

Introducción y producción en laboratorio de *Diachasmimorpha tryoni* y *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) para el control biológico de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) en la Argentina

OVRUSKI, Sergio M.*; Carolina COLIN**; Alejandra SORIA***;
Luis E. OROÑO*** y Pablo SCHLISERMAN*

* INSUE Instituto Superior de Entomología-UNT y Fundación Miguel Lillo-CIRPON y CONICET. Miguel Lillo 205. 4000 S. M. de Tucumán, Argentina; e-mail: ovruski@infovia.com.ar

** Fundación Miguel Lillo-CIRPON Pasaje Caseros 1050. 4000 S. M. de Tucumán, Argentina.

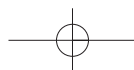
*** INSUE Instituto Superior de Entomología-UNT y Fundación Miguel Lillo-CIRPON. Miguel Lillo 205, 4000 S. M. de Tucumán, Argentina.

■ **RESUMEN.** Con el propósito de reanudar la utilización de enemigos naturales contra la especie exótica *Ceratitis capitata* (Wiedemann), fueron introducidos a la Argentina en 1999 los agentes de control biológico *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) y *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead), dos endoparásitoides de larvas de tefrítidos. Por este motivo, en este trabajo se describen los procedimientos de cría en laboratorio del huésped y de ambas especies de parasitoides y, se presentan y discuten los resultados de un año de producción de *D. tryoni* y *D. longicaudata* a mediana escala (enero-diciembre/2000). Se realizó un análisis comparativo de los datos obtenidos sobre la producción de descendientes, proporción sexual, porcentaje de parasitismo y viabilidad de puparios por jaula de cría durante 15 generaciones entre ambas especies de parasitoides exóticos, utilizando como huésped larvas de *C. capitata* del tercer estadio de siete días de edad. Además, se discuten las posibilidades para implementar el control biológico aumentativo contra *C. capitata* y *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) en el país.

PALABRAS CLAVE. Control biológico. Moscas de la fruta. Parasitoides. Braconidae. Argentina.

■ **ABSTRACT.** Introduction and laboratory production of *Diachasmimorpha tryoni* and *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) for the biological control of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Argentina. The biocontrol agents *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) and *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead), two endoparasitoids of fruit fly larvae, were introduced to Argentina in 1999 with the purpose of renewing the employment of natural enemies against *Ceratitis capitata* (Wiedemann). For this reason, the general procedure and maintenance of the host and parasitoids rearing in the laboratory are described, and the results of one year insectary production (January-December/2000) of both *D. tryoni* and *D. longicaudata* are discussed. Data are presented of the progeny production, offspring sex ratio, host parasitism percentage, and pupal viability per parasitoid rearing cage during 15 generations of *D. longicaudata* and *D. tryoni* reared using late third instar larvae of *C. capitata*. New perspectives are discussed on the establishment of a biological control program for *C. capitata* and *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) in Argentina by using parasitoid augmentative releases.

KEY WORDS. Biological control. Fruit flies. Parasitoids. Braconidae. Argentina.



INTRODUCCIÓN

En los últimos 20 años, el empleo del control biológico contra especies de dípteros tefrítidos plaga de la fruticultura tuvo un notable resurgimiento a nivel mundial. Recientemente, numerosos programas de control y erradicación de tefrítidos de importancia cuarentenaria incorporaron las liberaciones masivas de himenópteros parasitoides como alternativa válida de control en toda América (Cancino *et al.*, 1992; Montoya *et al.*, 2000b; Sivinski *et al.*, 1996a, Sivinski *et al.*, 1996b, Camacho, 1992; Senasa-Perú, 1999; Carvalho *et al.*, 2000; Carvalho & Nascimento, 2002). La perfección de métodos de cría masiva de varias especies de himenópteros parasitoides, el rechazo a nivel mundial por el uso de agroquímicos en cultivos frutihortícolas debido a los efectos negativos al ambiente y a la salud humana, y la tendencia a la conservación de la biodiversidad en los agroecosistemas están relacionados con el creciente interés por el control biológico de tefrítidos plaga (Ovruski *et al.*, 2000).

Entre las especies de parasitoides utilizadas en liberaciones aumentativas para tefrítidos plaga, figuran *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) y *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae, Opiinae) (Sivinski, 1996). Ambos braconidos pertenecen a un gremio integrado por endoparasitoides solitarios y koinobiontes que oviponen en la larva huésped y emergen del pupario del tefrítido (Ovruski *et al.*, 2000). *Diachasmimorpha longicaudata* es originario del sudeste asiático y *D. tryoni* de Australia, donde atacan tefrítidos del género *Bactrocera* (Wharton & Gilstrap, 1983). Ambas especies se establecieron exitosamente en Hawaii, (Wong & Ramadan, 1992; Wong, 1993) Costa Rica (Jiron & Mexzon, 1989), Guatemala (Eskafi, 1990), México (Cancino & Enkerlin, 1992), EE.UU (Baranowski *et al.*, 1993), El Salvador (Ovruski *et al.*, 1996) y Brasil (Matrangolo *et al.*, 1998). *Diachasmimorpha tryoni* también fue introducido en México (Cancino *et al.*, 1995) y Guatemala (Holler *et al.*, 1996). Sin embargo, aún no fue constatado el establecimiento permanente de este parasitoide en aquellos países (Ovruski *et al.*, 2000). En la actualidad, *D. longicaudata* y *D. tryoni* son criados masivamente en México (Cancino, 1997), Guatemala (Sivinski *et al.*, 1996b; Montoya *et al.*, 2000b; Holler *et al.*, 1996), Costa Rica (Carro *et al.*, 2001), Perú (Senasa-Perú, 1999) y Brasil (Carvalho & Nascimento, 2002).

Los programas de control biológico llevados a cabo en la Argentina entre las décadas del '30 y '70 contra *Ceratitis capitata* (Wiedemann) y *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann), las únicas especies de tefrítidos de importancia económica y cuarentenaria en el país (Cosenzo *et al.*, 1999), consistieron en la conservación de enemigos naturales autóctonos a través del empleo de "pozos trampas" (Hayward, 1940; Nasca *et al.*, 1980) y en la importación de parasitoides exóticos para un control biológico clásico, entre los que se encontraba *D. longicaudata* (bajo el nombre de *Opius* o *Biosteres longicaudatus*) (Turica, 1968; Turica *et al.*, 1971). Sin embargo, la falta de continuidad de los programas imposibilitó la evaluación de los resultados finales (Clausen, 1978). Ovruski & Fidalgo (1994) y Ovruski *et al.* (1999) publicaron resúmenes cronológicos de las actividades efectuadas en el pasado para el control de *C. capitata* y *A. fraterculus* en la Argentina.

