



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE ECOSISTEMAS AGROFORESTALES

**Observaciones sobre diversos
aspectos de la biología de
Delottococcus aberiae De Lotto
(Hemiptera:Pseudococcidae)**

MÁSTER EN PRODUCCIÓN VEGETAL Y ECOSISTEMAS AGROFORESTALES

TESIS DE MÁSTER

Presentada por: Marco Benito Sáez

Dirigida por: Antonia Soto Sánchez

Marzo 2017

Papá, mamá, Inma y chucho

A mis abuelos

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
RESUM.....	ii
ABSTRACT.....	iii
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	11
MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
1. Cría en laboratorio de <i>Delottococcus aberiae</i>	13
2. Muestreos en campo.....	15
3. Análisis estadístico.....	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
1. Cría en laboratorio.....	19
1.1. Elección del sustrato alimenticio.....	19
1.2. Viabilidad de la calabaza como sustrato alimenticio.....	19
2. Aspectos de la biología de <i>Delottococcus aberiae</i>	20
2.1. Dinámica estacional.....	20
2.2. Fecundidad de las hembras.....	24
2.3. Biología del huevo de <i>Delottococcus aberiae</i>	26
CONCLUSIONES.....	32
REFERENCIAS.....	34
ANEXO.....	42

RESUMEN

Delottococcus aberiae De Lotto (Hemiptera:Pseudococcidae) es una especie de pseudocócido de reciente introducción en España que se ha establecido como plaga en el cultivo de los cítricos. Se detectó en 2009 en la zona de Les Valls (Valencia), produciendo graves daños en frutos de naranjos y mandarinos. Durante los últimos años el insecto ha ido dispersándose, estando presente actualmente en las comarcas del Camp de Morvedre y Plana Baixa, donde también se ha detectado en cultivos de caqui. Pese a los esfuerzos que se han realizado durante estos años, existe un gran desconocimiento de la biología y ecología del pseudocócido, imprescindible para mejorar las estrategias del manejo integrado de la plaga. Los objetivos del presente trabajo se centran en aportar información sobre algunos aspectos del comportamiento de *D.aberiae*, de la biología de sus hembras y huevos.

Se ha realizado una cría masiva de *D. aberiae* en las cámaras del laboratorio de entomología del Instituto Agroforestal de Mediterráneo. En ella se ha analizado la viabilidad de diferentes sustratos alimenticios para el mantenimiento de las poblaciones del insecto. Dicha cría se ha utilizado para estudiar aspectos de la biología del insecto como la fertilidad y el tiempo de desarrollo de los huevos a diferentes temperaturas. El estudio de los aspectos biológicos del insecto se completó con la recogida de datos en parcelas de cítricos. En campo se han realizado estudios de dinámicas estacionales de las poblaciones del insecto; para ello se han seleccionado varias parcelas de cítricos en la subcomarca de Les Valls, monitorizando en ellas las poblaciones de la plaga y su potencial reproductor mediante 2 modelos diferentes de trampas, cartón corrugado y trampas cromáticas pegajosas.

La calabaza variedad redonda de asar ha resultado ser un sustrato alimenticio adecuado para la cría de *D.aberiae* obteniendo un establecimiento de las ninfas de primera edad en torno al 50%. En cuanto a los aspectos biológicos de la especie, los resultados muestran que *D.aberiae*, en condiciones mediterráneas, es capaz de completar dos claras generaciones al año y posteriormente desarrollar dos o tres generaciones más con muy baja densidad poblacional. Los valores de su tasa de fecundidad varían según el momento del año en que se midan, siendo mayores en primavera que en verano. La fertilidad obtenida en la cría fue del 90%, y la duración del desarrollo de la fase de huevo decreció al aumentar la temperatura (22, 24, 25 y 27°C). Se ha estimado un umbral mínimo de 14,8°C y una constante térmica de 104 grados día, para los huevos de *D.aberiae*.

RESUM

Delottococcus aberiae De Lotto (Hemiptera: Pseudococcidae) és una espècie de pseudocòccid de recent introducció a Espanya que s'ha establert com a plaga als cítrics. Es detectà en 2009 a la zona de Les Valls (València), produint greus danys en fruits de tarongers i mandariners. Durant els últims anys l'insecte ha anat dispersant-se, estant present actualment a les comarques del Camp de Morvedre i Plana Baixa, on també s'ha detectat en cultius de caqui. Malgrat els esforços que s'han realitzat durant aquests anys, existeix un gran desconeixement de la biologia i ecologia del pseudocòccid, imprescindible per millorar les estratègies de maneig integrat de la plaga. Els objectius del present treball se centren a aportar informació sobre alguns aspectes del comportament i la biologia de les femelles i els ous de *D. aberiae*.

S'ha realitzat una cria massiva de *D. aberiae* en les cambres del laboratori d'entomologia de l'Institut Agroforestal del Mediterrani. En ella s'ha analitzat la viabilitat de diferents substrats alimentosos per al manteniment de les poblacions de l'insecte. La cria s'ha utilitzat per estudiar aspectes de la biologia de l'insecte com la fertilitat i el temps de desenvolupament dels ous a diferents temperatures. L'estudi dels aspectes biològics de l'insecte es va completar amb la recollida de dades al seu medi natural. En camp s'han realitzat estudis de dinàmiques estacionals de les poblacions de l'insecte. Per a això s'han seleccionat diverses parcel·les de cítrics en la subcomarca de Les Valls, monitoritzant en elles les poblacions de la plaga i el seu potencial reproductor mitjançant 2 models diferents de paranys, cartó corrugat i paranys cromàtiques apegaloses.

La carabassa varietat redona de rostir ha resultat ser un substrat alimentós adequat per a la cria de *D. aberiae* obtenint un establiment de les nimfes de primera edat en torn al 50%. Quant als aspectes biològics de l'espècie, els resultats mostren que *D. aberiae*, en condicions mediterrànies, és capaç de completar dues clares generacions a l'any i posteriorment desenvolupar dues o tres generacions més amb molt baixa densitat poblacional. Els valors de la seua taxa de fecunditat varien segons el moment de l'any en què es mesuren, sent majors a la primavera que a l'estiu. La fertilitat obtinguda en la cria va ser del 90%, i la durada del desenvolupament de la fase d'ou va créixer en augmentar la temperatura. S'ha estimat un llindar mínim de 14,8°C i una constant tèrmica de 104 graus dia, per als ous de *D. aberiae*.

ABSTRACT

Delottococcus aberiae De Lotto (Hemiptera:Pseudococcidae) is a pseudococcid species which has been recently introduced in Spain and it has been established as a citrus pest. It was discovered in 2009 around the area of *Les Valls* (Valencia) and it has produced serious damages to oranges and mandarins' fruit. During the last years the pest has spread being currently present in Camp de Morvedre and Plana Baixa regions (in persimmon crops too). Despite the efforts made through these years, there is a great unknowledgement of this pseudococcid in the field of biology and ecology which is essential to improve strategies of integrated pest management. The goals of this essay focuc to provide information of *D.aberiae* bahaviour and females and eggs biology.

A *D.aberiae* massive rearing has been carried out in the entomology laboratory chambers of the Mediterranean Agroforestry Institute. In this rearing the feasibility of the different nutritional substrates for the insect population maintenance has been analysed. Furthermore, the aforementioned rearing has been used to study several aspects of the biology of the insect such as its fertility and the time used in the development of the eggs considering different temperatures. This research was completed with data collection in their natural environment as well as the studies of the variable dynamic of the insect population which have been made in the field. In order to get this research some citrus areas have been selected in the region of Les Valls where the pest population and its reproductive potencial have been monitored through two different kinds of traps: corrugated cardboard and sticky traps.

Besides, it has been observed that pumkins prove to be an effective nutritional substrate for *D. aberiae* rearing as there has been up to 50% of nymph settlement. Regarding the species biological aspects, the results show that in mediterranean weather conditions it is able to complete two distinct generations over a year and subsequently to develop two or three more generations with low population density. On top of that, fertility phase figures vary depending on the time of the year being higher in spring than in summer. Thus, the achieved rearing fertility was over 90% and it has been estimated a minimum thresold of 14,8°C and a thermal fixed value of 104 degrees day for *D. aberiae* eggs.

INTRODUCCIÓN

1. SUPERFAMILIA COCCOIDEA

Los **Cóccidos** (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea) forman una superfamilia relativamente pequeña, con cerca de 8000 especies descritas clasificadas en 46 familias. (Ben-Dov *et al.*, 2010). Es un grupo con una distribución mundial, aunque con preferencia por zonas cálidas y con gran diversidad en cuanto a formas, colores y tamaños. Desde el punto de vista agrícola, los Cóccidos tienen gran importancia, pues casi todos ellos son parásitos de vegetales. Muchos de ellos se alimentan de plantas cultivadas por lo que pueden ocasionar graves pérdidas económicas (Gómez-Menor, 1937). Casi todas las especies presentan complejas relaciones tróficas con numerosos grupos de artrópodos (depredadores, parasitoides, mutualistas,...) por lo que el conocimiento básico de su biología y ecología es imprescindible para poder establecer las redes tróficas que permiten mejorar los programas de control (Beltrà & Soto, 2012).

