

Tratamientos cuarentenarios con bromuro de metilo para el control de *Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus* en cítricos.

Willink, E.¹; B. Carrizo¹ y S. Toledo¹

Palabras clave: mosca sudamericana de los frutos, mosca del Mediterráneo.

INTRODUCCIÓN

La mosca del Mediterráneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann.), y la mosca sudamericana de la fruta *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann.), son plagas importantes presentes en las regiones cítricas de Argentina, que afectan a los cítricos dulces como naranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), pomelos (*C. paradisi* Macfadyn), mandarinas (*C. reticulata* Blanco) y naranja agria (*C. aurantium* L. (Rootstock)).

El Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) de nuestro país, exige la aplicación de un tratamiento cuarentenario para la comercialización de aquellos cítricos producidos en regiones con *C. capitata* o *A. fraterculus* y con destino a las áreas libres o con programas de control y erradicación de moscas de los frutos en curso (regiones de Patagonia y Cuyo respectivamente). La resolución 601/01 del SENASA, estableció para los cítricos, un tratamiento con Bromuro de Metilo con una dosis de 40 g/m³, durante 2 horas, en un rango de temperatura de 21 a 29°C.

Diversos autores trabajaron en el desarrollo de tratamientos cuarentenarios con bromuro de metilo para *C. capitata* en diferentes especies frutales como cerezas, duraznos, nectarinas, peras y ciruelas, utilizando huevos como el estado de desarrollo de la mosca del Mediterráneo más toleran-

te al Bromuro de Metilo (Spitler y Couey, 1983; Armstrong y Couey, 1984). Para *A. fraterculus* no hay antecedentes respecto a su respuesta frente al Bromuro de Metilo.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un tratamiento con Bromuro de Metilo a 15°C para el control de *C. capitata* y *A. fraterculus* en cítricos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico:

Se utilizaron los estados juveniles de huevos y larvas de *C. capitata* y *A. fraterculus*. Dicho material se obtuvo de las crías de laboratorio de la EEAOC, Tucumán Argentina. La cría de *C. capitata* se originó de la recolección de frutos infestados principalmente de naranjas y pomelos del Noroeste Argentino, mientras que la de *A. fraterculus* de la recolección principalmente de *Psidium guajava* L. de Tucumán, Argentina. Cada verano se incorporó a la cría de laboratorio sangre silvestre mediante cuatro cruzamientos consecutivos hasta que se alcanzó un 93,75% de sangre silvestre. Cada generación fue sometida a controles de calidad donde se evaluaron parámetros como viabilidad de huevos, recupero huevo/pupa, peso de pupas, relación macho:hembra, habilidad de vuelo, longevidad de adultos y fecundidad de las hembras.

¹Centro de Investigaciones Cuarentenarias, Sección Zoología Agrícola, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). William Cross 3150, 4101, Las Talitas, Tucumán Argentina. E-mail: ewillink@eeaoc.org.ar

Especies y variedades cítricas:

Los ensayos se realizaron en tres especies cítricas: naranjas, pomelos y mandarinas y sus híbridos. Dentro de cada una de las especies cítricas se emplearon diferentes variedades.

Metodología de inoculación:

Para la inoculación de las frutas, se utilizaron diferentes metodologías según la especie de mosca. Para *A. fraterculus*, las frutas fueron inoculadas artificialmente con 50 huevos o larvas por fruta. A las frutas se les cortó la parte superior y se colocaron los huevos o larvas en la pulpa sellándose la fruta posteriormente con parafina. Las frutas inoculadas fueron colocadas en cámaras a 15°C durante 24 horas para alcanzar la adaptación de las larvas en el interior del fruto. Posteriormente se introdujeron las frutas en las cámaras de fumigación de Bromuro de Metilo. Para *C. capitata* la inoculación de larvas se realizó de la forma descrita anteriormente, mientras que los huevos se inocularon en forma natural. Para ello se colocaron de 40 a 60 frutos durante dos horas en una jaula (0,7 m. de largo, 0,60 m. de ancho y 0,42 m. de alto) conteniendo 2.000 hembras grávidas. Las frutas a ser fumigadas con huevos se incubaron por 36 horas a 25°C.

