

Acción conjunta de los parasitoides *Aganaspis daci* y *Diachasmimorpha longicaudata* para el control de la mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitis capitata*: ¿una estrategia recomendable?

Una técnica común en los programas de control biológico es el uso de varias especies de enemigos naturales para el manejo de una única plaga. En ocasiones, el efecto de estos enemigos naturales es aditivo, haciendo de este uso combinado una práctica beneficiosa. Sin embargo, este efecto aditivo no siempre se manifiesta debido a diversos factores, incluyendo la competencia interespecífica entre las especies seleccionadas.

En el presente trabajo, se evaluaron diversos parámetros biológicos de los parasitoides larvarios *Aganaspis daci* y *Diachasmimorpha longicaudata* al ser usados de forma conjunta frente a la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata*, tanto en condiciones de semicampo como de laboratorio. Ambas especies llevan varios años siendo estudiadas por parte del equipo de entomología del IVIA, con el fin de ser valoradas como agentes de control de este tefrítico plaga.

La comparación de los resultados aquí obtenidos con los ofrecidos por ambas especies actuando por separado (frente a la misma plaga y bajo las mismas condiciones) recomienda el uso combinado de estos dos parasitoides en los programas de control biológico contra *Ceratitis capitata*, y resalta la importancia que tienen otros factores adicionales a la hora de planear sus sueltas en campo.

PALABRAS CLAVE: *Aganaspis daci*, *Diachasmimorpha longicaudata*, *Ceratitis capitata*, uso combinado, control biológico.

L. de Pedro^{1,2,3}, J. Tormos², A. Harbi^{1,4}, F. Ferrara^{1,5}, B. Sabater-Muñoz^{1,6}, J. D. Asís², F. Beitia¹

¹Unidad de Entomología. Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Montcada. Valencia.

²Departamento de Biología Animal, Parasitología, Ecología, Edafología y Química Agrícola. Facultad de Biología. Universidad de Salamanca. Salamanca.

³Equipo de Control Biológico y Servicios Ecosistémicos. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). La Alberca, Murcia.

⁴Institut Supérieure Agronomique de Chott-Mériem. Université de Sousse. Chott-Mériem, Túnez.

⁵Instituto Federal Fluminense (IFF). Río de Janeiro, Brasil.

⁶Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), CSIC-UPV. Valencia.

INTRODUCCIÓN

Los programas de control biológico suelen incluir a varias especies de enemigos naturales para el control de una única plaga (Denoth *et al.*, 2002; Gould *et al.*, 2008). Sin embargo, es frecuente que los efectos beneficiosos de estas especies no sean aditivos debido a la competencia interespecífica, que es un fenómeno común entre parasitoides (Lahey *et al.*, 2016; Yang

et al., 2018). Teniendo en cuenta que esta competencia puede llevar al desplazamiento entre especies o a un descenso global de la efectividad del control biológico, resulta esencial conocer las interacciones potenciales que pueden establecerse entre los enemigos naturales cuando se diseñen programas de control biológico que involucren a varias especies simultáneamente (Wang *et al.*, 2003; Mills, 2006).

La mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) está considerada actualmente como una de las principales amenazas para frutales (y cítricos en particular) en la Comunidad Valenciana (Sabater-Muñoz *et al.*, 2012). Se trata de una especie muy adaptable a las condiciones climáticas y que es capaz de desarrollarse sobre una gran cantidad de plantas hospedadoras, causando unos daños

económicos muy elevados que dotan de una enorme importancia a las estrategias para su control. Actualmente, las estrategias más empleadas contra esta especie son la técnica del insecto estéril (TIE), el trampeo masivo y el control biológico a través de parasitoides (Beitia *et al.*, 2011, 2014; Delrío & Cocco, 2012).

El empleo de parasitoides para combatir a *C. capitata* lleva varios años siendo explorado en el IVIA, siendo evaluadas para tal fin tanto especies exóticas como autóctonas. De entre las primeras, la especie más relevante es el bracónido *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead), parasitoide larvo-pupal solitario de tefrítidos importado en 2008 desde la Planta de Cría y Esterilización de Moscas de la Fruta y Parasitoides (Moscafrut, Chiapas, México) (Sabater-Muñoz *et al.*, 2009; Martins *et al.*, 2010) y considerado el parasitoide más usado a nivel mundial contra *C. capitata*. En cuanto a las especies autóctonas, o más bien naturalizadas, la más estudiada en el IVIA y una de las más prometedoras para su uso como agente de control es el figítido, también solitario, *Aganaspis daci* (Weld), citado por primera vez en España en 2009 emergiendo de puparios de *C. capitata* en higuera y mostrando altos niveles naturales de parasitismo (Verdú *et al.*, 2011, de Pedro *et al.*, 2013). Los ensayos llevados a cabo con ambas especies en el IVIA han sido numerosos en los últimos años, incrementando considerablemente el conocimiento acerca de su biología y su actividad parasitaria sobre la mosca mediterránea de la fruta (Harbi *et al.*, 2015, 2018,a,b, 2019; de Pedro *et al.*, 2016a,b, 2017, 2018; de Pedro, 2017; Harbi, 2017).

