

INSTITUTO TECNOLOGICO DE COSTA RICA

ESCUELA DE BIOLOGIA

**TRABAJO FINAL DE GRADUACION DE LA CARRERA DE INGENIERIA EN
BIOTECNOLOGIA DEL INSTITUTO TECNOLOGICO DE COSTA RICA**

**EVALUACION DE LA PATOGENICIDAD DE DIFERENTES HONGOS
ENTOMOPATOGENOS PARA EL CONTROL DE DOS ESPECIES DE MOSCA DE LA
FRUTA (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha obliqua*) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO**

José Rafael Herrera Mesén

CARTAGO, 2005

INSTITUTO TECNOLOGICO DE COSTA RICA

ESCUELA DE BIOLOGIA

**TRABAJO FINAL DE GRADUACION DE LA CARRERA DE INGENIERIA EN
BIOTECNOLOGIA DEL INSTITUTO TECNOLOGICO DE COSTA RICA**

**EVALUACION DE LA PATOGENICIDAD DE DIFERENTES HONGOS
ENTOMOPATOGENOS PARA EL CONTROL DE DOS ESPECIES DE MOSCA DE LA
FRUTA (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha obliqua*) BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO**

José Rafael Herrera Mesén

CARTAGO, 2005

Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de dos especies de mosca de la fruta (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha obliqua*) bajo condiciones de laboratorio.

José Rafael Herrera Mesén*

RESUMEN

Se realizaron muestreos en plantaciones de naranja en los cantones Mora y Acosta de la provincia de San José, Costa Rica. A partir de los muestreos se establecieron poblaciones de mosca de la fruta, y se evaluó la presencia de estados morfológicos. Se obtuvieron poblaciones necesarias para establecer pies de crías. En los muestreos se comprobó la presencia de moscas del género *Anastrepha* spp.

Se evaluó la patogenicidad de cuatro géneros de hongos entomopatógenos (*Beauveria* spp, *Metarhizium* spp, *Paecilomyces* spp y *Lecanicillium* spp) en dos especies de mosca de la fruta (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha obliqua*), bajo condiciones *in vitro*, con aislados provenientes del laboratorio de fitoprotección del centro de agricultura orgánica del INA. Las moscas de la fruta fueron expuestas a discos de medio puro en crecimiento activo de los hongos evaluados, con un atrayente alimenticio en recipientes de vidrio bajo condiciones de 26-28°C y una humedad de 80-85%. Todos los aislados mostraron ser patogénicos en ambas especies de mosca evaluadas. La mortalidad a los 4 días de inoculación, estuvo en un rango de 18 a 81% en *A. obliqua* y de 13 a 83,3% en *C. capitata*. Los valores de TL_{50} para *A. obliqua* tuvieron un rango de 1.5 a 7.15 y para *C. capitata* de 1.85 a 6.43. Los aislados MTRH- INA N y P- INA P mostraron ser los más virulentos para ambas especies de mosca de la fruta con (MA=81,7; 73,3 (a los 4 días) y LT_{50} = 1,5; 1,95 respectivamente). La patogenicidad que mostraron los mejores aislados sugiere la posibilidad de incorporar hongos entomopatógenos dentro de un manejo integrado de plagas, una vez realizadas las pruebas de campo, en dispositivos autoinoculadores.

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces* sp, *Lecanicillium* sp, *Anastrepha obliqua*, *Ceratitis capitata*, patogenicidad.

*** INFORME DE TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN, Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica. 2005.**

**Pathogenicity to four diferents entomopathogenic fungi, to two adult fruit fly species:
Ceratitis capitata (Weidemann) and Anastrepha obliqua (Macquart)
(Diptera:Tephritidae) under laboratory conditions**

José Rafael Herrera Mesén*

ABSTRACT

They were carried out samplings in orange plantations in Mora and Acosta of San José, Costa Rica. Starting from the samplings, fruit fly populations settled down and the presence of morphologic states was evaluated. Necessary populations were obtained to establish feet of breedings. In the samplings was verified the presence of flies of the gender *Anastrepha* spp. The pathogenicity of four isolates of *Beauveria* spp *Metarhizium* spp *Paecilomyces* spp *Lecanicillium* spp, against two species of adult fruit flies. *Ceratitits capitata* and *Anastrepha obliqua* was tested in the laboratory. Fruit flies were exposed to pieces of pure media of the entomopathogenic fungi tested, and diet in glass vessels under controlled conditions (26-28°C and 80-85% RH). All isolates tested were pathogenic to both species of fruit flies. Mortality ranged from 13 to 83.3% in *C. capitata* and from 1.5 a 7.15 in *Anastrepha obliqua* at 4 days post-inoculation. The LT_{50} values ranged from 1.85 a 6.43 in *C. capitata* and from 18 to 81% in *Anastrepha obliqua*. The most pathogenic isolates was MTRH- INA N and P- INA P (MA=81,7; 73,3 (at 4 days) and LT_{50} = 1,5; 1,95). These results indicate the possibility of fruit fly suppression with entomopathogenic fungi using an autoinoculative device.

Key Words: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces sp*, *Lecanicillium sp*, *Anastrepha obliqua*, *Ceratitits capitata*, pathogenic

*** INFORME DE TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN, Escuela de Ingeniería en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica. 2005.**

**EVALUACION DE LA PATOGENICIDAD DE DIFERENTES HONGOS
ENTOMOPATOGENOS PARA EL CONTROL DE DOS ESPECIES DE MOSCA DE
LA FRUTA (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha obliqua*) BAJO CONDICIONES DE
LABORATORIO**

**Informe presentado a la Escuela de Biología del
Instituto Tecnológico de Costa Rica como requisito parcial
para optar al título de Bachiller en Ingeniería en Biotecnología.**

Miembros del Tribunal

MSc. Vladimir Villalba Velásquez
INSTITUTO TECNOLOGICO DE COSTA

MSc. Orlando Cubillo Jiménez
MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA

Ing. Xiomara Mata Granados
INSTITUTO NACIONAL DE APRENDIZAJE

José Rafael Herrera Mesén.
ESTUDIANTE DE INGENIERIA EN BIOTECNOLOGIA

DEDICATORIA.

A la memoria de mi abuelo Manuel Mesén Madrigal.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue posible gracias al apoyo de dos Instituciones estatales, encargadas de velar por el progreso del país y la investigación en el campo agrícola:

- Al Instituto Nacional de Aprendizaje (INA), específicamente al Laboratorio de Fitoprotección del Centro Especializado en Agricultura Orgánica.
- A la Lic. Xiomara Mata Granados, la cual además de asesorarme y servir de una valiosa guía, cumplió una función esencial en la realización de los bioensayos realizados y préstamo de equipo y reactivos.
- Al Ministerio de Agricultura y Ganadería, específicamente la regional central sur.
- Al MSc. Francisco Rodríguez por su ayuda con aspectos técnicos, taxonómicos y de gestión.
- Al MSc. Orlando Cubillo Jiménez, quien sin su ayuda este trabajo no habría sido posible, tanto por la gestión realizada como por el asesoramiento brindado.
- Al Programa Nacional de la Mosca de la Fruta del Servicio Fitosanitario del Estado, por el préstamo de material biológico, esencial en las pruebas realizadas, principalmente al Ing. Randy Venegas Garita, por la información brindada.
- Al Profesor Vladimir Villalba, asesor de este proyecto por el Instituto Tecnológico de Costa Rica, por toda la ayuda logística y guía a la hora de realizar muestreos y pruebas.
- Al profesor Francisco Monge por su ayuda en el análisis estadístico de los resultados obtenidos en los bioensayos.

- En general deseo agradecer a todo el personal docente de la Escuela de Biología por la formación académica brindada durante cuatro años de carrera.
- Por último, le quiero agradecer a mis padre Jose Herrera Umaña, y Ana Lucía Mesen Arroyo, mi hermano Carlos Manuel Herrera Mesén y a Dios, por estar siempre conmigo.

INDICE

RESUMEN	3
ABSTRACT	4
DEDICATORIA	6
AGRADECIMIENTOS.....	7
INDICE	9
INDICE DE CUADROS	11
INDICE DE FIGURAS	12
INDICE DE ANEXOS.....	13
INTRODUCCION	14
REVISION DE LITERATURA	19
Aspectos de la plaga	20
<i>Familia Tephritidae</i>	20
<i>Géneros Ceratitis y Anastrepha</i>	22
<i>Ceratitis capitata (Wiedemann)</i>	22
<i>Anastrepha spp.</i>	29
<i>Anastrepha obliqua (Macquart)</i>	29
Métodos de combate de <i>las moscas de la fruta</i>	35
Combate legal	35
Combate etológico y detección	35
Control mecánico-cultural	37
Control químico	38
Control Biológico.....	44
Aspectos generales de los hongos entomopatógenos.....	46
<i>Beauveria spp (Vuill)</i>	51
<i>Metarhizium spp (Sorok)</i>	52
<i>Paecilomyces spp (Bainier)</i>	52
<i>Lecanicillium spp (Nees)</i>	53

OBJETIVOS	55
Objetivo General	55
Objetivos Específicos	55
METODOLOGÍA	57
I. Fase (Establecimiento de poblaciones de mosca de la fruta provenientes de los muestreos)	57
II. Fase (Pruebas de patogenicidad y virulencia de los aislados in vitro).....	58
Análisis estadístico	60
RESULTADOS	61
I. Fase (Establecimiento de poblaciones de mosca de la fruta provenientes de los muestreos)	61
II. Fase (Pruebas de patogenicidad y virulencia de los aislados in vitro)	62
DISCUSION	68
CONCLUSIONES	73
RECOMENDACIONES	75
BIBLIOGRAFIA	77
ANEXOS	87

INDICE DE CUADROS

Núm.	Título	Pág.
1.	Información de los aislados de los cuatro géneros de hongos entomopatógenos utilizados en el presente estudio, pertenecientes a la micoteca del Centro de Agricultura Orgánica del Instituto Nacional de Aprendizaje, Oreamuno de Cartago.	58
2.	Promedio de larvas, pupas, y adultos de moscas de la fruta obtenidas, procedentes del muestreo en campo realizados en dos fincas productoras de naranja ubicadas en los cantones de Mora y Acosta de la provincia de San José	61
3.	Patogenicidad de los aislados de los hongos entomopatógenos evaluados. Porcentaje de mortalidad acumulada a los 4 días y tiempo letal medio, en adultos de <i>A. obliqua</i> y <i>C. capitata</i>, después de la inoculación con los hongos entomopatógenos: <i>Beauveria spp</i>, <i>Metarhizium spp</i>, <i>Paecilomyces spp</i> y <i>Lecanicillium spp</i>	63
4.	Patogenicidad de los aislados de los hongos entomopatógenos evaluados. Porcentaje de mortalidad acumulada a los 4 días y tiempo letal medio, en adultos de <i>A. obliqua</i> y <i>C. capitata</i>, después de la inoculación con los hongos entomopatógenos: <i>Beauveria spp</i>, <i>Metarhizium spp</i>, <i>Paecilomyces spp</i> y <i>Lecanicillium spp</i>	64
5.	Promedio de la cantidad de esporas recogidas individualmente por las 5 moscas de la fruta moscas de las dos especies sometidas a los ensayos de patogenicidad	67

INDICE DE FIGURAS

Núm.	Título	Pág.
1.	Ejemplos del ataque producido por larvas de mosca de la fruta	21
2.	Fases del ciclo biológico de <i>C. capitata</i>	24
3.	Descripción de las diferentes estructuras de un adulto de <i>C. capitata</i>	27
4.	Adultos de <i>A. obliqua</i>	30
5.	Cabeza en vista lateral y frontal de <i>A. obliqua</i>	31
6.	Tórax en vista dorsal de <i>A. obliqua</i>	32
7.	Tórax en vista lateral de <i>A. obliqua</i>	32
8.	Ala derecha de <i>A. obliqua</i>	33
9.	Vista dorsal del abdomen de <i>A. obliqua</i> mostrando los terguitos abdominales y la terminalia de la hembra.	33
10.	Mortalidad acumulada a los 4 días de adultos de <i>A. obliqua</i> y <i>C. capitata</i> después de la inoculación de los aislados evaluados	62
11.	Tiempo que le toma a los aislados de los hongos entomopatógenos evaluados acabar con la mitad de la población de <i>C. capitata</i> y <i>A. obliqua</i>	62
12.	Adultos de <i>C. capitata</i> con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género <i>Beauveria</i>	65
13.	Adultos de <i>C. capitata</i> con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género <i>Metarhizium</i> .	65
14.	Adultos de <i>C. capitata</i> con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género <i>Paecilomyces</i>	65
15.	Adultos de <i>A. obliqua</i> con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género <i>Beauveria</i>	66
16.	Adultos de <i>A. obliqua</i> con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género <i>Metarhizium</i> .	66
17.	Adultos de <i>A. obliqua</i> con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género <i>Paecilomyces</i> .	66

INDICE DE ANEXOS

Núm.	Título	Pág.
1.	Formula de Abbott para la corrección de la mortalidad.	87
2.	Distribución geográfica de la <i>C. capitata</i> a nivel mundial.	87
3.	Hospederos de importancia económica atacados por <i>C. capitata</i>	89
4.	Variación mensual de las poblaciones de los géneros de moscas de la fruta <i>Anastrepha</i> y <i>Ceratitis</i>, en muestreos realizados en fincas productoras de la zona de la Regional Central Sur del Ministerio de Agricultura y Ganadería.	90

INTRODUCCION

La sede central sur del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica abarca los cantones de Puriscal, Turrubares, Acosta, Santa Ana, Mora, Aserrí, Alajuelita, Desamparados y Escazú; de la provincia de San José, Costa Rica (Sector Agropecuario MAG, 2002). La actividad agrícola de estos cantones es una importante fuente de ingresos para el país. La producción de naranjas, la cual es la segunda en importancia después del cultivo del café, ha tenido un aumento en la producción debido a la decisión de muchos agricultores de diversificar o reemplazar sus fincas cafetaleras debido a la caída en los precios internacionales del café. Sumado a esto, la región cuenta con condiciones especiales de suelo y de clima para la producción de naranjas con alta calidad, parámetros deseables de grados brix, acidez, sólidos solubles, color, sabor y tamaño. Sin embargo el cultivo de naranjas en la zona tiene problemas en cuanto a los canales de comercialización, plagas y enfermedades y la heterogeneidad de las frutas (Centro Agrícola Cantonal de Mora, 2002).

El principal problema en la producción de frutales son los daños causados por dos géneros de mosca de la fruta: *Anastrepha* spp y *Ceratitis* spp. Estas moscas son las responsables de más del 30% de las pérdidas de la producción total en el caso de naranjas. Por otro lado tienen un rango muy amplio de cultivos hospederos, por lo tanto, atacan otros cultivos presentes en la zona, por ejemplo: el mango, la guayaba, el café, el jocote y otros cultivos del género *Citrus*, *Fortunilla*, *Mangifera*, *Poncirus* y otros (Servicio Fitosanitario del Estado, 2003).

Tanto *Ceratitis* spp como *Anastrepha* spp, provocan un daño en el fruto, el cual ocurre cuando las hembras perforan la cáscara de los frutos con su ovipositor para depositar sus huevos. Una vez que se desarrolla la larva, ésta crece y se alimenta de la pulpa del fruto, lo que provoca la caída, pudrición y pérdida de calidad (Landaverde, 2002).

La mosca del mediterráneo, es originaria de la costa occidental africana y en la actualidad es una de las plagas de mayor importancia a nivel mundial, por varias razones: sus efectos negativos en la productividad de las plantas hospederas, las restricciones cuarentenarias que imponen importantes mercados mundiales y por sus consecuencias negativas (salud pública, aplicación de plaguicidas, problemas sociales, etc.). Se ha reportado que *Ceratitis* spp es de los más destructivos de todos los géneros neotropicales de mosca de la fruta en plantaciones comerciales, principalmente en especies introducidas como *C. arabica* y cítricos (Corvalán, 2004; InfoAgro, 2002); se ha descrito en 20 países y en 211 plantas cultivadas y 102 hospederos silvestres (Alves *et al*, 2004). Por otro lado, las especies del género *Anastrepha* se han reportado en plantas de las familias *Anacardiaceae*, *Annonaceae*, *Caricaceae*, *Clusiaceae*, *Ebenaceae*, *Fabaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Passifloraceae*, *Punicaceae*, *Rosaceae*, *Rubiaceae*, *Rutaceae*, *Sapotaceae* (SEGARPA,1995). Al igual que *C. capitata*, representa un problema serio por medidas cuarentenarias impuestas por países libres de estas plagas (Ovruski *et al*, 1999).

La presencia de estas moscas en plantaciones comerciales se ha tratado con diferentes métodos tales como: el control químico, biológico y autocida. El control químico se ha realizado con Diazinón, el cual es el más empleado en la zona central sur del país, seguido del Mirex y el Malathion (Centro Agrícola Cantonal de Mora, 2002). Muchos de los insecticidas químicos utilizados en el control de moscas de la fruta han sido catalogados en las listas de productos más persistentes en el ambiente por el Programa Ambiental de las Naciones Unidas (UNEP), por sus siglas en inglés (Dimbi *et al*, 2003 I). La utilización de productos sintéticos en la agricultura tiene una serie de problemas asociados a su uso, uno de los más importantes es la contaminación del medio ambiente y la persistencia de sustancias nocivas para la salud humana; otra de las desventajas es la resistencia que adopta la plaga al producto químico y el efecto que causan sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas (InfoAgro, 2002). Debido a la problemática del uso de productos químicos, en la zona central sur se ha probado el control de la mosca de la fruta por medio de parasitoides producidos por el laboratorio del programa

nacional de la mosca de la fruta y anteriormente por OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria), utilizando principalmente *Biosteres longicaudatus*, *Aceratoneuronjia indica* y *Pachycrepoideus bindeias*; además por medio de la Comunidad Europea se empezó a realizar la liberación de machos estériles (control autocida). El uso de parasitoides como control biológico, ha presentado problemas debido a la poca especificidad con respecto a la plaga y al problema de adquisición y mantenimiento que representa para los productores. Por otro lado, el control autocida no ha sido de constante utilización por la falta de plantas de esterilización y la poca disposición del agricultor en su utilización (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 1991).

Dentro de las posibilidades de combatir plagas utilizando controladores biológicos se encuentra el uso de hongos entomopatógenos. Existen alrededor de 100 géneros de hongos de este tipo, y entre los más estudiados se encuentran los géneros: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Aschersonia*, *Entomophthora*, *Zoophthora*, *Erynia*, *Eryniopsis*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium* (Monzon, 2001; Obregón, 2001).

Se ha reportado el uso de entomopatógenos para el control *C. capitata*, en Brasil, en donde *M. anisopliae* produjo buenos resultados tanto en pupas como en adultos (Alves *et al*, 2004). Además en investigaciones realizadas en Israel, se reporta que *C. capitata* es susceptible en condiciones de laboratorio a *P. fumosoroseus* y *M. anisopliae* (Uziel *et al*, 2003). Para especies de *Anastrepha* se reportan estudios realizados en larvas con el hongo *M. anisopliae*, con buenos resultados en cuanto a la emergencia de adulto (Lezama *et al*, 2000). También se reporta en Kenia el uso de *M. anisopliae* y *B. bassiana* contra *C. capitata* y otras especies de este género (Dimbi *et al* 2002; Dimbi *et al*, 2003 I; Dimbi *et al*, 2003 II; Dimbi *et al*, 2004).

A nivel nacional los hongos entomopatógenos han sido utilizados en el control de diferentes plagas. El CATIE, ubicado en Turrialba, ha realizado varias investigaciones con hongos entomopatógenos, entre ellas el uso de *B. bassiana* sobre la mortalidad de *Ecdytolopha torticornis* en el cultivo de Macadamia; el uso de *M. anisopliae* en adultos de *Aeneolomia albofasciata* en cultivo de caña de azúcar; además se ha trabajado con *Beauveria* spp, *B. brongniartii*, *M. anisopliae* y *P. fumosoroseus* sobre *Bemisia tabaci* (González *et al*, 1996; Badilla *et al*, 1996; Herrera *et al*, 1999). Además en Costa Rica, DIECA ha tenido un exitoso control de *Metamazius* utilizando los hongos *M. anisopliae* y *B. bassiana*.

Otro centro de investigación que ha venido investigando la utilización de hongos entomopatógenos, es el Centro de Agricultura Orgánica del INA (Instituto Nacional de Aprendizaje), el cual cumple una función muy importante en el país, ya que a través de investigaciones genera tecnología viable para la producción agrícola, la cual es transferida al agricultor que desee emplearla en su actividad.

La falta de investigación y las ventajas del uso de control biológico por medio de hongos entomopatógenos en *C. capitata* y *A. obliqua* en el país, evidencian la necesidad de realizar evaluaciones con este tipo de microorganismos, para la futura realización de formulaciones aplicables en campo, a base de estos. El siguiente trabajo pretende ser una iniciativa para incorporar este microorganismo dentro de plantaciones de frutales en la región central sur de Costa Rica. Es por tal razón, que las herramientas biotecnológicas enfocadas al control biológico, brindan al agricultor una nueva opción para el control de las moscas de la fruta de forma amigable con el medio ambiente.