Con el propósito de reanudar el empleo de enemigos naturales contra la especie exótica *C. capitata*, fueron introducidos en la Argentina en 1999 los agentes *D. tryoni* y *D. longicaudata*, a través de un subsidio del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONCyT, Argentina). Por ello, el objetivo de éste artículo es describir el método de cría en laboratorio de los dos agentes de control, discutir los resultados de 12 meses de producción de los parasitoides a mediana escala (enero/2000-diciembre/2000) y analizar las posibilidades de la implementación en el país.

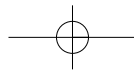
MATERIAL Y MÉTODOS

Procedimiento general y mantenimiento de la cría de *D. tryoni* y *D. longicaudata*

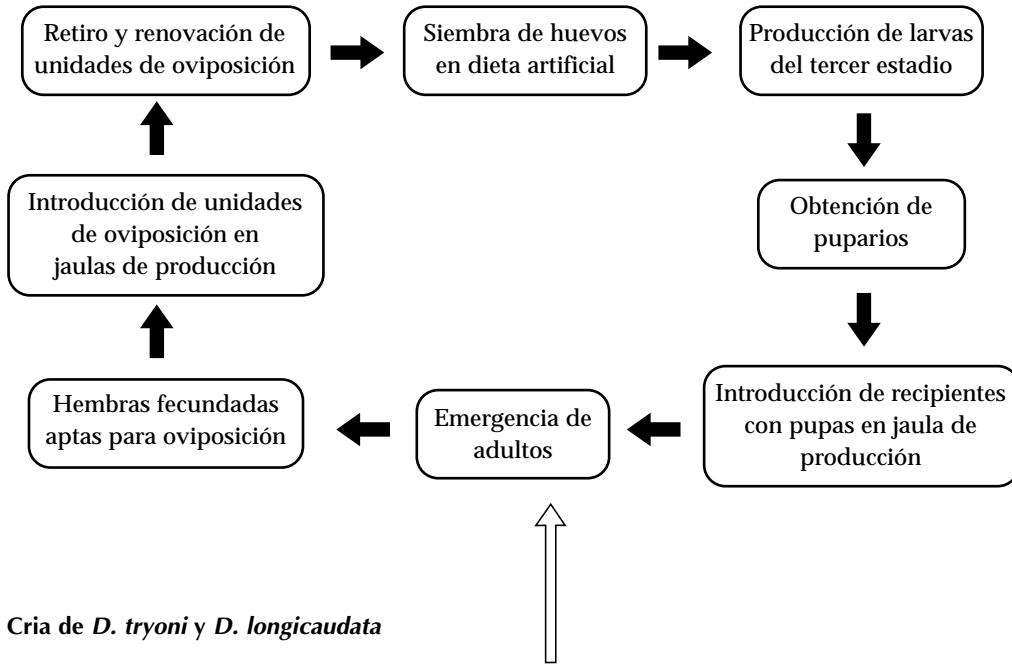
En la Fig. 1 se representa esquemáticamente el proceso de cría del tefrítido huésped, *C. capitata*, y el de los parasitoides *D. tryoni* y *D. longicaudata*, llevado a cabo en el insectario del Centro de Investigaciones para la Regulación de Poblaciones de Organismos Nocivos (CIRPON) en San Miguel de Tucumán, a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, HR de $75 \pm 5\%$ y fotoperíodo de 14 horas luz.

1.- Cría de *C. capitata*

Ceratitis capitata fue criada siguiendo la metodología utilizada por Crouzel (1961), modifi-



Cria de *C. capitata*



Cria de *D. tryoni* y *D. longicaudata*

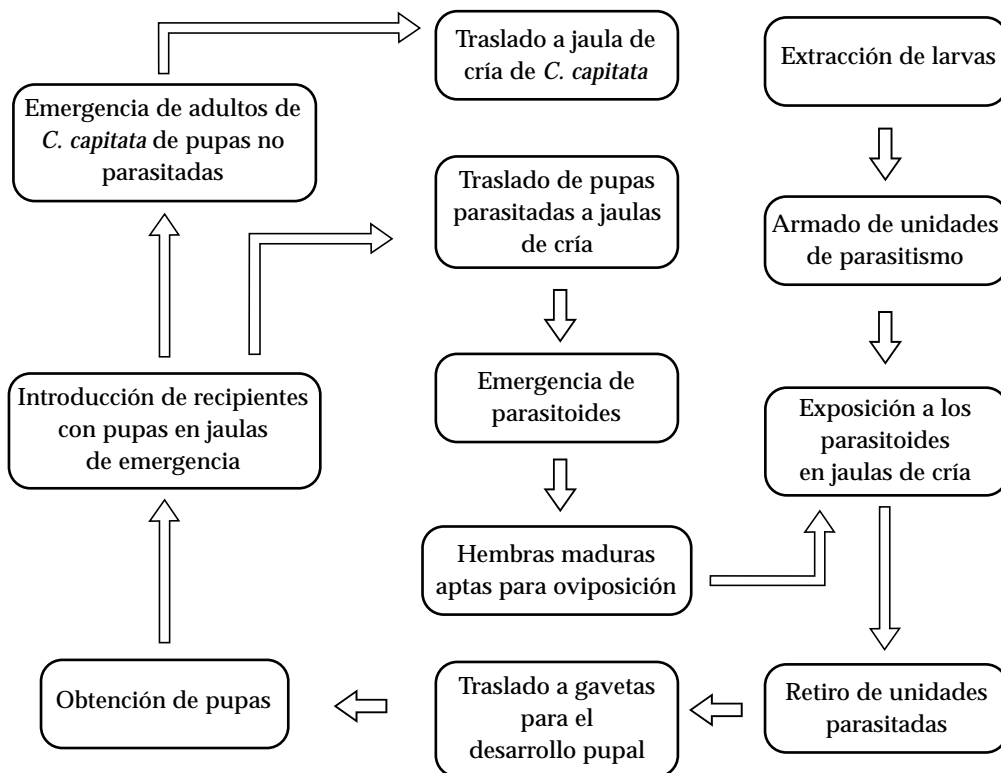
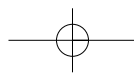
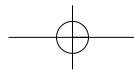


Fig. 1. Proceso de cría de *Ceratitidis capitata* y de los parasitoides *Diachasmimorpha tryoni* y *Diachasmimorpha longicaudata* en el insectario del CIRPON-FML.





cándose la jaula de adultos destinados para reproducción, el proceso de incubación de los huevos, el tipo y dimensiones de las bandejas para maduración de larvas, y los ingredientes y proporciones del medio nutritivo para larvas y adultos. Para la nutrición de las larvas se empleó la dieta artificial descrita por Quesada-Alué *et al.* (1994), mientras que para la alimentación de los adultos se utilizó una mezcla de proteína hidrolizada más azúcar en la proporción 1:3.