El objetivo de este trabajo es conocer el efecto que tiene el uso combinado de *A. daci* y *D. longicaudata* en el control biológico de *C. capitata*. Para ello, se evaluó la actividad parasitaria de ambas especies al ser utilizadas de manera conjunta contra la mosca mediterránea de la fruta, considerándose el efecto de ciertos

factores (temperatura y densidad y localización del hospedador) sobre esta actividad parasitaria. La metodología empleada fue la misma que para los estudios de parasitismo previamente realizados para ambas especies por separado (de Pedro *et al.*, 2017; Harbi *et al.*, 2018a), de tal manera que la comparativa entre los resultados obtenidos por separado y en uso combinado ha permitido determinar la idoneidad de una potencial liberación conjunta en campo y de la inclusión de esta estrategia en programas de control de la mosca.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área experimental e insectos

Los ensayos se llevaron a cabo en las instalaciones experimentales del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) (Moncada, Valencia). Los ejemplares de ambas especies de parasitoides usados en el presente estudio procedían de crías de laboratorio establecidas en el IVIA; la de *Diachasmimorpha longicaudata* se estableció en el año 2009, a partir de pupas infestadas del tefrítido *Anastrepha ludens* (Loew) importadas desde México; la de *Aganaspis daci*, en 2010 a partir de especímenes importados de la Universidad de Thessaly (Volos, Grecia), sobre pupas de *C. capitata*, junto con ejemplares recogidos por el equipo de Entomología del IVIA en diferentes parcelas de cítricos y otros frutales de la Comunidad Valenciana, parasitando al mismo tefrítido. Desde entonces, ambas crías de laboratorio se mantienen usando como

hospedador a *C. capitata* (de Pedro, 2017; Harbi, 2017). Por su parte, las larvas de *C. capitata* procedían de una cría de laboratorio que, igualmente, se viene manteniendo en el IVIA desde el año 2008, siguiendo los protocolos de cría de Pérez-Hinarejos y Beitia (2008).

Diseño experimental

Se llevaron a cabo 3 experimentos para evaluar el efecto de la temperatura y la localización y densidad de hospedador sobre la actividad parasitaria de *D. longicaudata* y *A. daci* al ser usados de forma conjunta contra *C. capitata*. La metodología seguida fue la misma que la empleada para el estudio de los dos parasitoides por separado (de Pedro *et al.*, 2017; Harbi *et al.*, 2018a).

Experimento 1: Larvas de mosca en dieta artificial y en condiciones de laboratorio: se llevaron a cabo dos réplicas de este experimento, en una cámara climática bajo las siguientes condiciones: (23-25/26-28°C, 50-70% h.r. y fotoperíodo de 16:8). En este ensayo, los parasitoides se introducían en “unidades de parasitismo”: recipientes de plástico dotados de agua, miel y azúcar y de una ventana superior de muselina a través de la cual las larvas de *C. capitata* se ofrecían mezcladas con su dieta artificial a los parasitoides (**Figura 1**). En total se emplearon 24 unidades de parasitismo, en cada una de las cuales se liberaban tres parejas de cada parasitoide. En cada réplica, durante tres días seguidos, se suministraban las larvas con 3



Figura 1. Ejemplo de unidad de parasitismo empleada en el Experimento 1: vista general (izquierda) y detalle del sistema de exposición de larvas de *C. capitata* (derecha).

diferentes densidades por unidad de parasitismo y día (15, 60 o 120 larvas), que eran repuestas cada 24 horas. De este modo, 8 unidades de parasitismo eran sometidas a cada tratamiento de densidad de hospedador. Asimismo, 9 unidades de parasitismo adicionales (3 por cada tratamiento de densidad), sin parasitoides, fueron empleadas a modo de control, para medir la mortalidad natural de las larvas de mosca y así poder calcular la mortalidad inducida sobre las larvas por la acción de los parasitoides. Cada día, las larvas expuestas el día anterior se recuperaban y dejaban evolucionar en placas Petri (una por unidad de parasitismo), bajo las mismas condiciones en que se desarrollaba el ensayo, hasta la emergencia de los adultos (moscas o parasitoides de cada una de las especies), que eran contados junto con el número de puparios que permanecían cerrados tras un período de dos meses.

Para evaluar el efecto de la temperatura, el ensayo descrito

se desarrolló en dos rangos de temperatura diferentes: 23-25°C y 26-28°C.

Los parámetros evaluados fueron la fertilidad efectiva (=número de parasitoides emergidos) y el porcentaje de parasitismo (proporción de puparios de mosca que produjeron parasitoides respecto al total de puparios de mosca recuperados) para cada especie y tratamiento, así como el porcentaje de mortalidad inducida (es decir, debida exclusivamente a la acción de los parasitoides) y la tasa de reducción poblacional de mosca (=suma de porcentaje de parasitismo y mortalidad inducida) conjuntas para cada tratamiento. La mortalidad inducida se estimó usando la fórmula de Schneider-Orelli (Püntener, 1981), comparando la mortalidad de pupas de mosca en los controles y en los tratamientos:

$$\text{Mortalidad inducida (\%)} = \left[\left(\frac{\text{Mortalidad en el tratamiento} - \text{Mortalidad en el control}}{100 - \text{Mortalidad en el control}} \right) \right] \times 100$$

• **Experimento 2:** Larvas de mosca en fruta y en condiciones de laboratorio: se realizaron dos réplicas de este ensayo en la misma cámara climática que el ensayo anterior. En este caso, las larvas de *C. capitata* eran introducidas en manzanas (var. Royal Gala) siguiendo la metodología de Martins *et al.* (2010) (**Figura 2**), con 30 larvas en cada una de ellas. Se emplearon 15 unidades de parasitismo, de mayor tamaño que las del experimento anterior, en las cuales se introdujeron manzanas en distinto número (1, 2 ó 3; es decir, 30, 60 ó 90 larvas), estableciéndose así tres tratamientos de densidad de hospedador, cada uno con 5 unidades (=repeticiones). En cada unidad fueron liberadas 5 parejas de cada parasitoide. Este sistema se mantuvo durante 4 días, tras los cuales las pupas de mosca fueron recuperadas y mantenidas en placas Petri en la cámara climática hasta la emergencia de los adultos, siguiéndose a partir de aquí la metodología del ensayo



Plantas como deben ser

SAT nº 6439

Miembro de AVASA

Viveros autorizados por el Ministerio de Agricultura para la producción de plantas tolerantes a la tristeza

Disponemos de todas las variedades

■ Clementina:

Oronules, Orogrande, Clemenules, Esbal, Hermandina, Nour, Marisol, Arrufatina, Loretina®.