La utilización de insecticidas biológicos a base de hongos entomopatógenos para el control de las moscas de la fruta, ha sido poco acogido en el país a pesar de que presenta un gran potencial de uso dentro de los sistemas de producción agrícola.

Como primera medida para incursionar en la producción de estos insecticidas, se requiere de evaluaciones de patogenicidad sobre las moscas de la fruta a nivel de laboratorio, constituyendo un paso introductorio y esencial en el proceso. En el país no se reportan evaluaciones de la patogenicidad de hongos entomopatógenos para el combate mosca de la fruta, lo cual hace al trabajo pionero en el área.

Las conclusiones y recomendaciones de este trabajo, abren las puertas a la incorporación de hongos entomopatógenos dentro de plantaciones de la zona y brindan una opción novedosa par el control de la mosca de la fruta.

REVISION DE LITERATURA

La problemática principal que tiene la zona en cuanto a la producción frutícola es la presencia de moscas de la fruta, la cual causa pérdidas del 20% al 30% en la producción (Servicio Fitosanitario del Estado, 2003). Esto sumado a la poca o escasa organización de los principales productores de frutales en la zona para buscar soluciones al problema (Comité técnico sectorial agropecuario, 1999). En la región central sur se han realizado muestreos estratificados en 32 fincas productoras de naranja, en donde se ha comprobado la presencia de dos géneros de moscas de la fruta, *Ceratitis* y *Anastrepha*, ambas pertenecientes a la familia *Tefritidos*. Las fluctuaciones poblacionales de ambas plagas durante un año, indican que la presencia de *Ceratitis* tiene un pico alto entre los meses de marzo a junio, mientras que *Anastrepha* esta presente durante todo el año, con más incidencia en los meses de septiembre a diciembre (ver anexo 4) (Cordero *et al*, 2000¹).

El Ministerio de Agricultura y Ganadería ha implementado varios métodos de combate, principalmente de tipo cultural, autocida, químico y biológico (liberación de parasitoides). Dentro de los efectos que causan las moscas de la fruta en las plantaciones de frutales de la zona, son pérdidas de frutas, decrecimiento en la calidad del mismo, disminución de su valor comercial, desmotivación por incrementar áreas de producción y un aumento significativo de los insumos agrícolas debido al combate de la plaga. Además la exportación de frutos a mercados importantes esta estancada debido a restricciones cuarentenarias que poseen importantes países importadores como lo son Japón, Estados Unidos y la comunidad europea, lo cual pone a los productores en desventajas ante las nuevas tendencias de intercambio económico (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 1999).

¹ Cordero, C. 2000. Variación poblacional de moscas de la fruta en la zona regional central sur, Puriscal, Costa Rica (Comunicación personal).

Aspectos de la plaga

Familia Tephritidae

Esta familia de moscas de la fruta pertenece al orden de los dípteros, e incluye plagas de suma importancia agrícola. A las moscas pertenecientes a este grupo se les atribuye pérdidas anuales de billones de dólares en pérdidas directas en diferentes variedades de frutos y vegetales (Malavasi, 2000). Aunado a esto, limita en gran manera el desarrollo de la producción agrícola, ya que la presencia de éstas impone restricciones de exportación en mercados de importancia mundial (Carroll *et al*, 2004). La existencia de estas restricciones cuarentenarias va acompañada por una preocupación mundial por evitar la propagación de esta plaga a zonas libres de la misma. La familia Tephritidae incluye aproximadamente 4.400 especies conocidas, de las cuales cerca de 200 son consideradas como plagas y alrededor del 35% de las larvas de mosca de esta familia se desenvuelve dentro de los frutos o nueces de sus hospederos (Araujo, 2002). Cerca de 70 especies de moscas de la fruta son consideradas como plagas agrícolas de alta importancia y los frutales son los cultivos más propensos al ataque de estas plagas. Los hospederos de las moscas de la fruta poseen gran relevancia en el mercado mundial, dentro de los más importantes se encuentran los cítricos, mangos, manzanas, ciruelas, entre otros. No obstante existen moscas de la fruta beneficiosas, alrededor de 15 especies se han venido utilizando como agentes de control biológico. Otros Tephritidos son utilizados en estudios de comportamiento, biología molecular y genética como es el caso de *Ceratitis capitata* (Peña *et al*, 1998; Rampias *et al*, 2003; Carroll *et al*, 2004).

Debido al daño provocado por las larvas, muchas de las especies de esta familia causan altas pérdidas en las cosechas de frutos y vegetales (fig 1).



Fig 1. Ejemplos del ataque producido por larvas de mosca de la fruta. Tomado de de Malavasi, 2000.

Dentro de los fitófagos más importantes pertenecientes a esta familia se encuentran los géneros *Bactrocera* (520 especies), *Dacus* (243 especies), *Anastrepha* (198 especies), *Ceratitidis* (78 especies) y *Rhagoletis* (69 especies) (USDA, 1999; Carroll *et al*, 2004). El género *Bactrocera* posee 40 especies de plagas de importancia, de las cuales la mayoría de ellas son altamente dañinas. Dentro de las principales especies de moscas del género *Bactrocera* se encuentra la mosca oriental de la fruta (*B. dorsalis*), la mosca del melón (*B. cucurbitae*), la mosca del olivo (*B. oleae*), *B. tryoni*, y la mosca del durazno (*B. zonata*). El género *Rhagoletis* incluye 17 especies de plagas de importancia, la especie más importante es la mosca de la manzana (*R. pomonella*), las moscas de la cereza (*R. cerasi* y *cingulata*), la mosca del arándano (*R. mendax*), *R. completa*, *R. striatella* y *R. tomatis* (plaga en tomate). Por otro lado, el género *Dacus* tiene su origen en el trópico del continente africano y se reportan 11 especies plaga, principalmente en cucurbitáceas. La especie más importante es la mosca de la calabaza (*D. bivittatus*) y *D. ciliatus*. Otras especies importantes de moscas de la fruta pertenecientes a esta familia se encuentran distribuidas entre los géneros *Carpomya*, *Euphranta*, *Monacrostichus*, *Neoceratitidis*, *Toxotrypana* y *Zonosemata* (Carroll *et al*, 2004).

Géneros Ceratitis y Anastrepha

El género *Ceratitis* tiene una especie de particular interés que ha sido producto de gran investigación en varios campos; esta especie es *C. capitata*, la cual se ha esparcido por todo el mundo desde el continente africano.

Ceratitis capitata (Wiedemann)

Ceratitis capitata es originaria de la costa occidental de África. Su primer registro data de 1817 en la Isla Mauricio en el Océano Indico y el primero en América se da en Brasil en el año 1906. En el año de 1955 apareció en Costa Rica (primer país centroamericano en registrar esta plaga). Se cree que el ingreso de esta mosca de la fruta se dio por el trasiego de frutas realizado por turistas, esto aunado a la gran variedad de frutos presentes en la región y al clima favorable (Landaverde, 2002).

En la actualidad *C. capitata* se ha expandido por todo el planeta (ver anexo 2), ya que se adapta a diversas condiciones climáticas; su ciclo de vida le permite cambiar de hábitat de acuerdo a su estadio y por su gran cantidad de cultivos hospederos, de los cuales se reportan más de 400 de importancia económica (anexo 3) y 102 hospederos silvestres. Entre los principales se encuentran el durazno (*Prunus persica*), ciruela (*Prunus domestica*), pera (*Pyrus communis*), manzana (*Malus spp*), aguacate (*Persea americana*), piña (*Ananas comosus*), mango (*Mangifera indica*), chile (*Capsicum spp.*), tomate (*Lycopersicon esculentum*), berenjena (*Solanum melongena*), pepino (*Cucumis sativus*), café (*Coffea arabica*), guayaba (*Psidium guajava*), cacao (*Theobroma cacao*), chirimoya (*Annona cherimola*), papaya (*Carica papaya*), limón (*Citrus limon*), naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*), naranja agria (*Citrus aurantium*), toronja (*Citrus x paradisi*),

lima (*Citrus limetta*), uva (*Vitis vinifera*), níspero (*Eriobotrya japonica*), macadamia, higo (*Ficus carica*), etc (SEGARPA. 1997).

Las pérdidas ocasionadas por esta especie de mosca de la fruta varían de entre 10 a 50%, dependiendo del cultivo y de los controles fitosanitarios establecidos. De la familia Tephritidae, *C. capitata*, se considera como la plaga más dañina para la industria frutera en el mundo, si se tiene en cuenta la cantidad de fruta dañada directamente, el aumento de los costos de la producción por las implementaciones de controles, así como la cantidad de mercados que se pierden por la presencia de la misma (Malavasi, 2000; Alves *et al*, 2004). Cabe destacar, que además de las restricciones cuarentenarias y de los daños directos a los frutos, los efectos en la salud humana y en el ambiente debido al uso de plaguicidas sintéticos, es una consecuencia indirecta de la presencia de las moscas de la fruta en plantaciones comerciales (Corvalan, 2004).

C. capitata es fácilmente distinguible de otros Tefritidos de importancia económica, ya son un tercio menor que las moscas domésticas y miden aproximadamente 3-5.0 mm, son de color café y negro, con marcas amarillas y negras en la parte dorsal del tórax.

Su ciclo de vida consta de cuatro etapas: huevo, larva, pupa y adulto (Caraballo, 2001) (fig. 2)

Los huevos tienen forma elíptica, aplanados en la superficie ventral y convexa en la superficie dorsal. Son de color blanco, el extremo cefálico es un poco más largo que el extremo posterior, el corion es liso y sin relieves y tiene un micrópilo tuberculiforme central. La longitud es de 0.93 mm, por 0.17 mm de ancho. Son sumamente susceptibles a la deshidratación y dependiendo del sustrato y las condiciones ambientales se desarrollan rápida o lentamente. La masa de huevos ovipositados, se incuba por espacio de uno a siete días antes de la eclosión (Servicio Nacional de Sanidad Agraria, 2000).

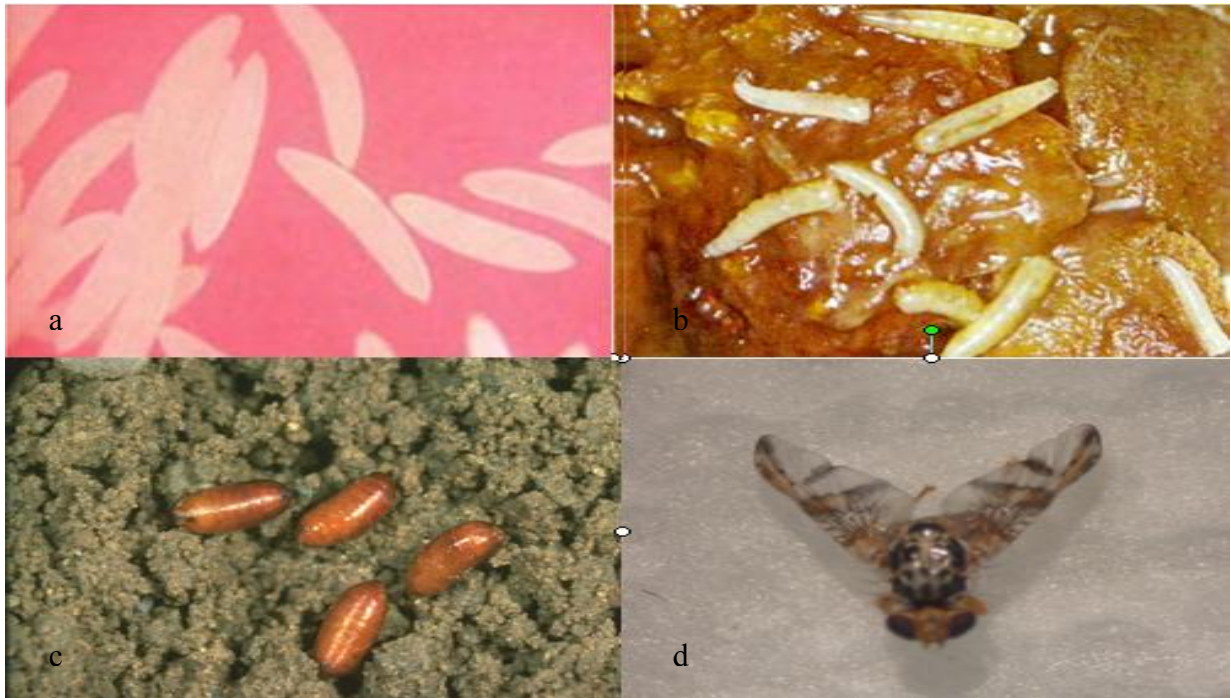


Fig 2. Fases del ciclo biológico de *C. capitata*. a. Huevos. b. Larvas. c. Pupas. d. Adulto. Tomado de: Tomado de: SENASA, 2000; Mata y Herrera, 2005.

Las larvas son de color blanco amarillento debido al contenido intestinal. Poseen 11 segmentos de casi igual longitud. En la porción anterior de cada uno de los segmentos 4-11, cuentan con un área fusiforme ventral y en la porción anterior de cada uno de los segmentos 1-3, posee un área fusiforme dorsal. La cabeza es pequeña y parcialmente retráctil, a ambos lados tiene un órgano antenal quitinoso y dos lóbulos orales, convexos, cada uno con 9-10 carinas bucales. Los ganchos mandibulares bien curvados, robustos y algo más largos que su ancho en la base. El segundo segmento después de la cabeza es circundado por una serie de espínulas transversales, las cuales son más numerosas en el lado ventral que en el dorsal (SEGARPA, 1995; Bio Controle, 2003). Los espiráculos, o estigmas anteriores, están localizados a ambos lados en dicho segmento generalmente tienen 9 lóbulos, raramente 8 ó 10, colocados en hilera regular. El siguiente segmento generalmente posee espínulas en su parte ventral y no en los lados. Los espiráculos posteriores son de tamaño mediano y están localizados sobre la línea media horizontal, en el extremo posterior; cada espiráculo tiene tres

amplias entradas amarillas, cada una con un peritrema mucho más oscuro y tiene un botón pequeño, redondo, blanquecino y no muy visible. En la parte superior e inferior de cada espiráculo posterior posee tubérculos. Los lóbulos anales son redondeados y grandes. El tamaño depende de la alimentación, pero en general, el tercer instar o estadio larval mide aproximadamente 7-9 mm de longitud y 1-2 mm de diámetro. Las larvas poseen movilidad y tiene la capacidad de saltar grandes distancias, lo cual les es de gran ayuda para encontrar sitios donde pupar (Landaverde, 2002).

Las pupas son cilíndricas, generalmente de color café, con 11 segmentos distinguibles. Los espiráculos posteriores de tamaño mediano, de color rojo amarillento o rojo oscuro, localizados centralmente en la línea media horizontal, cada uno con tres pequeñas entradas amarillentas, localizadas en un crecimiento en forma de plato. El plato anal pequeño y de un rojo oscuro. Mide 3-5 mm de longitud y 1.25-2.0 mm de diámetro (Bio Controle, 2003).

Los adultos poseen una cabeza obscura, con la cara blanco grisáceo, ojos compuestos, color iridiscente, con cuatro pares de cerdas fronto-orbitales muy características y distintas en ambos sexos (Servicio Nacional de Sanidad Agraria, 2000).

En los machos la que corresponde al segundo par (contando del vértice) está formado por cerdas modificadas muy características, estas son largas espátulas y nacen de un par de tubérculos bien visibles; el ápice es agrandado en forma de rombo y se encuentra marcado con finas estrías longitudinales. El primer par de cerdas frontales es muy pequeño y poco desarrollado en los machos. En las hembras, el segundo par de cerdas frontales es un tanto más desarrollado que las otras, pero no están modificadas como en el macho y la frente no es tuberculada en las bases de este par. El primer par casi tiene la misma longitud que el tercero y cuarto (SEGARPA, 1995).

En el tórax, el mesonoto es de color negro brillante a café oscuro, con excepción del margen posterior de color amarillo y una marca amarillenta que se extiende a lo largo de cada lado. Los húmeros tienen color amarillo o blanquecido, con una mancha negra brillante en la porción superior, rodeando la base de la cerda humeral. El escutelo es también negro brillante con excepción de una línea angosta, ondulada y amarilla a través de su base (Landaverde, 2002).

Las alas son cortas y amplias, tienen un promedio de 5 mm de largo por 2.5 mm de ancho, con manchas muy características. La parte basal está llena de numerosos puntos redondos y alargados de color que oscilan entre café oscuro y negrozco. En la parte media de la ala hay una banda vertical ancha que se extiende del margen costal a las venas cubitales y primera anal, aunque extinguiéndose gradualmente en la parte baja de la celda M4. Esta banda media es principalmente de color amarillo; la parte superior es café oscuro en la celda subcostal estando el resto rodeado de café. La celda R2 está casi totalmente llena por una mancha grande de color café amarillento, la cual se extiende al ápice del ala a través de la parte media de la celda R3, el ápice de la vena R4-5 tiene una pequeña mancha redonda de color oscura localizada entre el ápice y la vena transversal R-M. La vena R4+5, también tiene una mancha café alargada que se extiende a lo largo de la vena transversa. La segunda vena anal es conspicua se extiende más de $\frac{3}{4}$ de la distancia a través del lóbulo anal. El abdomen es de color amarillento a grisáceo, cubierto con cerdas cortas principalmente negras con un anillo de cerdas más largas en ápice. El primer terguito es de color grisáceo en la parte media; la mitad apical del segundo terguito es de color grisáceo, todo el cuarto terguito es velludo de color grisáceo excepto una base muy angosta de color amarillo. En hembras normales bien desarrolladas sexualmente y grávidas, el abdomen se observa bastante voluminoso, debido al gran tamaño de los ovarios que se encuentran en intensa actividad ovogénica. Las hembras están cubiertas de un ovipositor sin cerdas en la parte apical, punta aguda y el raspador es puntiagudo en la parte media y se extiende hacia la base del abdomen. Funda de ovipositor o el 7° segmento abdominal modificado, menor que la longitud del resto del abdomen. En el macho los clasperes son anchos y no tan alargados como *B. dorsalis* y *B. cucurbitae*, los

lóbulo subapicales del noveno segmento son delgados en forma dactilar. El edeago es muy característico de la especie, el ápice agrandado tiene un abultamiento en forma de saco en su parte dorsal, el cual está densamente cubierto con diminutas espículas, el poro genital está en el ápice de la superficie ventral (Landaverde, 2002).

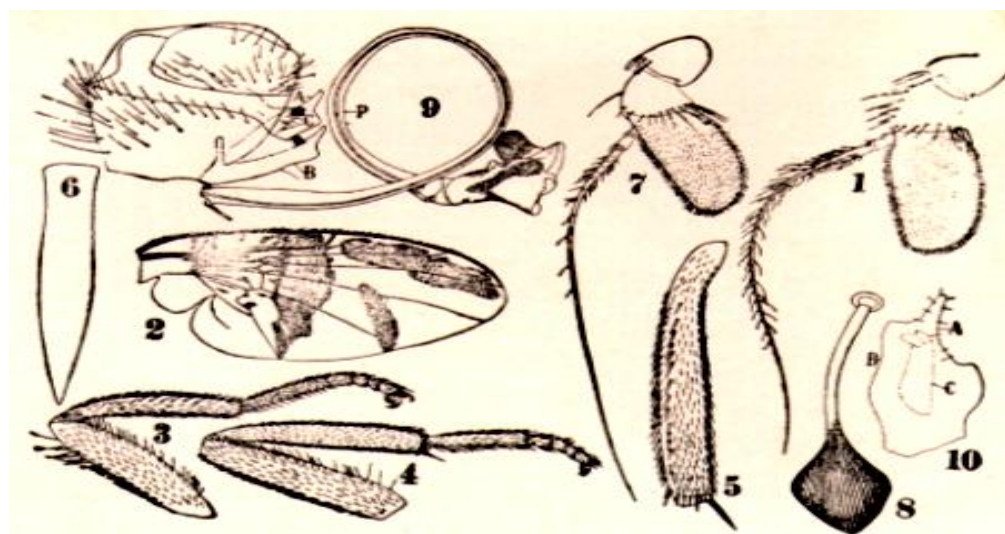


Fig 3. Descripción de las diferentes estructuras de un adulto de *C. capitata*. 1. Antena hembra; 2. Ala; 3. Tercera pata; 4. Segunda pata; 5. Tibia de la segunda pata; 6. Ovipositor; 7. Antena del macho; 8. Macroqueta fronto-orbital del segundo par del macho; 9. Final posterior del abdomen del macho con el aparato genital externo: A, Lado externo; B, Lado interno de la lámina inferior del fórceps; C, Proceso interno; P, Pene. 10. Vista dorsal de la mitad del fórceps copulatorio. A. Cabeza, vista dorsal, B. Mesotórax vista dorsal. Tomada de Landaverde, 2002.