Determinación de insectos viables:

Para determinar el número mínimo de individuos viables por tratamiento, se separó una muestra de los frutos inoculados antes de introducirlos en la cámara de fumigación. Se revisó la fruta y se contó el número de individuos vivos. En el caso de los huevos, se incubó la fruta por tres días antes de revisarla; solo los huevos de los que eclosionó una larva fueron considerados viables. El número total de insectos viables resultó de restar al total de insectos inoculados el número de insectos muertos. La mortalidad fue corregida con el método de Abbott's.

Desarrollo y confirmación del tratamiento:

Los tratamientos se desarrollaron en tres etapas. En la primera se realizaron las pruebas de sensibilidad para determinar el estado o estadio más tolerante al Bromuro de Metilo. En la segunda se determinaron las condiciones del tratamiento como ser dosis y tiempos de exposición (pruebas en pequeña escala). Por último en la tercera, se confirmó la dosis y duración del tratamiento analizando más individuos (pruebas a gran escala).

I.- Pruebas de sensibilidad para determinar el

estado y/o estadio de *C. capitata* y *A. fraterculus* más tolerante al Bromuro de Metilo.

Para determinar el estado y/o estadio de desarrollo más tolerante al bromuro de metilo de *C. capitata* y *A. fraterculus*, se realizaron ensayos de sensibilidad, comparando los mismos en una variedad por especie cítrica. En el caso de *A. fraterculus* se evaluaron los estados de huevo (con más de la mitad del período embrional cumplido), larvas inmaduras (larvas del primer y segundo estadio, L1+L2), larvas maduras jóvenes (larvas del tercer estadio recién mudadas L3j) y larvas maduras viejas (larvas del tercer estadio próximas a empujar L3v). En el caso de *C. capitata* se evaluaron huevos (con más de la mitad del período embrional cumplido), larvas inmaduras (larvas del primer y segundo estadio, L1+L2) y larvas maduras (larvas del tercer estadio, L3). Dentro de las larvas maduras no se diferenció entre larvas jóvenes y viejas. Se evaluaron más de 200 individuos viables de cada uno de los estados y/o estadios de desarrollo mencionados anteriormente por repetición. Cada ensayo se repitió tres veces. Para *C. capitata* se evaluaron cuatro dosis de bromuro de metilo (16, 24, 32, 40 g/m³), mientras que para *A. fraterculus* las dosis evaluadas fueron siete (8, 12, 16, 24, 32, 40 y 48 g/m³). El tiempo de exposición en todos los casos fue de dos horas.

II. Pruebas a pequeña escala:

Para determinar las condiciones de fumigación necesarias para el desarrollo de un tratamiento cuarentenario (dosis y tiempo de exposición) se realizaron las pruebas de desinsectación en pequeña escala. Se inocularon frutos con individuos pertenecientes al estado y/o estadio de desarrollo más tolerante al Bromuro de Metilo los cuales se sometieron a distintas dosis y/o tiempos de exposición. Para el caso de *C. capitata* se evaluaron una dosis de 48 g/m³ con dos tiempos de exposición (3.5 y 4.0 horas) y una dosis de 56 g/m³ con tres tiempos de exposición (3.0, 3.5 y 4.5 horas). En *A. fraterculus* se evaluaron una dosis de 40 g/m³ con tres tiempos de exposición (2.0, 3.0 y 3.5 horas), una dosis de 48 g/m³ con cuatro tiempos de exposición (2.0, 3.0, 3.5 y 4.0 horas) y una dosis de 56 g/m³ con un tiempo de dos horas y media. Cada tratamiento se repitió tres veces con más de 3.000 insectos viables en cada una. Los ensayos se realizaron en una variedad por especie cítrica.