Los insectos adultos fueron mantenidos en una jaula de 90 × 45 × 60 cm, de acrílico transparente; ventanas laterales desmontables, de tela plástica con mallado de 1 mm de diámetro; pared anterior con dos aberturas cuadrangulares de 10 cm, cada una con una manga de tela negra de 20 cm de largo; piso cubierto con una plancha de cartón corrugado desmontable. Para la incubación, los huevos provenientes de los colectores fueron mantenidos en tubos de ensayo de 1,5 cm de diámetro y 15 cm de alto con agua destilada, donde se los oxigenó durante 24 hs. Luego, los huevos fueron trasladados a una probeta donde se contabilizó hasta un máximo de 1 ml (aproximadamente 20.000 huevos), cantidad que fue sembrada en una bandeja plástica de 35 × 17 × 3 cm con capacidad para 1 kg de dieta artificial para larvas.

Alrededor del 70% de las larvas maduras (≅ siete días de edad) fueron destinadas para la cría de los parasitoides, mientras que el 30% restante fue utilizado para el reciclado de la colonia. Cada jaula con adultos permaneció en actividad 28 días, transcurrido ese tiempo, ésta fue dada de baja, debido principalmente a la elevada tasa de mortalidad de los adultos (90%) y a la disminución de la fecundidad de las hembras.

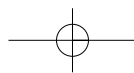
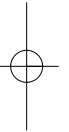
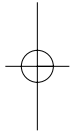
2.- Cría de *D. tryoni* y *D. longicaudata*

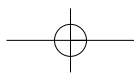
Las especies *D. tryoni* y *D. longicaudata* fueron introducidas a principios de septiembre de 1999 desde el Complejo Bioindustrial MOSCA-MED-MOSCAFRUT, Metapa de Domínguez, Chiapas, México. Los parasitoides fueron introducidos como pupa dentro del pupario del huésped. *Diachasmimorpha longicaudata* provenía de una cepa criada sobre *Anastrepha ludens* (Loew), mientras que *D. tryoni* de una cepa desarrollada en *C. capitata*. Se importaron 1.000 pupas, cuyas larvas huéspedes fueron irradiadas con 4,5 Krads.

antes de la exposición a los parasitoides según la metodología descrita por Cancino *et al.* (2002a). La introducción de ambas especies de parasitoides se realizó con autorización del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). La cuarentena de los parasitoides introducidos fue realizada en dependencias del CIRPON en una cámara especializada para tal fin y acondicionada a 25-26 °C; 65-75 % HR y 12 hs luz. Luego de transcurrido ese tiempo fueron trasladados al insectario del instituto, previa autorización del SENASA.

Los parasitoides fueron criados sobre la cepa de *C. capitata* de la Estación Experimental Agroindustrial "Obispo Colombes" (EEOC) por dos generaciones. A partir de diciembre de 1999 se emplearon larvas de una cepa silvestre de *C. capitata* como huésped de los parasitoides. Por lo tanto, se consideró como primera generación de laboratorio a la camada de parasitoides de ambas especies obtenidas de la cepa silvestre en de 2000.

Los parasitoides fueron criados con la metodología utilizada por Wong & Ramadan (1992), modificándose la jaula de adultos para reproducción, el número de unidades con larvas para oviposición por jaula, la edad de la larva huésped y el proceso de obtención de adultos. La jaula de reproducción consistió de una estructura cúbica de acrílico transparente de 30 cm de cada lado, con la cara anterior y paredes laterales de tela plástica desmontables (mallado de 1 mm de diámetro). Cada una de estas jaulas contenía 360 parasitoides adultos en una proporción sexual 1:1. Por cada jaula de cría se utilizaron tres unidades de oviposición con larvas maduras de *C. capitata* de siete días de edad (tercer estadio), cada una de las cuales contenía 500 larvas. Por lo tanto, se trabajó con una densidad de 8,3 larvas de *C. capitata* por hembra de parasitoide durante 6 hs de exposición en cada jaula de cría (Lawrence *et al.* 1978). El tiempo útil de una jaula para cría de parasitoides fue de 20 días. Transcurrido ese tiempo, las jaulas fueron reemplazadas. Para la obtención de los parasitoides adultos se procedió a depositar los puparios en recipientes plásticos dentro de una jaula de acrílico de 40 × 40 × 60 cm, donde primero emergieron los adultos de *C. capitata* provenientes de puparios no parasitados. Luego, los puparios parasitados aún no eclosionados, fueron trasladados a las jaulas de cría de parasitoides.





Análisis de datos. Se calculó el porcentaje de parasitismo empleando la fórmula sugerida por Cancino & Yoc (1993): %P = (nro de parasitoides emergidos / nro total de moscas + parasitoides emergidos) * 100. La viabilidad pupal fue calculada mediante la fórmula: VP = (nro de puparios que produjeron insectos vivos (moscas + parasitoides) / nro total de puparios) * 100 (Ovruski, 1995). Para la comparación de los datos de producción diaria mensual de larvas de *C. capitata* por bandeja de siembra entre los meses del año 2000, se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y los valores medios fueron separados por la prueba de rango múltiple de Student-Newman-Keuls, a un nivel de significancia igual a 0,05 (Zolman, 1993). Antes de utilizar el ANOVA, los valores fueron transformados empleando logaritmo en base 10 para normalizar la variación de los datos obtenidos entre los distintos meses. Para comparar los valores medios obtenidos de la producción de descendientes por jaula de cría entre *D. tryoni* y *D. longicaudata* se usó una prueba *t*-student, a un nivel de significancia igual a 0,05 (Zolman, 1993). Los datos de porcentajes (parasitismo, viabilidad pupal, proporción sexual y porcentaje de puparios no eclosionados) fueron transformados usando el arcoseno porcentual de la raíz cuadrada del número (Zolman, 1993). En las tablas se presentan los valores medios no transformados para su comparación.