Gracias al importante desarrollo del comercio hortícola y ornamental a través de todo el mundo, los cóccidos son capaces de invadir nuevos territorios, tanto es así que actualmente las cochinillas que han invadido el continente Europeo forman un componente importante de su entomofauna, llegando a representar un 30% de los cóccidos totales (Pellizzari & Germain, 2010). Estas especies foráneas constituyen una amenaza importante para los agroecosistemas y su biodiversidad, pudiendo tener gran impacto ecológico y económico (Roques *et al.*, 2009).

2. FAMILIA PSEUDOCOCCIDAE

La familia **Pseudococcidae** constituye la segunda familia más numerosa de la superfamilia coccoidea, con más de 2000 especies descritas y cerca de 290 géneros (Ben-dov, 2006; Gullan & Cranston, 2005). Además es la segunda en importancia económica mundial entre las que componen dicha superfamilia (Granara de Willink, 1990). El carácter invasivo de los Pseudocóccidos es de sobra conocido, siendo la tercera en importancia de todo el orden Hemiptera, y la segunda en cuanto a Coccoidea (Pellizzari & Germain, 2010) (Gráfico 1).

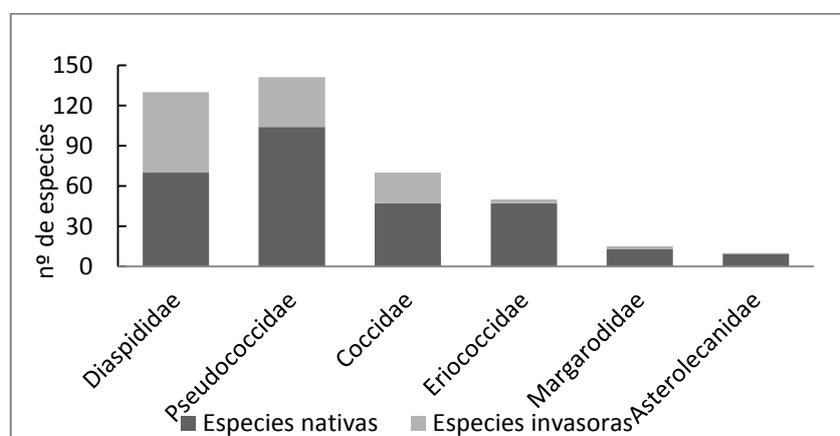


Gráfico1: nº de especies nativas e invasoras de cóccidos en Europa. Adaptado de Pellizzari & Germain, 2010.

Los Pseudocóccidos son insectos móviles en todos sus estadios, usualmente están recubiertos de una secreción cerosa que se extiende por los márgenes del cuerpo en forma de pequeños filamentos. Son insectos pequeños, algunos por debajo de 1mm y pudiendo alcanzar algunas hembras adultas los 9-10mm (McKenzie, 1967). Estas cochinillas viven principalmente en hábitats protegidos como grietas de troncos, hendiduras, agrupaciones de frutos, el envés de hojas, etc. (McKenzie, 1967; Mani & Shivaraju, 2016). Esto junto con el comportamiento críptico y el patrón de distribución agrupado que siguen sus poblaciones, hacen que en muchos controles fronterizos pasen inadvertidos (Pellizzari & Germain, 2010; Miller *et al.*, 2005).

2.1. DAÑOS

Los **daños** que producen las cochinillas harinosas son variados. En el proceso de alimentación causan debilitamiento de la planta por la absorción de fluidos del floema, pudiendo producir defoliaciones y/o caída prematura de órganos si la infestación es grave (Beltrà & Soto, 2012). Además, también producen daños indirectos por su capacidad para transmitir virosis, micoplasmosis, etc., de unas plantas a otras. Es por su forma de alimentación fluidófaga, que producen gran cantidad de melaza, la cual puede recubrir la planta y ser un excelente medio de cultivo para que se desarrollen determinados hongos (negrillas) que dan lugar a un recubrimiento negruzco sobre hojas y tallos que puede alterar gravemente el desarrollo de la planta (Palmero *et al.*, 2008).

2.2. MORFOLOGÍA

La **morfología** de los pseudocóccidos presenta un acusado dimorfismo sexual (figura 1), las hembras, por un lado, son ápteras y neoténicas, su forma adulta conserva caracteres morfológicos propios de los estadios ninfales, aunque están sexualmente maduras. Poseen forma oval y están protegidas por cera polvorienta producida por poros y ductos de distinto tipo. Alrededor del cuerpo la cera se proyecta en filamentos, siendo los posteriores normalmente más largos. (Williams & Granara de Willink, 1992). El cuerpo está formado por la cabeza, que está fuertemente fusionada al tórax y lleva el aparato bucal entre las coxas del primer par de patas y el abdomen que está compuesto por 9 o 10 segmentos según autores.



Figura 1: Aspecto general de machos y hembras de los pseudocóccidos en lupa binocular y microscopio

Por otra parte, los machos son varias veces más pequeños que las hembras, tienen el cuerpo recubierto de escasa cera y poseen la tagmatización típica de los insectos: cabeza, tórax y abdomen bien diferenciados (Franco *et al.*, 2000). Los machos adultos de estas especies no se alimentan, por lo que no tienen aparato bucal o está atrofiado y generalmente presentan un par de alas membranosas (Granara de Willink, 1990)

2.3. TAXONOMÍA

La **taxonomía** de la familia se basa en las características de la hembra adulta ya que fundamentalmente son ellas las que se encuentran con más facilidad debido a su vida sedentaria y producen el mayor daño económico (Granara de Willink, 1990; Pellizari & Germain, 2010; Hodgson & Henderson, 2004). Los caracteres en los que se basa la clasificación de este grupo han variado a lo largo de la historia. Actualmente se siguen los conceptos de Ferris (1918) y se toman en consideración principalmente poros, conductos y setas; diferenciando distintos tipos de ellos, número y ubicación; el número y características de los cerarios, así como también algunos detalles en patas, antenas, etc.

Este método de identificación clásico se basa en el montaje microscópico de los ejemplares y su posterior clasificación mediante claves dicotómicas. Los inconvenientes que presenta el método son varios, por un lado es un proceso que consume mucho tiempo y que precisa de conocimientos avanzados en taxonomía. Por otro lado no siempre existen claves para estadios ninfales de las especies, por lo que, si en la muestra no hay hembras adultas, es casi imposible su clasificación (Beuning *et al.*, 1999). Además la morfología de los pseudocóccidos presenta gran variabilidad intraespecífica dependiente de las condiciones ambientales, lo que hace que en ocasiones sea difícil diferenciar entre complejos de especies crípticas (Charles *et al.*, 2000).

Por estas razones, son cada vez más autores los que insisten en tener en cuenta los caracteres morfológicos de los estadios ninfales y de los machos adultos para una correcta clasificación de las especies (Ghauri, 1962; Castillo & Bellotti, 1990; Granara de Willink, 1990; Miller & Kosztarab, 1979; Williams, 1991). Hay que mencionar que en los últimos tiempos se está haciendo hincapié en el uso de técnicas moleculares para la identificación de insectos. Este es un sistema fiable, rápido y que permite identificar cualquier estadio (Beltrà & Soto, 2012), por lo que parece una técnica prometedora de cara al futuro.

2.4. BIOLOGÍA

En cuanto a la **biología** de estas especies: el tipo de reproducción es generalmente sexual, la partenogénesis aunque no es muy frecuente se da en algunas especies y es del tipo telitoca, con producción de hembras con número completo de cromosomas (Williams, 1985; Granara de Willink, 1990).

Los huevos están normalmente protegidos por filamentos cerosos que los unen entre sí y los envuelven formando un ovisaco, esto les ofrece una protección natural frente a enemigos naturales y tratamientos químicos (McKenzie, 1967). Las ninfas emergen después de unos días, son muy activas y se dispersan con facilidad llevadas por el viento u otros insectos. En el caso

de las hembras, tras 3 estadios ninfales en los que aumentan los segmentos antenales y aparecen determinadas estructuras, emerge el adulto con características neoténicas (Franco *et al.*, 2000; Granara de Willink, 1990).

En los machos, se desarrolla la primera y segunda muda donde prácticamente no se pueden diferenciar de las hembras (Mani & Shivaraju, 2016). Posteriormente se desarrollan dos estadios más, uno prepupal y otro pupal, en cápsulas cerosas de aspecto fibroso. En estos capullos los individuos adquieren las características propias del macho: pierden el aparato bucal, adquieren las alas, desarrollan sus patas y antenas y maduran sexualmente. La vida adulta del macho es muy corta, apenas de unos días e incluso siendo desconocidos para muchas especies. Por sus características, son muy difíciles de observar (Franco *et al.*, 2000; Granara de Willink, 1990; Hodgson & Henderson, 2004).

Se desconocen la mayoría de los ciclos biológicos, salvo los de aquellas especies que por su incidencia económica han propiciado su estudio (figura 2).

