

Evolución y desarrollo de la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* wied. sobre limones españoles

R. LABORDA, E. SANTABALLA y F. GARCIA MARI.

Se determina el tiempo de desarrollo y la supervivencia de larvas de la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* wied. en frutos de limón Verna, comparando con una dieta artificial convencional, poniéndose a punto un método de inyección de huevos bajo la corteza para conseguir inoculaciones artificiales destinadas a ensayos de desinfección. Los huevos en suspensión de agar se inyectaron con jeringuilla hipodérmica entre albedo y pulpa del fruto, tapando la herida con acetato de polivinilo. Las larvas son capaces de completar su desarrollo en la pulpa del limón, pero se observa un considerable retraso en su desarrollo, especialmente en los dos primeros estadios larvarios. El tiempo medio de huevo a adulto a 25°C fué de 22 días en limón, frente a 13 días en dieta artificial. Se observó asimismo elevada mortalidad de larvas en el limón: de 24.000 huevos inoculados en 120 frutos se obtuvieron 801 adultos (3,3%), frente a los 48.177 adultos obtenidos en la dieta artificial partiendo de 90.000 huevos (53,5%). Las causas del lento desarrollo y elevada mortalidad en frutos de limón pueden ser su elevada acidez y bajo contenido en azúcares.

R. LABORDA, E. SANTABALLA y F. GARCIA MARI. Departamento de Producción Vegetal de la Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera 14, 46022 Valencia.
E. SANTABALLA. Sanidad Vegetal Valencia

Palabras clave: Limón, *Ceratitis capitata*, desarrollo, mosca de la fruta.

INTRODUCCIÓN

El fruto del limonero (*citrus limon*) ha sido considerado casi siempre prácticamente inmune al ataque por la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* (wied) (QUAYLE, 1941; BODENHEIMER, 1951; GOMEZ CLEMENTE, 1932; USDA, 1956). Aunque algún autor apuntó inicialmente a la acidez de la pulpa como causa de esta inmunidad, pronto se demostró que la pulpa del limón es adecuada para el desarrollo de las larvas de la plaga y son diversos factores del albedo y flavedo de la piel del limón los que determinan la falta de viabilidad de huevos o larvas neonatas que se encuentran en esta zona

(QUAYLE, 1914; BACK y PEMBERTON, 1915, 1918) de forma que el desarrollo sí se produce en limones muy maduros y con la piel estropeada por otras causas, así como en el caso de introducir larvas de *C. capitata* procedentes de otros frutos en el interior de la pulpa del limón (BACK y PEMBERTON, 1915; BODENHEIMER, 1951).

La acción tóxica de la piel de los cítricos en general, sobre estadios inmaduros de la mosca de la fruta y otros Tefrítidos, ha sido demostrada y ampliada por diversos autores (QUAYLE, 1941; BODENHEIMER, 1951; GREANY, 1983). SPITLER *et al* (1984) comprueban que en limones Eureka y Lisbon a partir de 515.000 huevos de *C. capitata* sólo se

desarrollan cinco pupas, atribuyendo esta elevadísima mortalidad a la acción combinada de la encapsulación de la puesta en el flavedo, la toxicidad de sus aceites esenciales y la nocividad del albedo para la larva neonata.

Aunque desde hace tiempo se demostró que era posible el desarrollo de larvas de *C.capitata* en el interior de la pulpa de limón (QUAYLE, 1914; BACK y PEMBERTON, 1918) existen pocos estudios sobre la velocidad de este desarrollo y la supervivencia de los inmaduros comparada con otros cítricos y otros frutos en general, así como con dietas artificiales.

Por otra parte, para controlar diversas especies de Tefritidos en frutos destinados a exportación a países con cuarentena, es necesario llevar a cabo ensayos en frutos dañados por la plaga, frutos que en ocasiones es difícil conseguir de forma natural, por lo que se han desarrollado procedimientos de infestación artificial. Quizás el procedimiento aplicado con mayor éxito está basado en la inyección de una suspensión de huevos en medio de agar y sellado posteriores de la herida. Este procedimiento se ha aplicado en diversos países, tanto sobre manzana (SPOUL, 1976) como sobre cítricos (FRIEND, 1957; KAMBUROV, 1972). En el caso de cítricos, la suspensión de huevos suele situarse directamente en la pulpa para evitar la acción nociva de la piel.