Como se mencionó anteriormente *C. capitata* posee un ciclo de vida muy favorable en términos de adaptabilidad. Una sola hembra puede usualmente colocar en el fruto de 1 a 10 huevos y pueden producir durante toda su vida en condiciones ambientales favorables de 300 a 800 huevecillos. En climas cálidos los huevos duran de 2-7 días y de 20-30 días en climas fríos. Requieren de condiciones húmedas y medias de temperatura. Las hembras se ven más atraídas por frutos de pericarpo blando, no resisten el exceso de aceites esenciales como resinas y látex. Se han reportado alimentándose de jugos de frutos maduros, deyecciones de pájaros, de varias especies de bacterias de la familia Enterobacteriaceae que concentran el

nitrógeno de los frutos maduros y de ligamaza, la que es rica en carbohidratos que sirven como combustible para los músculos del vuelo. Se ven más atraídas a frutos de color anaranjado o amarillo y ovipositan debajo de la cáscara de la fruta del hospedante, acomodando su cuerpo para la introducción del ovipositor. Una vez que los huevos eclosionan la siguiente fase es la larva la cual se alimenta de la pulpa de los frutos, formando galerías dentro del mismo en todas direcciones. Su desarrollo se completa en condiciones favorables de 6-11 días, dependiendo de la temperatura y de la disponibilidad de alimento dentro del fruto. Las larvas pasan por tres instares con periodos cortos de 26 a 48 horas con condiciones óptimas (Raga, 1996). La movilidad de las larvas les permite saltar cuando alcanzan su estado de madurez, se entierran en el suelo y empiezan su fase de pupa (Landaverde, 2002). La larva madura en menor tiempo cuando el fruto cae al suelo, ya que la pulpa se reblandece y el jugo es absorbido a través del integumento. El estado de pupa dura aproximadamente de 9-11 días, cuando las temperaturas se encuentran entre 24 a 26 C. Los adultos emergen rompiendo las pupas con la ayuda del ptilinum. En climas cálidos los adultos de *C. capitata* duran de 1 a 2 meses y hasta 10 meses en climas fríos. Las hembras alcanzan la madurez sexual a los 4-5 días, iniciando la oviposición a los 7-9 días de emergidas; al igual que las hembras, los machos alcanzan su madurez sexual a los 3-4 días, la cual la manifiestan secretando una sustancia ámbar cristalina de olor fuerte, con la cual atraen a las hembras para la cópula, la cual generalmente se realiza en el envés de las hojas. Aunque las hembras requieren de una sola cópula para quedar fertilizadas, estas pueden tener una segunda, siempre y cuando la spermateca tenga capacidad de almacenar semen. Las hembras tienen la capacidad de esperar períodos de tiempo sin ovipositar, es decir, puede esperar que el fruto madure sin afectar su ciclo evolutivo. El ciclo de vida puede durar entre 21 y 30 días cuando las condiciones ambientales (temperatura entre 20-26 C y humedad relativa alta) son óptimas para su desarrollo (Raga, 1996).

Antes de ovipositar la hembra verifica con su proboscis alguna lesión u orificio de oviposición de otra hembra y si la encuentra oviposita. Por lo general, cuando existe escasez de frutos, las hembras depositan sus huevos en frutos ya ovipositados, razón por la cual en ocasiones se

encuentran grandes cantidades de larvas en los frutos; sin embargo en las plantaciones las hembras usualmente no ovipositan si una ya lo ha hecho. La liberación de una feromona le indica a una hembra si el fruto ha sido ovipositado o no. Cuando la hembra no encuentra una fisura en el fruto, ésta busca un lugar indicado, curva el abdomen hacia arriba y abajo fuerza al ovipositor a entrar, lo cual le toma de entre 10 a 20 minutos, se inmoviliza durante la oviposición durante unos 4 minutos. El orificio que deja la hembra en el fruto se convierte en una fuente de entrada de esporas de hongos y bacterias así como otros insectos, lo cual generalmente causa la caída del fruto y la pérdida de la calidad. Los insectos adultos son capaces de desplazarse hasta 14 Km o más (Landaverde, 2002).

Anastrepha spp.

El género *Anastrepha* es el más importante en las zonas neotropicales. Este género posee 185 especies descritas hasta la actualidad y de ellas 15 especies son plagas altamente fitófagas, atacando cultivos de importancia económica y generando restricciones de exportaciones importantes (Moreno *et al*, 1995; Aluja *et al*, 1996). Entre las especies que generan más pérdidas se encuentran: la mosca mexicana de la fruta (*A. ludens*), la mosca del oeste de la india (*A. obliqua*) y la mosca sudamericana (*A. fraterculus*) (Caraballo, 2001).

Anastrepha obliqua (Macquart)

A. obliqua fue descubierta por primera vez en el año 1930 en los Estados Unidos en el estado de Florida. La mosca del oeste de la India como se le conoce a *A. obliqua*, es una plaga de gran importancia tanto a nivel nacional como a nivel mundial. En América se encuentra distribuida en: Estado Unidos, Bermuda, México, Bahamas, Belice, Islas Vírgenes Británicas, Guatemala, Costa Rica, Cuba, Dominica, Republica Dominicana, Guadalupe, Haití, Honduras, Jamaica, Martinica, Montserrat, Panamá, Puerto Rico, St. Kitts and Nevis, St. Lucía, Trinidad

y Tobago, Islas vírgenes americanas, Argentina, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana, Paraguay, Perú, Surinam, Venezuela (Weems, *et al*, 2001). Las moscas de la fruta pueden dividirse en dos grandes grupos: especies univoltinas (una generación al año), que habitan regiones de clima templado con una fluctuación estacional marcada, como moscas del género *Rhagoletis* y las especies multivoltinas (varias generaciones al año), comunes en regiones con clima subtropical y tropical como moscas del género *Anastrepha* spp (Servicio Nacional de Sanidad Agraria, 2000).

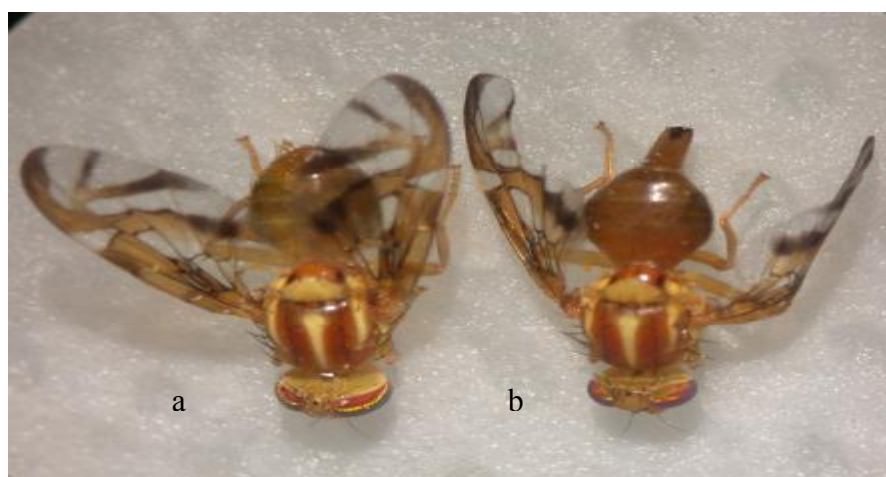


Fig 4. Adultos de *A. obliqua*. a. Macho, b. Hembra Tomado de: Mata y Herrera, 2005.

Algunas especies bajo condiciones tropicales pueden completar hasta 12 generaciones al año, manteniendo niveles de población muy elevadas. De acuerdo a las exigencias del medio ambiente y la época del año se desplazan de una planta a otra. Cuando un hospedante preferido desaparece, migran a otro, lo que les permite completar una nueva generación. A veces atacan simultáneamente tres o cuatro hospedantes si éstos coinciden en su época de fructificación. Algunas especies se caracterizan por preferir cierto tipo de fruto o familia de éstos, por esta razón sus nombres comunes se relacionan con su hospedante preferido. *A. obliqua* es una de las principales plagas del mango (*Mangifera indica*), aunque su rango de hospederos es mayor entre ellos se pueden citar: los cítricos, guayabas, ciruelas, jocotes, etc (Levinson *et al*, 2003) Su presencia en plantaciones implica restricciones de exportación a mercados importantes. Las pérdidas ocasionadas en los frutos y la inversión en monitoreos,

implican elevados costos que repercuten en la actividad. Las moscas adultas son de tamaño medio, de color amarillo (fig. 4).

La cabeza tiene genas y el vértice es amarillo, la carina facial es medianamente desarrollada y sin protuberancia; las sedas ocelares son muy cortas y débiles; los dos pares de sedas orbitales están presentes; la longitud antenal es moderada (figura 5) (SEGARPA, 1995).

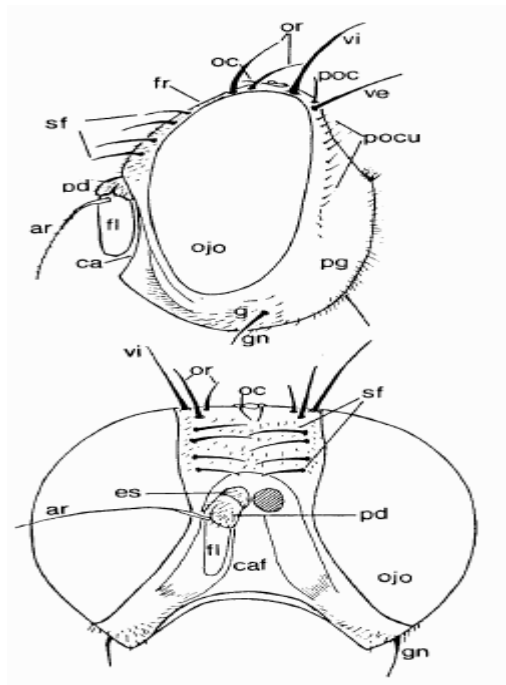


Fig 5. Cabeza en vista lateral y frontal de *A. obliqua* (tomado de Hernández, 1992). ar: arista; ca: cara; caf: carina facial; es: escapo; fl: flagelo; fr: frente; g: gena; gn: seda genal; oc : sedas ocelares; or: sedas orbitales; pd: pedicelo; pg : postgena; poc: sedas postocelares; pocu: sedas postoculares; sf: sedas frontales; ve: sedas verticales externas; vi: sedas verticales internas.

El tórax posee macrosedas castaño negruzcas, con el mesonoto de color amarillo naranja y una franja central ensanchándose posteriormente y con otras dos franjas laterales iniciándose desde poco antes de la sutura transversal al escutellum; escutelo amarillo pálido sin ninguna mancha

en la arte media de la sutura escuto-escutelar; el medio tergito ó metanoto es amarillo naranja y con dos manchas negras a los lados; las vellosidades del tórax son de color café oscuro, excepto sobre la franja central donde es de color amarillo pálido (Fig 6 y Fig 7).

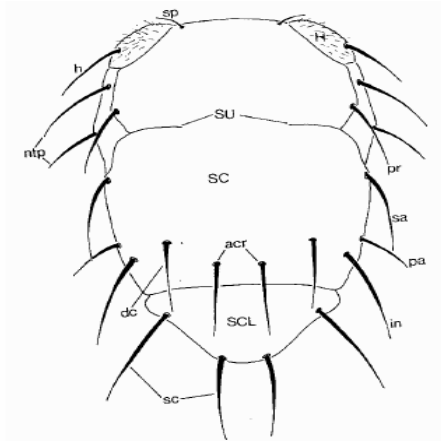


Fig 6. Tórax en vista dorsal de *A. obliqua*. Tomada de Hernández, 1992. acr: sedas acrosticales; dc: sedas dorsocentrales; h: sedas humerales (pospronotales); H: humeros; in: sedas intraalares; nlp: sedas notopleurales; pa: sedas postalares; pr : sedas ppresuturales; sa: sedas supra alares; SC: escudo (scutum); sc sedas escutelares; SCL: escutelo (Scutellum); spp: sedas escapulares; SU: Sutura transversa.

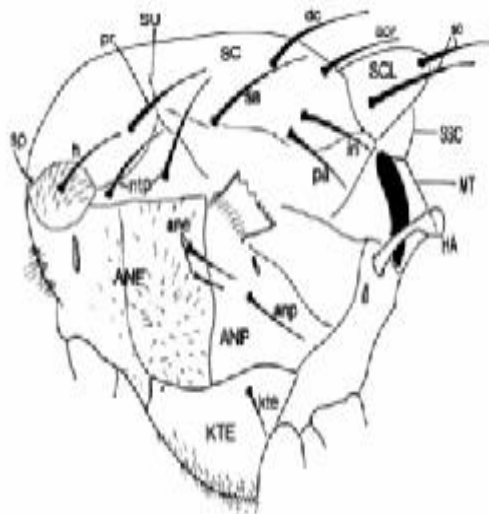


Fig 7. Tórax en vista lateral de *A. obliqua*. Tomada de Hernández, 1992. ANE: anepisterno; ane: sedas anepisternales; ANP: anepimeron; anp: seda anepimeral; HA: halterales; KTE: katépisterno; kte: seda katépisternal; MT: medioterguito (metanoto); SSC: subescutelo (postescutelo).

Las bandas de las alas de son de color café-naranja-amarillo, las bandas S y costal se tocan en la vena R4+5, y en la mancha hialina en el ápice de R1 presente; la banda en V generalmente esta unida a la banda en S, pero en raras ocasiones se encuentran ligeramente separadas por lo tanto la banda V siempre completa; curvatura apical de la vena M moderada y la vena R4+5 casi recta (Fig 8).

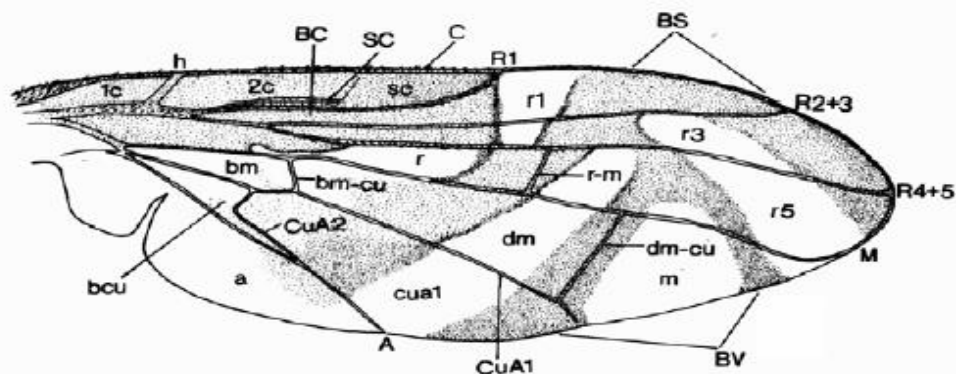


Fig 8. Ala derecha de *A. obliqua*. Tomado de Hernández, 1992. A = vena anal; BC = banda costal; BS = banda S; bcu = celda basal cubital; bm = celda basal media; bm-cu = vena cruzada bm-cu; C = vena cruzada dm-cu; M = vena media; R1 = vena radial 1; R2+3 = vena radial 2+3; R4+5 = vena radial 4+5; r-m = vena cruzada radial-media. Las demás abreviaturas en minúsculas se refieren a las celdas respectivas.

El abdomen con los terguitos son de un solo color. El ovopositor es de 1.3 a 1.6 mm de longitud y presenta de 9 a 11 dientes por lado, en forma de espinas de rosal. La funda del ovipositor o segmento VII generalmente es del tamaño menor que el resto del abdomen (Fig 9)

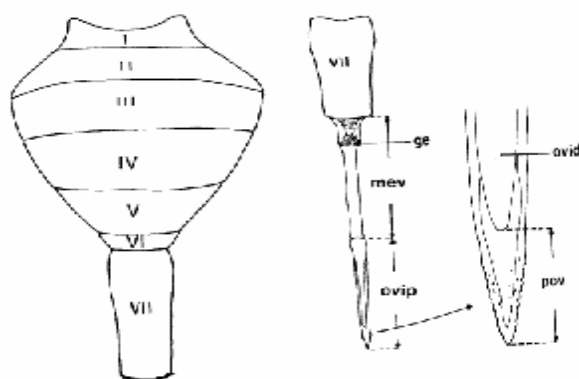


Figura 9. Vista dorsal del abdomen de *A. obliqua* mostrando los terguitos abdominales y la terminalia de la hembra. Tomado de Hernández, 1992. ge = ganchos esclerosados (raspper); mev = membrana eversible; ovid = oviducto; ovip = ovipositor (aculeus); pov = punta del ovipositor

El ciclo de vida se divide en cuatro fases: huevo, larva, pupa y adulto. Las hembras de *A. obliqua* depositan los huevos en frutos ricos en pulpa, que sirven de alimento para las larvas. *A. obliqua* se reporta principalmente en plantaciones comerciales de mango y ciruelas, esta especie de mosca de la fruta se convirtió en una plaga de importancia cuando se introdujo extensivamente el mango en la zona tropical del continente americano, durante el siglo XVIII. El rango de hospederos en donde ovipositan las hembras de *A. obliqua* es mucho menor que el de *C. capitata*, la cual ataca numerosos frutos pertenecientes a diferentes familias. En estudios realizados por Salas (1958) y Christenson y Foote (1960), sugieren que existe una competencia por la oportunidad de ovipositar entre *A. obliqua* y *C. capitata* en plantaciones de mango, se reporta una mayor capacidad de competencia por parte de *A. obliqua*, la cual posee ventajas de tamaño sobre *C. capitata*, aunque ésta posee mayor capacidad de adaptación a nuevos hospederos, mientras que *A. obliqua* prefiere mango y ciruelas principalmente. Tanto *A. obliqua* como *C. capitata* presentan una metamorfosis completa u holometábola, la cual se divide en huevo, larva, pupa y adulto (Camargo et al, 1996). Las larvas de *A. obliqua* son las principales responsables del daño ocasionado en la fruta. Estas se dividen en 11 segmentos, se diferencian la cabeza, el área ventral y dorsal fusiforme. Posee tres instares y su longitud es de 8 a 10 mm, posee lóbulos anales unilobulados, un aparato bucofaringeo con 7 a 9 carinas y espiráculo anterior posee de 12 a 15 dígitos. La larva pasa por tres instares hasta que se prepara para la pupación. La pupa consta de una cápsula de forma cilíndrica con 11 segmentos, de color café oscuro, en estado natural este estado dependerá principalmente de las condiciones ambientales (temperatura y humedad), variando de 8 a 15 días (condiciones óptimas) hasta meses (climas con temperatura y humedad muy baja). Una vez que la mosca eclosiona o abandona su estado pupal, entra en su estado maduro el cual fue descrito anteriormente (Carrol et al, 2005).

Métodos de combate de *las moscas de la fruta*

Combate legal

Los programas de manejo integral cuentan con regulaciones impuestas por instituciones u organizaciones que se encargan de regir cuarentenas, permisos de movilización de frutos, certificados de origen, certificaciones de huertos, aplicaciones de controles, etc. El rango de acción es muy alto ya que comprende acuerdos internacionales, nacionales, regionales y locales. El control legal depende del seguimiento de las regulaciones por parte de los productores, comités locales y comités regionales. Además se requiere de un constante monitoreo de poblaciones para tener registros de la plaga y la identificación de la biodiversidad en la plantación. Las entidades encargadas de regir estas normas y estatutos deben de incorporar y diversificar los diferentes tipos de controles, de una forma efectiva (Boscán, 1993). En Costa Rica el ente encargado de realizar este control es el Servicio Fitosanitario del Estado el cual reconoció la presencia de la mosca del mediterráneo (*C. capitata*) y moscas del género *Anastrepha* en territorio nacional realizado a través de monitoreos constantes con trampas con torula como atrayente. A través de este combate se ha logrado declarar 24 743 hectáreas libres de mosca de la fruta en la Cruz de Guanacaste, evitando así pérdidas millonarias (Servicio Fitosanitario del Estado, 2003).

Combate etológico y detección

En el caso específico de *C. capitata* se ha trabajado con trimedlure, el cual es un producto sintético que no se relaciona con las feromonas de la mosca, pero posee un fuerte poder atrayente sobre los machos. Para la atracción de las hembras existe en el mercado una

combinación de sobres denominado Tripak®, el producto está basado en tres ingredientes activos: acetato de amoníaco, putrescina y trimetil-amina, también se ha reportado que la sustitución de trimetil-amina por metil-pirrolidina produce mejores efectos. Se ha venido trabajando en el desarrollo de trampas esterilizantes, las cuales se evalúan con hembras de *Ceratitis* vírgenes y copuladas, donde se ha reportado que los inhibidores de la síntesis de quitina producen un efecto esterilizante. Las fenil- benzoilureas (inhibidoras de la síntesis de quitina) impiden la eclosión de los huevos *C. capitata*, debido a que la larva que nace dentro del huevo no cuenta con suficiente quitina en su superficie y no es capaz de perforar la cubierta del huevo. Los cebos esterilizantes son geles con fagoestimulante y un comprimido emisor del atrayente (Primo, 2003).