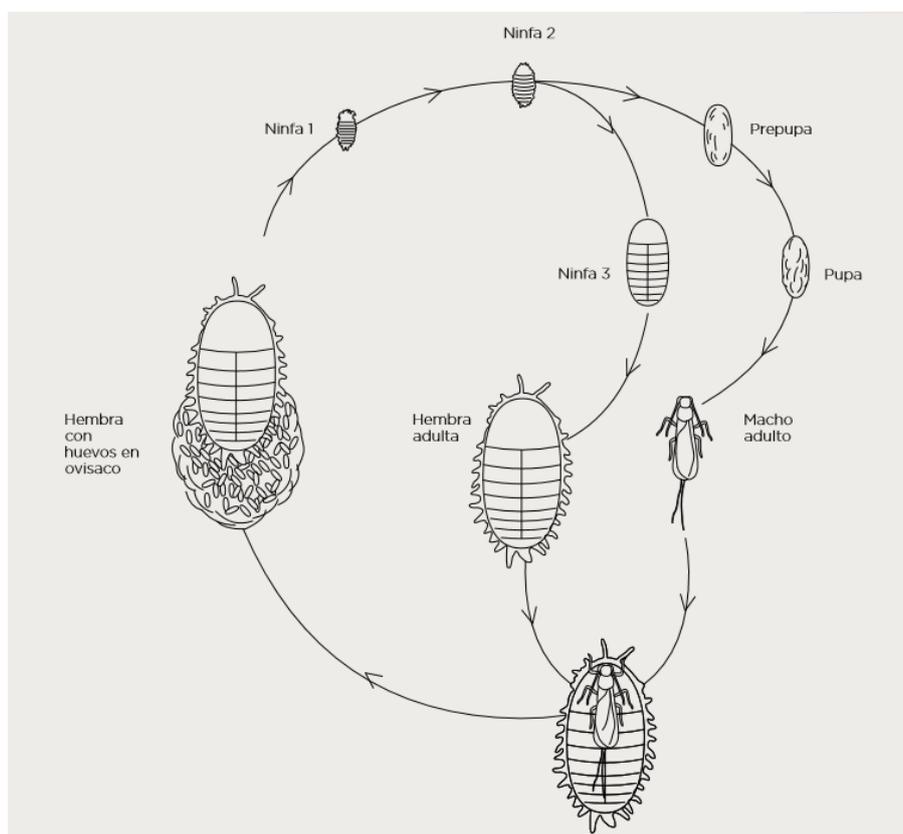


Figura 2: Ejemplo del ciclo de vida de un pseudococcido. (Beltrà y Soto, 2012).

El **número de generaciones** anuales depende de la especie en cuestión y de las condiciones ambientales de cada región (Franco *et al.*, 2000). Franco da algunos ejemplos para especies de cochinillas que afectan a los cítricos en regiones de clima mediterráneo (tabla 1).

Algunos autores han estudiado la **evolución estacional** de las poblaciones de pseudococcidos basándose en la captura de machos en trampas pegajosas, con esto se puede describir las

curvas de vuelo que son de gran ayuda para estudiar la fenología de las especies. Los machos responden activamente a las feromonas sexuales producidas por las hembras, por lo que las trampas pegajosas que van cebadas con ellas resultan un buen método para estimar su dinámica de población (Franco *et al.*, 2000). El principal inconveniente es que sólo se han sintetizado feromonas para las especies de mayor importancia económica (Beltra & Soto, 2012). Para paliar esta falta de feromonas sintéticas se puede recurrir a cebar la trampa pegajosa con hembras vírgenes (Meyerdirk *et al.*, 2001).

Tabla 1: Especies de pseudocóccidos y número de generaciones anuales que afectan a los cítricos en diversos países. Adaptado de Franco *et al.*, 2000.

Especie	Generaciones	Zona o País	Autor	Año
<i>Pseudococcus calceloriae</i>	3	Italia	Viggiani	1970
	4 a 5	California	Bartlett & Lloid	1958
<i>Pseudococcus longispinus</i>	2 a 3	Francia	Panis	1969
	4 a 5	California	Bartlett & Lloid	1958
<i>Pseudococcus viburni</i>	2 a 3	Francia	Panis	1969
	4 a 5	Italia	Marotta	1994
<i>Planococcus Citri</i>	7 a 8	Israel	Tremblay	1988
	3 a 4	Grecia	Economopoulos	1981
	4 a 5	España	Gómez-Clemente	1943

Franco recoge el trabajo de diversos autores para la especie *Planococcus.citri* Risso dando como resultados 2 picos de vuelo anuales en Italia (Rotundo & Tremblay, 1979); 3 picos de vuelo anuales en California (Moreno *et al.*, 1984); 4 picos de vuelo anuales en Portugal (Franco, 1997) y 3 picos de vuelo anuales en Israel (Klein, 1994). Concluyendo que la cantidad de insectos capturados por trampa depende, entre otros factores, del tipo de feromona utilizada, de la localización de la trampa, de la densidad poblacional y de las condiciones climáticas.

A pesar de todos los esfuerzos realizados, generalmente en este tipo de especies, se da un solapamiento de generaciones (Franco *et al.*, 2000), esto hace al estudio del ciclo biológico una tarea difícil (Hughes *et al.*, 1984). Entre los posibles factores que contribuyen al solapamiento de generaciones encontramos el escalonamiento en la oviposición y eclosión, y sobre todo a la variabilidad en la tasa de desarrollo de los diferentes individuos resultado de las diferencias en la calidad de alimento y condiciones microclimáticas (Franco *et al.*, 2000).

La **fecundidad** de las hembras es bastante variable en los Pseudocóccidos, depende de las condiciones ambientales, de las condiciones del sustrato donde se desarrollan y de la densidad de población (Franco *et al.*, 2000). Incluso la edad de la hembra en el momento de la cópula se ha demostrado que es un factor crucial en la fecundidad de algunas especies como *P.citri* (Nelson-Res, 1960) siendo las hembras de más edad las que menor número de huevos ponen, además de perder parte de su poder de atracción sobre los machos (Silva *et al.*, 2012).

Sobre las condiciones ambientales, Bodenheimer (1951), dedujo que con el frío del invierno el número de huevos puestos por *P.citri* se reducía drásticamente, siendo desde junio a octubre

el periodo de máxima fecundidad. En condiciones de laboratorio multitud de autores han estudiado la fecundidad de cochinillas a diferentes temperaturas dando diferencias muy significativas (Qin *et al.*, 2011; Goldasteh *et al.*, 2009; Chong *et al.*, 2008). Las condiciones del hospedante, tanto en cantidad como en calidad, también hacen variar notablemente fecundidad (Hogendorp *et al.*, 2006).

Por otra parte, la **fertilidad** de estas especies, medida como el porcentaje de huevos viables, se mantiene en general elevada, siendo incluso superior al 90% (Mendel *et al.*, 1991).

3. GÉNERO *Delottococcus*

El **género *Delottococcus*** Cox & Ben-Dov proviene de los países de África subsahariana. Es un género con alta variabilidad morfológica, por lo que la complejidad en la identificación ha hecho que se cometieran algunas identificaciones erróneas en el pasado y es posible que se describan nuevas especies en el futuro (Miller & Giliomee, 2011). Las especies de *Delottococcus* tienen un gran potencial invasor, pudiendo producir un impacto económico negativo en los países de entrada (Miller & Giliomee, 2011). Algunas de estas especies son de cuarentena en Estados Unidos e Israel (Beltrà *et al.*, 2013).

Delottococcus confusus (De Lotto) fue detectada en California en 2003, donde se consiguió su erradicación. Nuevamente en 2007 se detectó la misma especie en Hawaii y Maui.

Otra especie del género, *Delottococcus euphorbiae* (Ezzat & McConnell), está considerada plaga en plantas ornamentales en Italia y Francia y algunas otras como *Delottococcus trichiliae* (Brain, 1915) se consideran potencialmente peligrosas ya que causan graves daños en sus países de origen. (Miller & Giliomee, 2011).

3.1. *Delottococcus aberiae*

Delottococcus aberiae se detectó por primera vez en 2009 en la zona citrícola de la subcomarca de Les Valls (Beltra *et al.*, 2013). Hasta la fecha sólo una especie del género *Delottococcus* había sido citada como causante de daños en cítricos: *Delottococcus elisabethae* (Brain), especie muy parecida morfológicamente a *D. aberiae* (lo que lleva a pensar que pudo ser un error de identificación) (Miller & Giliomee, 2011). En ese momento, esta plaga de cítricos era totalmente nueva a nivel mundial (Beltra *et al.*, 2013; Tena *et al.*, 2015) por lo que se desconocía todo lo relacionado a su control. Actualmente el cotonet de Les Valls se haya en plena expansión, estando presente en toda la comarca del Camp de Morvedre y en algunas zonas de la Plana Baixa; además se ha detectado recientemente en el cultivo del caqui, donde también es una plaga nueva a nivel mundial (García-Martínez *et al.*, 2016).