En nuestro país se ha planteado actualmente la posibilidad de exportación de limón a otros países donde existen normas de cuarentena para la mosca de la fruta. Ello exige llevar a cabo ensayos de desarrollo y control de la plaga en frutos de limón en condiciones controladas. A la vista de estos hechos se ha planteado el trabajo actual, en la que se pretende determinar el tiempo de desarrollo y la supervivencia de las larvas de *C.capitata* en el interior de la pulpa del fruto de limón, comparando con una dieta artificial convencional, así como la puesta a punto de un procedimiento de inyección para conseguir la inoculación artificial de limones destinados a ensayos de desinfestación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio del desarrollo de los inmaduros de *C.capitata* en dieta artificial se sembraron 30 bandejas con la dieta larvaria que se describe posteriormente, dispuesta en capa fina (1 cm. de espesor). En cada bandeja se situaron 2.000 huevos, con densidad de 4 huevos por gramo de dieta. Para el desarrollo en frutos de limón, se inocularon 150 frutos por el procedimiento que se describe posteriormente, introduciendo en cada fruto 200 huevos. Todo este procedimiento se repitió tres veces.

En cada una de las tres ocasiones en que se repitió la experiencia, se separaron 40 frutos y 15 bandejas del material inoculado para que puparan directamente. Con el resto del material se fueron haciendo observaciones diarias a fin de determinar la fase evolutiva en que se encontraba el insecto, cortando y diseccionando 4 frutos y 1 bandeja en cada observación. Se diferenciaron los 3 estadios larvarios y la fase de pupa, considerando como tal desde que la larva del último estadio abandona el fruto para pupar.

En definitiva, en el conjunto de los tres ensayos se permitió que alcanzaran la fase de pupa individuos procedentes de 90.000 huevos sembrados en dieta larvaria (en 45 bandejas) y 24.000 huevos inoculados en 120 frutos de limón.

Método de cría

Para el ensayo se utilizaron individuos de *C.capitata* obtenidos del campo, procedentes de naranjas recogidas en Almazora (Castellón), que mostraban síntomas de ataque. Estas moscas se adaptaron a las condiciones de cría en laboratorio de forma progresiva, necesitándose nueve generaciones para obtener un rendimiento adecuado, con aportaciones periódicas de pupas obtenidas de la forma anteriormente descrita.

Para el desarrollo completo de *C.capitata* en dieta artificial se ha seguido el procedi-

miento utilizado por ARROYO ET AL (1967), con ligeras modificaciones. Aproximadamente 1.000 pupas son introducidas en una jaula de metacrilato de 40 x 25 x 20 cm, con la parte frontal cubierta con una malla de 0,5 mm. de luz a través de la cual son ovopositados los huevos que se recolectan en bandejas con agua situadas en la base de la jaula (fig. 1). Una vez producida la emergencia, alimentación y apareo de adultos, los huevos son recogidos diariamente por filtrado y sembrados en bandejas de 37 x 12 cm. de superficie y 1,5 cm. de profundidad, llenas con la dieta larvaria utilizada por ALBAJES y SANTIAGO-ALVAREZ (1980), compuesta por salvado de trigo 300 gr., sacarosa 75 gr., levadura de cerveza 36 gr., nipagín-sódico 2 gr., propil-paraben 2 gr., ácido benzoico 2,4 gr. y agua destilada 600 cm³.

Cada bandeja, con la dieta larvaria sembrada con los huevos de *ceratitis*, se cubre con otra de las mismas dimensiones para evitar la desecación y se mantiene a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y $70 \pm 10\%$ HR en ausencia de luz. Ecllosionados los huevos y alcanzando las larvas su máximo desarrollo, abandonan la papilla pupando en el exterior sobre doble capa de papel de filtro. Las pupas se recogen con la ayuda de un pincel y se introducen en una jaula limpia para iniciar un nuevo ciclo. Las jaulas con adultos se encuentran en las mismas condiciones de

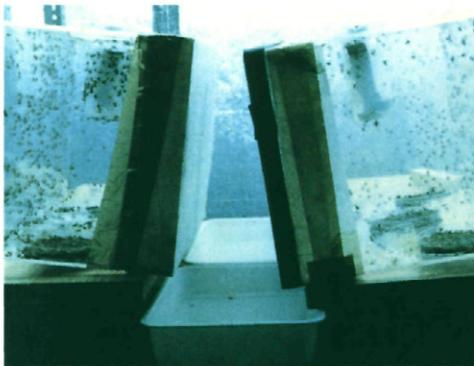


Fig. 1.—Jaulas para la cría de adultos de *Ceratitis capitata*, observándose la bandeja para recogida de huevos en el centro.

humedad y temperatura que las larvas, iluminadas mediante tubos fluorescentes de 40 w espaciados 20 cm. entre sí y situados a 30 cm. de la parte superior de la jaula, con fotoperiodo 12/12 luz/oscuridad.