■ Híbridos:

Fortune, Nova, Ortanique.

■ Naranja:

Navelina, Navel, Salustiana, Newhall, Valencia-Late, Navelate, Navel - Lane-Late, Delta Seedles,

■ Pomelo:

Star-Ruby, Río Red.

■ Satsuma:

Clausellina, Okitsu, Owari.

■ Limonero:

Verna, Eureka, Fino.

■ Pies:

C. Carrizo, M. Cleopatra, Macrophylla, C. Volkameriana, Citrumelo, C-35

NOVEDADES

■ Clemenrubi.

■ Valencia Midnight.

■ Power Summer Navel.

anterior. Los parámetros estudiados fueron también los mismos que en el Experimento 1, a excepción de la mortalidad inducida y la reducción poblacional, que fueron omitidas al no emplearse controles.

- **Experimento 3:** Larvas de mosca en fruta y en condiciones de semicampo: de este experimento se llevaron a cabo 5 réplicas (entre junio y julio de 2013), en un invernadero localizado en las instalaciones experimentales del IVIA. Este invernadero contenía 4 jaulones de malla de tela, depositándose en cada uno de los tres primeros un plantón de naranjo, de similar tamaño y porte, y 10 manzanas artificialmente infestadas siguiendo el modelo del Experimento 2, de las cuales cinco se depositaban en el suelo y las otras cinco permanecían colgadas del plantón (**Figura 3**). Así se establecieron dos tratamientos en base a la localización del hospedador: suelo vs. árbol. El número de larvas por manzana variaba entre jaulones, estableciéndose de nuevo tres tratamientos en función de la

densidad de hospedador (6, 30 y 60 por manzana). En el cuarto jaulón se depositaron 9 manzanas (3 por cada densidad de hospedador), de manera individual, en el interior de cilindros de plástico. En los tres primeros jaulones fueron liberadas 50 parejas de cada parasitoide, siendo empleado el cuarto y último a modo de control, sin parasitoides en su interior.

Este sistema se mantuvo durante 4 días, tras los cuales las pupas recuperadas fueron depositadas en placas Petri y llevadas a laboratorio para favorecer su evolución, siguiéndose a partir de aquí la misma metodología que en los ensayos anteriores y evaluándose los mismos parámetros que en el Experimento 1.

Análisis estadísticos

Se aplicaron ANOVAs de doble vía, seguidas de un test de Fisher LSD, para valorar el efecto de la temperatura (Experimento 1), la localización de hospedador (Experimento 3) y la densidad de hospedador (Experimentos 1-3)

sobre la fertilidad, el % de parasitismo, el porcentaje de mortalidad inducida y la tasa de reducción poblacional. Asimismo, se realizó un ANOVA de medidas repetidas para comparar las tasas de parasitismo producidas en cada ensayo por *A. daci* y *D. longicaudata*, con el fin de determinar cuál era la especie dominante.

Las variables fueron normalizadas previamente a los análisis.

RESULTADOS

- **Experimento 1:** respecto a *D. longicaudata*, el porcentaje de parasitismo varió significativamente respecto a la temperatura ($F_{1,282} = 5.68$, $P=0.0178$) y densidad del hospedador ($F_{2,282} = 31.54$, $P<0.0001$), siendo mayor a bajas temperaturas (23-25°C) y cuanto menor era la cantidad de larvas ofrecidas (Fisher LSD: $P<0.05$). La fertilidad efectiva sólo varió en función de la densidad de hospedador, con una correlación positiva ($F_{2,282} = 182.74$, $P<0.0001$) (Fisher LSD: $P<0.05$), no así en

Tabla 1 Porcentaje de parasitismo, fertilidad, mortalidad inducida y reducción poblacional (Media \pm EE) producidos por *D. longicaudata* y *A. daci* al ser usados de forma conjunta e individual* sobre larvas de *C. capitata* ofrecidas en dieta artificial y en condiciones de laboratorio, a diferentes temperaturas y densidades de hospedador.