Como se mencionó anteriormente las feromonas son de gran ayuda en la detección de la plaga por medio de trampeos. El método consiste en colocar y manejar en operación una red de trampeo estratégicamente instalada, utilizando como atrayente feromonas sexuales o atrayentes alimenticios. Se utilizan trampas de color amarillo, las cuales ejercen un efecto visual sobre las moscas. En general, esta técnica detecta oportunamente la presencia de la mosca en estado adulto, sus índices poblacionales, distribución geográfica y el nivel de infestación en un área determinada, además permiten evaluar la efectividad de diferentes tipos de control (autocida, biológico, químico, etc). La temperatura, humedad, fuentes de agua, disponibilidad de alimento y corrientes de aire son factores que influyen en su dinámica poblacional y a esta debe responder el trampeo. En la época lluviosa la eficiencia de la trampa disminuye, por la alta humedad relativa que no permite la volatilización del Trimedlure y por la poca actividad de la mosca en días nublados. En época seca la probabilidad de captura es más alta, sin embargo la densidad de trampas dependerá de las vías de acceso, presencia, continuidad y maduración de frutos hospederos. Es necesario y oportuno realizar periódicamente recolección de frutos hospederos de la plaga de una forma selectiva, con el fin de evaluar efectividad de diferentes tipos de control (Segade, 1993). Dentro de las principales trampas utilizadas para mosca de la fruta se encuentran la Jackson y la McPhail.

La primera consta de un atrayente para atraer machos y de un piso con pegamento en donde el insecto queda adherido; se suele colocar una trampa por hectárea. Por otro lado, la McPhail consiste de botellas invaginadas de plástico o vidrio transparente. Poseen un fondo invaginado con una abertura de entrada. Se llenan con sustancias atrayentes, como Torula o vinagre de vino al 25%. Se suelen colocar tres por hectárea, ya que no tiene el radio de atracción que las trampas Jackson. Pueden fabricarse en forma casera con una botella de vidrio ó de plástico transparente con el fondo invaginado. Se perfora el fondo, se le coloca el atractivo y se tapa en la parte superior. El líquido se renueva una vez por semana, desechándolo lejos del sitio donde se colocó la trampa. Las trampas deben colocarse en el momento en que suelen aparecer los primeros adultos y se las debe revisar semanalmente. Si se detecta la presencia de una mosca en dos recuentos sucesivos ó varias en un recuento, hay que aplicar. Una forma efectiva de combatir la mosca es mediante el uso de cebos tóxicos. El cebo tóxico lleva un atrayente y un insecticida. Para preparar 100 litros de cebo, a 100 litros de agua se le agrega un atrayente (500 g de extracto de malta ó 5 kg de melaza ó 1kg de azúcar ó 1 litro de proteína hidrolizada). A esa mezcla de agua y atrayente se le agrega a continuación el insecticida (generalmente 100 cm³ de mercaptotión). El cebo debe prepararse en el día, agitarse bien, pulverizarse y aplicarse árbol por medio ó fila por medio, preferentemente en el sector soleado de la planta. Dentro de los tipos de trampas diseñadas para el monitoreo y detección de moscas de la fruta se pueden mencionar también: las trampas Steiner, Nadel, Multilure y Rebell, (Landaverde, 2002; Toledo, 2005).

Control mecánico-cultural

El manejo adecuado de una plantación es uno de los factores básicos en el control de plagas agrícolas. La ubicación de la plantación debe proporcionar las condiciones adecuadas al cultivo. La distancia entre árboles e hileras debe ser la adecuada, la distribución de la plantación, el riego, fertilización y podas deben de realizarse de manera regular. La presencia

de varios hospederos dentro de la plantación incrementara el riesgo de la presencia de moscas de la fruta, principalmente las de alto rango de ataque, como por ejemplo *C. capitata*, ya que las moscas tendrán frutos disponibles durante todo el año. Aspectos primordiales dentro del control mecánico- cultural, lo constituyen la recolección y enterrado de toda fruta caída y madura en el árbol que no se vaya a comercializar. Al enterrar el fruto caído (muchas veces larvado) se eliminan las larvas y se evita que las hembras grávidas ovipositen. Se recomienda también no permitir que la cosecha permanezca sobre el árbol, madure y se descomponga en el huerto. Cuando se coseche, debe insistirse en cortar toda la cosecha del árbol. Todo fruto caído, desechado o maduro debe enterrarse a una profundidad de 60 cm de la superficie y ser tapado con tierra. También se debe de controlar las malezas que crecen dentro del huerto, ya que de otra manera no se visualiza adecuadamente dónde cae la fruta y permite a las moscas recién emergidas hallar un refugio donde protegerse de los depredadores y las inclemencias del tiempo. Otra medida importante es el rastreo del suelo para exponer a la superficie las pupas enterradas en el mismo; éstas morirán por desecación o al ser depredadas (Boscán, 1993: Comité Técnico Sectorial Agropecuario, 1999).

Control químico

Para el combate de las moscas de las frutas es posible hacer aplicaciones selectivas. Estas se logran mediante la combinación de un cebo con un tóxico. El beneficio de este tipo de aplicación consiste en no afectar a otros insectos que pueden ser benéficos y de esta forma se minimiza el efecto sobre el equilibrio de los ecosistemas. Los insecticidas recomendados son del tipo Malathión, ya que éstos, además de ser efectivos contra las moscas de las frutas, son de baja toxicidad para el hombre, animales domésticos y son poco residuales. El cebo más confiable es la proteína hidrolizada, debido a su mayor atracción, pero, a falta de ésta, es posible utilizar productos de fermentación como las melazas. Debido a su selectividad y poder de atracción, esta mezcla no se aplica con una cobertura total, sino que se puede aplicar en

bandas alternas. Otra alternativa es la aplicación en mancha a los troncos de los árboles. La época de la aplicación dependerá de la situación específica de cada lugar. En general, se recomienda efectuarlas con un intervalo de 8 a 15 días durante la época de fructificación. No es conveniente hacerlas al momento de la floración, aun cuando el trampeo indique la presencia de la plaga, ya que el contacto de la gota con la flor puede ocasionar la caída de éstas. Tampoco deberán hacerse después de la época de fructificación, ya que entonces la presencia de las moscas no provoca daño económico (Boscán, 1993).

Equipo y forma de aplicación

Al efectuar la aplicación de un cebo tóxico, el equipo utilizado en estas operaciones no es importante. Sin embargo, se debe poner énfasis en el cubrimiento y tamaño de la gota, la cual debe ser de mediana a grande. El equipo a utilizarse por vía terrestre puede ser una bomba de mochila o de presión con motor. En aplicaciones aéreas se emplean aviones y helicópteros adaptados con soportes que tienen pocas boquillas. En un sistema de manejo integrado de plagas, la decisión de aplicar o no, está en función de los umbrales económicos. En el caso de las moscas de las frutas, esos umbrales deben ser determinados para cada caso particular en función a las condiciones ambientales, de producción y de mercado. En general, se recomienda intensificar las aspersiones en la orilla de los huertos y en zonas de hospederos alternos o silvestres, ya que se ha encontrado en varias ocasiones que la mayor parte de las moscas que atacan un huerto vienen de fuera, y son los árboles de las orillas los más atacados. Deberán seguirse siempre las medidas de seguridad recomendadas para el uso de insecticidas. En general, el uso de químicos en una plantación se recomienda solo cuando los niveles de infestación son muy altos, pero dentro de un sistema integrado, el control químico ocupa un lugar bajo en la pirámide (Landaverde, 2002).

Control Autocida

El control autocida es una de las formas más utilizadas a nivel mundial. Es introducido por Knippling en 1937 y es conocido como la técnica del insecto estéril (TIE) (Landaverde, 2002). Esta técnica consiste en esterilizar un gran número de insectos para que compitan en apareamiento con los insectos normales en una población natural. Como consecuencia, la población natural se reduce o pierde su capacidad de reproducción. La magnitud de la pérdida de la capacidad de reproducción está en relación con la proporción de insectos esterilizados y su capacidad de competencia, respecto a los insectos normales presentes. En la mayoría de los casos la técnica está orientada a la esterilización de los machos, aunque en el proceso mismo de la esterilización el efecto se produce en ambos sexos. Debido a que en este sistema de control de plagas se utilizan individuos de la misma especie, se dice que el método es autocida. El término autocida se usa también para la incompatibilidad citoplásmica y la producción de híbridos infértiles entre insectos de la misma especie. Esta técnica se ha utilizado en el país durante muchos años atrás, por ejemplo en la zona central sur, se han liberado machos estériles de *C. capitata*, en un programa de colaboración con la Comunidad Europea. Otro organismo que impulsó la cría de parasitoides y de machos estériles es OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria), situado en Guadalupe junto al laboratorio de Entomología del M.A.G; entidad responsable de la primera liberación de machos estériles en territorio nacional en el año de 1961 (Ministerio de agricultura y Ganadería, 1991).

La técnica se basa en la liberación en la naturaleza de machos estériles de la especie que se quiere combatir, con el objetivo de reducir al mínimo su descendencia. En este caso es necesario realizar una cría masiva de la especie que se lleva a cabo en las llamadas biofábricas. Sin embargo, antes de poder controlar una plaga mediante la Técnica del Insecto Estéril, es necesario provocar un previo descenso en el número de hembras de las poblaciones del insecto en la zona donde quiere aplicarse la TIE. En caso contrario los resultados no serían

del todo satisfactorios y los costos de aplicar la técnica serían demasiado elevados (Allinghi, 2003).

En las biofabricas, los huevos puestos por millones de moscas son sometidos a un incremento de temperatura (son introducidos en agua a 35 grados Celsius) para eliminar las que darán lugar a hembras, ya que sólo éstas son destruidas a tal temperatura, mientras que las pupas que darán lugar a machos la resisten. Después se siembran en un medio nutritivo donde puedan desarrollarse las larvas (más de siete mil larvas en cada caja con medio nutritivo), que pupan en lugares ambientalmente controlados y a oscuras al cabo de 12 días. La separación también puede realizarse mediante la diferente coloración de las pupas. La clave la aporta un gen ligado al sexo. Este gen controla la coloración de la pupa: blanca si el insecto es hembra; color café si el insecto es macho. De esta manera pueden seleccionarse solo las pupas de machos y se eliminan las de las hembras. Sea cual sea el método de selección, a continuación las pupas de machos son sometidas a radiación (rayos X, rayos gamma). Una vez esterilizadas las pupas se deja que completen su ciclo biológico y los machos adultos son liberados en las plantaciones donde se desea controlar la plaga. Este tipo de biofábricas exportan grandes cantidades de insectos esterilizados a todo el mundo. Los laboratorios de insectos estériles siguen instrucciones de seguridad en todas las etapas de producción del insecto estéril. El equipo de irradiación es inspeccionado regularmente y no se han encontrado problemas asociados con su uso. Los insectos no son radioactivos y no presentan ningún riesgo al medio ambiente. La única posible consecuencia negativa que presenta este método de control, es el hecho de que las moscas liberadas tengan la capacidad de competir por copular con las moscas hembras. Además esta técnica implica una inversión grande para la compra de los esterilizadores (Lux *et al*, 2002).

Existen varias metodologías y protocolos para esterilizar moscas de la fruta, principalmente se obtienen mediante radiaciones y con esterilizantes químicos. La esterilización por irradiación se lleva a cabo con radiaciones ionizantes de los rayos X y rayos gamma. La

utilización de los rayos gamma resulta más fácil y económica gracias al desarrollo de los radio-isótopos artificiales, que producen un mayor volumen de radiación. Los isótopos más comúnmente usados como fuentes de rayos gamma son el Cobalto-60, con una vida media de 5.3 años y el Cesio-137 con una vida media de 30 años. Las unidades de tratamiento pueden consistir en una fuente de radiación que se eleva para irradiar el material contenido en una cámara; o, por el contrario, la cámara de tratamiento es subterránea y el material a irradiar se baja hacia ella por dispositivos especiales. Otras unidades de tratamiento, generalmente más pequeñas, son de tipo horizontal. En general los insectos holometábolos son irradiados en forma de pupas aprovechando que en este estado los insectos son fácilmente manipulables y tolerantes a las radiaciones. La tolerancia se incrementa con la edad de la pupa lo que permite provocar la esterilización del insecto sin que se afecten apreciablemente otras condiciones del adulto. Cuando se irradian huevos, larvas o pupas muy jóvenes se producen altas mortalidades en esos mismos estados. La esterilidad de los machos puede ser debida a: (a) aspermia (falta de esperma), (b) mutaciones letales dominantes en el esperma y (c) inactividad del esperma. El efecto logrado está, hasta cierto punto, relacionado con el estado de desarrollo del insecto durante la radiación. En general es preferible que la capacidad de formación del esperma no sea alterada, salvo que el acto de cópula en sí sea suficiente para que la hembra no acepte otras cópulas. La radiación de pupas de mosca mediterránea con 8,000 a 10,000 roentgen produce machos estériles cuyos espermatozoides son predominantemente móviles (Allinghi, 2003).

Con lo que respecta a la esterilización química, ciertos compuestos son capaces de causar esterilidad de los insectos. Este efecto puede deberse a las siguientes mecanismos: (a) aspermia o falta de óvulos (esterilizantes antimetabolitos), (b) muerte del óvulo o del esperma después de haberse formado y (c) producción de mutaciones letales dominantes en el esperma o en los óvulos (agentes alkilantes). Esto último es lo más deseable pues en estas condiciones los machos resultan mejores competidores de las poblaciones normales que en los otros casos. En algunas especies y con algunos productos esterilizantes el efecto de esterilización puede ser permanente y en otros casos sólo temporal. Los antimetabolitos son sustancias que producen síntomas similares a la ausencia de metabolitos específicos esenciales para el desarrollo de las

células, en este caso de las células germinativas. Entre los numerosos compuestos antimetabolitos están las purinas y las pirimidinas. Los agentes alquilantes son compuestos capaces de reemplazar el hidrógeno de una molécula orgánica por grupos alquílicos; como consecuencia, el esperma sufre defectos genéticos que evitan el desarrollo del cigoto después de la fertilización. Entre los agentes alquilantes está el importante grupo de las azarinas al cual pertenecen los compuestos afomida, afólate, tepa, metepa, tio-tepa y tetramina. El tratamiento con los esterilizantes varía en las diversas especies de insectos. El proceso más simple es la inmersión de pupas en el compuesto esterilizante por un tiempo determinado. La esterilización en el estado adulto es más complicada debido a que los insectos adultos son normalmente muy activos y susceptibles a dañarse cuando están muy aglomerados. La esterilización puede ser por contacto en adultos recién emergidos o por ingestión del producto esterilizante. Los esterilizantes químicos son fácilmente absorbidos y muy peligrosos; pueden causar esterilización, cáncer y teratogénesis o deformaciones congénitas en los humanos. Se buscan nuevos productos que no tengan estas características (Alemany, 2003).

El modelo teórico se basa en que los individuos esterilizados son totalmente competitivos con los individuos normales y se encuentran uniformemente distribuidos dentro de la población natural. En la mayor parte de los casos parece que tales conjeturas no se cumplen satisfactoriamente. Ha sido demostrado que la crianza de insectos en condiciones de laboratorio puede afectar las cualidades de la población. Por otro lado, el proceso de esterilización normalmente afecta la competitividad de los individuos, inclusive cuando ésta se establece en condiciones de laboratorio. Las irradiaciones de 8 a 10 kr., disminuyen la aptitud de apareamiento de la mosca mediterránea, siendo mayor la disminución con la dosis más alta. En condiciones de laboratorio, moscas mediterráneas estériles y normales en proporción de 30:1, registran una reducción de la viabilidad de huevos de 60 a 80 por ciento, lo que no es suficiente para reducir la población normal. Si estos son los resultados en laboratorio, es de suponerse que en condiciones de campo las formas estériles se encuentran todavía más desfavorecidas tanto por su competencia de apareamiento como por su distribución. Además, un porcentaje de individuos mueren durante el proceso de liberación. Para determinar la

cantidad de insectos estériles que debe liberarse hay que conocer previamente el número de insectos normales que se encuentran en el campo. Esta evaluación suele ser muy compleja. Entre los métodos que se emplean se encuentran el trapeo directo de la población y el método del marcado-liberación y recaptura. Otro problema con el método es que cualquier error en el proceso que produzca una esterilización incompleta tendría consecuencias catastróficas en el campo. Es necesario controlar en forma continua la efectividad de la esterilización mediante copulaciones cruzadas entre los machos irradiados y las hembras normales y entre las hembras irradiadas y los machos normales, debiendo registrarse la fertilidad correspondiente (Lanadaverde, 2002).

Control Biológico

El control biológico consta de la liberación y establecimiento de enemigos naturales de las moscas de la fruta para controlar las poblaciones de la misma. Es una forma equilibrada y barata de mantener la biodiversidad de las especies dentro de la plantación. Los organismos utilizados para controlar una plaga deben de ser específicos y efectivos en condiciones de campo (permanecer viables en condiciones adversas). Las liberaciones se recomiendan cuando los niveles de infestación en la plantación son bajos o regulares (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 1991). Tradicionalmente se han utilizado parasitoides de la familia *Braconidae* del orden Hymenoptera. Desde 1960, OIRSA (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria) estableció en el país un programa de reproducción y liberación de parasitoides para *C. capitata*. En la actualidad se reproducen parasitoides de pupas de moscas del orden Hymenoptera en el laboratorio del programa nacional de la fruta ubicado en Pavas (Servicio Fitosanitario del Estado, 2003). Se han descrito varios parasitoides para moscas de la fruta. Para *Anastrepha obliqua* se reportan: *Sppalangia philippinensis*, *Sppalangia endius*, *Doryctabracon areolatus*, *Doryctabracon crawfordi*, *Diachasmimorpha longicaudata*, *Uteres anastrephae*, *Biosteres tryoni*, *Coptera haywardi*, *Opius Bellus*, *Asobara anastrephae*, *Opius spp* y *Doryctibracon spp*. Por otra parte, para *C. capitata* se reportan los siguientes

parasitoides: *Diachasmimorpha tryoni*, *Diachasmimorpha kraussii*, *Opius fullawayi*, *Opius hirtus*, *Opius humilis*, *Dirhinus ehrhorni*, *Dirhinus giffardii*, *Tetrastichus giffardianus*, *Opius perproximus*, *Galesus silvestrii*, *Trichopria capensis*, *Syntomospphyrum indicum*, *Opius kraussii*, *Fopius arisanus*, *Bracon celer*, *Doryctobracon areolatus*, *Coptera haywardi*, *Coptera occidentales*, *Coptera robustior*, *Coptera silvestrii*, *Aganasppis pellerranoi*, *Aganasppis nordlanderi*, *Biosteres desideratus*, *Odontosema anastrephae*, *Lopheucoila anastrepha*, *Aceratoneuromyia indica*, *Trichopriaanastrephae*, *Uretes anastrephae*, *Chiracanthium mildei*, *Ganaseis carvalhoi*, *Diachasmimorpha longicaudatus*, *Biosteres oophilus*, *Fopius ceratitivorus*, *Fopius caudatus*, *Biosteres angaleti*, *Biosteres bevisi*, *Biosteres dacusii*, *Biosteres fullawayi*, *Biosteres hageni*, *Biosteres vandenboschi*, *Opius bellus*, *Opius concolor*, *Opius perproximus*, *Pachycrepoideus dubius*, *Pachycrepoideus vindemmiae*, *Pimpla pomurum*, *Psytalia concolor*, *Tetrastichus spp*, *Sppalangia enditus*, *Iridomyemex humilis*, *Solenopsis geminata*, *Opius Malaiensis*, *Eucoila spp*, *Isurgus spp*, *Aphaereta minuta*, *Opius fletcheri*, *Trybliographa spp*, *Sppalangia philippinensis*, *Spphergigaster*, *Belonuchus rufipennis*, *Opius incisi*, *Pheidole megacephala*, *Ectemniustimidoventris*, *Crabo unicolor*, *Psytalia insignipennis* (Sivinski *et al*, 2000; García y Montilla, 2001; Stibick, 2003; Núñez *et al*, 2003).

A la hora de liberar parasitoides en el campo el productor puede ayudar a la reproducción de parasitoides en una forma artesanal. Para ello, se hace un hoyo en el suelo de aproximadamente 1.0 m³ con tierra suelta en el fondo del mismo, se recoge la fruta caída, la cual es de suponer que contiene moscas parasitadas, y se coloca en el hoyo; sobre la fruta se coloca una red metálica del tamaño del hoyo y de malla pequeña de manera que no pase la mosca que pueda emerger, pero puedan salir los parasitoides. Se deja por 10 a 15 días, posteriormente se asperja sobre la fruta con una mezcla de insecticida para matar la mosca que pueda sobrevivir, se quita la malla para lavarla y ocuparla de nuevo y se tapa el hoyo con tierra bien compacta. De esta forma se entiende que la fruta en el suelo está con larvas de mosca y también que las larvas han sido parasitadas; así también las larvas que se entierren para pupar pueden ser alcanzadas por parasitoides de tercer instar larval o de pupas, por lo tanto, se promueve la reproducción (Landaverde, 2002).

Además de los parasitoides se han reportado microorganismos que infectan diferentes especies de mosca de la fruta. Para *A. obliqua* se reporta susceptibilidad a los hongos del orden *Entomophthorales*, y la exotoxina beta de *Bacillus thuringiensis*, para el tercer instar larval, el agente Phloxine B-Mazoferm 802 y Mazoferm 802 condensado hidrolizado de *Lactobacillus* spp (Stibick, 2003).