Los adultos fueron alimentados con una mezcla de sacarosa y proteínas hidrolizadas en la proporción 4/1. El agua se suministró mediante una mecha humedecida permanentemente.

Técnica de inoculación

Huevos de *C. capitata* puestos durante el día se preparan mezclándolos con gel de agar al 0,25% finamente dividido con el 1% de una solución acuosa del 10% de cloruro de alquil dimetil bencil amonio, de forma que 1 cm³ de la solución resultante contenga 1.000 huevos. Limones de la variedad Verna estandarizados con diámetro de 69 mm. y grado de maduración homogéneo, alcanzada su normal coloración, fueron infestados mediante jeringuilla hipodérmica, depositando los huevos en la zona de separación del albedo con la pulpa (FRIEND, 1957). Sobre cada fruto se inyectaron 0,2 cm³ de la solución, esto es, 200 huevos (Figura 2). La herida de cada punción fue tapada con una gota de acetato de polivinilo (SPOUL, 1976) para evitar la pérdida de huevos o la entrada de hongos.



Fig. 2.—Inyección de una suspensión de huevos de mosca de la fruta en agar debajo de la piel de frutos de limón.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La técnica utilizada de inyección en el interior de la pulpa del limón ha tenido éxito, obteniéndose numerosos adultos a partir de los huevos introducidos en el fruto por este procedimiento.

Con ello se confirma por una parte lo ya observado por otros autores en el sentido de que en el fruto del limonero, una vez atrave-

sada la barrera de la corteza, sí que se desarrolla la larva de *C.capitata* (BACK y PEMBERTON 1918; QUAYLE 1941; BODENHEIMER 1951). Por otra parte, se demuestra la validez del procedimiento de inyección confirmando procedimientos similares empleados en manzanas (SPOUL 1976) o cítricos (FRIENDMAN 1957; KAMBUROV 1972).

En la figura 3 se muestra el resultado obtenido en el desarrollo de los inmaduros de

