

## Manejo de *Ephestia kuehniella* Zell. (Lepidoptera: Pyralidae) para evaluar la toxicidad de plaguicidas en laboratorio

V. MARCO, J. JACAS, F. BUDIA, A. ADÁN\*, P. DEL ESTAL y E. VIÑUELA

*Ephestia kuehniella* Zell. es un huésped de sustitución habitual, en laboratorio, de numerosos parasitoides y depredadores, ya que su cría está totalmente resuelta de cara a la producción masiva de huevos. Sin embargo, cuando se quiere estudiar los efectos de los plaguicidas sobre esta importante plaga, nos encontramos con numerosas dificultades de manejo, ya que nada más nacer la larva teje una protección sedosa que le acompañará toda la vida, estando la pupa igualmente protegida. En este trabajo se indican, por un lado, una serie de adaptaciones en la cría, para poder obtener los individuos requeridos en cada ensayo (número, edad, estado, estadio). Por otro lado, se dan una serie de indicaciones encaminadas a facilitar la toma de datos para estudiar los efectos de los plaguicidas sobre los diferentes estados y estadios.

V. MARCO, J. JACAS, F. BUDIA, A. ADÁN, P. DEL ESTAL y E. VIÑUELA. Unidad de Protección de Cultivos. ETSI Agrónomos. 28040 Madrid.

**Palabras clave:** *Ephestia kuehniella*, plaguicidas, ensayos de laboratorio.

### INTRODUCCION

La investigación en el campo de la Entomología, tanto general como aplicada, exige disponer del mayor número posible de especies de insectos que se puedan manejar fácilmente bajo condiciones artificiales en laboratorio. Para ello hay que resolver dos problemas fundamentales: por un lado, una cría masiva de poblaciones que no resulte excesivamente costosa ni en tiempo, ni económicamente, y por otro, la posibilidad de disponer con facilidad de los distintos estados de desarrollo del insecto para la realización de los ensayos.

En el caso de *E. kuehniella* el problema de la cría está completamente resuelto. Su ciclo es relativamente corto (aproximadamente 40 días a 25° C y 75 % de HR) y su dieta fácil de elaborar y barata (por ejemplo,

harina de trigo blando y levadura de cerveza en proporción 20:1), por lo que desde hace años se utiliza esta especie para la producción masiva de huevos. Estos, a su vez, sirven para la cría de parasitoides y depredadores oófagos, que luego se emplearán como agentes de control biológico de especies plagas.

Así, este pirálido es uno de los posibles huéspedes de sustitución de numerosas especies del género *Trichogramma* (Hymenoptera: *Trichogrammatidae*) que se utilizan con éxito en el control de diversos lepidópteros perjudiciales en todo el mundo (NIKONOV *et al.*, 1991). Igualmente se pueden criar chinches antocóridos del género *Orius* (varias especies) que después se emplean en el control de *Frankliniella occidentalis* Perg. (Thysanoptera: *Trypidae*), en diversos cultivos al aire libre o en invernadero.

\* Becaria de la Junta de Castilla-León.

dero, o la especie *Anthocoris nemoralis* que puede depredar ácaros y psilas (SAMSØE-PETERSEN *et al.*, 1989; CAUDAL-TROTTIN *et al.*, 1991; VILLEVIEILLE y MILLOT, 1991; CARNERO *et al.*, 1993). También con huevos de *E. kuehniella* se crían otros depredadores como *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neuroptera: *Chrysopidae*) (NICOLI *et al.*, 1991) y *Harmonia axyridis* Pall. (Coleoptera: *Coccinellidae*) (IPERTI, Com. personal).

Sin embargo, esta especie es también una importante plaga de almacén en la zona templada (HILL, 1990), originando cuantiosas pérdidas especialmente sobre harina, por lo que con frecuencia nos vemos en la necesidad de realizar ensayos de laboratorio para determinar la efectividad de los posibles plaguicidas a usar en su control. Estos ensayos exigen el manejo de los diferentes estados y estadios de la especie, lo que plantea grandes dificultades.