Mientras que para *C. capitata* se reporta el agente Avermectin B1(MK-936) toxina derivada de la fermentación de *Streptomyces avermitilis*, el agente Phloxine B-Mazoferm 802, Mazoferm 802 condensado hidrolizado de *Lactobacillus* spp, la bacteria de suelo *Saccharopolyspora sintosa*, los hongos entomopatógenos: *Entomophthora muscae*, *Entomophthora schizophorae*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumoroseus*, los nematodos entomopatógenos *Steinernema feltiae*, *Steinernemafeltiae*, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema riobrave*, el nematodo depredador *Diplogaster* spp, las exotoxinas de *Bacillus thuringiensis*, las cepas EC 3.1.21 y EC 3.1.31 de la bacteria *Serratia marcescens*, *Nosema tephritidae*, los virus Ceratitis Picornavirus V, Ceratitis Reovirus I, Rhabdovirus signa, Picornavirus C (DCV). Además se han realizado pruebas con pesticidas botánicos como Azadirachtin, derivado del árbol de Neem (*Azadirachta indica*) (Stibick, 2003; Viñuela, *et al*, 2000).

Aspectos generales de los hongos entomopatógenos

A nivel mundial existe un importante interés en la explotación e investigación de hongos que producen enfermedades en invertebrados, y es evidente el número de productos comerciales disponibles bajo desarrollo, a base de estos microorganismos. Las tendencias de investigación y comercialización de estos organismos se basan en una serie de beneficios que se pueden optar al incluirlos como biocontroladores de plagas, como por ejemplo en la productividad de

los cultivos, en la salud animal y humana, y en el aumento en la producción. El producto final para comercializar pasa por una serie de procesos en donde se ven involucradas una gran variedad de disciplinas como la patología, ecología, genética, biotecnología, fisiología, producción en masa, formulaciones y aplicación de estrategias. Los productos a base de bacterias, virus, nemátodos y hongos son una opción en donde se han prohibido los productos químicos, en donde los insectos han generado resistencia a estos productos, o en sistemas de producción orgánica. Además son una herramienta de valor en las nuevas tendencias de los mercados importantes, en donde se exigen productos libres de contaminación, esto aunado a la preocupación por la preservación de la biodiversidad y la salud humana (Butt *et al*, 2001).

Los hongos entomopatógenos fueron los primeros microorganismos reportados como causantes de enfermedades en insectos, esto debido a su crecimiento macroscópico en la superficie del hospedero. La mayoría son patógenos obligados o facultativos, aunque algunos son simbióticos y saprofitos. Constituyen un grupo de importancia en el control de plagas agrícolas, ya que virtualmente todos los insectos muestran susceptibilidad a las enfermedades que causan. Se conocen alrededor de 100 géneros de hongos entomopatógenos afectando principalmente a los órdenes *Hemiptera*, *Diptera*, *Coleoptera*, *Lepidoptera*, *Hymenoptera* y *Orthoptera*, los cuales constituyen los ordenes en donde se encuentran las plagas más dañinas en la agricultura. Entre los más estudiados y utilizados se encuentran *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, los cuales se han incorporado a nivel mundial y regional en programas de control biológico (Butt *et al*, 2001; Monzon, 2001; Obregón, 2001; Alean, 2003).

En general los hongos entomopatógenos afectan todos los estadios del insecto, principalmente adultos, estados inmaduros (ninfas, larvas), sin embargo el estado de pupa y huevo son menos comunes. Además la especificidad es variada, ya que algunos son muy específicos a una sola especie de insectos, mientras que se encuentran también de alto rango (Alean, 2003).

El crecimiento y desarrollo están limitados principalmente por las condiciones del ambiente (temperatura, humedad, luminosidad). La alta humedad y alta temperatura les permite una mejor esporulación y germinación de las esporas. El modo de acción de los hongos entomopatógenos es muy particular ya que inicia cuando la spora esta en contacto con la cutícula externa del insecto, este mecanismo se presenta solo en estos organismos y en algunos nemátodos entomopatógenos, al contrario sucede en otros agentes entomopatógenos como los virus y bacterias en donde la infección del insecto ocurre por vía oral (Dimbi *et al*, 2003).

Es de esencial importancia que el insecto entre en contacto con el inóculo, específicamente con las esporas del hongo, lo cual ocurre al azar en condiciones ideales de clima y en donde exista suficiente cantidad de inóculo. Específicamente la epicutícula o capa más externa del integumento del insecto es el sitio inicial de interacción. El integumento es una estructura compleja, cuya composición es importante para el proceso de penetración. Las características físicas y químicas de las superficies de integumento y de la spora son las responsables de esta unión. Entre los componentes principales del integumento se encuentran lípidos, lipoproteínas, polifenoles y proteínas. Azúcares no-estructurales y compuestos nitrogenados producidos por las plantas o el insecto pueden contaminar la cutícula, afectando así el proceso de fijación. Algunas glicoproteínas pueden servir como un receptor específico para las esporas. La micosis ocurre por lo general en tres fases, la germinación de la spora en la cutícula del insecto, la penetración del integumento por medio de un tubo germinativo y el desarrollo del hongo por dentro del cuerpo del insecto y su multiplicación. En este se pueden verificar los siguientes pasos: Adhesión, germinación, penetración, multiplicación del hongo, producción de toxinas, muerte del insecto, colonización, producción de micelio hacia el exterior, esporulación y diseminación del hongo (Monzon, 2001; Obregón, 2001).

La adhesión se da cuando las esporas del hongo se fijan en la superficie del insecto. Este proceso es el más importante y depende de una serie factores que pueden ser de relevancia a la

hora de implementarlo en un programa de control biológico. Dentro de este proceso intervienen lectinas, mucos polisacáridos y en menor cantidad algunos lípidos. La germinación es el proceso siguiente, el cual se da cuando la espora emite uno o varios pequeños tubos germinales, los cuales por crecimiento y alargamiento dan origen a las hifas y además emite un tubo germinativo el cual forma más adelante un apresorio. El tubo germinativo puede ser de tamaño variable y en algunos casos puede no llegar a formarse. En el proceso de germinación juegan un rol importante los requerimientos nutricionales de la espora y las condiciones ambientales presentes. El nivel de agua es determinante en el crecimiento de los hongos y pequeñas diferencias en los niveles de humedad relativa después de la aplicación de conidias, pueden determinar de un modo u otro el éxito del hongo en el control de insectos plaga. El resultado de la germinación y la penetración no depende necesariamente del porcentaje total de germinación sino del tiempo de duración de la germinación, modo de germinación, agresividad del hongo, el tipo de espora y la susceptibilidad del hospedero (Obregón, 2001).

Una vez que ocurre la germinación ocurren una serie de transformaciones físicas y químicas tanto el huésped como en el hongo, lo que permite la entrada del patógeno. En general, una vez que la conidia está germinada estas penetran por medio de una combinación entre la degradación enzimática de la cutícula y la presión mecánica por el tubo germinal. La capa cuticular es deformada por la presión ejercida por el extremo invasivo de la hifa. Se produce un tubo germinativo y un apresorio, él se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio se da la penetración al interior del cuerpo del insecto. En conjunto actúan dos mecanismos uno físico y uno químico. El físico consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, el cual rompe áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción de varias enzimas principalmente proteasas, lipasas y quinasas, las cuales degradan el tejido, lo que facilita la penetración física. Las enzimas descubiertas en el tubo germinativo son proteasas, aminopeptidasas, lipasas, esterases, y N-acetil-glucosamidasa (quitinasas). El proceso de multiplicación se da en el interior del cuerpo del insecto, principalmente por gemación produciendo formas miceliales libres y unicelulares

llamadas blastosporas en los Deuteromycetes, también se pueden formar hifas, protoplastos y células sin pared (Monzon, 2001; Alean, 2003; Mora, 2004).

Los insectos tienen un sistema inmunológico que les permite reconocer y reaccionar a partículas extrañas como propágulos de hongos, bacterias y virus, en el hemocele del insecto, los cuales pueden ser fagocitados, evitando así la presencia de otros organismos. Los hongos son capaces de infectar a través de la cavidad bucal, espiráculos y otras aberturas externas de un insecto. Debido a que la humedad no es un problema en el tracto alimenticio, la espora puede germinar rápido en este ambiente, por otro lado los fluidos digestivos pueden destruir la espora o hifa germinativa. En ciertas ocasiones la digestión de estructuras fúngicas pueden causar la muerte por toxicidad más que por micosis. Los hongos pueden infectar a través de los espiráculos y otros cuerpos abiertos. Una vez en el hemocele, la mayoría de los hongos convierten el crecimiento micelial en una fase de levadura o sea crecimiento por gemación. La producción de toxinas y enzimas son las responsables de la muerte del insecto ya que consumen todos los nutrientes o destruyen por acción física. Los hongos pueden evitar la defensa inmune de un insecto por desarrollo de protoplastos que no son reconocidos por la población de hemocitos del insecto, también formando cuerpos hifales multiplicándose y dispersándose rápidamente y produciendo micotoxinas. El crecimiento del micelio en el cuerpo del insecto induce síntomas fisiológicos anormales tales como convulsiones, falta de coordinación y comportamientos alterados. Una vez que el hongo causa la muerte del insecto, éste emerge del cuerpo, si las condiciones son las óptimas. La esporulación ocurre sobre el cadáver dependiendo de las condiciones, ya que si éstas no son favorables, las esporas permanecen dentro del insecto por algunos meses esperando que las circunstancias cambien. La esporulación ocurre generalmente en cadáveres pero puede ocurrir también en insectos vivos. La dispersión de las esporas depende de la forma del esporangio, y pueden pasarse de insecto a insecto o por adhesión de esporas que se encuentren en el ambiente (Monzon, 2001; Alean, 2003).

Beauveria spp (Vuill)

El género *Beauveria* está compuesto por varias especies, entre las cuales se reportan *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *B. amorpha* y *B. velata*. La principal especie y la más estudiada es *B. bassiana*, la cual tiene una amplia distribución geográfica (se ha aislado del suelo y de insectos) y resulta patogénico a diversos ordenes y a más de 200 especies de insectos. Pertenece a la clase Deuteromycete, orden Moniliales y a la familia Moniliaceae (Alean, 2003).

Entre las plagas más importantes controladas por este hongo están la broca del café, “la palomilla del repollo”, “picudo del plátano” (*Cosmopolites sordidus*), así como el picudo de la chiltoma (*Anthonomus eugenii*) (Mora, 2004).

B. bassiana se ha usado en forma comercial en diferentes lugares del mundo, por ejemplo en Rusia, se ha utilizado por más de 15 años dentro de programas de control biológico de *Leptinotarsa decemlineta*. En Europa se utiliza para el control de *Laspeyresia pomonella*, en Brasil se estudia para el control de *Cerotoma spp*, *Diabroticas peciosa* y *Chalcodermus aenus* (González *et al*, 1996).

Los insectos que mueren debido al efecto de este hongo, presentan una cubierta blanca algodonosa sobre el cuerpo, la cual está formada por el micelio y esporas del hongo. El micelio se caracteriza por presentar una coloración blanca, conidióforos sencillos, irregularmente agrupados o en grupos verticilados, en algunas especies hinchados en la base y adelgazándose hacia la porción que sostiene la conidia, la cual se presenta en forma de zigzag, después de que varias conidias se producen. Las conidias son hialinas, redondeadas a ovoides y unicelulares. *B. bassiana* posee conidias de globosas a subglobosas (2-3 x 2.0-2.5 µm) y las estructuras conidióforas forman densos grupos (Bustillo y Posada, 1996).

Metarhizium spp (Sorok)

Este hongo entomopatógeno se ha registrado desde el siglo XIX, por el microbiólogo ruso Metchnikoff para el control de larvas del coleóptero *Anisoplia austriaca*. Los mejores representantes de este género son las especies *M. flavoviride* y *M. anisopliae*, el último se ha encontrado en más de 200 especies de insectos, entre los cuales se encuentran especies de importancia económica. (Bustillo y Posada, 1996; Obregón, 2001).

El micelio del hongo tiene una apariencia verde oliva y polvorienta, crece bien a temperaturas de 5-27 C y humedad relativa del 90%, cuando esta en proceso de esporulación el hongo pasa de una coloración blanca a una verde oscura.

Metarhizium anisopliae posee esporas cilíndricas, las cuales son de una longitud de $> 9 \mu\text{m}$.

Paecilomyces spp (Bainier)

El género presenta hifas hialinas a amarillosas, septadas, de paredes delgadas. La mayoría presenta ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de fiálides, las cuales pueden ser también solitarias. Las fiálides constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio. Los conidióforos llevan cadenas de conidias; éstas son hialinas, unicelulares y de forma ovoide. Las infecciones causadas por *Paecilomyces* se reconocen por el color rosado pálido y violeta claro. La especie más importante del género es *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith. (Bustillo y Posada, 1996).

Lecanicillium spp (Nees)

Anteriormente conocido como *Verticillium*, este género posee conidióforos poco diferenciados de las hifas vegetativas, las células conidiógenas (fiálides) están en forma de verticilios de dos a seis, en parejas o solitarias sobre hifas o apicalmente sobre cortas ramificaciones (Samson y Rombach 1985). Las conidias de *Lecanicillium spp* son pequeñas, hialinas cilíndricas o elipsoidales y redondeadas en sus extremos; con medidas que varían de 2,3 - 10.0 milimicras de largo por 1.0 - 2.5 milimicras de ancho. Estas conidias nacen en forma de gotas filamentosas o en cadenas. El entomopatógeno *Lecanicillium spp* es un hongo de amplia distribución y puede provocar epizootias de gran magnitud en regiones de clima tropical y subtropical, así como en los ambientes cálidos y húmedos de invernaderos (Alean, 2003).

Los hongos entomopatógenos más estudiados y los que han generado más investigación son *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. En el país, la Dirección de Investigación de Caña de Azúcar (DIECA), reproduce *M. anisopliae* y *B. bassiana* desde 1989 como una herramienta dentro del manejo integrado de plagas del “Salivazo de culebra” (Homoptera: Cercopidae) y de la “Cigarrita Antillana” (Homoptera: Delphacidae), no obstante, los hongos han mostrado también ser patogénicos hacia otros insectos plaga que afectan al cultivo, entre ellos: el “Gusano Cogollero”, el “Falso Medidor”, los “Jobotos”, el “Picudo Rayado”, el “Barrenador Menor del Tallo” y “Perkinsiella” (Mora, 2004).

En lo que respecta a la aplicación, los conidios de los hongos son empleados de diferentes formas dependiendo de la ubicación del insecto, el desarrollo del cultivo y de las características topográficas del lugar. Para el control de insectos de follaje como el “Salivazo”, “la Cigarrita” y “Gusanos cortadores”, es recomendado asperjar una suspensión acuosa de conidias, de manera tal que las mismas sean depositadas idealmente sobre el insecto meta.

Para tal efecto puede utilizarse tanto equipo terrestre (bombas de espalda, “boom” o cañón). En el caso de insectos de suelo, se recomienda ya sea incorporar el material (hongo con sustrato) o aplicar una suspensión al suelo manera de “Drench”, tratando de hacer que las conidias penetren y alcancen a los insectos. Para otros insectos como el “Picudo Rayado”, el hongo se deposita sobre cebos atrayentes contenidos dentro de trampas tipo “bambú o galón”, esto con el objeto de que el insecto atraído se contamine con el hongo (Mora, 2004).

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar la patogenicidad y virulencia de cuatro géneros de hongos entomopatógenos *Beauveria* spp, *Paecilomyces* spp, *Metarhizium* spp y *Lecanicillium* spp, para el combate de *C. capitata* y *A. obliqua*, en condiciones de laboratorio.

Objetivos Específicos

- Establecer poblaciones de machos y hembras de moscas de la fruta, colectadas en fincas productoras de naranja de los cantones de Mora y Acosta.
- Establecer un procedimiento de inoculación de los hongos *Beauveria* spp, *Paecilomyces* spp, *Metarhizium* spp y *Lecanicillium* spp, en pruebas de laboratorio a machos y hembras adultos de *C. capitata* y *A. obliqua*.
- Comprobar la micosis de los hongos entomopatógenos evaluados en el cuerpo de las moscas de la fruta, por medio del establecimiento de cámaras húmedas.
- Realizar conteos de esporas por individuo adulto de ambas especies de moscas de la fruta parasitadas con los hongos entomopatógenos evaluados, para determinar la cantidad de conidias absorbidas por el insecto.

- Realizar reaislamientos de los hongos entomopatógenos evaluados, a partir de moscas parasitadas, utilizando la técnica de siembra directa en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa.
- Analizar la posibilidad de incorporar los aislados más patogénicos en condiciones de laboratorio, dentro de plantaciones de frutales en la zona regional central sur y en el país.

METODOLOGÍA

El ensayo experimental se realizó en dos etapas, la primera fase (establecimiento de poblaciones de moscas de la fruta) se llevó a cabo en el Laboratorio de la Sede Central Sur del Ministerio de Agricultura y Ganadería, ubicado en el Estero de Puriscal, San José; Costa Rica. La segunda fase (pruebas de patogenicidad con diferentes géneros de hongos entomopatógenos), se realizó en el Laboratorio de Fitoprotección del Centro Nacional Especializado en Agricultura Orgánica del Instituto Nacional de Aprendizaje, ubicado en San Rafael de Oreamuno, Cartago; Costa Rica.

1. Fase (Establecimiento de poblaciones de mosca de la fruta provenientes de los muestreos)

Se realizaron muestreos completamente al azar en dos fincas productoras de naranjas ubicadas en los cantones de Acosta y Mora, San José; Costa Rica, en el mes de septiembre del año 2005. Se colectaron 30 frutos por cada finca, tanto de las copas como caídos. Se seleccionaron frutos con signos de oviposición (perforaciones de apariencia negra con halo clorótico); frutos que no estuvieran en estado de descomposición; frutos que estuvieran en estadio maduro y que no presentaran síntomas fitopatológicos o de deficiencias nutricionales.

Los frutos colectados se colocaron en bandejas de plástico y se trasladaron al laboratorio del Ministerio de Agricultura y Ganadería.

En el laboratorio se colocaron en recipientes plásticos (30x15x10) cm, los cuales contenían aserrín como sustrato y una malla de tela fina de organza de manera tal que permitiera la circulación de aire. Los recipientes se colocaron a temperatura ambiente y se realizaron observaciones cada 15 días, evaluando los estadios del ciclo de vida de las moscas y la presencia de otros insectos.

Con el objetivo de determinar estadios larvales se procedió a seleccionar tres frutos de cada recipiente, se seccionaron con un bisturí, evaluando el número total de larvas por frutos. El número total de pupas, se determinó tamizando el aserrín a través de un colador.

Los adultos se colocaron en recipientes cubiertos con tela fina de organza, y el alimento se proporcionó con esponjas de polietileno, que contenían una solución de agua azucarada y torula.

II. Fase (Pruebas de patogenicidad y virulencia de los aislados *in vitro*).

En frascos de vidrio se colocaron 15 individuos adultos de moscas de la fruta de ambos sexos, facilitados por el Laboratorio Nacional de la Mosca de la Fruta, ubicado en Pavas de San José, Costa Rica. Posteriormente con la ayuda de una sacabocados estéril se obtuvieron discos de micelio en activo crecimiento de los hongos entomopatógenos de 1.0 cm de diámetro, los cuales pertenecían a la micoteca del Laboratorio de Fitoprotección del Instituto Nacional de Aprendizaje. Con una aguja micológica estéril se colocó en cada frasco un disco de micelio al cual se le esparció una punta de espátula de dieta artificial granulada, como atrayente.

Se establecieron 8 tratamientos, cuatro repeticiones y los respectivos testigos (cuadro 1), esto para *A. obliqua*, mientras que para *C. capitata*, se evaluaron 7 tratamientos.

Cuadro 1. Información de los aislados de los cuatro géneros de hongos entomopatógenos utilizados en el presente estudio, pertenecientes a la micoteca del Centro de Agricultura Orgánica del Instituto Nacional de Aprendizaje, Oreamuno de Cartago.

Género	Código del aislado
<i>Beauveria</i> spp	BV-INA BV-INA OG
<i>Metarhizium</i> spp	MTRH- INA N MTRH- INA BC
<i>Paecilomyces</i> spp	P- INA G P- INA P
<i>Lecanicillium</i> spp	LL- INA V3 LL- INA TM*

*El aislado LL - INA TM, fue utilizado solamente en *A. obliqua*.

Los frascos con las moscas se colocaron a una temperatura de 25 ± 2 C, 80% humedad relativa, por un período de 15 días. Transcurrido este periodo se evaluó el porcentaje de mortalidad y el tiempo letal medio; seguidamente las moscas se colocaron en cámaras húmedas para verificar el desarrollo micelial. Las moscas contenidas en los frascos fueron alimentadas con dieta granulada y el agua fue suministrada diariamente por medio de esponjas humedecidas.