RESULTADOS

La tabla I presenta los resultados obtenidos por mes durante el año 2000 sobre la producción media diaria de larvas de *C. capitata* por bandeja de siembra, destinadas para el mantenimiento de la colonia del huésped y para la multiplicación de *D. tryoni* y *D. longicaudata*. Se encontraron diferencias significativas en la cantidad de huevos sembrados por bandeja, y en la producción de larvas y puparios entre enero y febrero, y entre éstos dos y los restantes meses del año. Así, por ejemplo, entre marzo y diciembre se sembró un número de huevos significativamente mayor a los dos primeros meses del año [$F(11, 216) = 50,5$; $P < 0,0001$], manteniendo un valor cercano a 1 ml de huevos por bandeja de siembra. La producción de larvas de *C. capitata* destinada para reciclar la colonia del huésped y para criar ambas especies de parasitoides se incrementó significati-

vamente en marzo [$F(11, 216) = 121,5$; $P < 0,0001$ y $F(11, 216) = 688,0$; $P < 0,0001$, respectivamente], mes a partir del cual se mantuvo constante en un rango de 3.685,1 – 4.358,4 y 8.691,1 – 9.568,3 larvas por bandeja, respectivamente. De manera similar, el número de puparios formados a partir de las larvas destinadas para reciclado y para cría aumentó significativamente en marzo [$F(11, 216) = 48,7$; $P < 0,0001$ y $F(11, 216) = 26,8$; $P < 0,0001$, respectivamente] para conservar, durante el resto de los meses, valores que variaron entre 3.106,2 – 4.241,6 y 7.818,0 – 9.367,8 puparios por bandeja, respectivamente. También existieron diferencias significativas entre la viabilidad de los puparios originados de larvas para reciclado de la colonia del huésped, siendo ésta mayor desde marzo en adelante [$F(11, 216) = 10,8$; $P < 0,0001$] y con valores del 86 al 99%. La viabilidad de los puparios provenientes de larvas expuestas a los parasitoides no fue homogénea, registrándose diferencias significativas entre varios meses (ver tabla I). Sin embargo, el porcentaje de puparios viables registrados desde marzo a diciembre, fue significativamente mayor al obtenido durante enero y febrero [$F(11, 216) = 27,3$; $P < 0,0001$].

La tabla II muestra el número total de adultos de *D. tryoni* y *D. longicaudata* producidos por una jaula de cría durante todo el tiempo útil de ésta (20 días) y señala los datos obtenidos para 15 generaciones de ambas especies de parasitoides, los cuales equivalen a un año de cría. En total fueron expuestas 30.000 larvas de *C. capitata* de siete días de edad por jaula de cada especie de parasitoide. Los menores valores de producción de parasitoides (número de descendientes hembras y machos) y de porcentaje de parasitismo en larvas, se manifestaron en las dos primeras generaciones de *D. longicaudata* y en las tres primeras de *D. tryoni*. También, el porcentaje de puparios viables, fue bajo en éstas generaciones de parasitoides, alcanzando un máximo del 4,5% (tabla II). En general, los niveles de parasitismo registrados en el laboratorio durante el año 2000 no superaron el 60%, éstos variaron entre 12 y 42% para *D. tryoni* y entre 26 y 58 % para *D. longicaudata*. La producción total de descendientes de *D. tryoni* y *D. longicaudata* por jaula de cría no superó los 9.700 y 12.500 ejemplares, respectivamente. Además, la diferencia entre el máximo y mínimo número de descendencia fue similar en ambas espe-

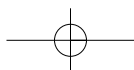


Tabla I: Producción media diaria de larvas de *Ceratitis capitata* por bandeja de siembra para el reciclado de la colonia del tefrítido y para la cría de los parasitoides *D. tryoni* y *D. longicaudata* (período enero - diciembre/2000). Los valores son expresados como media \pm desviación estándar.

Meses del año	huevo sembrados (ml) ^{1,2}	Nro. de larvas producidas ²		Nro. de pupas formadas ²		Viabilidad pupal (%) ²	
		A) para reciclado de colonia	B) para cría de parasitoides	A	B	A	B ³
Ene.	0,6 \pm 0,1a	2.109,8 \pm 092,6 a	5.026,8 \pm 102,8 a	1.834,6 \pm 107,6 a	4.141,2 \pm 530,2 a	74,4 \pm 05,6 a	45,7 \pm 10,4 a
Feb.	0,8 \pm 0,0 b	3.002,3 \pm 218,1 b	7.041,7 \pm 179,5 b	2.631,7 \pm 297,0 b	6.228,5 \pm 901,6 b	82,2 \pm 06,2 b	51,1 \pm 07,2 a
Mar.	0,9 \pm 0,1 c	3.985,1 \pm 123,9 c	9.083,4 \pm 207,8 c	3.418,6 \pm 312,4 c	8.364,8 \pm 446,8 c	91,2 \pm 04,8 c	75,4 \pm 05,8 b
Abr.	1,0 \pm 0,1 cd	4.019,8 \pm 171,5 c	9.196,3 \pm 289,7 cd	3.585,7 \pm 326,7 c	8.748,7 \pm 341,2 c	94,5 \pm 05,3 c	69,1 \pm 05,3 bcd
May.	1,1 \pm 0,2 d	4.093,2 \pm 215,6 c	9.261,8 \pm 179,3 d	3.566,8 \pm 446,8 c	8.409,5 \pm 483,7 c	93,1 \pm 05,7 c	74,8 \pm 04,7 b
Jun.	1,2 \pm 0,1 d	4.046,8 \pm 339,0 c	9.296,4 \pm 199,7 d	3.505,9 \pm 315,4 c	8.848,7 \pm 519,1 c	97,4 \pm 02,1 c	76,9 \pm 07,8 b
Jul.	1,1 \pm 0,1 cd	4.108,9 \pm 231,9 c	9.238,6 \pm 201,1 d	3.696,3 \pm 465,0 c	8.485,8 \pm 435,5 c	96,2 \pm 03,2 c	65,2 \pm 07,4 cde
Ago.	1,1 \pm 0,1 cd	4.032,8 \pm 325,6 c	9.170,2 \pm 257,1 d	3.552,7 \pm 296,2 c	8.491,1 \pm 407,9 c	94,3 \pm 04,5 c	73,4 \pm 03,4 b
Sept.	1,1 \pm 0,1 cd	4.120,9 \pm 226,3 c	9.120,3 \pm 301,6 cd	3.784,5 \pm 457,1 c	8.439,4 \pm 536,8 c	95,5 \pm 01,3 c	68,5 \pm 08,2 dc
Oct.	1,1 \pm 0,1 cd	4.001,7 \pm 302,1 c	9.261,8 \pm 325,9 cd	3.600,7 \pm 367,4 c	8.890,9 \pm 360,4 c	93,4 \pm 03,6 c	71,8 \pm 09,3 bd
Nov.	1,1 \pm 0,2 d	4.015,3 \pm 246,0 c	9.319,7 \pm 248,6 d	3.643,6 \pm 401,7 c	8.831,3 \pm 343,4 c	94,2 \pm 02,3 c	74,7 \pm 07,9 be
Dic.	1,0 \pm 0,0 cd	3.964,8 \pm 279,7 c	8.991,6 \pm 300,5 d	3.495,4 \pm 319,3 c	8.542,6 \pm 442,5 c	93,6 \pm 03,7 c	63,8 \pm 05,6 e