Desde el momento de la eclosión, la larva neonata a la vez que comienza a comer, inicia la producción de sedas que se prolongará de forma continuada durante todo el estado larvario. Dichas sedas, junto con la dieta y los propios residuos excretados por la larva, forman una envoltura que hace difícil el acceso a la misma (VIÑUELA y MARCO, 1990). Además, la mayoría de las pupas formadas quedan rodeadas por otra envoltura más endurecida todavía. Por otro lado, puede ser problemática la localización e individualización de los huevos que los adultos ponen preferentemente sobre la dieta, y a veces en lugares protegidos, que detectan en un proceso de exploración previo a la puesta (DAUMAL, 1987). El manejo de los huevos ya aislados presenta también dificultades por su reducido tamaño.

Por todo ello, en el presente trabajo se analizan los factores que intervienen en el manejo del pirálido cuando se utiliza en laboratorio para estudiar la eficacia y/o los efectos de los plaguicidas, proponiéndose una serie de soluciones, fruto de tres años de trabajos, que facilitarán enormemente su manejo en laboratorio.

## MANEJO DE HUEVOS

### Producción en ponederos

Para obtener huevos de forma masiva y continua y poder utilizarlos en la cría de diversos parasitoides y depredadores oófagos, DAUMAL *et al.*, (1985) describen un dispositivo apropiado. En el caso de su utilización para ensayos con insecticidas en los que se quiere ver el porcentaje de eclosión, no es necesario recoger un número tan elevado de huevos, por lo que se pueden utilizar ponederos más pequeños.

Se trata de cajas prismáticas de plástico de 17 x 11 x 4 cm que, como se observa en la Figura 1, se montan al revés de lo usual, llevando entre la tapa y la caja una rejilla metálica de 1 mm de luz. De acuerdo con el comportamiento natural de la hembra, la mayor parte de los huevos son puestos en la malla y de ellos, la mayoría caen a la tapa inferior puesto que la hembra no puede adherirlos suficientemente a la malla mediante sus papilas anales (DAUMAL, 1987). Es conveniente forrar la tapa con papel charol negro, ya que facilita el manejo de los huevos. La extracción será así muy sencilla sin necesidad incluso de dormir a los adultos.

En cuanto a la alimentación de los adultos en los ponederos, no se considera necesaria para la cría pues no aumenta sensiblemente la fecundidad (DAUMAL *et al.*, 1985). No ocurre lo mismo en ensayos encaminados a determinar posibles efectos de insecticidas sobre la fecundidad, fertilidad y longevidad. En este caso se puede suministrar el insecticida disuelto junto con azúcar, en agua. La disolución se añade sobre vasos cilíndricos de cristal de 1 cm de altura por 3 de diámetro, rellenos de algodón sobre el que libarán las mariposas (Figura 2). Estos vasos se han de sujetar a la pared de los ponederos hacia su parte inferior, con papel adhesivo cuidando que no quede al descubierto ninguna parte adherente del mismo sobre la que puedan pegarse los adultos y morir. Estos bebederos se cambiarán cada 2 días como máximo, para evitar el desarrollo de hongos sobre ellos.

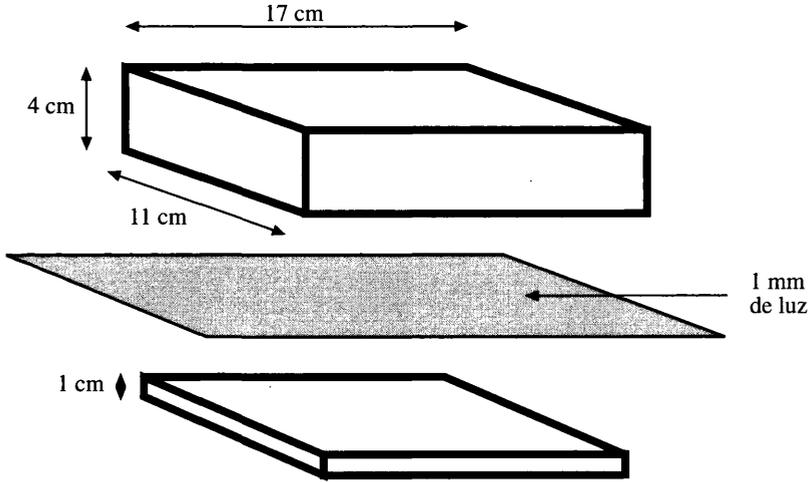


Fig. 1.—Ponedero para obtención de huevos en *Ephestia kuehniella*.