Desde el año 2009 varios grupos de investigadores de la Comunidad Valenciana han trabajado en ampliar el conocimiento sobre la nueva plaga en aras de llegar a controlarla de una forma ecológicamente sostenible para el medio ambiente. Sus aportaciones quedan resumidas a continuación:

3.2. DAÑOS DE *D.aberiae*

Los **daños** que produce *Delottococcus aberiae* en cítricos son bastante graves, ya que a diferencia de la mayoría de pseudocóccidos, éste es capaz de deformar completamente los frutos de los cuales se alimenta produciendo su depreciación comercial (Beltrà *et al.*, 2013; Tena *et al.*, 2015; Soto *et al.*, 2016a). Además produce daños indirectos como la excreción de melaza con la consiguiente proliferación de negrilla y su mera presencia puede acarrear problemas cuarentenarios en la exportación de cítricos Valencianos al tratarse de una plaga nueva (Tena *et al.*, 2015).

Se observan ataques de *D.aberiae* en todas las variedades y especies de cítricos: naranjas del grupo navel, valencia, sanguinas, clementinas, híbridos, limones, pomelos, sin una clara preferencia por variedades concretas. Se han observado daños diferentes según variedades, en las mandarinas e híbridos la deformación hace que el fruto se quede enano mientras que en las naranjas se producen deformaciones y bultos pero el fruto adquiere un tamaño normal (Tena *et al.*, 2016b) (figura 3).



Figura3: Ejemplos de daños en frutos cítricos.

Recientemente Soto y colaboradores (2016a) estimaron el periodo durante el cual los frutos son susceptibles de sufrir deformaciones sobre dos variedades cítricas: Ortanique y Clemenules. Los resultados, muy similares en ambas, indican que los daños se empiezan a producir en estado de flor (70% de los frutos resultaron deformados) hasta que el frutito adquiere los 2,5-3cm (donde ya no se producen deformaciones). El periodo en los que el porcentaje de daños es máximo se da entre fruto recién cuajado hasta que adquiere 1cm de diámetro, con un 90% de frutos deformados.

En el cultivo del caqui, de momento, *D.aberiae* no produce deformación ni enanismo, pudiendo ser debido a que las toxinas que inyecta el pseudocóccido con la saliva no afectan a esta especie de cultivo o a que la plaga aparece en el cultivo en un momento en el que éste ya no es susceptible de deformación.

3.3. BIOLOGÍA DE *D.aberiae*

En lo que respecta a la **biología** del insecto, la información conocida es muy poca. Es capaz de completar varias generaciones al año en nuestras condiciones climáticas, las cuales se solapan.

La densidad poblacional del insecto empieza a aumentar en el mes de marzo y alcanza su máximo en los meses de junio y julio. Las poblaciones disminuyen en agosto debido a las condiciones climáticas y la acción de *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant), mientras que el resto del año se mantienen bajas (Tena *et al.*, 2015; Soto *et al.*, 2016a).

3.4. CONTROL DE *D.aberiae*

Pese a que *D.aberiae* es un insecto polífago, citándose en su país de origen sobre cultivos importantes como café, guava, o pera, el complejo de enemigos naturales asociado a la especie está prácticamente por conocer (De Lotto, 1961; Miller & Giliomee, 2011). En nuestro territorio no se han detectado signos de parasitismo destacables en todos estos años (Soto *et al.*, 2016b). Para arrojar luz sobre este asunto investigadores del IVIA han probado el potencial de una serie de parasitoides Encyrtidos originarios o aclimatados a nuestra zona en condiciones de laboratorio, resultando que ninguno de los 5 parasitoides probados: *Acerophagus angustifrons* (Gahan), *Anagyrus sp.* (Girault), *Cryptanusia comperei* (Timberlake), *Leptomastix algerica* Trjapitzin, and *Tetracnemoidea peregrina* Compere; demostró tener potencial para el control biológico de *D.aberiae* (Tena *et al.*, 2016a).

Por su parte Beltrà y colaboradores (2015) realizaron una prospección de posibles parasitoides en Sudáfrica (región de origen de *D.aberiae*), encontrando una especie de *Anagyrus* desconocida hasta ahora, parasitando individuos de *D.aberiae* en pomelos de la provincia de Limpopo. Además estas poblaciones de plaga de Limpopo coinciden molecularmente con las poblaciones de Les Valls, por lo que esta especie de *Anagyrus* se plantea como el candidato idóneo para una posible aplicación de control biológico clásico de la plaga (Beltrà *et al.*, 2015; Soto *et al.*, 2016a).

En cuanto a los depredadores de *D.aberiae*, la especie principal es *Cryptolaemus montrouzieri*, un depredador muy eficiente de la plaga ya que consigue reducir drásticamente las poblaciones del cotonet; el problema es que *C.montrouzieri* aparece tarde, cuando el porcentaje de frutos dañados ya es muy elevado (Soto *et al.*, 2016a). Investigadores del IVIA, en vistas del momento tardío en que aparece el depredador en nuestras condiciones climáticas realizaron varias pruebas de sueltas masivas de *Cryptolaemus* en los momentos idóneos, dando resultados muy dispares según parcelas, por lo que tampoco parece que sea la mejor opción para el control de la plaga (Tena *et al.*, 2015).

Otros depredadores a tener en cuenta son los coccinélidos del género *Scymnus* (Kugelann) los cuales son capaces de alimentarse de los huevos de *D.aberiae* (apreciación personal). *Scymnus sp* tiene su incremento poblacional en los meses de junio-julio (García-Marí, 2012), coincidiendo con el del pseudocóccido, por lo que podría ser interesante para el control de la plaga. Según el trabajo de Alvis (2002), los coccinélidos son depredadores muy abundantes en los cítricos Valencianos, estando presente en la mayoría de parcelas. A pesar de esto, hay que decir que es un insecto polífago encontrándose también asociado a colonias de pulgones (Alvis *et al.*, 2002) por lo que puede ser que su preferencia alimenticia no sea *D.aberiae*.

De momento, la única opción de la que se dispone actualmente para combatir a *D.aberiae* en la Comunidad Valenciana es el control químico (Beltra *et al.*, 2013; Tena *et al.*, 2015; Soto *et*

al., 2016b). Para esto se recomiendan 4 materias activas: aceite mineral, spirotetramat, clorpirifos y metil-clorpirifos (GIP cítricos IVIA). Siendo las materias más eficaces el clorpirifos y el metil-clorpirifos que afectan tanto a las ninfas como a ovisacos (Tena *et al.*, 2015). La época recomendada para el tratamiento es a caída de pétalos, mojando bien la parte baja del tronco del árbol, ya que hay mucho movimiento de cotonets entre la copa y el tronco, incluso hacia el suelo.

Según el IVIA los muestreos han de realizarse, también, a caída de pétalos, observándose 100 frutos de 50 árboles y recomiendan el tratamiento solo si se supera el 10% de frutos con presencia de la plaga (Tena *et al.*, 2016b).

D. aberiae está considerada como la plaga de la citricultura española de más reciente introducción (Tena *et al.*, 2016b) y debido a los graves daños que produce en el cultivo, su creciente expansión y la posibilidad de invadir nuevos cultivos como el caqui requiere ahondar más en su conocimiento para poder tomar las decisiones adecuadas en su manejo.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El desconocimiento de algunos aspectos fundamentales acerca de la biología del pseudocóccido *Delottococcus aberiae* hace que sea necesario profundizar en ellos para poder mejorar las estrategias de control de esta plaga en la región mediterránea. En base a ello, este trabajo presenta los siguientes objetivos:

- Analizar la viabilidad de varios frutos o plantas como posible sustrato alimenticio para su uso en una cría masiva de *D. aberiae* en laboratorio.
- Conocer la dinámica estacional de las poblaciones del insecto en los campos de cítricos valencianos. Comparar diferentes técnicas de muestreo para este fin.
- Determinar algunos aspectos de la biología de *Delottococcus aberiae* como son, la fecundidad de las hembras y la fertilidad, umbral y tiempo de desarrollo de los huevos.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. CRÍA EN LABORATORIO DE *Delottococcus aberiae*

1.1. CRÍA DE *D. aberiae*

El material de partida para los ensayos de laboratorio ha sido una cría masiva establecida en las cámaras climáticas del Instituto Agroforestal del Mediterráneo desde el año 2015. La cría se mantiene a $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, con un régimen de humedad del 65-85% y en completa oscuridad dentro de evolucionarios de madera de 0,9 x 0,9m con malla fina para su ventilación.

Las poblaciones de la cría masiva se utilizaron en este trabajo para:

1. Seleccionar el sustrato alimenticio más idóneo para el mantenimiento de la cría de *D. aberiae* y analizar la efectividad de la calabaza redonda como sustrato alimenticio de dicha cría.
2. Realizar estudios sobre la biología reproductiva del insecto: fecundidad de las hembras, fertilidad y tiempo de desarrollo del huevo.