¹ Cantidad (en ml) media diaria de huevos sembrados por bandeja durante cada mes. Los valores fueron calculados de la siembra de tres bandejas por semana (bandejas de los días lunes, miércoles y viernes), lo que contabilizó 12 bandejas por mes (n = 12).

² Los valores medios seguidos de una misma letra en una columna no presentan diferencias significativas (ANOVA, seguido de la prueba de rango múltiple de diferenciación de medias de Student-Newman-Keuls, $P < 0,05$, n = 12).

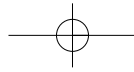
³ Incluye los datos de la viabilidad de las pupas provenientes de larvas expuestas a las dos especies de parasitoides; 6 lotes de *D. tryoni* y 6 lotes de *D. longicaudata* por mes (n = 12).

cies de parasitoides, 8.100 para *D. tryoni* y 9.500 para *D. longicaudata*, al considerar las 15 generaciones. Sin embargo, la tabla III indica que la producción media de descendientes de *D. longicaudata* por jaula de cría entre enero y diciembre de 2000 fue significativamente más alta que la originada por *D. tryoni* en ese período ($t = 2,66$; $gl = 28$; $P = 0,012$), empleando el mismo método de cría para las dos especies. Asimismo, el porcentaje de parasitismo manifestada por *D. longicaudata* sobre larvas maduras de *C. capitata* fue significativamente superior a la producida por *D. tryoni* en ese huésped ($t = 3,67$; $gl = 28$; $P = 0,001$). Por el contrario, la proporción de sexos fue similar en las crías de las dos especies de parasitoides (1,3 - 1,5 hembras por macho) ($t = 0,99$; $gl = 28$; $P = 0,326$). Entre 22 y 47 % de los puparios originados de las larvas expuestas a *D. longicaudata* y a *D. tryoni* no llegaron a eclosionar, es decir, no produjeron un insecto adulto (parasitoides o *C. capitata*). Estos porcentajes no presentaron diferencias significativas en ambas especies de parasitoides ($t = 0,45$; $gl = 28$; $P = 0,652$).

DISCUSIÓN

La producción de larvas de *C. capitata* de edad adecuada para la exposición a los parasitoides estuvo limitada, al principio, por el bajo rendimiento de los adultos del tefrítido en la puesta de huevos en los colectores artificiales. La recolección de huevos durante los meses de enero y febrero fue 20 y 50% menor que en los siguientes 10 meses. La cría de *C. capitata* proveniente de la cepa silvestre requirieron al menos dos generaciones para adaptarse a las condiciones artificiales del laboratorio. Esta situación, limitó la obtención de huevos para alcanzar una producción estándar de 9.200 larvas huésped por bandeja de siembra. Este número fue alcanzado en marzo y se mantuvo hasta diciembre/2000. La etapa más problemática en la colonización de especies de tefrítidos en el laboratorio es el inicio de la cría, fase donde existe una alta tasa de mortalidad y baja capacidad reproductiva de los adultos (Leppla *et al.* 1983).

Ambas especies de parasitoides produjeron un número más elevado y constante de descendien-



OVRUSKI, S. *et al.*, Introducción y producción de *Diachasmimorpha tryoni* y *Diachasmimorpha longicaudata*

55

Tabla II: Producción total de adultos de *D. tryoni* (D.t.) y *D. longicaudata* (D.l.) por jaula de cría y por generación entre enero y diciembre/2000. Cada jaula con una cohorte original de 180 hembras de cinco días de edad y 1.500 larvas de *C. capitata* del tercer estadio (siete días de edad) expuestas diariamente seis horas y durante 20 días. Se incluyen 15 generaciones, equivalente a un año de producción. Datos totales de una jaula de cría por cada generación de parasitoide.

Generación	<i>D. t.</i>		<i>D. l.</i>		Nro. total de descendientes		Parasitismo (%)		Viabilidad pupal (%)	
	hembras	machos	hembras	machos	<i>D.t.</i>	<i>D.l.</i>	<i>D.t.</i>	<i>D.l.</i>	<i>D.t.</i>	<i>D.l.</i>
	1	968	1.131	1.903	1.077	2.099	2.980	15,5	26,2	45,0
2	843	721	2.111	1.989	1.564	4.100	12,2	31,4	42,8	43,7
3	1.866	717	5.231	3.203	2.583	8.434	19,5	41,3	44,2	68,1
4	4.181	2.602	5.160	2.880	6.783	8.040	33,4	38,3	67,9	70,0
5	4.669	2.652	6.447	4.140	7.321	10.587	36,1	46,3	67,6	76,2
6	5.464	3.781	6.360	5.543	9.245	11.903	42,3	49,7	72,7	79,9
7	5.578	1.914	5.461	2.883	7.492	8.344	35,3	41,1	71,0	67,8
8	4.659	3.741	6.003	5.208	8.400	11.211	41,3	52,4	67,8	71,4
9	4.561	2.039	3.522	4.555	6.600	8.077	35,6	41,3	61,7	65,1
10	4.923	2.156	4.275	3.579	7.079	7.854	31,5	46,4	75,0	56,4
11	3.731	3.122	6.842	5.645	6.853	12.487	33,1	58,1	69,0	71,7
12	4.124	4.718	5.824	4.980	8.842	10.804	39,9	47,5	73,2	75,9
13	3.411	3.727	5.520	3.461	7.138	8.981	34,0	44,3	70,0	67,6
14	5.704	3.955	6.609	4.560	9.659	11.169	41,5	49,9	77,6	74,6
15	3.426	1.857	5.541	4.542	5.283	10.083	29,5	47,8	59,6	70,3

Tabla III: Comparación de la producción media (\pm desviación estándar) de descendientes (hembras + machos) entre *D. tryoni* y *D. longicaudata* por jaula de cría durante el período enero - diciembre / 2000 (15 generaciones de cada especie de parasitoide).