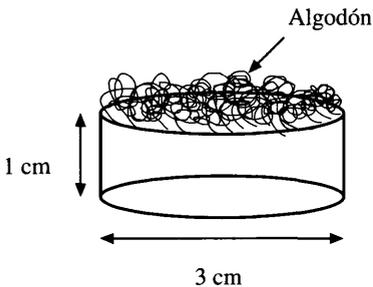


Fig. 2.—Modelo de bebedero a utilizar en cajas de ensayos con adultos.

El número de adultos que es aconsejable colocar en cada ponedero, oscilará en torno a 100, sin haber identificado previamente los sexos, cuando se quiera obtener huevos para ensayos de eclosión o para obtener posteriormente cierto estado o estadio.

Cuando los parámetros a estudiar sean la fecundidad y/o fertilidad la cosa varía. La

práctica habitual, sea cual sea la especie estudiada, consiste en aislar un número fijo de parejas por recipiente, que nunca es elevado, pero que oscila de unos autores a otros. Sin embargo, la fecundidad de una especie se puede ver modificada en función del número de parejas utilizadas por caja, descendiendo ésta en general, al aumentar la densidad. Así, con *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae) la fecundidad descende notablemente según se usen parejas aisladas (BURGOS y MUÑIZ, 1992), 5 parejas (DEL ESTAL *et al.*, 1987), ó 10 parejas por caja (SARASUA y SANTIAGO-ALVAREZ, 1983). Usar una sola pareja evita el problema de la variabilidad de puesta en función del número de hembras, y otros como son la mortalidad durante el tiempo de observación, la posibilidad de identificar aquellas hembras que tengan afectado el ovipositor y no pongan, como ocurre, por ejemplo, en *C. capitata* tratada con el insecticida regulador del crecimiento diflubenzurón (SARASUA y SANTIAGO-ALVAREZ, 1983), o la existencia de cierto porcentaje de esterilidad natural, como es el caso de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), hecho obser-

vado por nosotros al trabajar con hembras individualizadas.

En este caso, se puede recurrir a utilizar ponederos del tipo descrito, o algo más pequeños, si tenemos limitaciones de espacio.

### **Extracción de huevos del ponadero y manejo posterior**

Como ya se ha indicado, la mayoría de los huevos puestos caen sobre el papel charol que forra la tapa del ponadero. Bastará con sacar la tapa sin que la malla se separe de la caja para poder obtener los huevos, sin necesidad de emplear anestesia para dormir a los adultos. Con un ligero golpe sobre la caja, caerán también los pocos que habían quedado adheridos a la malla.

Es muy importante, de cara a facilitar el manejo posterior, mediante pincel, de los huevos recogidos, el tipo de soporte sobre el que se colocan. Ha de reunir tres características esenciales:

- Color negro, que facilite la visión.
- Carencia de rugosidades y/o fibrosidades que pudieran dificultar el deslizamiento de los huevos al empujarlos con un pincel fino.
- Material que no se electrice ni contribuya a la electrización de los huevos con la fricción del pincel.

Un material que reúne las tres características, es el papel charol negro, que además resulta fácil de conseguir y barato.

## **MANEJO DE LARVAS**

### **Producción de larvas**

El recinto para la producción de larvas, es conveniente que disponga de las siguientes características:

- *Longitud y anchura grandes. respecto a la altura.* Así se puede acceder fácilmente a los individuos que se deseen extraer y se da más extensión superficial que, como veremos más adelante, es importante para poder criar mayor número de individuos.