		Temperatura		Densidad de hospedador			
		23 - 25° C	26 - 28° C	15 larvas	60 larvas	120 larvas	
Parasitismo (%)	Acción conjunta	<i>D. longicaudata</i>	52.11 \pm 1.60	46.71 \pm 1.52	59.98 \pm 2.11	50.27 \pm 2.04	37.98 \pm 1.96
		<i>A. daci</i>	24.50 \pm 1.35	18.22 \pm 1.28	9.15 \pm 1.00	22.48 \pm 1.65	32.45 \pm 1.98
		Total	76.61 \pm 1.36	64.92 \pm 1.27	69.13 \pm 1.55	72.75 \pm 1.58	70.43 \pm 1.49
	Acción individual	<i>D. longicaudata</i>	49.32 \pm 2.48	52.37 \pm 2.65	62.78 \pm 2.69	47.65 \pm 3.23	42.10 \pm 2.28
		<i>A. daci</i>	67.93 \pm 1.63	54.06 \pm 2.02	54.02 \pm 2.69	65.73 \pm 2.08	63.24 \pm 2.08
		Total	26.74 \pm 1.09	27.90 \pm 1.16	8.62 \pm 1.33	28.70 \pm 2.10	44.64 \pm 2.23
Fertilidad	Acción conjunta	<i>D. longicaudata</i>	26.74 \pm 1.09	27.90 \pm 1.16	8.62 \pm 1.33	28.70 \pm 2.10	44.64 \pm 2.23
		<i>A. daci</i>	18.94 \pm 1.11	16.03 \pm 1.02	1.33 \pm 0.26	13.00 \pm 1.36	38.13 \pm 1.96
		Total	45.68 \pm 1.04	43.93 \pm 0.99	9.96 \pm 0.88	41.70 \pm 1.21	82.76 \pm 2.94
	Acción individual	<i>D. longicaudata</i>	87.87 \pm 9.36	89.04 \pm 8.07	28.25 \pm 1.21	85.50 \pm 5.75	151.56 \pm 8.20
		<i>A. daci</i>	41.88 \pm 2.67	35.72 \pm 2.34	7.64 \pm 0.38	37.21 \pm 1.18	71.55 \pm 2.41
		Total	8.23 \pm 1.16	18.89 \pm 1.36	16.73 \pm 1.42	12.80 \pm 1.22	11.15 \pm 1.19
Mortalidad inducida (%)	Acción conjunta	<i>D. longicaudata</i>	5.06 \pm 0.80	8.49 \pm 0.95	10.87 \pm 1.39	5.24 \pm 0.77	4.13 \pm 0.58
		<i>A. daci</i>	17.58 \pm 2.59	3.54 \pm 0.82	10.56 \pm 1.53	6.54 \pm 1.04	3.09 \pm 0.34
		Total	84.84 \pm 1.00	83.82 \pm 1.61	85.85 \pm 1.22	85.55 \pm 1.59	81.58 \pm 1.22
	Acción individual	<i>D. longicaudata</i>	54.35 \pm 2.71	60.68 \pm 2.96	73.65 \pm 2.89	52.89 \pm 3.32	46.24 \pm 2.18
		<i>A. daci</i>	85.51 \pm 3.2	57.60 \pm 1.01	64.58 \pm 2.12	72.27 \pm 1.26	66.33 \pm 1.02
		Total					

*Los datos de acción individual proceden de Harbi et al. 2018a (*D. longicaudata*) y de Pedro et al. 2017 (*A. daci*).

función de la temperatura. En cuanto a *A. daci*, su porcentaje de parasitismo también se vio significativamente alterado en función de los dos factores (temperatura: $F_{1,282} = 10.81$, $P = 0.0011$; densidad de hospedador: $F_{2,282} = 49.91$, $P < 0.0001$), mostrando una correlación negativa con la temperatura, y positiva con la densidad de hospedador (Fisher

LSD: $P < 0.05$). Su fertilidad efectiva, al igual que en *D. longicaudata*, se vio únicamente afectada por la densidad de hospedador, de manera positiva ($F_{2,282} = 191.42$, $P < 0.0001$).

La mortalidad inducida y la reducción poblacional causada por ambas especies en conjunto variaron significativamente respecto a la densidad de hospedador (mortalidad

inducida: $F_{2,282} = 4.05$, $P = 0.018$; reducción poblacional: $F_{2,282} = 3.82$, $P = 0.023$), mientras que la temperatura sólo tuvo un efecto significativo en la mortalidad inducida ($F_{2,282} = 42.19$, $P < 0.0001$). Ésta era mayor a mayor temperatura y, al igual que la reducción poblacional, cuando la densidad de larvas ofrecida era más baja (Fisher LSD: $P < 0.05$) (**Tabla 1**).



Figura 2. Manzana (var. Royal Gala) artificialmente infestada con larvas de *C. capitata*.



Figura 3. Vista general de uno de los jaulones de malla de tela empleados en el Experimento 3, conteniendo un plantón de naranjo y 10 manzanas artificialmente infestadas.



VIVEROS
SEVILLA

Cítricos
Frutales
Olivos
Ornamentales

Tabla 2. Porcentaje de parasitismo y fertilidad (Media \pm EE) producidos por *D. longicaudata* y *A. daci*, al ser usados de forma conjunta e individual* sobre larvas de *C. capitata* ofrecidas en fruta y en condiciones de laboratorio, a diferentes densidades de hospedador.

		Densidad de hospedador			
		30 larvas	60 larvas	90 larvas	
Parasitismo (%)	Acción conjunta	<i>D. longicaudata</i>	9.88 \pm 2.11	9.62 \pm 2.26	9.57 \pm 3.23
		<i>A. daci</i>	61.04 \pm 4.27	64.64 \pm 3.99	63.95 \pm 4.04
		Total	70.93 \pm 4.80	74.26 \pm 4.93	73.52 \pm 4.29
	Acción individual	<i>D. longicaudata</i>	18.03 \pm 4.58	21.86 \pm 4.11	20.88 \pm 3.73
		<i>A. daci</i>	79.16 \pm 4.74	85.49 \pm 1.07	82.04 \pm 4.94
		Total	14.80 \pm 1.99	36.20 \pm 2.07	56.10 \pm 2.17
Fertilidad	Acción conjunta	<i>D. longicaudata</i>	1.80 \pm 0.80	3.20 \pm 0.98	7.30 \pm 0.98
		<i>A. daci</i>	13.00 \pm 1.82	33.00 \pm 1.99	48.80 \pm 2.17
		Total	14.80 \pm 1.99	36.20 \pm 2.07	56.10 \pm 2.17
	Acción individual	<i>D. longicaudata</i>	4.60 \pm 1.24	10.80 \pm 2.67	12.40 \pm 2.59
		<i>A. daci</i>	22.50 \pm 1.51	47.10 \pm 1.62	68.70 \pm 4.55
		Total	14.80 \pm 1.99	36.20 \pm 2.07	56.10 \pm 2.17

*Los datos de acción individual proceden de Harbi et al. 2018a (*D. longicaudata*) y de Pedro et al. 2017 (*A. daci*).