1.2. ESTUDIO PRELIMINAR DE SUSTRATO ALIMENTICIO

Para la cría de *D. aberiae* se han estudiado cualitativamente varios sustratos vegetales tomando como base la bibliografía disponible de cría de otros pseudocóccidos. Los sustratos estudiados han sido:

- Patata: *Solanum tuberosum* variedad fontane.
- Limón: *Citrus x limón* variedad fino.
- Calabaza variedad 1: *Cucurbita moschata* variedad cacahuet.
- Calabaza variedad 2: *Cucurbita maxima* variedad redonda de asar.
- Plántulas de naranjo amargo: *Citrus x aurantium*.

Cada sustrato probado se infectó con 10 ovisacos y se evaluó cualitativamente al cabo de 40 días según:

Durabilidad: el insecto es capaz de completar el ciclo de vida sobre el sustrato sin que se deteriore.

Coste: método económicamente viable.

Fijación del insecto: el grado de fijación de *D. aberiae* sobre el sustrato.

1.3. VIABILIDAD DEL SUSTRATO ALIMENTICIO

Para analizar la viabilidad de utilizar la calabaza “redonda de asar” como sustrato para la cría de *D. aberiae*, se realizó un ensayo con dicha variedad de calabaza. Para ello, se utilizaron 10 calabazas redondas, que previamente habían sido esterilizadas con lejía al 10%, considerando cada una de ellas como una repetición. Posteriormente, sobre su superficie, se colocaron entre

50-70 huevos obtenidos de la cría mediante el uso de un pincel fino. Las calabazas con los huevos se situaron dentro de cajas plásticas de 40x30cm con ventilación en la tapa y en condiciones ambientales estándar ($25^{\circ}\text{C} \pm 1$, 60-80%HR y oscuridad total), interfiriendo lo menos posible en el proceso de establecimiento del insecto. Las muestras se observaron al binocular en dos ocasiones con un intervalo de 15 días entre ellas. La primera observación se realizó a los 15 días posteriores a la colocación de los huevos, retirando el número de huevos que no habían eclosionado. En la segunda observación, a los 30 días, se referenció el número de ninfas vivas adheridas al sustrato alimenticio.

1.4. FECUNDIDAD DE LAS HEMBRAS EN LABORATORIO

Para la realización de los estudios sobre la fecundidad de *D. aberiae* alimentándose a base de calabaza durante numerosas generaciones, se seleccionaron al azar 25 hembras grávidas de la cría. Se procedió a marcar en la calabaza, con la ayuda de un rotulador, el espacio que ocupaban las hembras. Debido a que *D. aberiae* tiene la capacidad de moverse y hacer nuevos ovisacos cuando las hembras son molestadas (observación personal), se evitó cualquier perturbación de las hembras durante la realización de su ovisaco. Una vez cesó la puesta de huevos, tras la completa desecación de las hembras, estos fueron contados bajo lupa binocular. Los resultados se compararon con la fecundidad obtenida con hembras recogidas de campo y por tanto que han vivido en su medio natural (explicado en el apartado 2.2.2). Se analizó y comparó el potencial de la calabaza como sustrato alimenticio.

1.5. ESTUDIOS DE BIOLOGÍA DEL HUEVO DE *D. aberiae*

1.5.1. FERTILIDAD

Para el estudio de la fertilidad, se colocaron mediante un pincel fino, entre 10 y 15 huevos obtenidos de la cría artificial en placas de Petri de cristal de 3,5cm de diámetro, con un papel de filtro en la base para evitar el contacto directo con el cristal. Se utilizaron un total de 328 huevos distribuidos en 31 repeticiones, donde los huevos de cada repetición se obtuvieron al azar de 31 hembras distintas. Las placas se mantuvieron en condiciones controladas (25°C , 60-80%HR y en oscuridad), siendo revisada la eclosión de huevos cada 48 horas bajo lupa binocular. A medida que los huevos fueron eclosionando se retiraron las ninfas de primera edad con la ayuda de un pincel fino, registrándose tanto el número de huevos que eclosionaron como los que no. Se ha considerado huevo no viable cuando al cabo de 20 días no había eclosionado.

1.5.2. TIEMPO DE DESARROLLO DE LOS HUEVOS

El tiempo de desarrollo del huevo de *D. aberiae* se evaluó para las temperaturas 22, 24, 25 y 27°C utilizando las cámaras climáticas del Instituto Agroforestal del Mediterráneo con un rango de humedad del 60-80% y un régimen de oscuridad total.

Previamente al ensayo y para estandarizar la edad de los huevos, se colocaron 20 hembras grávidas de la cría en placas de Petri de plástico, mediante un pincel, incubándolas de forma individualizada. Las hembras se colocaron a la misma temperatura a la que posteriormente se realizaría el ensayo de desarrollo de sus huevos y sin ningún tipo de alimento para forzar la puesta de huevos. Al cabo de 24 horas se retiraron todos los ovisacos que las hembras habían comenzado a realizar, permitiendo que dichas hembras pudieran seguir poniendo huevos. Al día siguiente se aislaron entre 2 y 3 huevos, de entre 0 y 24 horas de edad, de cada una de las 20 hembras. Para ello, se trasladaron cuidadosamente al interior de placas de Petri plásticas de 5cm de diámetro, mediante la ayuda de un pincel fino. A las placas se les practicó dos orificios en la tapa forrándolos con muselina para permitir la ventilación en su interior y se colocó un papel de filtro en su base (para la $T^a=22$ la edad fue de 0 a 48 horas debido a la ralentización encontrada en su desarrollo). Cada huevo fue considerado como una repetición, realizando entre 40 y 50 repeticiones por temperatura. Las placas se mantuvieron incubadas a las temperaturas del ensayo y se revisaron diariamente bajo lupa binocular, anotando el día de eclosión de los huevos.

Se determinó el efecto de la temperatura sobre el tiempo de desarrollo de la fase de huevo. Para ello se calcularon dos parámetros estándar de temperatura, el umbral mínimo de desarrollo y la constante térmica de la fase huevo, ambos descritos por Honek (Honek, 1996) de la siguiente forma:

- Umbral mínimo de desarrollo (T_0): temperatura mínima a la que la tasa de desarrollo es cero. Esta se puede estimar, mediante modelos lineales o no lineales, como el valor de la línea de regresión que intercepta el eje de la temperatura.
- Constante térmica (K): suma de energía térmica (grados-día) necesaria para completar el desarrollo. Este parámetro solo puede ser estimado mediante la ecuación del modelo lineal ($Y=a+bx$), y se obtiene como la inversa de su pendiente.

2. MUESTREOS EN CAMPO

2.1. DESCRIPCIÓN DE LAS PARCELAS DE MUESTREO

Los estudios de campo de *Delotococcus aberiae* se han llevado a cabo en 5 parcelas comerciales de cítricos ubicadas en la comarca del Camp de Morvedre durante los años 2014 – 2016 (tabla 2).

Tabla2: detalles de las parcelas de estudio

Parcela	Localidad	Variedad	Superficie (Ha)
1	Quartell	Lanelate	0,53
2	Quartell	Sanguinelli	0,69
3	Quartell	Navelina	2
4	Quart de Les Valls	Oroval	0,23
5	Quart de Les Valls	Oroval	0,29

Las parcelas se han seleccionado por su alto nivel de infestación de plaga durante años anteriores y por su manejo, libre de tratamientos químicos.

En las parcelas citadas anteriormente se han llevado a cabo dos tipos de muestreo que se describirán a continuación.

2.2. TIPOS DE MUESTREOS EN PARCELAS DE ESTUDIO

2.2.1. TRAMPAS CROMÁTICAS PEGAJOSAS

Este tipo de trampas se ha utilizado para la realización de muestreos indirectos. En ellas se ha monitorizado el vuelo de machos.

Las trampas utilizadas han sido trampas pegajosas amarillas Econex® de 20 x 12,5cm adaptadas mediante el cebado de feromona sexual según el procedimiento de Meyerdirk *et al.*, 2001. Según esta metodología, se añade a la trampa un envase plástico de 0,5l con 10 hembras vírgenes en su interior sobre un sustrato alimenticio a base de limón. En la tapa del bote se practica un orificio forrado con muselina que permita la ventilación y el movimiento de las feromonas emitidas por las hembras hacia el exterior, pero con una luz de celda de la tela lo suficientemente pequeño para evitar que las hembras se puedan escapar. Se han colocado 2 trampas por parcela en árboles separados, a una altura de 1,5m sobre el suelo y situadas en la cara sur del árbol.

Las trampas se han cambiado semanalmente, quincenalmente o mensualmente dependiendo de si la época era, favorable, intermedia o desfavorable con respecto a la población existente del insecto respectivamente. Las trampas así como las hembras vírgenes fueron reemplazadas en cada muestreo. Tras cada uno de los muestreos, las trampas se trasladaron al laboratorio del Instituto Agroforestal Mediterráneo donde se contabilizaron las capturas utilizando una lupa binocular (Nikon SMZ645). También se realizaron observaciones, con la finalidad de confirmar que se trataba de la especie *D. aberiae* y no de otra diferente, mediante la comparación de la genitalia con el resto de especies presentes en cítricos (Afifi, 1968; Giliomee, 1961). Cuando las observaciones no se pudieron hacer directamente en las trampas por falta de nitidez de los insectos o suciedad de las trampas, entre otros motivos, se procedió a extraer los insectos de la trampa adicionándoles una gota de la solución Histoclear®. Posteriormente se trasladaron a un pocillo entomológico para observar el perfil del estilo.