Especie de parasitoide	Nro. medio de descendientes (machos y hembras) ¹	Proporción sexual (% de hembras) ¹	% Parasitismo ¹	% de puparios no eclosionados ¹
<i>D. tryoni</i>	6.462,3 \pm 2.532,1 a	57,1 \pm 5,9 a	32,0 \pm 9,3 a	35,7 \pm 11,5 a
<i>D. longicaudata</i>	9.003,6 \pm 2.688,7 b	59,9 \pm 9,2 a	44,1 \pm 8,1 b	33,8 \pm 11,9 a

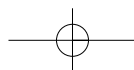
¹ Los valores medios seguidos de una misma letra en una columna no presentan diferencias significativas (prueba *t*-student, $P < 0,05$, $n = 15$).

tes a partir de la 3^o - 4^o generación, es decir, a finales de marzo y comienzos de abril/2000, época en la cual también se alcanzó la producción estándar de larvas huésped. Posiblemente, la tasa de nacimientos de parasitoides en los dos primeros meses del año 2000 fue afectada por la baja viabilidad de los puparios registrada durante ese tiempo. Según Cancino & Yoc (1993), la calidad del tetrífido huésped es uno de los principales factores que afecta el número de descendencia y la proporción sexual de los parasitoides de la subfamilia Opiinae criados artificialmente.

Los datos de producción media de descendientes de *D. tryoni* y *D. longicaudata* por jaula

de cría fueron 3,2 y 3,6 veces superiores a los obtenidos por Wong & Ramadan (1992), empleando el mismo método de las unidades de oviposición tipo caja de Petri modificada. Sin embargo, estos autores utilizaron larvas de *B. dorsalis* como huésped de *D. longicaudata* y larvas de *C. capitata* de seis días de edad para *D. tryoni*.

El porcentaje medio de parasitismo causado por *D. longicaudata* durante este estudio, fue similar al obtenido por Cancino & Yoc (1993), quienes también utilizaron larvas de *C. capitata* de siete días de edad. Al contrario, niveles medios de parasitismo superiores al 80% fueron registrados por Cancino (1997), al emplear larvas de *A. ludens* de



nueve días de edad en unidades de oviposición tipo cassette con capacidad para 2.000 larvas huésped. En el caso de *D. tryoni*, los resultados del presente trabajo muestran valores de parasitismo 1,5 y 2,0 veces más altos que los registrados por Wong (1993) sobre larvas de *C. capitata* de siete días de edad y 1,9 y 2,3 veces mayores a los obtenidos por Wong & Ramadan (1992) en larvas de *C. capitata* de seis días de edad.

Comparativamente, *D. longicaudata* tuvo una producción de descendientes por jaula de cría y un porcentaje de parasitismo medio de 1,4 veces más que *D. tryoni*. Estos datos son consistentes con la información publicada por Wong & Ramadan (1992) y Wong (1993), quienes obtuvieron una descendencia de aproximadamente dos ejemplares de *D. longicaudata* por individuo de *D. tryoni*.

Los resultados obtenidos sobre la proporción sexual de *D. tryoni*, entre 50 y 60% de hembras, fueron similares a los presentados por Wong (1993), quien también empleó como huésped larvas de *C. capitata* de siete días de edad. Por el contrario, Wong & Ramadan (1992) obtuvieron una mayor proporción de machos de *D. tryoni* al emplear larvas de *C. capitata* de seis días de edad. La proporción de sexos media de *D. longicaudata* obtenida en este estudio, cercana al 60% de hembras empleando larvas de *C. capitata* de siete días de edad, fue similar a la registrada por Wong & Ramadan (1992) y Wong (1993) utilizando larvas de *B. dorsalis* de siete días de edad y por Cancino & Yoc (1993) y Cancino *et al.* (2002b) empleando larvas de *A. ludens* de 8-9 días de edad. La utilización de larvas de *C. capitata* de siete días de edad (fase previa a la formación de la pupa) posibilitó la cría de *D. tryoni* y de *D. longicaudata* con proporción mayoritaria de hembras.

La viabilidad de los puparios provenientes de larvas expuestas a los parasitoides disminuyó entre 15 y 40% con respecto al porcentaje medio de eclosión de los puparios destinados para el mantenimiento de la cría de *C. capitata*. Varias causas pueden ser las responsables de la baja viabilidad de éstos puparios, como por ejemplo el superparasitismo (Montoya *et al.*, 2000a), excesivo manipuleo en el manejo de los puparios debido al método de exposición de larvas (Cancino, 1997), y ciertas acciones físicas de los parasitoides hacia el huésped como la introducción del ovipositor en el cuerpo de la larva sin deposición de huevos

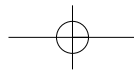
en su interior (Cancino, comunicación personal). Ante esto, surge la necesidad de evaluar diferentes densidades de larvas y tiempos de exposición a los parasitoides, así como mejorar el proceso de manipulación de las larvas una vez retirada la unidad de oviposición. Cancino (1997) registró un aumento en la tasa de emergencia de *D. longicaudata* al reducir el tiempo de exposición de las larvas de *A. ludens* en la cría masiva de este parasitoide.

La información documentada en este trabajo, permitirá incorporar al control biológico en el esquema de métodos de control y erradicación de *C. capitata* y *A. fraterculus* ya implementado en la Argentina. Los elevados números de descendientes por jaula de cría, con predominancia de hembras, en ambas especies de parasitoides, permite aseverar que actualmente se dispone en el país de crías de *D. longicaudata* y *D. tryoni* con una producción constante a mediana escala. Las cuales pueden ser incrementadas para alcanzar niveles de producción masiva adecuando el método de cría según lo recomendado por Cancino (1997).

Diachasmimorpha longicaudata es un parasitoide que puede multiplicarse tanto en *A. fraterculus* (Carvalho & Nascimento, 2002) como en *C. capitata*, lo cual representa una ventaja para controlar en áreas donde ambas especies de tefritidos coexisten, como ocurre en el Norte y Centro de la Argentina. Por otro lado, *D. tryoni* es un candidato interesante para su empleo contra *C. capitata* en la Argentina, considerando la diversidad geográfica y ecológica de sus regiones. En Hawaii *D. tryoni* fue reportado por su gran afinidad con *C. capitata* en regiones tropicales de altura, las liberaciones aumentativas de este parasitoide en aquellas áreas produjeron resultados alentadores para el control de la plaga (Wong *et al.*, 1991). En la Argentina, las montañas del noroeste argentino con selva subtropical albergan diversas plantas huéspedes de *C. capitata*, tanto especies frutales exóticas como nativas, y por ello esta región presentaría posibles áreas de liberación de *D. tryoni*.