III. Pruebas a gran escala

Para confirmar la duración y la dosis del tratamiento cuarentenario se realizaron pruebas a gran escala para aquellos tratamientos en los que con el menor tiempo de exposición a una determinada dosis no se registraron individuos vivos. Las pruebas se repitieron tres veces y en cada repetición se evaluaron más de 10.000 individuos viables.

Temperatura de las pruebas

La temperatura de todos los ensayos realizados fue de $15 \pm 1^\circ\text{C}$.

Determinación de la efectividad de los tratamientos:

Después de realizada la fumigación, las frutas conteniendo las larvas inmaduras y maduras fueron colocadas en cámaras a 25°C y revisadas a las 72 horas. Las larvas que no presentaron movimientos fueron consideradas muertas. La fruta que contenía los huevos fue disectada y se sembraron los huevos en cámaras húmedas. Diariamente se contó el número de huevos de los que no habían emergido larvas hasta que se obtuvieron dos lecturas consecutivas iguales.

Análisis estadístico

Los datos de mortalidad para las pruebas de sensibilidad fueron analizados por el método Probit (Finney, 1971), comparando las dosis letales 50 (DL 50) con sus respectivos intervalos de confianza al 95%. Si dichos intervalos no se superponían, fueron considerados diferentes. El estado y/o estadio más tolerante fue aquel que mostró la mayor dosis letal. En las pruebas para determinar la dosis y duración de los tratamientos (pruebas a pequeña y gran escala), no se realizaron análisis estadísticos ya que el objetivo fue lograr el 100 % de mortalidad.

Tabla 1. Sensibilidad al bromuro de metilo de los diferentes estados y/o estadios de desarrollo de *C. capitata* en pomelos, mandarinas y naranjas.

Especie cítrica	Repetición	Huevo		Larvas inmaduras (L1+L2)		Larvas maduras (L3)	
		DL50	IC 95%	DL50	IC 95%	DL50	IC 95%
Pomelo	I	22,14	16,78 - 28,63	8,56	7,30 - 9,64	12,20	11,17 - 13,24
	II	21,89	17,36 - 27,16	8,62	7,12 - 9,51	12,08	11,04 - 13,12
	III	20,98	16,89 - 25,46	8,25	7,80 - 8,68	12,24	11,20 - 13,29
Mandarina	I	21,19	16,06 - 27,18	9,14	7,80 - 10,33	11,59	10,32 - 12,86
	II	22,47	16,29 - 30,66	9,23	8,07 - 10,28	12,14	11,12 - 12,16
	III	20,84	15,91 - 29,19	8,88	8,18 - 9,53	11,50	10,63 - 12,40
Naranja	I	20,47	14,59 - 27,49	8,77	6,16 - 10,77	12,16	11,05 - 13,28
	II	30,34	14,51 - 27,21	8,90	7,33 - 10,23	12,12	10,85 - 13,39
	III	20,56	14,50 - 27,88	8,74	6,82 - 10,30	12,35	11,33 - 13,38

DL: dosis letal; IC: intervalo de confianza.

RESULTS

I.- Pruebas de sensibilidad para la determinación del estado y/o estadio más tolerante al bromuro de metilo.

Los resultados de las pruebas de sensibilidad con sus respectivos análisis Probit para la determinación de los diferentes estados y/o estadios de desarrollo de *C. capitata* y *A. fraterculus* más tolerantes al tratamiento en las tres especies cítricas evaluadas (naranja, pomelo y mandarina) se muestran en las Tablas 1 y 2 respectivamente.

Los resultados de los ensayos de sensibilidad para los estados de desarrollo de *C. capitata* mostraron en todas las especies cítricas evaluadas, que los huevos presentaron el mayor valor de DL50 con diferencias estadísticas significativas respecto a las DL50 de larvas inmaduras y maduras. Por su parte, las larvas maduras presentaron una mayor DL50 que las larvas inmaduras. No se encontraron diferencias en las DL 50 de los huevos entre las tres especies cítricas.