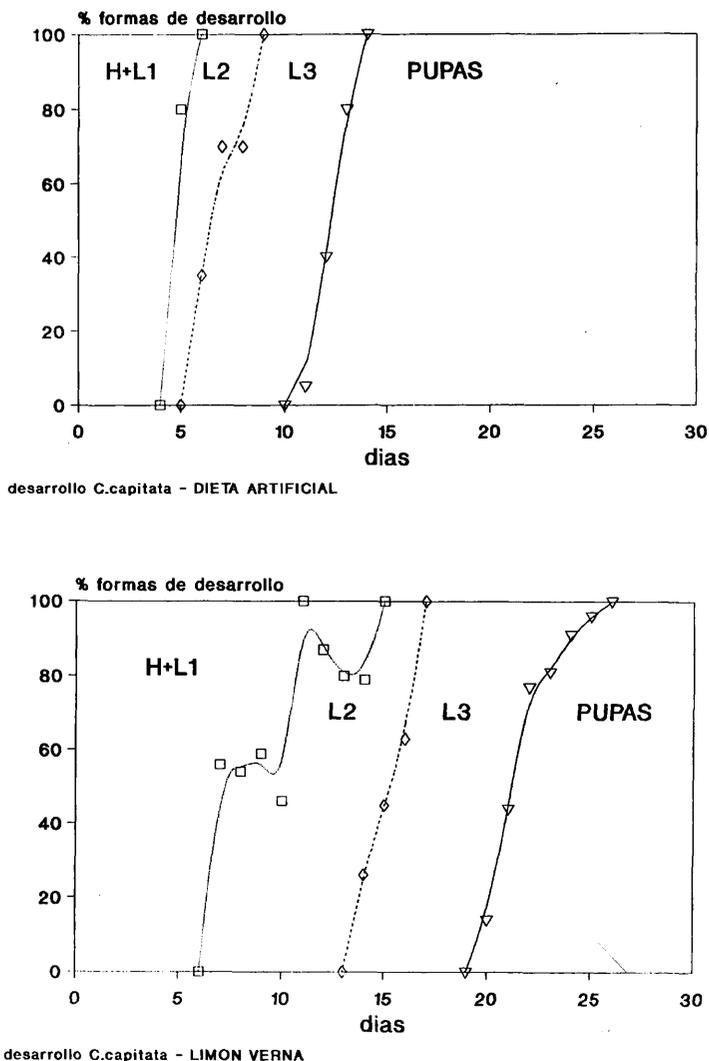


Fig. 3—Velocidad de desarrollo de las larvas de la Mosca de la fruta *Ceratitis capitata* en dieta artificial y en Limón. H: huevos; L1: primer estadio larvario; L2: segundo estadio larvario; L3: tercer estadio larvario. Experiencia desarrollada en laboratorio a 25°C y 70%

C. capitata en los dos medios, dieta artificial y pulpa de limón Verna. Se observa claramente el considerable retraso en el desarrollo que presentan las larvas de *C. capitata* en limón ya que, mientras en dieta artificial necesitan para alcanzar la fase de pupa de 11 a 13 días, en limón requieren entre 20 y 24 días.

Este retraso en el desarrollo tiene lugar fundamentalmente en las dos primeras fases larvarias L1 y L2. Si consideramos que el huevo eclosiona en dos días (RUIZ CASTRO, 1965) podemos estimar que el estadio L1 requiere aproximadamente 8 días en limón frente a 3 días en dieta artificial, mientras que el estadio L2 dura 5 días en limón frente a 2 días en dieta artificial. Por el contrario, el tercer estadio L3 parece transcurrir en un tiempo similar en ambos medios, de 5 a 6 días.

El tiempo de desarrollo encontrado en limón para el periodo de huevo a pupa, 20 a 24 días, es notablemente superior al que suele citarse para temperaturas similares en otros frutos. Así FRIEND (1957) utilizando el mismo método de inyección encuentra 7 días para naranjas Valencia-Late, y FERON y SACANTANIS (1955) hablan de 11 días en banana, 12 en melocotón, 16 en pera y 18 en manzana. BACK y PEMBERTON (1918) obtienen de 6 a 10 días en melocotón maduro y de 10 a 15 días en melocotón verde. Estos mismos autores dan el valor de 19 a 20 días para el limón maduro, valor muy similar al encontrado por nosotros. Según BODENHEIMER (1951) el tiempo de desarrollo varía con el tipo de fruto y la madurez de éste y suele ser de unos 10 días a 25°C en los casos favorables.

GREANY *et al* (1983) estiman que la causa

de la mayor velocidad de desarrollo de las larvas en frutos maduros se encuentra en la mayor concentración de azúcar en estos frutos, y se sabe que el fruto del limonero posee una baja cantidad de azúcares comparado con otros frutos dulces.

Según los resultados de nuestro ensayo otro factor del desarrollo de las larvas, la supervivencia de inmaduros, se ve alterado en el limón aún en mayor proporción que la velocidad de desarrollo. En efecto, mientras en dieta artificial la supervivencia de huevo a pupa es de alrededor del 70%, solo el 4,3% de los huevos inyectados en el limón alcanza la fase de pupa (cuadro 1). Se observa también que la supervivencia desde pupa a adulto no se ve afectada por el medio en que se han desarrollado las larvas, oscilando alrededor del 77%.

Hemos observado que la elevada mortalidad larvaria encontrada en limón no parece deberse a mortalidad de huevos causada por el procedimiento de inyección artificial. También FRIEND (1957) encuentra que del 80 al 90% de los huevos eclosionan a pesar de lo traumático del método. Por otra parte AVIDOV y HARPAZ (1969) consideran como mortalidad larvaria normal en frutos cítricos la comprendida entre el 30 y el 70%. Dado que el tiempo de desarrollo y la supervivencia de las larvas de *C. capitata* se considera que varían en función del tipo de fruto y el grado de madurez de éste (BODENHEIMER 1951) podemos suponer que el bajo contenido en azúcar y la acidez del limón, si bien no impiden su desarrollo, sí lo reducen de forma importante, retrasándolo y aumentando notablemente la mortalidad larvaria.

Cuadro 1. Supervivencia de formas inmaduras de la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* en dieta artificial y en limón. Experiencia desarrollada en laboratorio a 25° C y 70% HR.