AGRADECIMIENTOS

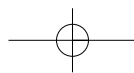
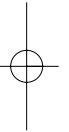
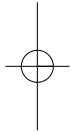
Agradecemos a Jorge L. Cancino; Pablo Liedo, Pablo Montoya, Juan Barrera, Patricio Fidalgo, Eduardo Willink, Analía Salvatore y a Javier del Valle Mora. El estudio fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica.

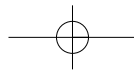


gica de Argentina a través del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto FONCYT "PICT/97 nro. 08-00000-01236").

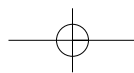
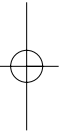
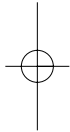
BIBLIOGRAFÍA CITADA

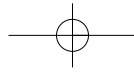
- BARANOWSKI, R. M., H. GLENN & J. SIVINSKI. 1993. Biological control of the caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomol.* 76 (2): 245-251.
- CAMACHO, H. 1992. Manejo Integrado de la mosca del mediterraneo en la región Acosta, Costa Rica. *En: Anales del 4º Congreso Internacional MIP, Honduras*, pp. 108-109.
- CANCINO, J. L. 1997. Procedimientos y fundamentos de la cría masiva de *Diachasmimorpha longicaudata*, parasitoide de moscas de la fruta. *En: Memorias del Curso Regional sobre moscas de la fruta y su control en áreas grandes con énfasis en la técnica del insecto estéril, SAGAR-OIEA, Programa MOSCAMED, Metapa de Dominguez, Chiapas, Mexico*, pp. 415 - 424.
- CANCINO, J. L. & H. W. ENKERLIN. 1992. Utilización del control biológico en la campaña nacional contra moscas de la fruta. *En: Actas del XV Congreso Nacional de Control Biológico, Cuautitlán Izcalli, México*, pp 296-301.
- CANCINO, J. L. & M. YOC 1993. Methods proposed to apply quality control in mass rearing of *Diachasmimorpha longicaudata*. *En: Nicoli, G., M. Benuzzi & N. C. Leppla (eds.), Quality control of mass reared arthropods*, IOBC-Rimini, Italia, pp 37-47.
- CANCINO, J. L., E. LOPEZ & C. E. AGUILAR. 1995. Liberaciones inundativas de parasitoides como método alternativo de control de *Ceratitis capitata* en fincas cafetaleras en el Soconusco, Chiapas, México. *En: Actas de la 1º Conferencia Internacional IFOAM sobre café orgánico, IFOAM/AMAE/Universidad Autónoma de Chapingo, México*, pp. 51 - 53.
- CANCINO, J. L., D. ENKERLIN, L. MARTINEZ & J. GUILLEN. 1992. Evaluaciones del efecto de las liberaciones de parasitoides sobre poblaciones de moscas de la fruta. *En: Memorias del VI Curso Internacional sobre moscas de la fruta, Tomo II, Modulo IV, Programa MOSCAMED, Metapa de Dominguez, Chiapas, Mexico*, pp. 51-59.
- CANCINO, J. L., L. RUIZ, Y. GOMEZ & J. TOLEDO. 2002a. Irradiación de larvas de *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae) para inhibir la emergencia de moscas en la cría del parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Folia Entomol. Mex.* 41 (2):195-208.
- CANCINO, J. L., J. CANCINO, M. MARTINEZ & P. LIEDO. 2002b. Quality control parameters of wild and mass reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead), a fruit fly parasitoid. *En: Leppla, N. C., K. A Bloen & R. F. Luck (eds.), Quality control for mass-reared arthropods*, USDA-APHIS, Florida, USA, pp. 84-94.
- CARRO, X., J. HERNÁNDEZ, E. ZÚÑIGA & J. CANCINO. 2001. Perspectives of the biological control of fruit flies in Costa Rica. *En: Book of Abstract of the 4th WGFFWH Meeting, Mendoza, Argentina*, pp. 126-127.
- CARVALHO, R. S. & A. S. NASCIMENTO, 2002. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas das frutas (Tephritidae). *En: Parra, J. R., P. S. M. Botelho, B. S. Correa-Ferreira & J. M. S. Bento (eds.), Controle Biológico no Brasil. Parasitoides e Depredadores*, Editora Manole Ltda., Barueri, SP, Brasil, pp. 165-179.
- CARVALHO, R. S., A. S. NASCIMENTO & W. J. R. MATRANGOLO. 2000. Controle Biológico. *En: Malavasi A. & R. A. Zucchi (eds), Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil: Conhecimento Básico e Aplicado*, Holos Editora, Ribeirão Preto, Brasil, pp. 113-117.
- CLAUSEN, C. P. 1978. Tephritidae. *En: Clausen C. P. (ed.), Introduced parasites and predators of arthropod pests and weeds: a world review*, Department of Agriculture, Agriculture Hand book 480, USA, pp. 320-325.
- COSENZO, E., M. RUIZ & E. D'ANGELCOLA. 1999. Programa Nacional de Control y Erradicación de Moscas de los Frutos (PROCEM) en la República Argentina. *En: Book of Abstract of the 3th WGFFWH Meeting, Guatemala City, Guatemala*, pp. 124-125.
- CROUZEL, I. S. 1961. Métodos de cultivo de Tephritidae en cautividad y en gran escala para experimentación biológica. *IDIA, Suplemento 6*: 161-178.
- ESKAFI, F. M. 1990. Parasitism of fruit flies *Ceratitis capitata* and *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) en Guatemala. *Entomophaga* 35 (3): 355-362.
- HAYWARD, K. J. 1940. Lucha biológica contra las moscas de las frutas. Dispositivo que permite la salida de los parásitos beneficiosos del pozo