Los resultados obtenidos en los ensayos de sensibilidad mostraron que los huevos de *A. fraterculus* fueron el estado de desarrollo más tolerante al bromuro de metilo en pomelos. En mandarinas, si bien la DL 50 de los huevos fue la de mayor valor, esta no difirió estadísticamente de la de las larvas maduras (jóvenes L3j y viejas L3v) Para naranjas no se encontraron diferencias entre las DL 50 de los huevos y larvas maduras viejas (L3v); sin embargo los huevos presentaron el mayor valor de DL 50. Al igual que en *C. capitata*, no se encontraron diferencias en las DL 50 de los huevos entre las tres especies cítricas evaluadas.

Los resultados obtenidos en *A. fraterculus* mostraron el mismo patrón de comportamiento que en *C. capitata*, donde los huevos fueron el estado de desarrollo más tolerante al bromuro de metilo.

Tabla 2. Sensibilidad al bromuro de metilo de los diferentes estados y/o estadios de desarrollo de *A. fraterculus* en pomelo, mandarina y naranja.

Especie cítrica	Repetición	Huevo		Larvas inmaduras (L1+L2)		Larvas maduras jóvenes (L3 j)		Larvas maduras viejas (L3 v)	
		DL50	IC 95%	DL50	IC 95%	DL50	IC 95%	LD50	CI 95%
Pomelo	I	16,1	12,92-19,81	9,11	8,72-9,49	7,88	6,62 - 8,83	6,04	4,04 - 7,45
	II	15,7	10,76-22,43	8,02	7,42-8,49	6,84	0,27-10,30	5,99	2,87 - 8,05
	III	15,7	13,48-18,14	7,89	7,04-8,54	6,62	2,11- 9,06	7,66	5,72 - 9,02
Mandarina	I	13,8	10,85-16,82	8,35	5,59- 9,87	11,6	8,29- 14,79	13,11	11,35-15,00
	II	14,2	10,99-17,47	7,82	5,11- 9,23	10,3	7,79- 12,27	11,62	10,23-12,93
	III	13,4	11,22-15,55	7,99	6,742-8,78	10,25	9,04- 11,34	12,35	10,94-13,76
Naranja	I	19,3	16,09-22,71	4,81	0,14- 6,33	12,3	9,81-14,50	16,47	13,46-19,71
	II	19	16,95-21,21	5,94	2,86 -6,89	11,2	8,42 - 13,54	16,45	14,82-18,14
	III	19	16,28-21,92	6,42	4,82- 7,14	11,7	9,49- 13,72	15,59	12,52-18,72

DL: dosis letal; IC: intervalo de confianza.

II. Pruebas a pequeña escala

Los resultados obtenidos en las pruebas de desinsectación a pequeña escala, se muestran en las Tablas 3, 4 y 5 para *C. capitata* y en la 6, 7 y 8 para *A. fraterculus*.

Los resultados obtenidos en las pruebas de desinsectación en pequeña escala mostraron que es posible matar todos los huevos de *C. capitata* en pomelos, naranjas y mandarinas luego de exponerlos a dosis de 48 g/m³ y 56 g/m³ durante cuatro y tres horas respectivamente.

Los resultados obtenidos en las pruebas de desinsectación en pequeña escala mostraron que es posible matar todos los huevos de *A. fraterculus* en pomelos, mandarinas y naranjas luego de exponerlos a dosis de 48 g/m³ y 56 g/m³ durante cuatro y dos horas y media respectivamente.

Tabla 3. Individuos vivos obtenidos en las pruebas a pequeña escala para *C. capitata* en pomelo.

Tratamiento	Repetición	Individuos tratados	Individuos vivos
48 g/m ³ 3.5 h	I	3.374	0
	II	3.756	2
	III	3.344	0
48 g/m ³ 4.0 h	I	3.753	0
	II	3.564	0
	III	3.839	0
56g/m ³ 3.0 h	I	3.915	0
	II	3.608	0
	III	3.600	0
56 g/m ³ 3.5 h	I	3.817	0
	II	3.640	0
	III	3.648	0
56 g/m ³ 4.5 h	I	3.304	0
	II	4.050	0
	III	4.488	0

Tabla 4. Individuos vivos obtenidos en las pruebas a pequeña escala para *C. capitata* en naranja.