Unas medidas prácticas son  $25 \times 16 \times 5$  cm. Con ellas, sembrando 400 huevos en 200 gramos de dieta (190 g de harina de trigo blando + 10 g de levadura de cerveza) se obtienen unas 360 larvas y unos 340 adultos.

- *Tapa rígida. con un orificio central cubierto de visillo.* Esto permite una apertura y cierre más rápido que si la tapa está hecha únicamente de visillo u otro material elástico. El orificio central permite la respiración, y la aplicación de  $\text{CO}_2$  para dormir a los adultos y extraerlos más cómodamente.

### **Dieta**

En la bibliografía encontramos una gran variedad de dietas utilizadas para la cría de *E. kuehniella*, variando de unas a otras el porcentaje de adultos obtenidos y la duración del ciclo. DAUMAL y PINTUREAU (1985) compararon las 5 dietas siguientes:

- Harina de trigo blando.
- Harina de trigo blando + 2 % de levadura de cerveza seca.
- Sémola de trigo blando + 2 % de levadura de cerveza seca.
- Sémola de trigo blando + 6 % de levadura de cerveza seca, y
- 33 % de sémola de trigo blando + 33 % de sémola de maíz + 33 % de harina de germen de trigo blando

y comprobaron que el número de adultos obtenidos era muy similar y elevado en todas las dietas (superior al 80 %, a 25° C de Temperatura y 70 % de HR) excepto en la primera, donde se reducía considerablemente (en torno al 40 %). La duración del ciclo, sin embargo, oscilaba notablemente, pasando de 45 días con las tres primeras dietas, a unos 64 con la cuarta y a unos 51 con la última.

Por tanto, este pirálido necesita una cierta cantidad de proteína en su dieta, aunque la fuente de la misma le es prácticamente indiferente, por lo que podremos utilizar aquella que esté a nuestra disposición. Sin embargo, es muy importante el porcentaje de proteína,

porque al aumentar, también se incrementa la duración del ciclo.

Nosotros, con una dieta a base de harina de trigo blando + 5 % de levadura de cerveza, obtenemos una emergencia de adultos superior al 80 % y una duración del ciclo de 40 días, lo que se considera óptimo para las condiciones de cría que son  $25 \pm 2^\circ \text{C}$  de temperatura,  $75 \pm 5 \%$  de humedad relativa y fotoperíodo de 16 horas luz, ya que aunque las larvas tienen fototropismo negativo, los adultos necesitan luz para efectuar la puesta, y la eclosión es mayor en presencia de ésta (VIÑUELA y MARCO, 1990).

### Densidad larvaria

Un factor muy importante a tener en cuenta en las crías de laboratorio es la densidad larvaria. En el caso de *E. kuehniella*, cuando hay una alta densidad, incluso aunque exista alimento sobrante, se produce una importante mortalidad en el primer y segundo estadios larvarios, dado el comportamiento de las larvas de esta especie, que dejan incluso de alimentarse y de construir el capullo protector, para dedicarse a molestar a sus vecinas con el fin de que abandonen su territorio (DAUMAL, 1987).

En crías masivas del pirálido el problema se resuelve compartimentando los recintos de cría (DAUMAL, 1987). En nuestro caso no es necesario introducir este elemento adicional. Bastará con que al sembrar se repartan bien los huevos en la dieta y que la densidad oscile en torno a los 2 huevos por gramo de dieta.

### Manejo en los ensayos, partiendo de larvas neonatas

La obtención de larvas neonatas puede llevarse a cabo a partir de huevos aislados de acuerdo con lo ya comentado en el apartado de manejo de huevos. Cuando se produzca la eclosión 6 días más tarde, se pasarán las larvas al medio en que vayan a continuar su desarrollo.