2.2.2. TRAMPAS DE CARTÓN CORRUGADO

Este tipo de trampas se utilizó para la realización de muestreos indirectos. En ellas se monitorizaron:

Las poblaciones de las hembras con ovisaco y prepupas y pupas de macho.

La fecundidad o número de huevos en los ovisacos de las hembras.

Para el seguimiento indirecto de las hembras de *D. aberiae* se utilizaron trampas de cartón corrugado de aproximadamente 20 x 40cm de tamaño. La cinta de cartón sujeta al árbol sirve de refugio para las hembras adultas que van a ovipositar y también para los machos de segundo estadio cuando van a proceder a realizar el pupario (Beltrà & Soto, 2012).

Se seleccionaron 5 árboles al azar en cada una de las 5 parcelas estudiadas; en cada árbol se colocaron 4 trampas, una alrededor del tronco y el resto en las ramas principales, sujetando los cartones con alambre fino. Los periodos de muestreo han sido semanales, quincenales o mensuales dependiendo de si se trataba de una época favorable, intermedia o desfavorable para el insecto, al igual que en el caso de las trampas pegajosas. Los cartones se reemplazaron en cada muestreo y se trasladaron al laboratorio para su conteo bajo lupa binocular. Allí, tras su observación, se anotó el número de hembras con ovisaco y pupas de macho (prepupa + pupa conjuntamente).

Las muestras de los cartones corrugados también se han utilizado para estudiar la tasa de fecundidad de *D. aberiae* en condiciones de campo en los dos principales periodos del año de máxima densidad poblacional, uno correspondiente al mes de abril y el otro al mes de junio. Para ello, una vez en laboratorio y bajo lupa binocular, se han seleccionado al azar 25 hembras con ovisaco del total de cartones. En cada una de ellas se ha procedido a abrir los sacos de huevos mediante una aguja entomológica, dejando los huevos expuestos para su posterior conteo. Se comprobó que todas las hembras del estudio cumpliesen las siguientes condiciones:

- Ovisaco sin huevos eclosionados
- Hembra agotada, pero presente junto al ovisaco
- Ovisaco completamente acabado, sin roturas ni síntomas de depredación

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El estudio de la fecundidad en campo se analizó mediante la comparación de resultados en los dos periodos a evaluar (abril y junio), mediante un test t.

Para la comparación estadística de los resultados de fecundidad en campo y laboratorio se aplicó un ANOVA unifactorial.

En el caso de duración de la fase huevo se determinó el efecto de la temperatura sobre el tiempo de desarrollo del huevo mediante un ANOVA unifactorial y posteriormente se realizó un análisis de regresión para comprobar la relación lineal entre tasa de desarrollo y temperatura.

En todos los ANOVAS citados se aplicó el procedimiento de Fisher de la mínima diferencia significativa (LSD) para separar las medias con un nivel de confianza del 95% ($P < 0,05$), previa comprobación de la normalidad de los datos.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc., Warrenton, EEUU).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. CRÍA EN LABORATORIO

1.1. ELECCIÓN DEL SUSTRATO ALIMENTICIO

De entre todos los sustratos alimenticios probados, el que mejores resultados dio fue la calabaza redonda de asar (tabla 3). Esta variedad es bastante rugosa y asurcada, lo que facilita que las cochinillas encuentren espacios donde protegerse y realizar la puesta. Además es capaz de aguantar varios meses en perfectas condiciones por lo que la plaga puede llegar a completar varios ciclos de vida en ella antes de que se produzcan pudriciones.

Tabla3: Características cualitativas de los sustratos alimenticios probados para la cría de *D. aberiae*.

Sustrato (variedad)	Durabilidad del sustrato	Coste del sustrato	Fijación de la plaga
Patata (lauranne)	Alta	Bajo	Baja
Limón (fino)	Media	Alto	Alta
Calabaza (cacahuet)	Alta	Medio	Media
Calabaza (redonda de asar)	Alta	Medio	Alta
Plántulas de naranjo amargo	Baja	Bajo	Alta

La patata lauranne y la calabaza cacahuet presentaron una fijación de la plaga baja y media respectivamente por lo que fueron los primeros sustratos en ser descartados. Las plántulas de naranjo, pese a permitir una gran fijación de los estadios ninfales de la plaga, estos no llegaron a producir descendencia debido al rápido decaimiento sufrido por las plantas de corta edad. En cuanto al limón y la calabaza redonda ambos presentaron una alta fijación de la plaga, nos decantamos por el uso de la calabaza por su mayor durabilidad y menor coste.

El protocolo desarrollado para la realización de la cría masiva queda recogido en el ANEXO1.

1.2. VIABILIDAD DE LA CALABAZA COMO SUSTRATO ALIMENTICIO

De entre todos los sustratos probados se eligió la calabaza variedad “redonda de asar” para el mantenimiento de la cría, y se realizó un estudio cuantitativo de la viabilidad de dicho sustrato para su utilización en la cría de *D. aberiae*. Para ello se analizó la supervivencia (Ix) de las ninfas de primera edad sobre la calabaza (tabla 4). Se ha probado la mortalidad en esta fase inicial ya que son los primeros estadios los que mayor mortalidad sufren, probablemente debido a la falta de secreción cerosa y consiguiente desecación (Persad & Khan, 2007). También se comprobaron otros parámetros para medir la viabilidad del sustrato como la fecundidad de la hembra (apartado 2.2.2.) y la fertilidad de los huevos (apartado 2.3.1).

El resultado obtenido es de una tasa de supervivencia del estadio de primera edad de 0,44. Esto significa que casi la mitad de los huevos que eclosionan sobre la superficie de la calabaza redonda, son capaces de fijarse y alimentarse hasta completar su estadio y mudar a ninfas de segunda edad.

Tabla 4: parámetros de supervivencia y mortalidad de las ninfas de primer estadio de *Delottococcus aberiae* sobre calabaza redonda.

ESTADIO	Nº INICIAL DE INSECTOS	Nº DE MUERTOS	MORTALIDAD (qx)	SUPERVIVENCIA (lx)
Ninfa N1	519	291	0,560693642	0,439306358
Ninfa N2	228			

Este aspecto de colonización, medido como la supervivencia de los estadios iniciales es clave para comprobar la viabilidad de la calabaza como sustrato alimenticio. Las ninfas de primer estadio o crawler son los individuos más móviles y los encargados de dispersarse buscando alimento (Gullan & Kosztarab, 1997), por lo que su importancia para establecer nuevas zonas de establecimientos es esencial para los pseudocóccidos. El valor obtenido de supervivencia en las N1 de *D. aberiae* es similar al obtenido por Arai (1996) para las especies *Planococcus citri* y *Planococcus kraunhiae* sobre hojas de cítrico a 25°C, siendo las supervivencias del primer estadio de 0,39 y 0,52 respectivamente. Resultados algo más elevados se encontraron en los trabajos de Jhonson (2010), con una supervivencia del 0,6 para la especie *Paracoccus burnerae* sobre cítricos y en el caso de Chong *et al.* (2008) para la especie *Maconellicoccus hirsutus* con una l_x de 0,86 sobre hojas de hibisco a 25°C.

2. ASPECTOS DE LA BIOLOGÍA DE *D. aberiae*

2.1. DINÁMICA ESTACIONAL

2.1.1. VUELO DE MACHOS

Los resultados de seguimiento del vuelo de machos de *D. aberiae* a lo largo de los 2 años de estudio dejan constancia que el insecto es capaz de completar varias generaciones al año en nuestras condiciones climáticas (Gráfico 2). Las dos generaciones más abundantes, coinciden bastante durante el periodo de estudio. El primer vuelo se da alrededor de mediados de abril, coincidiendo con la floración de los cítricos, mientras que el segundo gran vuelo poblacional se da la primera quincena de junio en ambos años.

En cuanto a la duración y proporción de capturas de los vuelos, el primero dura más tiempo, debido principalmente a la menor temperatura ambiente a la que se produce. Las fechas de capturas máximas tienen muy poca variación entre años, produciéndose el 12 de abril y 11 de junio en el año 2014 y el 26 de abril y 10 de junio en 2015. A diferencia de esto, la cantidad total de insectos capturados sí que varía con el año (tabla 5), siendo más numerosas las capturas de 2014. El resto de generaciones anuales de *D. aberiae* no quedan bien definidas.

Se observa en invierno, un periodo de capturas nulas correspondiente a los meses de diciembre de 2014 y enero de 2015, así como también en diciembre de 2015. Siendo la temperatura mínima media mensual de estos periodos de 3, 2 y 6°C respectivamente.