Tabla 3. Porcentaje de parasitismo, fertilidad, mortalidad inducida y reducción poblacional (Media \pm EE) producidos por *D. longicaudata* y *A. daci* al ser usados de forma conjunta e individual* sobre larvas de *C. capitata* ofrecidas en fruta y en condiciones de semicampo, en función de la localización y densidad de hospedador.

		Localización		Densidad de hospedador			
		Suelo	Árbol	60 larvas	300 larvas	600 larvas	
Parasitismo (%)	Acción conjunta	<i>D. longicaudata</i>	9.67 \pm 1.84	8.49 \pm 1.84	5.44 \pm 1.44	6.66 \pm 1.99	15.14 \pm 2.25
		<i>A. daci</i>	27.96 \pm 4.18	19.01 \pm 3.28	16.46 \pm 2.20	18.50 \pm 2.05	36.50 \pm 5.12
		Total	37.62 \pm 5.36	27.50 \pm 5.07	21.90 \pm 2.45	25.16 \pm 2.18	51.63 \pm 6.21
	Acción individual	<i>D. longicaudata</i>	16.77 \pm 1.75	17.62 \pm 1.85	14.34 \pm 1.57	9.29 \pm 2.08	21.28 \pm 2.58
		<i>A. daci</i>	38.15 \pm 5.26	28.84 \pm 4.40	33.56 \pm 5.56	31.35 \pm 7.52	30.77 \pm 6.9
		Total	68.53 \pm 10.54	52.33 \pm 9.99	6.70 \pm 2.88	30.00 \pm 9.80	144.60 \pm 12.60
Fertilidad	Acción conjunta	<i>D. longicaudata</i>	19.27 \pm 4.05	16.20 \pm 3.88	1.50 \pm 0.99	9.10 \pm 2.88	42.60 \pm 4.96
		<i>A. daci</i>	49.27 \pm 8.65	36.13 \pm 5.56	5.20 \pm 1.29	20.90 \pm 7.14	102.00 \pm 10.59
		Total	68.53 \pm 10.54	52.33 \pm 9.99	6.70 \pm 2.88	30.00 \pm 9.80	144.60 \pm 12.60
	Acción individual	<i>D. longicaudata</i>	21.10 \pm 3.81	23.62 \pm 4.86	3.30 \pm 0.40	16.90 \pm 1.83	47.00 \pm 5.60
		<i>A. daci</i>	35.72 \pm 2.34	45.93 \pm 12.11	10.06 \pm 0.38	47.1 \pm 10.23	92.32 \pm 15.86
		Total	55.51 \pm 5.49	68.20 \pm 6.01	72.84 \pm 6.72	73.42 \pm 6.99	39.30 \pm 5.01
Mortalidad inducida (%)	Acción conjunta	<i>D. longicaudata</i>	18.31 \pm 2.45	15.52 \pm 3.65	15.45 \pm 1.99	13.91 \pm 3.27	20.07 \pm 4.87
		<i>A. daci</i>	53.81 \pm 7.01	61.89 \pm 6.5	65.79 \pm 7.53	61.9 \pm 8.79	45.1 \pm 8.98
		Total	93.13 \pm 1.88	95.70 \pm 1.96	94.73 \pm 2.31	98.58 \pm 2.31	90.94 \pm 3.21
	Acción individual	<i>D. longicaudata</i>	33.39 \pm 3.24	33.70 \pm 3.51	30.12 \pm 2.20	26.43 \pm 4.84	40.92 \pm 4.6
	<i>A. daci</i>	91.96 \pm 5.28	90.73 \pm 3.26	99.35 \pm 5.18	93.25 \pm 5.96	75.87 \pm 5.29	
	Total	93.13 \pm 1.88	95.70 \pm 1.96	94.73 \pm 2.31	98.58 \pm 2.31	90.94 \pm 3.21	

*Los datos de acción individual proceden de Harbi et al. 2018a (*D. longicaudata*) y de Pedro et al. 2017 (*A. daci*).

El ANOVA de medidas repetidas puso de relieve que el porcentaje de parasitismo producido por *D. longicaudata* era mayor ($F_{2,282} = 228.84$, $P < 0.001$), siendo ésta la especie dominante en estas condiciones.

- **Experimento 2:** sólo la fertilidad efectiva varió significativamente respecto a la densidad de hospedador (*D. longicaudata*: $F_{2,27} = 8.57$, $P = 0.001$; *A. daci*: $F_{2,27} = 68.56$, $P < 0.001$), único factor considerado en este caso. La correlación fue directa (mayor densidad, mayor fertilidad efectiva) (**Tabla 2**).

La comparativa entre los porcentajes de parasitismo reveló la dominancia de *A. daci* bajo estas circunstancias ($F_{2,282} = 219.07$, $P < 0.001$).