La dificultad se encuentra, sin embargo, en aquellos ensayos que exijan una observación periódica de la evolución del desarrollo larvario. Por ejemplo, en los casos en que es necesario determinar la mortalidad que se va produciendo, resulta de interés tener en cuenta los factores siguientes:

#### *Tamaño de los recintos y número de individuos/recinto*

Es importante encontrar un equilibrio práctico entre el tamaño de los recintos donde se desarrollarán los ensayos y el número de larvas a introducir en cada uno de ellos. Si se utilizan recintos grandes, para evitar que el volumen a manejar sea excesivo, habría que tender al mayor número posible de larvas por cada uno de ellos. Sin embargo, esto está limitado por el comportamiento de las larvas jóvenes y sobre todo, por la dificultad posterior para observar las larvas en momentos sucesivos del desarrollo, por la gran aglomeración de sedas que se produce. Por otra parte, si se utilizan recintos muy pequeños habría que introducir muy pocos individuos en cada uno de ellos, y además se produciría una elevada mortalidad de los adultos al emerger, ya que las mariposas necesitan un cierto espacio libre para extender sus alas. Por tanto, esto supondría tener que utilizar un número elevado de recintos y el manejo se complicaría enormemente.

Una situación intermedia aceptable es la utilización de los recintos descritos en la Figura 3, de 12 cm de diámetro y 5 cm de altura. En cada uno de ellos se ponen 10 larvas procurando al hacerlo que queden lo más separadas posible. Rápidamente iniciarán la formación de su envoltura y continuarán, en la mayoría de los casos aisladas, durante el resto de su desarrollo, lo que facilitará los estudios posteriores.

#### *Observación del estado larvario*

En el conteo periódico de las larvas, es difícil saber si están vivas o muertas. Para llevar

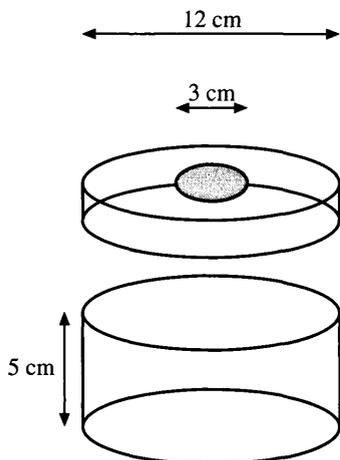


Fig. 3.—Cajas para el desarrollo de larvas en ensayos de ingestión con neonatas.

a cabo el recuento hay que cribar el medio larvario en un tamiz de 0,4 mm de luz a través del cual pasará la dieta, pero no las larvas recubiertas de sedas, que quedarán aisladas unas de otras en su mayoría, si se introdujeron separadas las larvas neonatas. Intentar llegar a ver directamente la larva implica un alto riesgo de dañarla seriamente. Hay un método sencillo que permite detectar si una envoltura está vacía o llena y si la larva está viva o muerta. Se basa en la existencia en la larva de una tigmotaxia con la envoltura, positiva y permanente, hasta el momento en que deja de alimentarse (DAUMAL, 1987). Gracias a ella, bastará con presionar muy ligeramente con pinzas entomológicas blandas sobre la envoltura; si hay larva y está viva se moverá lo que se detecta muy bien. Cuando la larva tiene menos de 7 días de edad es conveniente usar lupa, pero para edades más avanzadas puede prescindirse de la misma. La observación es más sencilla realizándola sobre fondo oscuro.

#### *Diferenciación entre larvas y pupas*

Cuando la larva va a pasar al estado de pupa, salvo excepciones, construye una en-

voltura de protección más consistente que la del estado larvario. También en este caso conviene recurrir a presionar ligeramente la envoltura con pinzas entomológicas blandas. Si al presionar no se detecta movimiento, la diferencia entre que se encuentre una larva muerta o una en proceso de pupación o ya pupada está en la dureza que se observe, ya que las pupas son más duras que las larvas y ofrecen mayor resistencia ante la presión. Tras unos cuantos intentos, la detección de mayor o menor dureza, resulta sencilla.

La mortalidad pupal no se podrá evaluar hasta que no hayan emergido todos los adultos. Ahora sí se pueden manipular las pupas muertas, retirando la protección sedosa para comprobar las posibles anomalías producidas por el tratamiento, sin riesgo de afectar al resultado del ensayo.