Tabla 5: características principales de los vuelos de machos de *Delottococcus aberiae* en los dos años de estudio.
*estimación

Año	Nº de vuelo	Fecha de inicio	Nº de días	Fecha de capturas máximas	Nº total de insectos
2014	1º (Primavera)	29-mar*	33	12-abr	121,4
	2º (Verano)	29-may	27	11-jun	53,6
2015	1º (Primavera)	10-mar	62	26-abr*	110,4
	2º (Verano)	18-may	49	10-jun	40,5

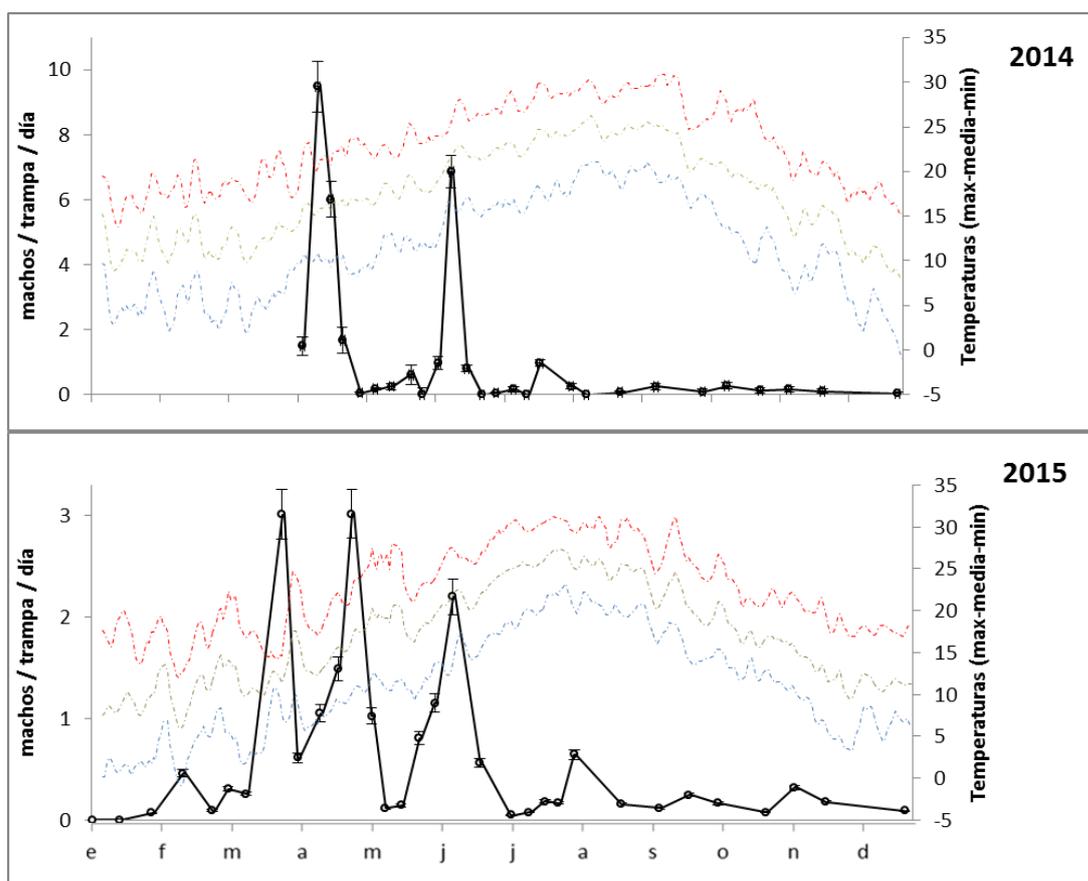


Gráfico 2 : curvas de vuelo de *D.aberiae* registradas en la comarca del Camp de Morvedre los años 2014 y 2015

Según el trabajo de Martínez-Blay *et al.* sobre *D.aberiae* (en prep.), es posible que además de las dos generaciones reconocidas en este estudio, haya otras tres de proporciones más pequeñas: una a principio de año, entre enero-febrero, otra a final de verano entre agosto y octubre y una última a final de año, entre noviembre-diciembre. El hecho de que estas generaciones no queden bien definidas, puede deberse a su solapamiento, característica típica de las cochinillas a medida que avanza el año (Bartlett & Lloyd, 1958; Panis, 1986) y/o a que el método de captura con las trampas combinadas con hembras vírgenes no es lo suficientemente potente para capturar machos en épocas de baja densidad en campo.

Comparando los resultados del número de capturas con los obtenidos para *P.citri* utilizando su feromona, se aprecia que las capturas de *P.citri* son sensiblemente superiores, resultando entre 500 y 1000 el número medio de machos por trampa y vuelo para sucesivos años (Martínez-Ferrer, 2003). Pese a esto, mientras no se disponga de la feromona sintética de *D.aberiae*, el método de las trampas asociadas a hembras supone un incremento en las capturas de sus machos alados, tal como ocurre en otras especies en las que se ha utilizado como es *Maconellicoccus hirsutus* (Serrano *et al.*, 2001; Meyerdirk *et al.*, 2001).

En cuanto a los periodos sin vuelo de *D.aberiae*, coincide con lo reportado por Franco (1997) para la especie *P.citri* en Portugal, donde se observó la existencia de un periodo de 2 a 2,5 meses en invierno en los que los machos no presentaban actividad de vuelo. Moreno *et al.*, (1984), también para *P.citri*, encontró que la actividad de vuelo estaba restringida a los meses en los que la temperatura media mínima era inferior a 5°C, siendo los valores muy similares a los obtenidos en el presente estudio.

En el año 2015 se observa un doble pico en los meses de marzo-abril. Se ha considerado que ambos forman parte del mismo vuelo, siendo las condiciones ambientales las causantes de la anomalía. Desde el día 20 hasta el 24 de marzo fue un periodo de abundantes precipitaciones, registrándose un total de 87,4 l/m², mientras que días después se produjeron episodios de vientos de poniente con humedades relativas por debajo de 50%. Ambos fenómenos se consideran perjudiciales para la supervivencia de los pseudocócidos (Bartlett & Clancy, 1972), motivo por el que se ha atribuido el descenso de capturas en los muestreos inmediatamente posteriores a estos eventos (gráfico 3).

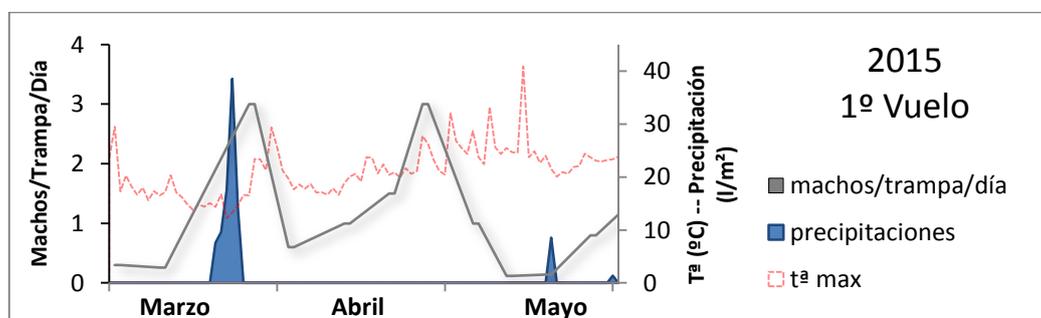


Gráfico 3: anomalía en el primer gran vuelo de machos del año 2015

2.1.2. DINÁMICA ESTACIONAL DE LAS HEMBRAS

El monitoreo de hembras a través de cartones corrugados corrobora los resultados obtenidos en el apartado anterior sobre machos. Se observan dos generaciones claras en primavera y verano y, durante el resto del año se detecta actividad pero en tan poca proporción que ninguna de estas últimas generaciones quedan bien definidas. Se aprecia un elevado sincronismo entre machos y hembras de *D.aberiae*, detectándose siempre el mismo patrón en las trampas utilizadas en el ensayo: primero se aprecia una subida poblacional de pupas de macho (pupa+prepupa) en los cartones corrugados, seguido del pico de vuelo de machos adultos recogido por las trampas amarillas pegajosas. Por último se vuelven a detectar, en los

cartones, un incremento de hembras que realizan la puesta después de haber sido fecundadas (Gráfico 4).