- **Experimento 3:** para *D. longicaudata*, tanto la fertilidad efectiva como el porcentaje de parasitismo difirieron significativamente respecto a la densidad de hospedador (tasa de parasitismo: $F_{2,24} = 5.51$, $P = 0.011$; fertilidad: $F_{2,24} = 19.41$, $P < 0.0001$), pero no así respecto a su localización. Ambas variables alcanzaban valores mayores a mayor densidad de larvas (Fisher LSD: $P < 0.05$). Los mismos efectos fueron observados en *A. daci* (porcentaje de parasitismo: $F_{2,24} = 4.92$, $P = 0.016$; fertilidad efectiva: $F_{2,24} = 24.05$, $P < 0.0001$), con valores también mayores a mayor cantidad de larvas ofrecidas (Fisher LSD: $P < 0.05$). Respecto a la mortalidad inducida por ambos agentes, ésta difirió significativamente en función de la densidad de hospedador ($F_{2,24} = 8.43$, $P = 0.002$; valores más bajos a mayor densidad (Fisher LSD: $P < 0.05$)), pero no en función de la localización, mientras que la reducción poblacional no se vio afectada por ninguno de los dos factores (**Tabla 3**).

En este caso, la ANOVA de medidas repetidas reflejó una dominancia de *A. daci* ($F_{2,24} = 105.42$, $P < 0.001$).

DISCUSIÓN

En la actualidad, el uso de varias especies para combatir a una única plaga es una práctica muy común dentro de los programas de control biológico. Varios estudios (Bader *et al.*, 2006; Stilling & Cornelissen, 2005) sugieren que la acción combinada de varios agentes de control puede incrementar la mortalidad del hospedador en comparación con su acción individual; sin embargo, en otros casos se han apreciado interacciones negativas entre estos agentes, no generándose el efecto acumulativo deseado (Briggs, 1993; Lahey *et al.*, 2016). Estas interacciones resultan especialmente interesantes cuando se realizan sueltas inundativas, ya que las probabilidades de que tengan lugar son más elevadas (Montoya *et al.*, 2018).

Los resultados del presente estudio, en el que se han usado de forma conjunta dos de los parasitoides larvo-pupales más prometedores para hacer frente a *C. capitata*, muestran cierto efecto aditivo en cuanto al porcentaje de parasitismo se refiere, ya que el porcentaje total producido en conjunto fue más alto que el obtenido para ambas especies por separado (*A. daci*: Experimento 1: 54–67%, Experimento 2: 79–85%, Experimento 3: 28–38% [de Pedro *et al.*, 2017]; *D. longicaudata* (Experimento 1: 47–62%, Experimento 2: 18–21%, Experimento 3: 21–51% [Harbi *et al.*, 2018a]). Además, el porcentaje de parasitismo fue el parámetro elegido para determinar la dominancia de una u otra especie bajo cada circunstancia. Así, se apreció que *D. longicaudata* dominaba cuando las larvas de *C. capitata* eran ofrecidas en dieta artificial (Experimento 1), mientras que *A. daci* tenía un efecto superior en aquellos casos en que el hospedador se alojaba en el interior de frutos (Experimentos 2 y 3). En general, la dominancia en parasitoides solitarios parece ir ligada al acceso temprano al

hospedador, es decir, quien primero oviposita en el cuerpo de éste es quien prevalece en la competición intrínseca y quien acaba por producir descendencia (Harvey *et al.*, 2013; Cusumano *et al.*, 2016). Así, podría deducirse que *A. daci* responde mejor a los estímulos olorosos emitidos por la fruta parasitada, probablemente debido a su complejo equipamiento sensilar, y es capaz de acceder antes al hospedador en estas circunstancias (Tormos *et al.*, 2013).

Otro parámetro estudiado, y de interés en la evaluación de agentes de control biológico, es la mortalidad inducida, también analizada en estudios previos con *A. daci* (de Pedro *et al.* 2016a, 2017, 2018) y *D. longicaudata* (Montoya *et al.*, 2000). Nuestros resultados coinciden con estos estudios en que la mortalidad inducida es más alta cuando la densidad de hospedador es baja y las condiciones ambientales son más extremas (por ejemplo, a elevadas temperaturas). Estos condicionantes, tal y como establecieron los citados trabajos previos, llevan a mayores niveles de superparasitismo, que pueden causar una competencia entre inmaduros dentro del hospedador que induzca a la muerte de todos ellos y que conlleve la no emergencia de adulto alguno desde los puparios de mosca. Esta mortalidad inducida es de especial interés en control biológico, ya que permite que incluso parasitoides exóticos, sin capacidad de establecerse a largo plazo en un área concreta, sí sean capaces de controlar focos poblacionales de una plaga a través de sueltas masivas puntuales.

La suma de los dos parámetros citados anteriormente (porcentaje de parasitismo y mortalidad inducida) resulta en la llamada “reducción poblacional”, que resume la acción total ejercida por los parasitoides, ya que abarca su capacidad para producir descendientes a partir del hospedador y, aun sin generar nuevos adultos de parasitoides, llevar

a la muerte de la mosca, de manera que se pueda evitar la propagación de poblaciones de la plaga. Nuestros resultados muestran una reducción poblacional muy elevada en los tres supuestos considerados, siendo ligeramente mayor que cuando *A. daci* actuaba solo (de Pedro *et al.*, 2017) y muy superior a la producida por *D. longicaudata* en solitario (Harbi *et al.*, 2018a). Este hallazgo, por sí solo, ya avala el uso combinado de ambas especies de parasitoides contra *C. capitata*, al ser la reducción de la población de la plaga el principal objetivo de los programas de control.