De cada tratamiento se seleccionaron 10 moscas parasitadas y se procedió a realizar siembras directas, colocando tres moscas parasitadas en placas de petri que contenían P.D.A (Agar Papa-Dextrosa) acidificado. Las placas se incubaron por un periodo de ocho días a una temperatura de 26 ± 2 C, 80% de humedad y un fotoperíodo regulado (12 horas luz, 12 horas oscuridad). Transcurrido este período y con el objetivo de obtener medios puros, con una asa bacteriológica se realizaron frotos sobre el micelio y siembras estriadas en cajas de petri que contenían P.D.A (Agar Papa-Dextrosa) acidificado; se incubaron por un período de 8 días a una temperatura 26 ± 2 C, 80% de humedad y un fotoperíodo regulado (12 horas luz, 12 horas oscuridad). Posteriormente se realizó un reconocimiento del hongo evaluando sus características morfológicas (micelio, color, forma de las esporas, etc).

Para determinar la cantidad de esporas absorbidas individualmente por cada mosca en los respectivos tratamientos; se seleccionaron 5 moscas parasitadas, las cuales se colocaron en tubos eppendorf[®] que contenían 1 ml de agua destilada estéril, adicionándole 0.1 ml de Tween 20 al 80%. Cada tubo se colocó en un vortex por 5 minutos, luego se tomó con una micropipeta 10 μ l y se colocaron en el hemacitómetro o cámara de Neubauer, se realizó el conteo de conidias en el microscopio utilizando un aumento de 40 X y se aplicó la siguiente fórmula:

$$C = N \times De \times Fc$$

Donde:

C= concentración de la suspensión madre

N= numero promedio de conidios por cuadrante

De= Dilución empleada

Fc= factor de la cámara

Análisis estadístico

La mortalidad de las moscas fue ajustada con la fórmula de Abbott (ver anexo 1). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a los datos de mortalidad transformados (arcoseno de la raíz del porcentaje de mortalidad), con el fin de normalizar la varianza. Los promedios de cada tratamiento fueron separados utilizando la prueba de Student Newman Keuls (SNK). El tiempo letal medio fue determinado para cada repetición y comparados entre sí utilizando una ANOVA seguida de una separación de medias por el método Student Newman Keuls (SNK). Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico SPSS (versión 8.0, 1997) y a un $p \geq 0.5$

RESULTADOS

I. Fase (Establecimiento de poblaciones de mosca de la fruta provenientes de los muestreos)

En el cuadro 2, se muestra los promedios de larvas, pupas y adultos de *Anastrepha* spp y *Ceratitis* spp, obtenidas en los muestreos realizados en dos fincas productoras de naranja.

Cuadro 2. Promedio de larvas, pupas, y adultos de moscas de la fruta obtenidas, procedentes del muestreo en campo realizados en dos fincas productoras de naranja ubicadas en los cantones de Mora y Acosta de la provincia de San José

Procedencia	Larvas			Pupas			Adultos		
	A	C	O*	A	C	O*	A	C	O*
Acosta	4.8	0.0	1.0	5.4	0.0	0.8	18	0.0	10
Mora	3.2	0.0	1.4	4.2	0.0	3.2	13	0.0	12

A=*Anastrepha*, C= *Ceratitis*, O=Otras

*La categoría de otras se refiere a pupas, larvas y adultos obtenidas que no correspondían a ningún genero de moscas de la fruta de la familia Tephritidae.

Las larvas y pupas obtenidas se identificaron por su tamaño y forma. Se observaron pupas de mosca de la fruta parasitadas por *Diachasmimorpha longicaudatus*, hecho comprobado posteriormente por la emergencia de adultos de esta especie.

En los estadios adultos, se observaron moscas domésticas (*Musca domestica*), parasitoides de pupas (*Diachasmimorpha longicaudatus*) y moscas de vinagre (*Drosophila melanogaster*). No se encontraron especimenes de *C. capitata* en los muestreos realizados, además las especie de *Anastrepha* encontrada se identificó como *A. neoludens*, la cual es un biotipo de la mosca mexicana de la fruta (*A. ludens*).

El cuadro 2, muestra una mayor cantidad de moscas adultas en la finca ubicada en Acosta, en donde en cada recipiente se encontraron 2.4 moscas, hecho que ocurre de igual forma con respecto a las larvas obtenidas, 4.8 por recipiente.

II. Fase (Pruebas de patogenicidad y virulencia de los aislados in vitro)

La figura 10 y 11 muestran los resultados obtenidos en las evaluaciones de mortalidad acumulada y tiempo letal medio para ambos géneros de moscas de las frutas de acuerdo al tratamiento evaluado.

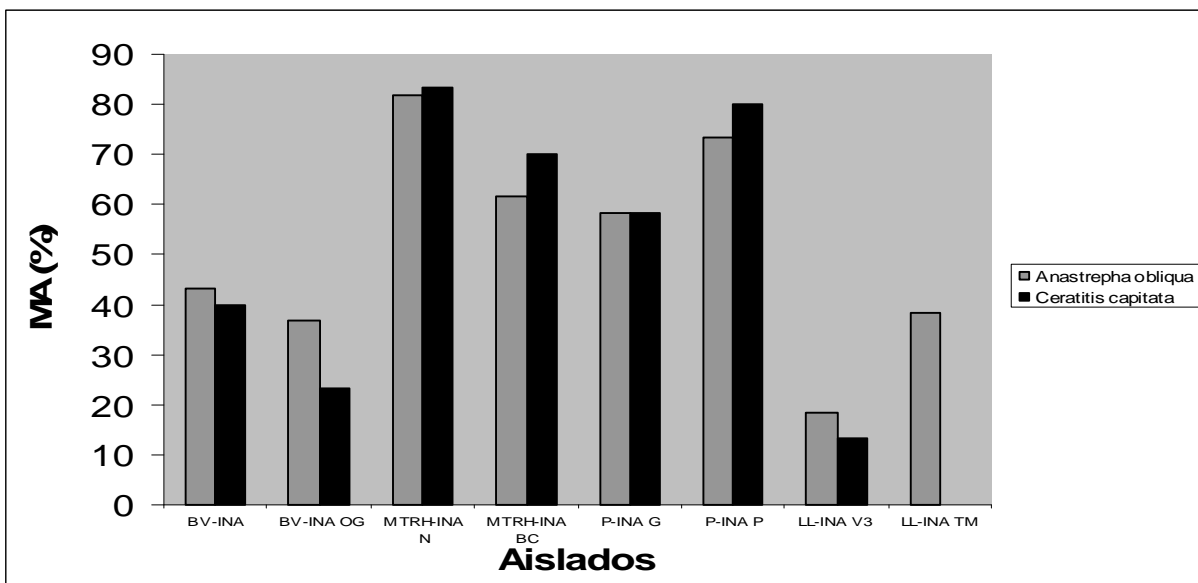


Fig. 10. Mortalidad acumulada a los 4 días de adultos de *A. obliqua* y *C. capitata* después de la inoculación de los aislados evaluados

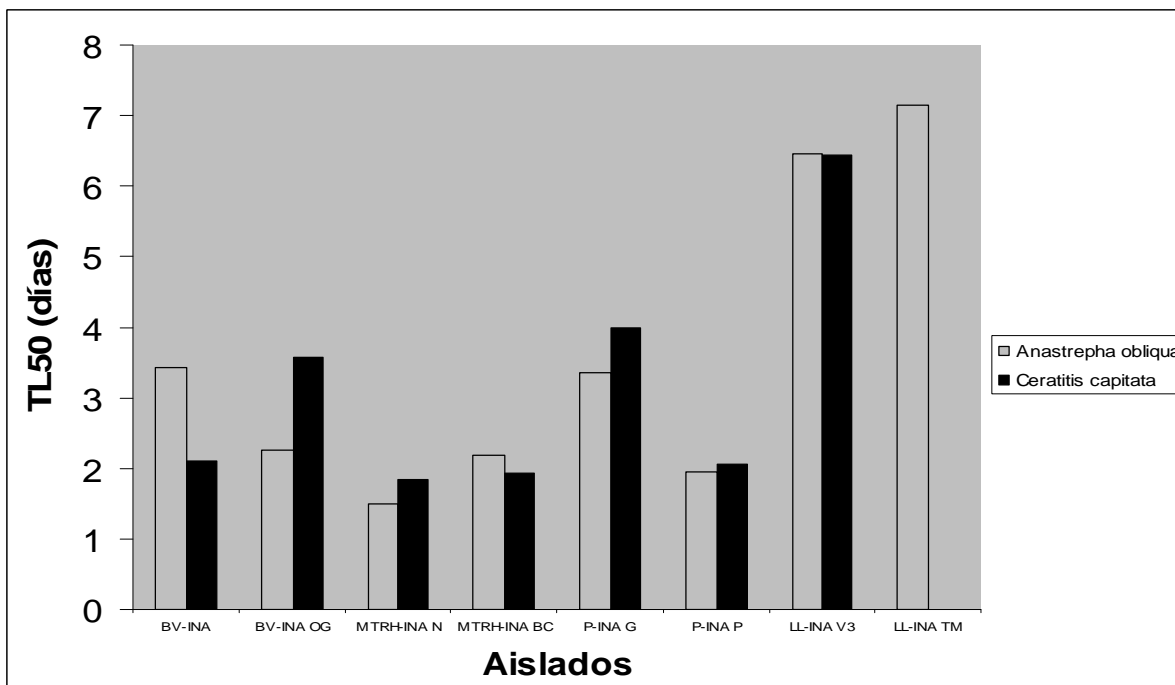


Fig. 11. Tiempo que le toma a los aislados de los hongos entomopatógenos evaluados acabar con la mitad de la población de *C. capitata* y *A. obliqua*

El comportamiento de los aislados es muy similar en su efecto patógeno sobre *C. capitata* y *A. obliqua* (ver figura 10 y 11). El aislado MTRH-INA N mostró el mayor porcentaje de mortalidad acumulada, seguido de P-INA P, MTRH-INA BC, P-INA G, BV-INA y BV-INA OG de *Beauveria* spp, y por último LL - INA V3 y LL - INA TM de *Lecanicillium* spp. Cabe destacar que el aislado LL - INA TM solo se evaluó en *A. obliqua*.

Estadísticamente se determinó que existieron diferencias significativas ($P \geq 0.5$) entre los tratamientos así como entre los aislados, en el cuadro 3, se muestra los valores estadísticos tanto de la mortalidad acumulada como del tiempo letal medio.

Cuadro 3. Patogenicidad de los aislados de los hongos entomopatógenos evaluados. Porcentaje de mortalidad acumulada a los 4 días y tiempo letal medio, en adultos de *A. obliqua* y *C. capitata*, después de la inoculación con los hongos entomopatógenos: *Beauveria* spp, *Metarhizium* spp, *Paecilomyces* spp y *Lecanicillium* spp

Género	Aislado	<i>Ceratitis capitata</i>		<i>Anastrepha obliqua</i>	
		MA (%)	TL ₅₀	MA (%)	TL ₅₀
<i>Beauveria</i> spp	BV-INA	40.00 b	2.11 a	43.30 bc	3.43 b
	BV-INA OG	23.30 a	3.57 b	36.70 b	2.25 b
<i>Metarhizium</i> spp	MTRH-INA N	83.30 d	1.85 a	81.70 d	1.50 a
	MTRH-INA BC	70.00 cd	1.92 a	61.70 c	2.20 a
<i>Paecilomyces</i> spp	P-INA G	58.30 c	4.00 b	58.30 c	3.37 b
	P-INA P	80.00 d	2.06 a	73.30 d	1.95 a
<i>Lecanicillium</i> spp	LL - INA V3	13.30 a	6.43 c	18.30 a	6.47 c
	LL - INA TM*			38.50 bc	7.15 d

Los valores de las medias que aparecen con la misma letra al lado son estadísticamente iguales según la prueba de SNK, con un $P=0.05$. Los datos fueron transformados a arcsen antes de realizar el análisis.

*El aislado LL - INA TM, fue utilizado solamente en *A. obliqua*. A los 4 días de inoculación los testigos no presentaron porcentajes mortalidad.

En el cuadro 3, también se muestra los valores de tiempos letales medio (lapso que toma al aislado en provocar la mortalidad de la mitad de la población de moscas evaluadas). Estos valores reiteran la tendencia señalada en la mortalidad acumulada para los aislados

evaluados. Los aislados MTRH-INA N, MTRH-INA BC, P-INA P y BV-INA mostraron valores significativamente iguales, aun así el más efectivo fue el aislado MTRH-INA N, esto para *C. capitata*. Para *A. obliqua*, los resultados muestran similitudes, el aislados MTRH-INA N y el MTRH-INA BC, P-INA P; muestran mayor velocidad en provocar la muerte de la mitad de las moscas. Se observa que no existen diferencias estadísticas con los aislados BV-INA y BV-INA OG y el aislado P-INA G. Los aislados menos efectivos fueron los aislados LL- INA V3 y LL - INA TM. Los testigos de cada tratamiento mostraron tiempos letales medios de 18 días después de la iniciación de los bioensayos.

Los resultados del crecimiento micelial observado a los 6 días después de colocar las moscas en las cámaras húmedas se muestran en el cuadro 4, el cual se detalla la presencia de micelio de los aislados evaluados.

Cuadro 4. Promedio de la presencia de micelio en los cuerpos de las moscas de la fruta evaluadas en las cámaras húmedas establecidas seis días después de su colocación.

Especie	Aislado	Promedio de moscas con micelio*	
		<i>C. capitata</i>	<i>A. obliqua</i>
<i>Beauveria spp</i>	BV-INA	5.7	9.7
	BV-INA OG	8.0	9.0
<i>Metarhizium spp</i>	MTRH-INA N	10.0	10.0
	MTRH-INA BC	10.0	10.0
<i>Paecilomyces spp</i>	P-INA G	8.5	8.5
	P-INA P	10.0	10
<i>Lecanicillium spp</i>	LL - INA V3	5.0	6.0
	LL - INA TM		6.0

*Estos promedios fueron calculados en base a las 15 moscas de cada uno de las repeticiones de los tratamientos evaluados.

Se constató una mejor respuesta de crecimiento micelial en el caso de los aislados BV-INA OG, MTRH-INA N, MTRH-INA BC, P-INA P y P-INA G, esto en la caso de *C. capitata* (ver figuras 12,13,14). Los aislados del género *Lecanicillium spp*, mostraron los valores más bajos de presencia micelial, esto para ambas especies de moscas evaluadas.

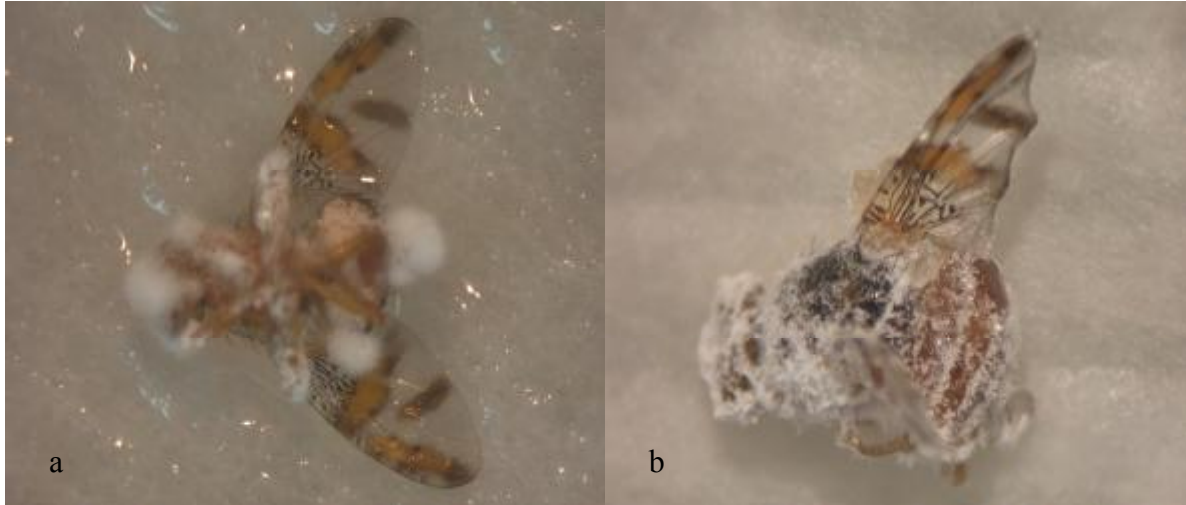


Fig. 12. Adultos de *C. capitata* con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género *Beauveria*. a). BV-INA OG. b). BV-INA

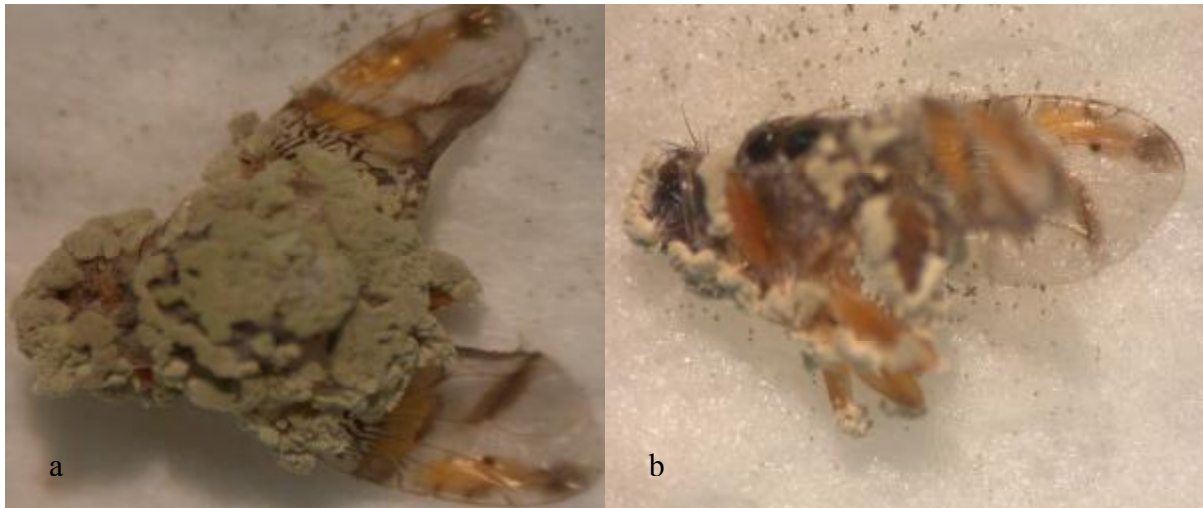


Fig. 13. Adultos de *C. capitata* con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género *Metarhizium*. a). MRTH-INA BC. b). MRTH-INA N

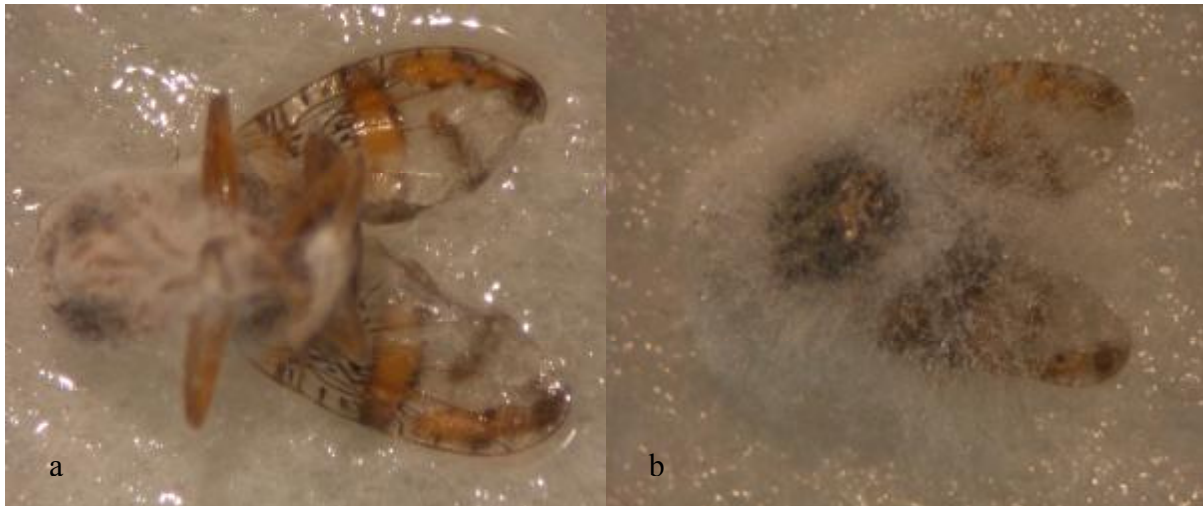


Fig. 14. Adultos de *C. capitata* con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género *Paecilomyces*. a). P-INA G. b). P-INA P

Para *A. obliqua*, se observa el mismo comportamiento observado para *C. capitata*, (ver figuras 15, 16,17).