#### **Extracción fácil de larvas de edades intermedias**

En trabajos con insecticidas, resulta interesante poder contar con larvas de edades intermedias para estudios diversos (tratamientos tópicos, cambio de dieta normal a tratada para ensayos por ingestión, etc.). Intentar extraer directamente las larvas de su envoltura con pinzas u otros instrumentos resulta de nuevo, muy trabajoso y de mucho riesgo para las mismas. Un método rápido, sencillo y no dañino para las larvas consiste en colocar sobre una mesa, un rectángulo de papel negro rugoso (una cartulina ligeramente arrugada puede servir), y sobre éste un folio blanco suavemente arqueado por los bordes. Es muy importante que haya rugosidades, pues luego encontraremos allí a gran parte de las larvas. A continuación, se deposita sobre el folio la mezcla de dieta y sedas que contiene las larvas en su interior, desmenuzándola ligeramente con pinzas entomológicas blandas, y se deja todo sin tocar durante una media hora. Tras ese periodo de tiempo, un buen número de larvas han abandonado las sedas y quedan libres



Fig. 4.—Larva macho con las manchas violetas de las gónadas (abajo) y larva hembra.

sobre el papel o escondidas debajo de él. Para recogerlas bastará con inclinar el papel, ya que todo resbalará excepto las larvas que se quedan adheridas al mismo, y las que quedaron en el cartón se extraen fácilmente con las pinzas entomológicas.

#### Extracción fácil de larvas en último estadio

Cuando se quieren emplear larvas de último estadio hay que usar cajas de cría para las larvas muy largas y anchas respecto a la altura, de forma que añadida la dieta, ésta quede como una fina capa, lo que facilitará la observación posterior de las larvas crecidas (VIÑUELA y MARCO, 1990).

Con estas características, se producirá una cierta mortalidad en larvas de primer y segundo estadios a causa de su comportamiento, pero entre las supervivientes se dará un desarrollo normal y cuando las larvas alcan-



Fig. 5.—Dispositivos cilíndricos usados para la obtención de pupas libres de la envuelta protectora. En el centro se aprecian las pupas al desenrollarlos.

cen el último estadio, se podrán extraer cómodamente de las paredes y techo, por donde ascienden libres de sedas para pupar, o bien de la parte inferior de la dieta, ya que si se le da la vuelta, quedan las larvas visibles.

### Sexado de larvas

En *E. kuehniella*, el sexado de larvas resulta muy sencillo. Basta con saber que los machos disponen en posición dorsal hacia la mitad del abdomen, de una mancha oscura que corresponde a las gónadas masculinas de color violáceo que se transparentan por el tegumento (Fig. 4).

### MANEJO DE PUPAS

#### Obtención rápida de pupas

Para obtener de forma rápida pupas libres de su envuelta sedosa, sin que éstas sufran daños, hay que utilizar las cajas de cría normales, ya descritas. Varios días antes de que pupen (entre 26 y 28 días tras sembrar los huevos, en nuestras condiciones), se abrirán las cajas, y se colocarán directamente sobre

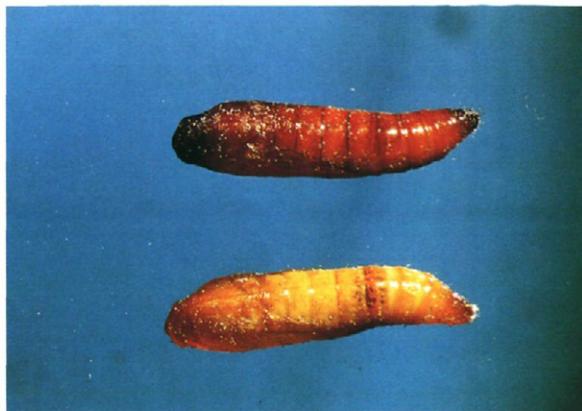


Fig. 6.—Pupa macho con las manchas violetas de las gónadas (arriba) y pupa hembra.

la dieta 12 espirales de cartón, construidas a base de enrollar sobre sí mismo tiras de cartón de 3 cm de alto y 50 cm de largo (Fig. 5). El cartón debe tener una cara lisa y



Fig. 7.—Hembra con el ovipositor visible (arriba) y macho en el que se aprecian los harpagones.

otra ondulada, y ésta última ha de quedar hacia el interior. Para mantener los cilindros en posición se utilizará cinta adhesiva.