En resumen, podríamos concluir que *D. longicaudata* y *A. daci* son capaces de parasitar y provocar la muerte de *C. capitata* en condiciones de laboratorio y semicampo, y que una liberación conjunta de ambos parasitoides podría dar lugar a unos valores de parasitismo y reducción poblacional superiores a los obtenidos para cada especie por separado. Por tanto, el uso combinado de estos enemigos naturales puede considerarse como una estrategia recomendable para su inclusión en programas de manejo integrado de plagas contra la mosca mediterránea de la fruta. Es necesario incidir, eso sí, en que estos programas deben ser diseñados teniendo en cuenta ciertos factores (condiciones climáticas, densidad de hospedador en la zona) que tienen un efecto fundamental en el desempeño de estos agentes de control.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrolló en el marco del proyecto de investigación del Ministerio de Economía y Competitividad AGL2010-21349-C02-02. Los autores agradecen a Amparo Duato y María José Camaró (IVIA) su ayuda técnica en el mantenimiento de las crías de insectos.

BIBLIOGRAFÍA

- Bader A. E., Heinz K. M., Wharton R. A., Bográn C. E.** 2006. Assessment of interspecific interactions among parasitoids on the outcome of inoculative biological control of leafminers attacking chrysanthemum. *Biological Control* 39:441–452.
- Beitia F., Sabater-Muñoz B., Malagón P.** 2011. Estrategias de manejo integrado de la mosca mediterránea de la fruta en la Comunidad Valenciana. *Vida Rural* 323: 52–58.
- Beitia F., Ferrara F. A., Harbi A., de Pedro L., Tormos J., Sabater-Muñoz B.** 2014. Avances en el control biológico de la mosca de la fruta. *Vida Rural* 379: 34–39.
- Briggs C. J.** 1993. Competition among parasitoid species on a stagestructured host and its effect on host suppression. *The American Naturalist* 141:372–397.
- Cusumano A., Peri E., Colazza S.** 2016. Interspecific competition/facilitation among insect parasitoids. *Current Opinion in Insect Science* 14:12–16.
- de Pedro L.** 2017. Bases para implementar la lucha biológica contra *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) mediante el empleo de *Aganaspis daci* (Hymenoptera: Figitidae). Tesis Doctoral. Universidad de Salamanca. 236 pp.
- de Pedro L., Martínez R., Harbi A., Ferrara F. A., Tormos J., Asís J. D., Sabater-Muñoz B., Beitia F.** 2013. Un nuevo enemigo natural de *Ceratitidis capitata* (Diptera, Tephritidae) identificado en la Comunidad Valenciana: el parasitoide *Aganaspis daci* (Hymenoptera, Figitidae). *Levante Agrícola* 416: 153–157.
- de Pedro L., Beitia F., Sabater-Muñoz B., Asís J. D., Tormos J.** 2016a. Effect of temperature on the developmental time, survival of immatures and adult longevity of *Aganaspis daci* (Hymenoptera: Figitidae), a natural enemy of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Crop Protection* 85: 17–22.
- de Pedro L., Beitia F., Sabater-Muñoz B., Asís J. D., Tormos J.** 2016b. Efecto de la alimentación sobre la longevidad de adultos y la fertilidad de *Aganaspis daci* (Hymenoptera: Figitidae), parasitoide de moscas de las frutas. *Levante Agrícola* 431: 113–118.
- de Pedro L., Beitia F., Ferrara F., Asís J. D., Sabater-Muñoz B., Tormos J.** 2017. Effect of host density and location on the percentage parasitism, fertility and induced mortality of *Aganaspis daci* (Hymenoptera: Figitidae), a parasitoid of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Crop Protection* 92: 160–167.
- de Pedro L., Beitia F., Sabater-Muñoz B., Harbi A., Ferrara F., Polidori C., Asís J. D., Tormos J.** 2018. Condiciones climáticas y control biológico de la mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitidis capitata*, mediante el parasitoide *Aganaspis daci*. *Levante Agrícola* 441:128–133.
- Delrio G., Cocco A.** 2012. Tephritidae. In: Vacante V., Gerson U. (Eds.). *Integrated Control of Citrus Pests in the Mediterranean Region*. Bentham Science, Sharja, UAE. Pp: 206–222.
- Denoth M., Frid L., Myers J. H.** 2002. Multiple agents in biological control: Improving the odds? *Biological Control* 24:20–30.
- Gould J., Hoelmer K., Goolsby J.** 2008. Classical biological control of *Bemisia tabaci* in the United States: A review of interagency research and implementation (p. 343). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Harbi A.** 2017. *Diachasmimorpha longicaudata* as Biological Control Agent of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitidis capitata*: Biotic and Abiotic Factors Affecting its Implementation in Citrus Crops of the Mediterranean Basin. PhD thesis dissertation. University Jaume I (Castellón, Spain) and High Agronomic Institute, Chott-Meriem, Tunisia. <https://doi.org/10.6035/14104.2017.509728>.
- Harbi A., Beitia F. J., Tur C., Chermiti B., Verdú M. J., Sabater-Muñoz B.** 2015. Utilización del parasitoide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) para el control de *Ceratitidis capitata* (Wiedemann): Ensayos de semi-campo. *Levante Agrícola* 428:204–208.
- Harbi A., Beitia F., Ferrara F., Chermiti B., Sabater-Muñoz B.** 2018a. Functional response of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) over *Ceratitidis capitata* (Wiedemann): Influence of temperature, fruit location and host density. *Crop Protection* 109:115–122.
- Harbi A., Beitia F., Chermiti B., de Pedro L., Ferrara F., Asís J. D., Polidori C., Tormos J., Sabater-Muñoz B.** 2018b. Abiotic factors affecting *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) activity as a natural enemy of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) under semi-natural conditions in the Mediterranean region. *Journal of Applied Entomology* 142:755–764.
- Harbi A., de Pedro L., Ferrara F., Tormos J., Chermiti B., Beitia F., Sabater-Muñoz B.** 2019. *Diachasmimorpha longicaudata* Parasitism Response to Medfly Host Fruit and Fruit Infestation Age. *Insects* 10, 211; doi: 10.3390/insects10070211.

