de himenóptero parasitoide de la mosca de la fruta perteneciente a la familia Eucilidae, *Aganaspis daci*, encontrada en la isla de Chios (Grecia) en el año 2002, ejerciendo un parasitismo del 60% sobre *C. capitata* en higuera (Papadopoulos y Katsoyannos, 2003). Es bien conocida la importancia de las higueras en la proliferación de poblaciones de la mosca de la fruta en la Comunidad Valenciana, y por ello ya se ha establecido en el 2004 un contacto con Dr. Papadopoulos del Department of Agriculture, Crop Production and Rural Environment, University of

Thessaly, en Volos (Grecia), habiendo acordado la colaboración en aspectos de la búsqueda y estudio de parasitoides autóctonos de *C. capitata* en la Cuenca Mediterránea.

Bibliografía.

Beitia F., J.V. Falcó, M. Pérez-Hinarejos, S. Santiago, P. Castañera, (2003). Importación de parasitoides exóticos para el control biológico de *C. capitata* en la Comunidad Valenciana. *Comunitat Valenciana Agraria*, 24:10-15.

Falcó J.V., M. Pérez, S. Santiago, A. Hermoso de Mendoza, F. Beitia, (2003). Rearing methods of two braconid parasitoids used in the biological control of *Ceratitidis capitata*. *IOBC/WPRS Bulletin*, 26(6):99-102.

Falcó J.V., M.J. Verdú, F. Beitia, (2004). *Spalangia cameroni* (Hymenoptera, Pteromalidae), un nuevo parasitoide en España de *Ceratitidis capitata* (Diptera, Tephritidae). Comunicación presentada en el XI Congreso Iberico de Entomología, celebrado en Funchal (Madeira, Portugal), del 13 al 17 de septiembre de 2004.

Falcó J.V., I. Tarazona, M. Pérez-Hinarejos, E. Garzón-Luque, J. Malagón, F. Beitia, (2005). Two native pupal parasitoids of *Ceratitidis capitata* (Diptera, Tephritidae) found in Spain. Comunicación presentada en la Reunión del Grupo de Trabajo de la IOBC/WPRS "Integrated Control in Citrus Fruit Crops", celebrada en Lisboa (Portugal), los días 26 y 27 de septiembre de 2005.

Papadopoulos N.T., B.I. Katsoyannos, (2003). Field parasitism of *Ceratitidis capitata* larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. *BioControl*, 48:191-195.