Estas ondulaciones son muy atractivas para las larvas del pirálido cuando van a pupar. Bastará con desenrollar los cilindros cuando se hayan formado las pupas, para que muchas de ellas aparezcan totalmente libres de sedas o rodeadas de una pequeña cantidad de éstas. En este proceso, sólo un pequeño porcentaje de pupas resulta dañado (en torno a un 5 %).

### Sexado de pupas

Al igual que ocurría con las larvas, las pupas macho se puede distinguir fácilmente observando la presencia en posición dorsal hacia la mitad del abdomen, de una mancha oscura reflejo de las gónadas masculinas violáceas (Fig. 6)

## MANEJO DE ADULTOS

### Uso de anestésicos

Frecuentemente es necesario anestesiar a los adultos para manipularlos con facilidad. El frío o la aplicación de vapores de acetato de etilo son dos de las posibilidades que podrían emplearse. Sin embargo, es más rápido y cómodo aplicar corrientes de anhídrido carbónico, mediante una botella sin sifón, provista de manorreductor de presión.

En el caso de *E. kuehniella*, con un tiempo de aplicación de 8 a 12 segundos (según número de adultos a anestesiar, tamaño del recipiente, etc.), y una presión de salida de la corriente de CO<sub>2</sub> de 98 kPa, los adultos se duermen entre 1,5 y 2 minutos, dependiendo de la temperatura, aireación tras la anestesia, etc.

Este tiempo es suficiente para manipularlos sin riesgo de que escapen, y no se han observado efectos negativos sobre la fecundidad, fertilidad, o la longevidad de los adultos.

No obstante, exposiciones durante períodos largos a este anestésico, pueden ser perjudiciales. PRESS y FLAHERTY (1972) observaron una reducción significativa en la fecundidad de *E. kuehniella* y una completa eliminación de la eclosión de los huevos, tras exponer a los adultos a atmósferas con un 96 % de CO<sub>2</sub> durante 2 horas diarias a lo largo de un período de 6 días. Por el contrario, las larvas parecen tolerar mejor el anestésico y LE TORCH (1983) obtuvo un tiempo letal 99 de más de 60 horas, cuando las exponía a una atmósfera que recibía un flujo continuo de CO<sub>2</sub> de 3 l/h.

### Sexado de adultos

El poder sexar rápidamente los adultos, resulta muy interesante en muchos ensayos de laboratorio. En el caso de *E. kuehniella* es una tarea sencilla, ya que basta con observar el extremo terminal del abdomen. Mientras que en las hembras se ve el ovipositor como un finísimo tubo, en los machos se observan los harpagones, semejantes a la cabeza de unas tenazas (Fig. 7). Si la observación no puede hacerse directamente por estar los órganos anteriores ocultos, bastará con presionar ligeramente el abdomen con unas pinzas entomológicas, para que los saquen.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en parte gracias a una beca de Formación de Personal Investigador, concedida a D. Vicente Marco.

## ABSTRACT

MARCO, V.; JACAS, J.; BUDIA, F.; ADÁN, A.; DEL ESTAL P. y VIÑUELA, E. (1993): Management of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) in laboratory of pesticide effectiveness. *Bol. San. Veg. Plagas*, 19(4): 587-596.

*Ephestia kuehniella* is widely used as a laboratory substitution host for many predators and parasitoids, because its mass production is completely achieved. However there are many problems when effects of pesticides have to be studied, mainly since both larvae and pupae are protected by a strong silken cover. In this work, rearing adaptations in order to easily obtain individuals for the tests (number, age, stage, stadium) are indicated. Practical indications to assess effects of pesticides in this insect, are also shown.