Tratamiento	Repetición	Individuos tratados	Individuos vivos
48 g/m ³ 4.0 h	I	3.735	0
	II	3.942	0
	III	4.815	0
56g/m ³ 3.0 h	I	3.606	0
	II	3.745	0
	III	4.098	0

III. Pruebas a gran escala

En las Tablas 9 y 10 se presentan los resultados de las pruebas de desinsectación en gran escala realizadas para *C. capitata*, y *A. fraterculus* respectivamente en diferentes variedades de pomelos, naranjas y mandarinas.

Los resultados obtenidos en las pruebas de desinsectación a gran escala muestran que los tra-

Tabla 5. Individuos vivos obtenidos en las pruebas a pequeña escala para *C. capitata* en mandarina.

Tratamiento	Repetición	Individuos tratados	Individuos vivos
48 g/m ³ 3.5 h	I	3.242	2
	II	3.815	1
	III	3.615	3
48 g/m ³ 4.0 h	I	3.685	0
	II	3.735	0
	III	3.447	0
56g/m ³ 3.0 h	I	3.645	0
	II	3.512	0
	III	3.773	0
56 g/m ³ 3.5 h	I	3.701	0
	II	3.451	0
	III	3.576	0
56 g/m ³ 4.5 h	I	3.680	0
	II	3.750	0
	III	3.780	0

Tabla 6. Individuos vivos obtenidos en las pruebas a pequeña escala para *A. fraterculus* en pomelo.

Tratamiento	Repetición	Individuos tratados	Individuos vivos
40 g/m ³ 2.0 h	I	3.800	91
40 g/m ³ 3.0 h	I	3.510	4
40 g/m ³ 3.5 h	I	3.034	487
48 g/m ³ 2.0 h	I	3.772	189
48 g/m ³ 3.0 h	I	3.397	509
48 g/m ³ 3.5 h	I	3.640	59
48 g/m ³ 4.0 h	I	3.150	0
	II	3.230	0
	III	3.091	0
56 g/m ³ 2.5 h	I	3.256	0
	II	3.015	0
	III	3.276	0

Tabla 7. Individuos vivos obtenidos en las pruebas a pequeña escala para *A. fraterculus* en mandarina.

Tratamiento	Repetición	Individuos tratados	Individuos vivos
40 g/m ³ 2.0 h	I	3.028	77
40 g/m ³ 3.0 h	I	3.706	6
40 g/m ³ 3.5 h	I	3.036	56
48 g/m ³ 2.0 h	I	3.124	50
48 g/m ³ 3.0 h	I	3.225	574
48 g/m ³ 3.5 h	I	3.886	64
48 g/m ³ 4.0 h	I	3.412	0
	II	3.047	0
	III	3.189	0
56 g/m ³ 2.5 h	I	3.600	0
	II	3.075	0
	III	3.036	0

Tabla 8. Individuos vivos obtenidos en las pruebas a pequeña escala para *A. fraterculus* en naranja.

Tratamiento	Repetición	Individuos tratados	Individuos vivos
48 g/m ³ 4.0 h	I	3.412	0
	II	3.047	0
	III	3.189	0
56 g/m ³ 2.5 h	I	8.750	0
	II	6.300	0
	III	5.670	0
56 g/m ³ 3.0 h	I	3.600	0
	II	3.075	0
	III	3.036	0

Tabla 9. Individuos vivos obtenidos en las pruebas a gran escala para *C. capitata* en pomelo, naranja y mandarina.