	N° inicial de Huevos	n° Pupas	n° Adultos	% SUPERVIVENCIA		
				huevo-pupa	pupa-adulto	huevo-adulto
Limon	24000	1035	801	4,3	77,4	3,3
Dieta Artificial	90000	62800	48177	69,8	76,7	53,5

ABSTRACT

Laborda, R., E. Santaballa, F. Garcia Marí (1990): Evolución y desarrollo de la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* wied. sobre limones españoles. *Bol. San. Veg. Plagas.* (16)3: 611-616

The survival and development time of immature stages of the Mediterranean Fruit Fly *Ceratitis capitata* Wied in lemon fruit is determined by comparison with a conventional artificial diet, and a method to inoculate eggs below the rind and into the pulp is developed. The eggs suspended in agar media are injected with an hypodermic syringe, and the wound is sealed with polyvinyl acetate. Some larvae are able to complete development in lemon pulp, but a considerable delay in development time is observed, specially in the two initial immature stages. The time from egg to adult at 25°C was 22 days in lemon and 13 days in artificial diet. Else, a high larval mortality was observed in lemon fruits: only 801 adults were obtained from the initial 24.000 eggs inoculated in 120 fruits (3.3% survival), whereas in artificial diet 48.177 adults were obtained from 90.000 eggs (53.5% survival). The acidity and low sugar content of lemon fruits are apparently the cause of the slow development and high immature mortality observed.

Key words: Lemon, *Ceratitis capitata*, Development, Medfly.

REFERENCIAS

- ALBAJES, R. y C. SANTIAGO-ALVAREZ, 1980: Efecto de la densidad larvaria y de la alimentación en la proporción de sexos de *Ceratitis capitata* (Diptera:Trypetidae). *An.INIA. serie agrícola.* 13: 175-182.
- ARROYO, M.; L. MELLADO,; A. GIMENEZ y F. CABALLERO, 1967: Ensayos sobre erradicación de *Ceratitis capitata* wied por el método de los machos estériles en la isla de Tenerife. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agric.* 30: 233-249.
- AVIDOV, Z. y I. HARPAZ, 1969: *Plant pest of Israel.* Israel University Press. Jerusalem. 549 pp.
- BACK, E.A. y C.E. PEMBERTON, 1915: Susceptibility of citrus fruits to the attack of the Mediterranean fruit fly. *J. Agric. Res.* 3: 311-330.
- BACK, E.A. y C.E. PEMBERTON, 1918: The mediterranean fruit fly. *USDA Bull.* 640. 43 pp.
- BODENHEIMER, W. 1951: *Citrus entomology.* W. Junk publishers. La Haya. 663 pp.
- FERON, M. y K. SACANTANIS 1955: L'elevage permanent de *Ceratitis capitata* Wied. au laboratoire. *Ann. Epiphyt.* 6 (2): 201-214.
- FRIEND, 1957: Artificial infestation of orange with the Queensland fruit fly. *J. Austr. Inst. Agric. Sc. March:* 77-80
- GOMEZ CLEMENTE, F. 1932: Un ensayo de lucha biológica contra *Ceratitis capitata* en valencia. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agric.*
- GREANY, P.D.; S.C. STYER; P.L. DAVIS; P.E. SHAW y D.L. CHAMBERS, 1983: Biochemical resistance of citrus to fruit flies. Desmostration and elucidation of resistance to the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa.* *Ent. Exp. Appl.* 34: 40-50.
- KAMBUROV, S.A. 1972; Artificial infestation of Citrus fruits with the Mediterranean fruit fly. *Annals. Entom. Soc. Am.* 65 (5): 1238-1239.
- QUAYLE, H.J. 1914: Citrus fruit insects in Mediterranean countries. *USDA Bull.* 134 pp.
- QUAYLE, H.J. 1941: *Insects of citrus and other subtropical fruits.* Pub. Comstock Pub.co. Ithaca. N.Y. 582 pp.
- RUIZ CASTRO, A. 1965: *Plagas y enfermedades de la vid.* INIA Madrid. 757 pp.
- SPITLER, G.H.; J.W. ARMSTRONG y H.M. COUEY, 1984. Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status of commercial lemon. *J. Econ. Entomol.* 77: 1441-1444.
- SPROUL, A.N. 1976: Desinfestation of Western Australian Granny Smith apples by cold treatments against the egg and larval stages of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata* (wied)). *Aust. J. Exp. Agric. Animal Husbandry.* 16 : 280-285.
- USDA, 1956: The Mediterranean fruit fly. Methods of eradication. U.S. Dep. Agric. Res. Serv. *Pamphl.* N° 301.

(Aceptado para su publicación: 25 de Enero de 1990)