**Key words:** *Ephestia kuehniella*, pesticides, laboratory assays.

## REFERENCIAS

- BURGOS, R. y MUÑOZ, M., 1992: Efectos de la citarabina, el fluorofur y la radiación gamma sobre la fecundidad, fertilidad y longevidad de *Ceratitis capitata* Wied. (Dip: Trypetidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 18(4): 827-840.
- CARNERO, A.; PEÑA, M. A.; PÉREZ-PADRÓN, F.; GARRIDO, C. y HERNÁNDEZ GARCÍA, M., 1993: Bionomics of *Orius albidipennis* and *Orius limbatus*. *Bull. OILB-IOBC Bull.* 16(2): 2730.
- CAUDAL-TROTTIN, Y.; GRASSELLY, D.; TRAPATEAU, M.; DOBELIN, H. y MILLOT, P., 1991: Lutte biologique contre *Frankliniella occidentalis* avec *Orius majusculus* sur concombre. *Bull. SROP*, XIV(5): 50-56.
- DAUMAL, J., 1987: *Contribution à l'étude de la biologie d'Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. Pyralidae-Phycitinae). Application aux élevages intensifs. Thèse Doctoral. INRA. Station de Zoologie et de Lutte Biologique. Antibes. 93 pp.
- DAUMAL, J.; MARCONI, D. y CHASSAIN, C., 1985: Dispositif d'élevage miniaturisé et automatisé d'*Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. Pyralidae). *Bull. Soc. Linnéenne de Lyon*, 1: 7-12.
- DAUMAL, J. y PINTUREAU, B., 1985: Etude de la variabilité de la durée du développement chez *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. Pyralidae). *Acta Cec. Cec. Applic.*, 6(4): 367-380.
- DEL ESTAL, P.; VIÑUELA, E.; CAMACHO, C. y PAGE, E., 1987: Biological effects of microwave treatments on pupae and adults of *Ceratitis capitata* Wied. In: «Fruit flies»: 115-124. A.P. Econopoulos ed. Elsevier. Holanda.
- HILL, D. S., 1990: *Pests of stored products and their control*. Belhaven Press. London: 274 pp.
- LE TORC'H, J. M., 1983: Etude en laboratoire de la sensibilité à l'anhydride carbonique et à l'azote de plusieurs espèces d'insectes des denrées stockées en vue d'une application à la désinsectisation des stocks. *Agronomie*, 3(5): 399-406.
- NICOLI, G.; GALAZZI, D.; MOSTI, M. y BURGIO, G., 1991: Embryonic and larval development of *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neur., Chrysopidae) at different temperature regimes. *Bull. SROP*, 14(5): 43-49.
- NIKONOV, P. V.; LEBEDEV, G. I. y STRATCHEVSKY, I. P., 1991: Trichogramma production in the USSR. In: «Trichogramma and other egg parasitoids», Les Colloques n.º 56: 151-152. INRA. París.
- PRESS, J. W. y FLAHERTY, B. R., 1972: Reduction of fecundity and egg hatch in three stored product phycitid moths after repetitive sublethal carbon dioxide exposures. *Environmental Entomol.*, 2(1): 147-148.
- SAMSØE-PETERSEN, L.; BIGGLER, F.; BOGENSCHUTZ, H. et al., 1989: Laboratory rearing techniques for 16 beneficial arthropod species and their prey/hosts. *Z. PflKrankh. u PflSchutz*, 96: 289-316.
- SARASUA M. J. y SANTIAGO-ALVAREZ, C., 1983: Effect of diflubenzuron on the fecundity of *Ceratitis capitata*. *Ent. exp. appl.*, 33: 223-225.
- VILLEVIELLE, M. y MILLOT, P., 1991: Lutte biologique contre *Frankliniella occidentalis* avec *Orius laevigatus* sur fraisier. *Bull. SROP*, XIV(5): 57-64.
- VIÑUELA, E. y MARCO, V., 1990: Efecto de algunos factores sobre la eclosión de huevos de *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae). *Shilap*, 18(72): 317-324.

(Aceptado para su publicación: 29 mayo 1993)