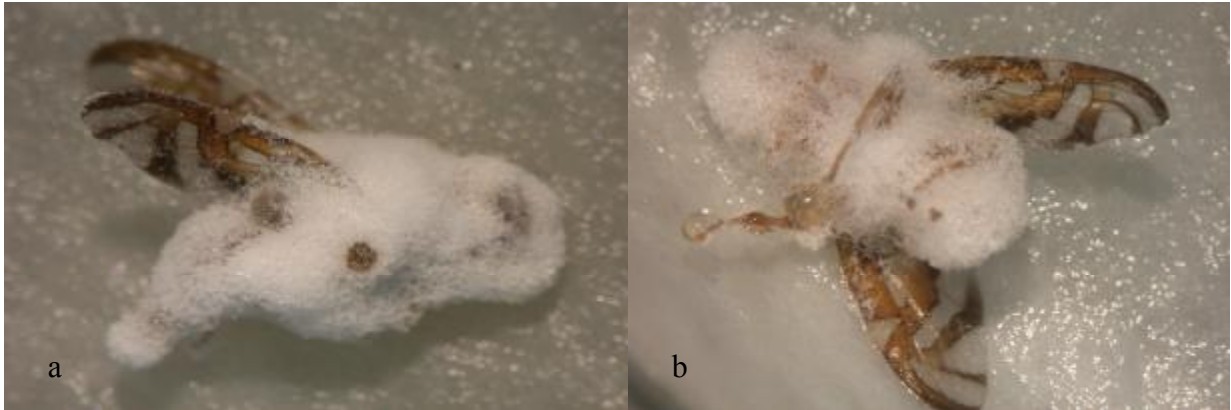


Fig. 15. Adultos de *A. obliqua* con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género *Beauveria*. a). BV-INA OG. b). BV-INA



Fig. 16. Adultos de *A. obliqua* con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género *Metarhizium*. a). MRTH-INA BC. b). MRTH-INA N

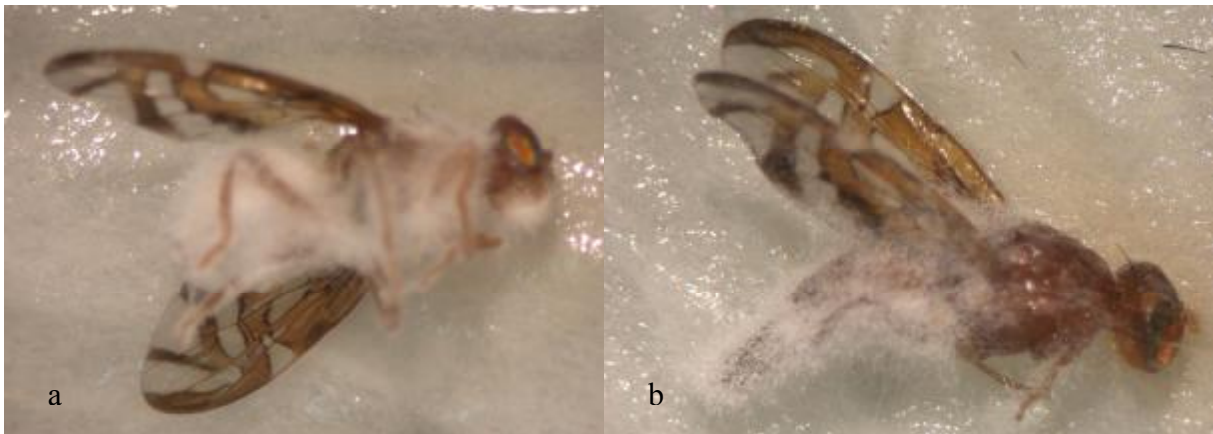


Fig. 17. Adultos de *A. obliqua* con crecimiento micelial del hongo entomopatógeno del género *Paecilomyces*. a). P-INA G. b). P-INA P

El cuadro 5 muestra los resultados de los promedios obtenidos para cada tratamiento de los conteos de esporas absorbidas individualmente por cada individuo de mosca de la fruta.

Cuadro 5. Promedio de la cantidad de esporas recogidas individualmente por las 5 moscas de la dos especies sometidas a los ensayos de patogenicidad.

Especie	Aislado	Promedio de esporas recogidas	
		<i>C. capitata</i>	<i>A. obliqua</i>
<i>Beauveria</i> spp	BV-INA	3.7 X 10 ⁵	4.0 X 10 ⁵
	BV-INA OG	3.4 X 10 ⁵	3.0 X 10 ⁶
<i>Metarhizium</i> spp	MTRH-INA N	12.2 X 10 ⁶	13.5 X 10 ⁶
	MTRH-INA BC	13.0 X 10 ⁶	15.0 X 10 ⁶
<i>Paecilomyces</i> spp	P-INA G	5.0 X 10 ⁵	4.3 X 10 ⁵
	P-INA P	12.5 X 10 ⁶	17.5 X 10 ⁶
<i>Lecanicillium</i> spp	LL - INA V3	3.0 X 10 ⁵	2.6 X 10 ⁵
	LL - INA TM		2.2 X 10 ⁵

Como se puede observar el cuadro 5, muestra un promedio de las 5 moscas las cuales fueron utilizadas con el fin de contar las esporas absorbidas individualmente por cada mosca. Los valores más altos se dan en los aislados de *Metarhizium* spp y *Paecilomyces* spp. Por otro lado, *Lecanicillium* spp y *Beauveria* spp reportan los valores más bajos. El aislado que reporta mayor promedio de absorción de esporas es P-INA P de *Paecilomyces* spp, seguido del MTRH-INA BC y del MTRH-INA N ambos de *Metarhizium* spp, esto para ambas especies de moscas de la fruta.

DISCUSION

Los muestreos realizados en las plantaciones de naranja en los cantones de Mora y Acosta de la provincia de San José, Costa Rica; evidenciaron la presencia de mosca de la fruta del género *Anastrepha* spp. En ambas localidades el número de larvas de la mosca la fruta indicaron índices elevados de infestación, lo cual evidencia la necesidad de incorporar controles a esta plaga. Los frutos de naranja muestreados en el cantón de Acosta presentaron mayor número de larvas (4.8 por fruto muestreado) que en el cantón de Mora (3.2 por fruto muestreado) (Cuadro 2). La presencia de larvas en los frutos es un factor que limita al productor a comercializar su cosecha, por tal motivo representa un indicador importante y de consideración para el agricultor. Ambas fincas muestreadas presentaban sistemas agrícolas diversificados, en donde además de naranjas, presentaban cultivares de café y otros frutales. El índice de infestación por parte de moscas de la fruta aumenta cuando existen otros hospederos dentro de las plantaciones, así como la falta de controles por parte del agricultor. Debido a que ambas localidades presentan condiciones similares en cuanto a su clima y precipitación (clima lluvioso con estación seca definida, promedio de precipitación de 2.500 mm y temperaturas de 21 C), las diferencias que se encontraron se atribuyen a los controles y el manejo que se lleven a cabo en las plantaciones. El número de larvas encontradas concuerda con el número de adultos obtenidos (2.4 y 1.4) para los cantones de Acosta y Mora respectivamente. La diferencia entre el número de larvas y pupas encontradas con respecto al número de adultos obtenidos, se debió a que se reportó un parasitoide (*Diachasmimorpha longicaudatus*), presente en los recipientes, lo cual redujo la emergencia de adultos; además existían pupas dañadas y con deficiencias en cuanto al desarrollo normal, lo cual pudo ser debido a que las condiciones internas dentro del recipiente no eran óptimas y a que el sustrato (aserrín) no proporciono las condiciones adecuadas.

Los resultados de los muestreos también señalan la ausencia de especímenes *C. capitata*. La presencia *C. capitata* ha sido reportada para las localidades muestreadas por Cordero *et*

al, 2000, los cuales por medio de muestreos estratificados durante el año 1999 obtuvieron una idea del comportamiento de las poblaciones de ambos géneros de moscas de la fruta (ver anexo 2). Para estas zonas en los meses de julio a diciembre las poblaciones de *C. capitata* descienden, a diferencia de las de *Anastrepha*, las cuales permanecen normales. El muestreo realizado en este estudio se llevó a cabo en el mes de septiembre, período del año donde las poblaciones *C. capitata* disminuyen su presencia en frutos de naranja. Este fenómeno se atribuye a la gran adaptabilidad de *C. capitata* para ovipositar en más de un hospedero y a la competencia por la oportunidad de ovipositar entre especies de *Anastrepha* y *C. capitata* (Salas 1958; Christenson y Foote 1960), por lo que existe un desplazamiento de *C. capitata*, hecho que se le atribuye a diferencias en tamaños y una especificidad marcada hacia ciertos hospederos por parte de especies del género *Anastrepha*.

La especie que encontrada en los muestreos realizados se identificó como *Anastrepha neoludens*, la cual es un biotipo de la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens*. Esta especie requiere de una mejor identificación taxonómica, ya que no se reporta en importantes bases de datos con esta clasificación. Cabe destacar que no existen crías masivas en laboratorio de esta especie en el país, por lo que el estudio de diferentes protocolos de crianza y de comportamiento son indispensables para un mejor control en plantaciones de naranja del país.

Los muestreos realizados demostraron la presencia de moscas de la fruta dentro de las plantaciones de naranja muestreadas, además reafirma el estudio realizado por Cordero *et al*, 2000, en cuanto a la ausencia de *C. capitata* en el mes de septiembre.

Entre las especies encontradas dentro de los frutos resalta la presencia de *Diachasmimorpha longicaudatus*, el cual es un parasitoide de pupas y larvas de moscas de la fruta, el cual se estableció en las plantaciones de naranjas debido a la liberación en los años 1987-1993, como parte de una estrategia de control impulsada por el Ministerio de Agricultura y Ganadería.

Con respecto a los bioensayos establecidos con los hongos entomopatógenos, se pudo comprobar que todos los aislados evaluados fueron patogénicos tanto a *A. obliqua* como a *C. capitata*, aun así existió una considerable variación entre la virulencia de los mismos. Existieron diferencias significativas en cuanto a la mortalidad y el tiempo letal medio, parámetros que indican la efectividad de los mismos (Cuadro 3). Para ambas especies de moscas de la fruta, los aislados de hongos entomopatógenos: *Metarhizium* spp. y *Paecilomyces* spp, fueron las más patogénicas, siendo los aislados MTRH-INA N y P-INA P los más efectivos contra las moscas evaluadas con una mortalidad acumulada de 81,7% y 73,3% a los 4 días y un LT_{50} de 1.50 y 1.95, respectivamente. Por otro lado los aislados de *Beauveria* spp mostraron ser levemente patogénicos contra las dos especies de moscas de la fruta evaluadas, mientras que los aislados de *Lecanicillium* spp fueron los menos efectivos en ambas especies de moscas.

Muchos autores reportan que *C. capitata* y algunas especies de *Anastrepha* son susceptibles a sufrir epizootias por parte del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*, bajo condiciones de laboratorio y en dispositivos autoinoculativos; en diferentes estadios de desarrollo (larvas, pupas y adultos) (Lezama *et al*, 2000, Dimbi *et al*, 2003 (1), Dimbi *et al*, 2004, Dimbi *et al*, 2003 (2), Alves *et al*, 2004, Uziel, 2003). Tanto en adultos como en pupas de la mosca de la fruta, *Metarhizium anisopliae*, tiene un efecto patógeno que lo hace promisorio como controlador biológico de la mosca de la fruta. De igual manera se reporta la susceptibilidad de *C. capitata* a los hongos entomopatógenos *Paecilomyces fumosoroseus* (Uziel *et al*, 2003) y *Beauveria bassiana* (Ekesi *et al*, 2002, De la Rosa *et al*, 2002).

Los resultados reportados por Dimbi *et al*, 2003 (1) para *C. capitata*, muestran valores de mortalidad acumulada después de 4 días de inoculación de 98.7% a 33.2% para 12 aislados de *Metarhizium anisopliae* y de 93.3% a 6.9% en dos aislados evaluados de *Beauveria bassiana*; estos resultados parecen indicar la tendencia de la patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* obtenidos en el presente trabajo. Con lo que respecta a los aislados de *B.*

bassiana, reportan un aislado altamente patogénico; las posibles diferencias entre la patogenicidad obtenida por Dimbi *et al*, 2003 (1) y el presente trabajo con respecto a *B. bassiana*, son la fuente del aislado, el origen del mismo y la activación previa de las cepas.

Las pruebas realizadas por otros autores en adultos de *C. capitata*, reportan diferentes formas de inoculación de los aislados de hongos entomopatógenos en las poblaciones evaluadas de moscas. Alves *et al*, 2002 contaminaron las moscas por medio de aplicaciones tópicas de 1 µl de una suspensión de 1×10^8 conidias/mililitro del hongo evaluado; por otro lado, Dimbi *et al*, 2003 (1) utilizaron material aterciopelado impregnado con conidios de los hongos a evaluar, las moscas se mantuvieron en contacto con el inóculo y fueron transferidos a los recipientes de prueba. En el presente reporte se inocularon las moscas siguiendo una metodología que simulara las condiciones con que las moscas se infectan normalmente en el campo (Mata, 2005); con respecto a las metodologías anteriormente descritas, esta forma de contaminación de las moscas con el hongo entomopatógeno sugiere la utilización de dispositivos o trampas con atrayentes alimenticios que permitan a la mosca contaminarse y dispersar esporas entre las moscas con la cual ésta tenga contacto.

La virulencia de un hongo entomopatógeno depende su capacidad de liberar toxinas y enzimas que degraden los componentes de defensa que posee el insecto; esta capacidad lo hace más o menos efectivo para el control de la plaga objetivo. Los resultados evidencian que el hongo *Metarhizium anisopliae* contiene un complejo enzimático capaz de degradar con mayor velocidad las estructuras esclerotizadas y membranosas del cuerpo de las moscas de la fruta evaluadas. Las toxinas que emite un hongo pueden ser de dos tipos: macromoléculas proteicas y sustancias de bajo peso molecular. De *Metarhizium anisopliae* se han aislado esterasas, serilproteasas y sulfidrilproteasas (macroproteínas); además de destruxinas, demetildextruina y protodextruina; posibles responsables de la patogenicidad que tiene *Metarhizium* spp contra las moscas de la fruta evaluadas (Monzon, 2001).

Debido a que el inóculo estaba en su forma pura, calcular concentraciones letales medias fue imposible, por tal motivo en cada repetición del ensayo se realizó el cálculo de cuántas esporas se encontraban dentro o en la superficie del cuerpo del insecto. En este punto cabe mencionar que las esporas de los aislados de *M. anisopliae* fueron absorbidas en mayor número que las de los otros aislados probados, este método de conteo de esporas, fue utilizado por Dimbi *et al*, 2003, con rangos similares a los reportados en esta investigación. El promedio de la cantidad de esporas absorbidas individualmente por cada mosca, proporcionan un estimado de la concentración de esporas que debe de contar una formulación a base del mejor aislado.

En cuanto a la presencia o ausencia de micelio en las moscas evaluadas, se confirmó la tendencia de los aislados de *Metarhizium spp* y *Paecilomyces spp* con respecto a la efectividad de colonización. Los aislados de *Beauveria spp* presentaron también una respuesta alta con respecto al tiempo en colonizar el cuerpo de la mosca. Estos resultados son importantes ya que representan un parámetro que estima la velocidad con que los aislados colonizan el interior y la superficie del insecto.

Los aislamientos MTRH-INA N y P-INA P de las especies *M. anisopliae* y *Paecilomyces spp*, muestran características que los hacen promisorios para futuras pruebas en campo; presentan una alta virulencia y patogenicidad contra ambas especies de mosca de la fruta, su producción es sencilla (en comparación con otros agentes de control microbianos) y puede ser adaptada para su producción en masa.

CONCLUSIONES

- Se establecieron poblaciones de moscas de la fruta a partir de los muestreos realizados en plantaciones de naranja en los cantones Mora y Acosta, de la provincia de San José, comprobando así su presencia y la importancia de su supresión.
- El número de adultos de mosca de la fruta obtenidos a partir de los muestreos realizados, disminuyó debido a la presencia de larvas y pupas parasitadas y a la poca viabilidad de las mismas.
- Los aislados evaluados causaron la muerte de adultos de *A. obliqua* con porcentajes de mortalidad acumulada de 18.3% a 81.7% a los 4 días de la inoculación y tiempos letales medios de 1.50 a 7.15 días. Para *C. capitata* los porcentajes de mortalidad acumulada se mantuvieron entre 13.3% y 83.3% a los 4 días de la inoculación y los tiempos letales medios entre 1.85 a 2.06 días. Las poblaciones de moscas de los testigos bajaron después de los 18 días de iniciadas las pruebas.
- Los aislados MTRH-INA N y P-INA P presentaron los mejores porcentajes de mortalidad acumulada a los 4 días después de la inoculación en *C. capitata* y *A. obliqua* (83.3% y 81.70) y (80.0% y 73.3%) respectivamente, de igual manera los mejores tiempos letales medios (1.85 y 1.50) y (2.06 y 1.95) respectivamente lo cual los hace altamente patógenos bajo condiciones de laboratorio.
- En los conteos de esporas por individuo se determinó que el rango en la cantidad de esporas absorbidas fue de: 1.9×10^5 a 2.1×10^6 para *C. capitata* y *A. obliqua*, cantidades que sirven como parámetro a la hora de realizar formulaciones a partir de los hongos entomopatógenos evaluados.

- Los resultados obtenidos a partir del establecimiento de cámaras húmedas indican la eficiencia de los hongos entomopatógenos evaluados para colonizar la superficie del cuerpo de las moscas de la fruta evaluadas.
- Los aislados MTRH-INA N y P-INA P poseen las características de virulencia y patogenicidad que los hacen entomopatógenos de gran capacidad para ser evaluados bajo condiciones de campo en plantaciones comerciales.

RECOMENDACIONES

- Para futuras evaluaciones *In vitro* de la patogenicidad de otros aislados de hongos entomopatógenos sobre moscas de la fruta, se recomienda medir el efecto que tienen en los bioensayos el sexo y la edad de las moscas, el recipiente en donde se mantienen, el efecto de diferentes temperaturas en la patogenicidad y la evaluación del efecto de los mejores aislados sobre pupas de las especies de mosca de la fruta evaluadas.
- Se recomienda realizar pruebas a los aislados que presentaron mayor patogenicidad en condiciones de laboratorio, con el fin de tener mayor cantidad de parámetros que justifiquen su incorporación en campo. Dentro de las pruebas que se recomiendan se encuentran: resistencia de las esporas a luz ultravioleta, crecimiento radial, pruebas de germinación en diferentes temperaturas.
- Con el fin de explicar las diferencias significativas obtenidas entre la patogenicidad de aislados del mismo género de los hongos entomopatógenos evaluados, de una forma molecular y genética, se recomienda realizar caracterizaciones moleculares de los diferentes aislados con los que cuenta el Laboratorio de Fitoprotección del Centro Especializado en Agricultura Orgánica del Instituto Nacional de Aprendizaje, esto con el fin de tener información acerca del emparentamiento entre los aislados y los géneros. Además se recomienda realizar estudios de caracterización de las enzimas involucradas en los procesos de penetración del hongo al insecto, con el fin de aumentar el conocimiento del mecanismo y buscar nuevas formas de aumentar la patogenicidad de los aislados.

- Para verificar la efectividad en el campo de los mejores aislados (P-INA P y MTRH-INA N), se recomienda realizar pruebas ambientales y de efectividad a nivel de campo; todo esto dentro de un manejo integrado de la plaga.
- Para la incorporación de los mejores aislados, se recomienda la utilización de atrayentes (alimenticios o sexuales) con trampas que permitan contaminar el insecto con el inóculo (dispositivos autoinoculadores). Además se recomienda la aspersión de formulaciones en las bases de los árboles de frutales con el fin de controlar la plaga en su estado pupal.

BIBLIOGRAFIA

ALEAN, IRINA. 2003. Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus socialis* bondar (homóptera: aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis Lic. Bogota, Colombia. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Básicas Microbiología Agrícola y Veterinaria. p. 22-37

ALEMANY, A. 2005. Development and evaluation of improved fruit fly attractants. Their integration into fruit fly SIT. Management Programmes. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Laboratorio de Zoología. Departamento de Biología. p. 44-49

ALUJA, M.; CELEDONIO, H.; LIEDO, P.; CABRERA, M.; CASTILLO, F.; GUILLEN, J; RIOS, E. 1996. Seasonal Population Fluctuations and Ecological Implications for Management of Anastrepha Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) in Commercial Mango Orchards in Southern Mexico. Journal Economic Entomology 89(3) p. 654-667.

ALVES, S.; ROSSI, L.; WALDER, J.; VIEIRA, S. 2002. Avaliacao de fungos entomotogenicos para *Ceratitis capitata*. Manejo Integrado de Plagas. CATIE. Turrialba, CR (72) p.31-38.

ALLINGHI, A.; CALCAGNO, G; LÓPEZ S.; VILARDI, J. 2003. Estudio preliminar del efecto de la radiación gamma en los machos de *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae) sobre la tasa de apareamiento en jaula de campo. Unidad de Actividad Aplicaciones Tecnológicas y Agropecuarias. CNEA – CAE. Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA. p. 56-59

ARAUJO, E. 2002. Dípteros frugívoros (Tephritidae e Lonchaeidae) na região de mossoró/assu, Estado do Rio Grande do Norte. Tese apresentada a Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de Sao Paulo. p 14-19.

BADILLA, F.; TOLEDO, J.; BARRENO, C. 1996. Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en adultos de la Chinche salivosa (*Aeneolomia albofasciata* y *Prosapia* spp (Homoptera Cercopidae) en Caña de azúcar en Escuintla, Guatemala. Manejo Integral de Plagas. CATIE. Turrialba, CR. (42). p. 39-44.

BIO CONTROLE. 2003. Métodos de controle de pragas *Ceratitis capitata*. www.biocontrole.com.br. Revisado: 23/07/2006.