Especie cítrica	Variedad	Tratamiento			
		48 g/m ³ - 4.0 h - 15° C		56 g/m ³ - 3.0 h - 15° C	
		Individuos tratados	Individuos vivos	Individuos tratados	Individuos vivos
Pomelo	Río Red	30.532	0	31.122	0
	Marsh Seedless	30.914	0	30.183	0
	Henninger's Ruby	30.888	0	31.484	0
	Washington Navel	31.095	0	30.841	0
Naranja	Pinneapple	30.564	0	30.660	0
	Hamlin	30.301	0	31.436	0
	Westin	30.748	0	31.282	0
	Salustiana	31.134	0	31.122	0
	Valencia	31.022	0	30.828	0
Mandarina	Murcott	30.684	0	30.755	0
	Hernandina	31350,000	0	31.130	0
	Clemenule	31.614	0	30.506	0
	Ellendale	31.641	0	31.466	0
	Satsuma	30.694	0	30.735	0
	Común	30.245	0	30.544	0

Tabla 10. Pruebas de desinsectación en gran escala para *Anastrepha fraterculus* en pomelos, naranjas y mandarinas.

Especie cítrica	Variedad	Tratamiento			
		48 g/m ³ - 4.0 h - 15° C		56 g/m ³ - 2.5 h - 15° C	
		Individuos tratados	Individuos vivos	Individuos tratados	Individuos vivos
Pomelo	Río Red	33.787	0	32.361	0
	Marsh Seedless	34.048	0	S/D	0
	Henninger's Ruby	31.548	0	S/D	0
	Rouge la Toma	33.083	0	S/D	0
	Star Ruby	32.331	0	S/D	0
	Shambar	31.812	0	S/D	0
Naranja	Valencia	30.858	0	35.250	0
Mandarina	Satsuma	31.050	0	38.156	0
	Común	32.016	0	S/D	0
	Clementina	31.050	0	40.260	0

N/D: no data.

tamientos a 15°C de 48 g/m³ durante cuatro horas y el de 56 g/m³ durante tres horas son efectivos para eliminar más de 30.000 individuos viables del estado de desarrollo de *C. capitata* más tolerante al Bromuro de Metilo para las tres especies cítricas evaluadas. Estos valores confieren a los tratamientos mencionados anteriormente una eficiencia del 99,99% con un nivel de confianza superior al 95,1% en todos los casos.

Los resultados obtenidos en las pruebas de desinsectación en gran escala muestran que los tratamientos a 15°C de 48 g/m³ durante cuatro horas y el de 56 g/m³ durante dos horas y media son efectivos para eliminar más de 30.000 individuos viables del estado de desarrollo de *A. fraterculus* más tolerante al Bromuro de Metilo para las tres especies cítricas evaluadas. Estos valores confieren a los tratamientos mencionados anteriormente una eficiencia del 99,99% con un nivel de confianza superior al 95,4% en todos los casos.

CONCLUSIONES

De los estados de desarrollo de *C. capitata* y *A. fraterculus* evaluados, el huevo es el más tolerante al Bromuro de Metilo.

Fumigaciones con Bromuro de Metilo a temperaturas de 15°C con dosis de 48 y 56 g/m³ duran-

te cuatro y tres horas respectivamente garantizan la eliminación de todos los estados inmaduros de huevo y larvas de *C. capitata*. Por lo que pueden ser usados como tratamientos cuarentenarios en pomelos, mandarinas y naranjas.

Fumigaciones con Bromuro de Metilo a temperaturas de 15°C con dosis de 48 y 56 g/m³ durante cuatro y dos horas y media respectivamente garantizan la eliminación de todos los estados inmaduros de huevo y larvas *A. fraterculus*. Por lo que pueden ser usados como tratamientos cuarentenarios en pomelos, mandarinas y naranjas.

La eficiencia de los tratamientos cuarentenarios desarrollados son independientes de las especies cítricas y sus variedades.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Armstrong, J. and M. Couey. 1984. Methyl Bromide Treatments at 30 °C for California Stonefruits Infested with the Mediterranean Fruit Fly. J. Econ. Entomol. 77: 1229-1232.
- Spitler, G. H. and H. M. Couey. 1983. Methyl Bromide fumigation treatment of fruits infested by the Mediterranean fruit fly. J. Econ. Entomol. 76: 547 - 550.