Harvey J. A., Poelman E. H., Tanaka T. 2013. Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps. *Annual Review of Entomology* 58:333–351.

Lahey Z. J., McAuslane H. J., Stansly P. A. 2016. Interspecific competition between two exotic parasitoids (Hymenoptera: Aphelinidae) of an invasive *Bemisia tabaci* species (Hemiptera: Aleyrodidae). *Florida Entomologist* 99:535–540.

Martins D. S., Skouri W., Chermiti B., Aboussaid H., El Messoussi S., Oufdou K., Sabater-Muñoz B., Beitia F. 2010. Analysis of two larval-pupal parasitoids (Hymenoptera, Braconidae) in the biological control of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in Spanish Mediterranean areas. In: Sabater-Muñoz B., Navarro-Llopis V., Urbaneja A. (Eds.), *Proceedings of the 8th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance*. Polytechnic University of Valencia Editorial, Valencia, Spain. Pp: 252–258.

Mills N. 2006. Interspecific competition among natural enemies and single versus multiple interactions in biological control. In J. Brodeur & G. Boivin (Eds.), *Trophic and guild interactions in biological control* (pp. 191–220). Dordrecht, The Netherlands: Springer.

Montoya P., Liedo P., Benrey B., Barrera J. F., Cancino J., Aluja M. 2000. Functional response and superparasitism

by *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 93:47–54.

Montoya P., Gálvez C., Díaz-Fleischer F. 2018. Host availability affects the interaction between pupal parasitoid *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) and larval-pupal parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Bulletin of Entomological Research* 109:15–23.

Pérez-Hinarejos M., Beitia F. 2008. Parasitism of *Spalangia cameroni* (Hymenoptera, Pteromalidae), an idiobiont parasitoid on pupae of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). *IOBC/WPRS Bulletin* 38:130–133.

Püntener W. 1981. *Manual for Field Trials in Plant Protection*, 2nd edn. Agricultural Division, Ciba Geigy, Basle, Switzerland.

Sabater-Muñoz B., Martins D. S., Skouri W., Laurín C., Tur C., Beitia F. 2009. Primeros ensayos sobre la utilización de *Diachasmimorpha tryoni* (Hymenoptera, Braconidae) para el control biológico de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) en la Comunidad Valenciana. *Levante Agrícola* 398: 372–376.

Sabater-Muñoz B., Tormos J., de Pedro L., Harbi A., Tur C., Briasco M., Verdú M. J., Beitia F. 2012. Estrategias de control integrado de *Ceratitis capitata* en cítricos. *Vida Rural* 353:42–45.

Stiling P., Cornelissen T. 2005. What makes a successful biocontrol agent? A meta-analysis of biological control agent performance. *Biological Control* 34: 236–246.

Tormos J., de Pedro L., Beitia F., Sabater-Muñoz B., Asís J. D., Polidori C. 2013. Development, preimaginal phases and adult sensillar equipment in *Aganaspis parasitoids* (Hymenoptera: Figitidae) of fruit flies. *Microscopy and Microanalysis*, 19:1475–1489.

Verdú M. J., Falcó J. V., Beitia F., Sabater-Muñoz B. 2011. Identificación de un nuevo agente de control biológico de *Ceratitis capitata* en España, el himenóptero eucoilino *Aganaspis daci*. XXVIII Jornadas de la Asociación Española de Entomología (AeE). Book of Abstracts, Ponferrada, Spain, p. 25.

Wang X. G., Messing R. H., Bautista R. C. 2003. Competitive superiority of early acting species: A case study of opine fruit fly parasitoids. *Biocontrol Science and Technology* 13:391–402.

Yang J., Cai P., Chen J., Zhang H., Wang C., Xiang H., Wu J., Yang Y., Chen J., Ji Q., Song D. 2018. Interspecific competition between *Fopius arisanus* and *Psytalia incise* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 121:183–189.



Plante con las mejores garantías

Viveros Citroplant, S.L., es un Vivero de cítricos, autorizado y regulado por el Ministerio de Agricultura, para la producción de plantones de cítricos sobre pies tolerantes a la tristeza e injertos libres de virus.

Estamos utilizando las más avanzadas tecnologías, con dos sistemas de cultivo, Tierra e Hidropónico para obtener la mayor calidad en nuestros plantones.

Sistema Hidropónico

Ventajas:

- Estrés al trasplante menor
- Crecimiento inicial mucho mayor
- No es necesario el despunte de la planta
- Ideal para doblados y reposiciones
- Porcentaje de faltas cero o nulo

¡NOVEDADES!!

Valencia Midnight Seedless
Powell Summer Navel®
Valencia Delta Seedless
Navel Fukumoto
Clemenrubi®
Navel Chislett
Satsuma Iwasaki

Nuestra oferta varietal comprende:

Mandarinos, Naranjos, Limoneros, Limas, Pomelos y Patrones