BOSCAN, N. 1992. Manejo Integrado de mosca de la fruta. I. Identificación, biología y detención del insecto. FONAIAP-CENIAP. Disponible en: <http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd41/texto/moscas.htm>. Revisado: 23/07/2006.

BUSTILLO, A; POSADA, F. 1996. El uso de entomopatógenos en el control de la broca del café en Colombia. Manejo Integrado de Plagas. CATIE. Turrialba, CR. (40) 42 p. 1-13.

BUTT, T.; JACKSON, C.; MAGAN, N. 2001. Introduction-Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential. CAB International. p. 1-8.

CAMARGO, C.; ODELL, E.; JIRON, L. 1996. Interspecific Interactions and Host Preference of *Anastrepha obliqua* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), Two Pests of Mango in Central America. *Florida Entomologist* 79(2) p. 266-270

CARABALLO, J. 2001. Diagnósis y clave pictórica para las especies del género *Anastrepha* (Schiner), 1868 (Díptera: Tephritidae) de importancia económica en Venezuela. Entomotropica Boletín de Entomología Venezolana Vol. 16(3) p. 157-164.

CARROLL, L.; NORRBOM, A.; DALLWITZ, M.; THOMPSON, F. 2004. Pest Fruit Flies of the World. Disponible en: http://delta-intkey.com/ffl/www/_wintro.htm. Revisado: 23/07/2006. Última actualización: noviembre 10, 2004.

CENTRO AGRÍCOLA CANTONAL DE MORA. 2002. Proyecto de caracterización de la actividad cítrica en la región central sur de Costa Rica. Disponible en: http://www.mag.go.cr/doc_e/E006.pdf. Revisado: 23/07/2006. p 45-65

COMITÉ TÉCNICO SECTORIAL AGROPECUARIO. 1999. Proyecto de Desarrollo Sostenible de la Producción Agropecuaria de los Cantones de Acosta y Aserrí. Ministerio de Agricultura y Ganadería Sede Regional Central Sur. p 7-11.

CHRISTENSON, L.; FOOTE, R. 1960. Biology of Fruit Flies. Ann. Rev. Entomol. 5: 171-192.

CORVALAN L. 2004. Evaluación del índice 0,01 capturas/trampa/día como indicador de baja prevalencia de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) en duraznos importados. <http://www.scielo.cl/scielo>. Revisado: 24/07/2006

DIMBI, S.; MANIANIA, N.; LUX, S.; EKESI, S.; MUEKE, JONES. 2003. **I** Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, to three adult fruit fly species: *Ceratitis capitata* (Weidemann), *C. rosa* var. *fasciventris* Karsch and *C. cosyra* (Walker) (Diptera :Tephritidae). *Mycopathologia* (156). p. 375–382. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

DIMBI, S. ; MANIANA, N.; LUX, S.; MUEKE, J.M. 2003. **II**. Host species, age and sex as factors affecting the susceptibility of the African Tephritid fruit fly species, *Ceratitis capitata*, *C. cosyra* and *C. fasciventris* to infection by *Metarhizium anisopliae*. *Anz. Schädlingskunde/J. Pest Science* 76, 113–117, Springer Verlag, Berlin ISSN 1436-5693.

DIMBI, SUSAN; MANIANIA, NGUYA. K; LUX, SLAWOMIR MUEKE, JONES. 2004. Effect of constant temperatures on germination, growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* three species of African tephritid fruit flies. *BioControl* 49: 83–94, 2004. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

EKESI, S; MANIANIA, N.K; LUX, S.A. 2002. Mortality in Three African Tephritid Fruit Fly Puparia and Adults Caused by the Entomopathogenic Fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology* (2002) 12, 7- 17.

GARCIA, J.; MONTILLA, RAFAEL. 2001. *Coptera haywardi* Loíacono (Hymenoptera: Diapriidae) parasitoide de pupas de *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) en Venezuela. *Entomotropica Boletín de Entomología Venezolana* Vol. 16(3) p. 191-195.

GONZALEZ, H.; CARBALLO, M.; BLANCO, H. 1996. Efecto de cepas de *Beauveria bassiana* sobre la mortalidad de *ecdytolopha torticornis* en Macadamia. Manejo Integrado de Plagas. CATIE. Turrialba, CR. (40) p. 17-23.

HERRERA, F.; CARBALLO, M.; SHANNON; P. 1999. Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci*, en el laboratorio. Manejo Integrado de Plagas. CATIE. Turrialba, CR. (54) p.37-43.

HERNÁNDEZ, O. 1992. El género *Anastrepha Schinner* en México. (Diptera: *Tephritidae*). Taxonomía, distribución y sus plantas huéspedes. Instituto de Ecología. Soc. Mex. Ent. Xalapa, p. 162.

INFOAGRO. 2002. Mosca de la fruta (*Ceratitis capitata* Wied.). http://www.infoagro.com/frutas/mosca_de_la_fruta.htm. Revisado: 19/07/2006

LANDAVERDE, R. 2002. La mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* (Wiedemann) y sus principales plantas hospedantes en centro américa. <http://www.oirsa.org/DTSV/Manuales/Manual08/Mosca-Mediterranea-de-la-Fruta.htm>. Revisado: 23/07/2006. p 15-23.

LEVINSON, H.; LEVINSON, A.; OSTERRIED, E. 2003. Orange-derived stimuli regulating oviposition in the Mediterranean fruit fly. Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen, Germany. J. Appl. Ent. (127). p 269–27.

LEZAMA, R.; TRUJILLO, A.; MOLINA, J.; REBOLLEDO, O.; PESCADOR, A.; LOPEZ, M.; ALUJA, M. 2000. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): Laboratory and Field Trials. *Biological and Microbial Control. J. Econ. Entomol.* 93(4). p. 1080-1084.

LUX, S.; MUNYIRI, J.; VILARDI, P.; ECONOMOPOULOS, A.; HASSON, O.; QUILICI, S.; GAGGL, K, CAYOL.; RENDON, P. 2002. Consistency in courtship pattern among populations of medfly (diptera: tephritidae): comparisons among wild strains and strains mass reared for sit operations. *Florida Entomologist* 85(1) p 113-125.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA. 1991. Aspectos Técnicos sobre Cuarenta y Cinco Cultivos Agrícolas de Costa Rica. Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola. San José, Costa Rica.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA. 2002. Caracterización de la actividad cítrica en la región Central Sur de Costa Rica. http://www.mag.go.cr/doc_e/E006.pdf. Revisado: 23/07/2006.

MALAVASI, A. 2000. Aspectos cuarentenarios en Moscas de la fruta. Universidad e São Paulo, Brasil. Biofabrica Moscamed Brasil. Dirección de moscas de la fruta. PROSAIA. USAID. p 5-10.

MONZON, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas CATIE. Turrialba, CR. (54) p. 1-12.

MORA, J. 2004. Guía de ingredientes activos de plaguicidas. Manual No 1. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE Proyecto Fomento de Productos Fitosanitarios No Sintéticos. Turrialba, Costa Rica

MORENO, M.; GOMEZ, Y.; ZAVALA, J. 1995. Procedures for Mass-Rearing the West Indian Fruit Fly *Anastrepha obliqua* (Macq.). México Fruit Flies Complex.

NUÑEZ, L.; GOMEZ, R.; GUEÍN, G.; LEÓN, G.; 2003. Moscas de la fruta y parasitoides en Guayaba (*Psidium guajava*) en la provincia de Vélez. Barbosa, Santander.

OBREGÓN, M. 2001. Uso de microorganismos en el combate de patógenos e insectos en los cultivos agrícolas. Centro Especializado en Agricultura Orgánica. Instituto Nacional de Aprendizaje. Costa Rica. Disponible en: www.ina.ac.cr/revista/pag23_microorganismos.html. Revisado: 22/07/2006

OVRUSKI, S.; CANCINO, J.; FIDALGO, P.; LIEDO, P. 1999. Perspectivas para la aplicación del control biológico de moscas de la fruta en Argentina. Manejo Integrado de Plagas. CATIE. Turrialba, CR. (54) p. 1-12.

PEÑA, J.; MOHYUDDIN, A.; WYSOKI, M. 1998. A review of the pest management situation in mango agroecosystems. *Phytoparasitica* 26 (2). p 1-20.

PRIMO, E. 2002. Nuevas tendencias en la lucha económica contra insectos. El caso de la *Ceratitis capitata*. Academia Nacional de Farmacia. p 45-59.

RAGA, A.; YASUOKA, S.; AMORIM, E.; SATO, M.; SUPPLY, N.; FARIA, J. 1996. Sendibilidade de ovos de *Ceratitis capitata* (Wieddman) irradiados em dieta artificial e em frutos de Manga (*Mangifera indica L.*). Sci. agric., Piracicaba, 53(1) p 114-118, jan./abr.

RAMPIAS, T.; SIDERIS, DIAMANTIS.; FRAGOULIS, E. 2003. Cc RNase: The *Ceratitis capitata* ortholog of a novel highly conserved protein family in metazoans. University of Athens, Faculty of Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Panepistimioupolis. 31(2)

SECTOR AGROPECUARIO MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA, Dirección Regional central Sur. 2002. Programa de desarrollo agrario, Comité Sectorial Agropecuario Social Ampliado.

SEGADE, G. 1993. Moscas de los frutos. Universidad de Buenos Aires. Disponible en: <http://www.estrucplan.com.ar/Articulos/verarticulo.asp?IDArticulo=216>. Revisado: 25/07/2006.

SEGARPA. 1995. Apéndice técnico para la identificación de moscas de la fruta. Dirección General de Sanidad Vegetal. Dirección de moscas de la fruta. México. p. 4-8.

SEGARPA. 1997. Apéndice técnico para el reconocimiento de frutos hospederos de moscas de la fruta del género *Anastrepha* y *Rhagoletis pomonella*. Dirección de moscas de la fruta.

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA. 2000. Manual de identificación taxonómica. Especies de *Anastrepha* frecuentes en trampas McPhail.

SERVICIO FITOSANITARIO DEL ESTADO. 2003. Principales plagas de importancia económica bajo Vigilancia Fitosanitaria. Disponible en: www.proteconet.com. p 7-8. Revisado: 25/07/2006.

STIBICK, J. 2003. Natural Enemies of true fruit flies (Tephritidae). United States Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service Plant Protection and Quarantine.

SIVINSKI, J.; JERONIMO, F.; HOLLER, T. 2000. Development of Aerial Releases of *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), a Parasitoid that Attacks the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Weidemann) (Diptera: Tephritidae), in the Guatemalan Highlands. *Biocontrol Science and Technology* 10 p. 15 - 25

TOLEDO, J.; PAXTIAN, J.; OROPEZA, A.; FLORES, S.; LIEDO, P. 2005. Evaluación de trampas y proteínas hidrolizadas para monitorear adultos de moscas de la fruta del género *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). *Folia Entomología*. México, 44(1) p 7-18.

USDA. 1999. Programa de Control Cooperativo de la Mosca de la Fruta Borrador de la Declaración de Impacto Ambiental. Plant Protection and Quarantine Animal and Plant Health Inspection Service U.S. Department of Agriculture.

VIÑUELA, E.; ADAN, A.; SMAGGHE, G.; GONZALEZ, M.; MEDINA, P.; BUDIA, F.; VOGT, H.; DEL ESTAL, P. 2000. Laboratory Effects of Ingestion of Azadirachtin by Two Pests (*Ceratitis capitata* and *Spodoptera exigua*) and Three Natural Enemies (*Chrysoperla carnea*, *Opius concolor* and *Podisus maculiventris*). *Biocontrol Science and Technology* 10, p. 165 – 177.

UZIEL, A.; LEVY, K.; YUVAL, B. 2003. Infection of *Ceratitis capitata* by Two Species of the *Entomophthora muscae* Species Complex (Zygomycetes: Entomophthorales) in the Field. Disponible en: www.phytoparasitica.org/phyto/pdfs/2003/issue2.pub/UZABS.pdf. Revisado: 25/07/2006.

WEEMS, H.; HEPPNER, J.; STECK, G. 2001. *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Insecta: Diptera: Tephritidae). Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry; and T.R. Fasulo, University of Florida. Disponible en: http://creatures.ifas.ufl.edu/fruit/tropical/west_indian_fruit_fly.htm. Revisado: Revisado: 22/07/2006.

ANEXOS

Anexo 1. Formula de Abbott para la corrección de la mortalidad.

$$M = \frac{m_e - m_b}{1 - m_b}$$

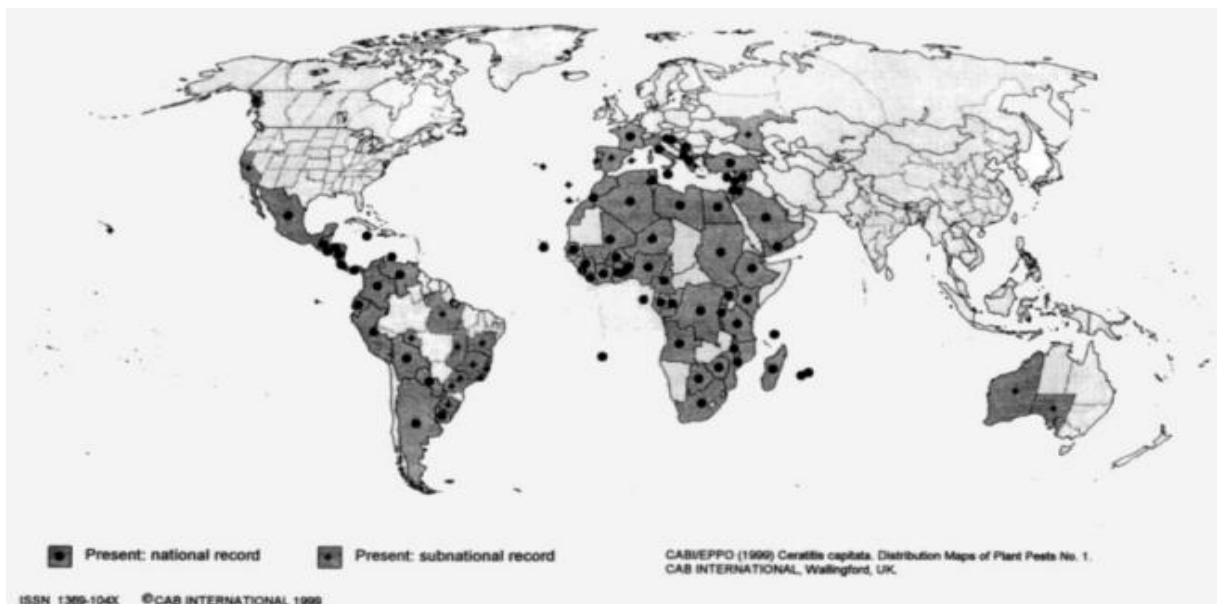
Donde:

M = Mortalidad.

m_e = mortalidad en el extracto.

m_b = mortalidad en el blanco.

Anexo 2. Distribución geográfica de la *C. capitata* a nivel mundial.



Europa; Albania, Alemania, Austria, Bélgica, Bulgaria, Croacia, Eslovenia, España (Islas Baleares, Islas Canarias), Federación Rusa, Francia (Córcega), Gran Bretaña, Grecia

(Creta), Holanda, Hungría, Italia (Cerdeña, Sicilia), Lituania, Luxemburgo, Malta, Portugal (Azores, Madeira), República Checa, Suiza, Ucrania y Yugoslavia.

Asia; Afganistán, Chipre, Corea, India, Israel, Jordania, Líbano, Arabia Saudita, Siria, Turquía y Yemen.

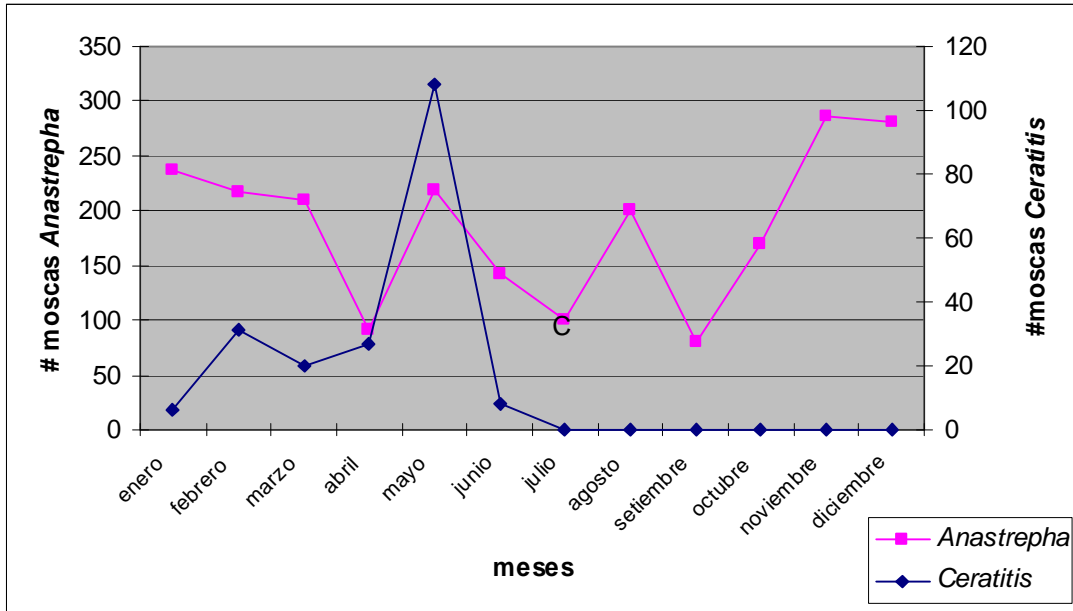
África; Argelia, Angola, Benin, Botswana, Burkina Faso, Burundi, Camerún, Cabo Verde, Congo, Costa de Marfil, Egipto, Etiopía, Gabón, Ghana, Guinea, Kenya, Liberia, Libia, Madagascar, Malawi, Malí, Mauritania, Marruecos, Mozambique, Nigeria, Níger, Reunión, Santa Elena, Principie y Sao Tome, Senegal, Islas Seychelles, Sierra Leona, Sudáfrica, Sudan, Tanzania, Togo, Túnez, Uganda y Zimbabwe.

América; Argentina, Belice, Bermuda, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, Jamaica, Antillas Holandesas, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Puerto Rico, Surinam, Estados Unidos de Norteamérica, Uruguay y Venezuela.

Oceanía; Australia e Islas Marianas del Norte y Nueva Zelanda (Landaverde, 2002; SEGARPA, 1995).

Anexo 3. Hospederos de importancia económica atacados por *C. capitata*

Nombre Científico	Nombre común	Preferencial	Ocasional
<i>Anacardium occidentale</i>	Marañón		+
<i>Annona cherimolla</i>	Chirimoya	+	
<i>Annona glabra</i>	Anona de río		+
<i>Annona hayesi</i>	Anona		+
<i>Annona muricata</i>	Anona	+	
<i>Annona purpurea</i>	Anona		+
<i>Annona reticulata</i>	Anona	+	
<i>Annona squamosa</i>	Anona blanca	+	
<i>Averrhoa carambola</i>	Carambola	+	
<i>Capsicum annum</i>	Chile		+
<i>Carica papaya</i>	Papaya		+
<i>Casimiroa edulis</i>	Matazano	+	
<i>Cidonia oblonga</i>	Membrillo		+
<i>Citrus auranticus</i>	Naranja agria	+	
<i>Citrus grandis</i>	Pomelo	+	
<i>Citrus limon</i>	Limón		+
<i>Citrus reticulata</i>	Mandarina	+	
<i>Citrus cinencis</i>	Naranja	+	
<i>Coffea spp</i>	Café	+	
<i>Chrysobalanus icaco</i>	Icaco		+
<i>Chrysophyllum cainito</i>	Caimito	+	
<i>Eugenia jambos</i>	Manzana rosa	+	
<i>Eugenia uriflora</i>	Pitanga	+	
<i>Eriobotrya japonica</i>	Nispero japonés	+	
<i>Ficus carica</i>	Higo	+	
<i>Lycopersicum sculentum</i>	Tomate		+
<i>Malus silvestris</i>	Manzana	+	
<i>Mangifera indica</i>	Mango	+	
<i>Passiflora edulis</i>	Granadilla		+
<i>Persea americana</i>	Aguacate		+
<i>Ponteria sapota</i>	Zapote		+
<i>Prunus americana</i>	Albaricoque	+	
<i>Prunus cerasus</i>	Cereza	+	
<i>Prunus domestica</i>	Ciruela	+	
<i>Prunus persea</i>	Durazno	+	
<i>Psidium guajava</i>	Guayaba	+	
<i>Pyrus communis</i>	Pera	+	
<i>Syzigium aquiem</i>	Manzana de agua		+
<i>Solanum melongena</i>	Berenjena		+
<i>Spondias mombim</i>	Jobo		+
<i>Spondias purpurea</i>	Jocote		+
<i>Terminalia catappa</i>	Almendra	+	



Anexo 4. Variación mensual de las poblaciones de los géneros de moscas de la fruta *Anastrepha* y *Ceratitis*, en muestreos realizados en fincas productoras de la zona de la Regional Central Sur del Ministerio de Agricultura y Ganadería.