- donde se arroja la fruta atacada. *Rev. Ind. Agr. Tuc.* 30 (10-12): 230-233.
- HOLLER, T. C., F. GERÓNIMO, J. SIVINSKI, J. C. GONZALEZ & J. STEWART. 1996. Mediterranean fruit fly parasitoid aerial release test in Guatemala. *En: Book of Abstract of the 2nd WGFFWH Meeting, Viña del Mar, Chile*, pp. 74-75.
- JIRON, L. F. & R. G. MEXZON. 1989. Parasitoid hymenopterans of Costa Rica: geographical distribution of the species associated with fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Entomophaga* 34 (1): 53-60.
- LAWRENCE, P. O., P. D. GREANY, J. L. NATION & R. M. BARANOWSKI. 1978. Oviposition behavior of *Biosteres longicaudatus*, a parasite of the Caribbean fruit fly *Anastrepha suspensa*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 17: 253-256.
- LEPPLA, N. C., M. D. HUETTEL, D. L. CHAMBERS, T. R. ASHLEY, D. H. MIYASHITA, T. T. Y. WONG & E. J. HARRIS. 1983. Strategies for colonization and maintenance of the mediterranean fruit fly. *Entomol. Exp. Appl.* 33: 89-96.
- MATRANGOLO, W. J. R., A. S. DO NASCIMENTO, R. S. CARVALHO, E. D. MELO & M. D. JESUS. 1998. Parasitoides de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) associados a fruteiras tropicais. *An. Soc. Entomol. Brasil* 27 (4): 593-603.
- MONTOYA, P., P. LIEDO, B. BENREY, J. F. BARRERA, J. CANCINO & M. ALUJA. 2000a. Functional response and superparasitism by *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93: 47-54.
- MONTOYA, P., P. LIEDO, B. BENREY, J. CANCINO, J. F. BARRERA, J. SIVINSKI & M. ALUJA. 2000b. Biological control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through Augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control* 18: 216-224.
- NASCA, A. J., R. V. FERNÁNDEZ, D. R. SOSA, D. FERNÁNDEZ & A. DE GUERRERO. 1980. Eficiencia del pozo trampa en el manejo de enemigos naturales de moscas de los frutos. *En: Actas de la 2º Congreso Nacional de Citricultura, Paraná, Entre Rios, Argentina*, pp. 141-162.
- OVRUSKI, S. M. 1995. Pupal and larval-pupal parasitoids (Hymenoptera) obtained from *Anastrepha* spp and *Ceratitis capitata* (Dipt: Tephritidae) pupae collected in four localities of Tucumán province, Argentina. *Entomophaga* 40: 367-370.
- OVRUSKI, S. M. & P. FIDALGO. 1994. Use of parasitoids (Hym.) in the control of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Argentina: bibliographic review (1937-1991). *IOBC/WPRS Bulletin* 17(6): 84-92.
- OVRUSKI, S. M., S. FUENTES, F. NUÑEZ & J. G. GRANADOS ZÚÑIGA. 1996. Himenópteros parasitoides de moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae) presentes en la República de El Salvador. *Rev. Ing. Agrón. El Salvador* 14: 8-14.
- OVRUSKI, S. M., J. L. CANCINO, P. FIDALGO & P. LIEDO. 1999. Nuevas perspectivas para la aplicación del control biológico contra moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae) en Argentina. *Manejo Integr. Plagas, Costa Rica* 54:1-12.
- OVRUSKI, S. M., M. ALUJA, J. SIVINSKI & R. WHARTON. 2000. Hymenopteran parasitoids on fruit-infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the southern United States: diversity, distribution, taxonomic status and their use in fruit fly biological control. *Integr. Pest Manag. Rev.* 5: 81-107.
- QUESADA ALLUÉ, L. A., A. RABOSI & P. WAPPNER. 1994. Introducción a *Ceratitis* y cría en el laboratorio. *En: Quesada Allué, L. A. (ed.), La mosca mediterránea: Guía de laboratorio*. Publicación del Laboratorio de Bioquímica del Desarrollo, Fundación Campomar, Buenos Aires, Argentina, pp. 15-31.
- SENASA-PERÚ. 1999. Mass rearing of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) on *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) and experimental releases in four valleys in the peruvian coast. *En: Book of Abstract of the 3th WGFFWH Meeting, Guatemala City, Guatemala*, pp. 59-60.
- SIVINSKI, J. M. 1996. The past and potential of biological control of fruit flies *En: McPheron B.A. & G.J. Steck. (eds.), Fruit fly pests: a world assessment of their biology and management*, St. Lucie Press, Delray Beach, Florida, USA, pp. 369-375.
- SIVINSKI, J.M., C. O. CALKINS, R. BARANOWSKI, D. HARRIS, J. BRAMBILA, J. DIAZ, R. E. BURNS, T. HOLLER & G. DODSON. 1996a. Suppression of a caribbean fruit fly (*Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera: Tephritidae) population through augmentative releases of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control* 6: 177-185.
- SIVINSKI, J.; T. HOLLER, M. ALUJA, F. GERONIMO, R. BARANOWSKI, R. MESSING. 1996b. Contributions to fruit fly biological control. *En: Book of Abstract of the 2nd WGFFWH Meeting, Viña del*



OVRUSKI, S. *et al.*, Introducción y producción de *Diachasmimorpha tryoni* y *Diachasmimorpha longicaudata*

59

- Mar, Chile, pp. 72-73.
- TURICA, A. 1968. Lucha biológica como medio de control de las moscas de los frutos. *IDIA* 241: 29-38.
- TURICA, A., A. R. VERGANI, R. H. QUINTANILLA, M. C. ZERBINO & H. E. CERUSO. 1971. Las moscas de los frutos. *INTA, Serie Form. Téc. Agr.* 7: 1-17.
- WHARTON, R. A. & F. E. GILSTRAP. 1983. Key to and status of Opiinae braconid (Hymenoptera: Braconidae) parasitoids used in Biological Control of *Ceratitis* and *Dacus* s. l. (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76 (4): 721-741.
- WONG, T. T. Y. 1993. Mass-rearing of larval fruit fly parasitoids in Hawaii. *En: Aluja M. & P. Liedo (eds.), Fruit flies: Biology and Management*, Springer-Verlag, New York, Inc. USA, pp. 257-260.
- WONG, T. T. Y. & M. M. RAMADAN. 1992. Mass rearing biology of larval parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) of tephritid flies (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. *En: Anderson T. E. & N. C. Leppla (eds.), Advances in insect rearing for research and pest management*, Westview Press, San Francisco, USA, pp. 405-426.
- WONG, T. T. Y.; M. M. RAMADAN, D. O. MCINNIS, N. MOCHIZUKI, J. I. NISHIMOTO & J. C. HERR. 1991. Augmentative releases of *Diachasmimorpha tryoni* (Hymenoptera: Braconidae) to suppress a mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) population in Kula, Maui, Hawaii. *Biological Control* 1: 2-7.
- ZOLMAN, J. F. 1993. *Biostatistics: experimental design and statistical inference*. Oxford University Press, New York.

Recibido: 6-XI-2002
Aceptado: 1-IX-2003