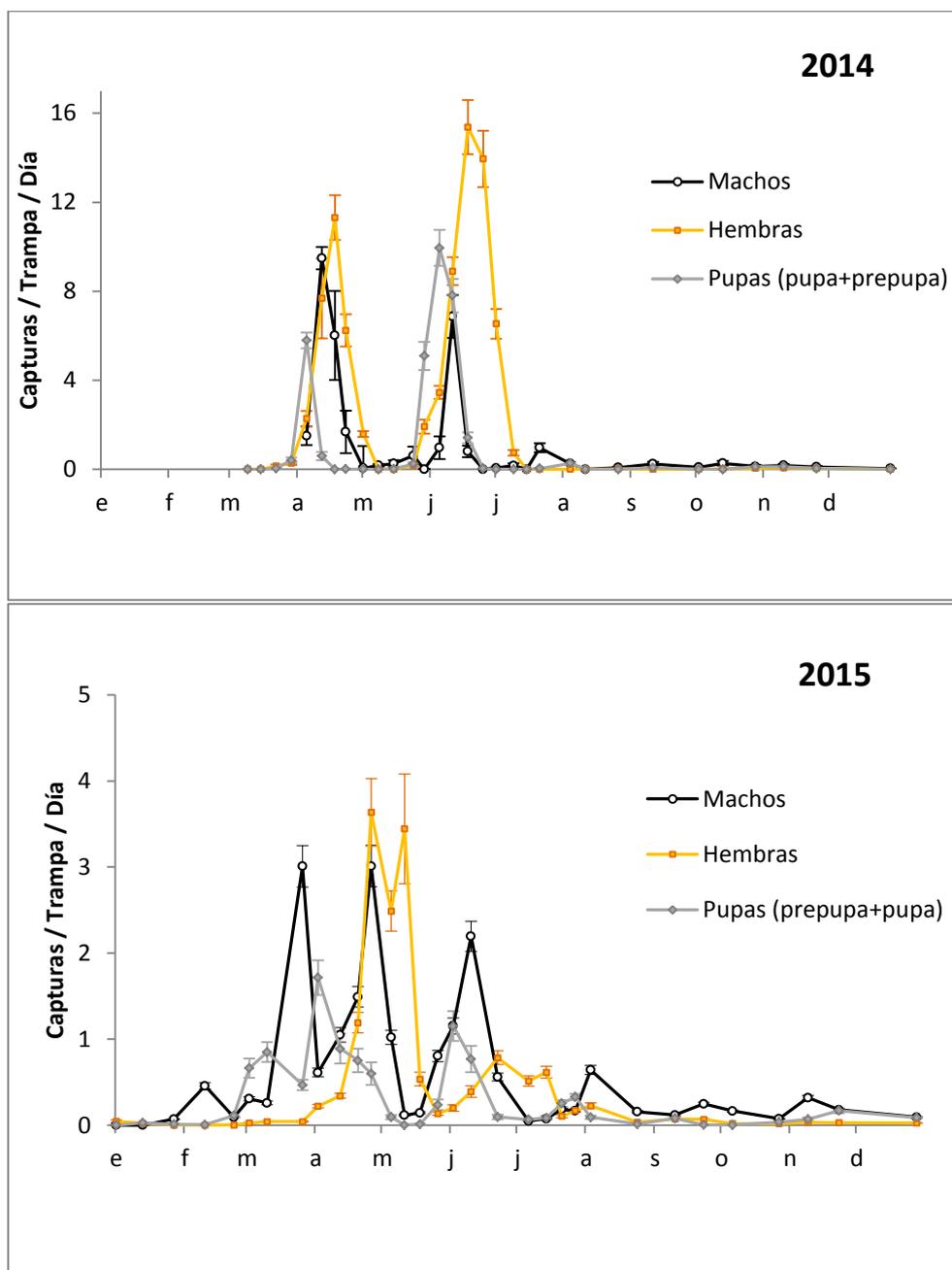


Gráfico 4: dinámica estacional de hembras, pupas de macho y machos alados de *Delottococcus aberiae* para los dos años de estudio.

De acuerdo con el estudio de Martínez-Blay *et al.* (en prep.), las poblaciones de *D. aberiae* comienzan a incrementarse en primavera, coincidiendo con el periodo de floración de los cítricos y llegando a su punto máximo en los meses de mayo-junio. La plaga se desarrolla sobre los frutos en crecimiento hasta el mes de agosto, a partir de este momento decrece y se mantiene a niveles muy bajos durante el resto del año.

2.2. FECUNDIDAD DE LAS HEMBRAS

2.2.1. FECUNDIDAD DE LAS HEMBRAS EN CAMPO

La tasa de fecundidad de *D. aberiae* es variable a lo largo del año. En el ensayo se han comparado los dos periodos en los que la plaga tiene sus máximas poblaciones en nuestras condiciones climáticas correspondiendo a los meses de abril-mayo y junio-julio. Se ha observado que la fecundidad presenta diferencias en ambos periodos ($t=6,476$; $P=0,00001$). Durante la primera generación importante de la plaga la fecundidad de las hembras es máxima, llegando a una media de 229 ± 50 huevos por hembra; mientras que en la segunda se reduce a 144 ± 42 huevos/hembra (Gráfico 5).

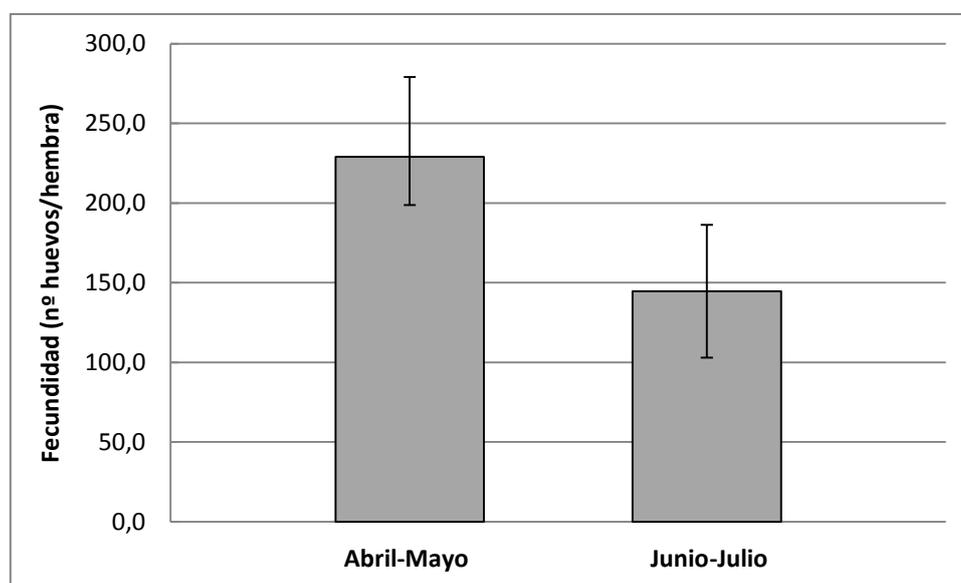


Gráfico 5: diferencias en la fecundidad de *Delottococcus aberiae* en los 2 periodos de máxima población

La fecundidad depende tanto de factores ecológicos como fisiológicos (Franco *et al.*, 2000). Fisiológicamente las especies tienen un poder reproductor heredado genéticamente y que a su vez está íntimamente ligado al tamaño de la hembra (Franco *et al.*, 2000). Son los factores ecológicos, como el alimento, o las condiciones climáticas, los que pueden dar lugar a un alto grado de variabilidad en su fisiología natural (Engelmann 1984). En el presente estudio, dos de los factores más importantes que han podido influir en la variabilidad de la fecundación son la temperatura ambiente y la calidad del alimento. En lo referido a la temperatura, los pseudocóccidos no tienen un óptimo térmico de fecundidad bien definido, aun así, generalmente el máximo de fecundidad se suele dar a temperaturas relativamente bajas (Franco *et al.*, 2000), dependiendo de la zona de origen del insecto. En nuestro estudio, las temperaturas medias a las que se desarrolla la primera generación del insecto son más bajas que las de la segunda, esto puede haber influido en la tasa de fecundidad. Debido a que nuestro ensayo está diseñado para formas adultas, no se puede saber con exactitud el periodo de formación de los ovarios de las hembras, ya que estos comienzan a formarse durante los

estadios ninfales, y su número depende estrechamente de la temperatura a la que se forman (Pereira, 1991).

Por otro lado, la cantidad y/o calidad de alimento es otro factor importante a tener en cuenta. En los cítricos, los pseudocóccidos son capaces de alimentarse de diversas partes del hospedante, pero no todos los órganos del árbol constituyen una fuente de alimento de igual calidad (Franco *et al.*, 2000). Durante la primera generación principal de la plaga del presente estudio, el cultivo se encuentra en pleno crecimiento exponencial de frutos (fase 1). En este momento el fruto sufre un rápido crecimiento debido a su constante división celular (Agustí, 2003), lo que se traduce en un alimento de gran calidad para *D. aberiae*. Además, debido a que aún no se ha producido la caída fisiológica de frutos, estos frutos recién cuajados suponen una fuente de alimento casi ilimitada. En la segunda generación, nos encontramos en una situación claramente diferente. El fruto se encuentra en el periodo de crecimiento lineal (Fase2), donde ya ha cesado la división celular (excepto del exocarpo) y su crecimiento se produce de manera paulatina (Agustí, 2003). En este periodo la cantidad de alimento se reduce drásticamente debido a la caída fisiológica de frutitos que ocurre al final de la Fase 1, esto se traduce en un aumento de la ocupación de los frutos que se mantienen en el árbol. Heidari (1989), estudió la influencia de la densidad poblacional en la fecundidad de *P. viburni* viendo que su fecundidad se reducía a medida que la competencia por el alimento aumentaba.

Existen, además, otros factores influyentes en la fecundidad de las hembras que debido a las condiciones del ensayo no se han tenido en cuenta, como son el tamaño y la edad de las hembras. Autores como Heidari (1989) y Perera (1990) detectaron una correlación positiva entre el tamaño de las hembras de pseudocóccidos y el número de huevos que ponían. En cuanto a la edad de la hembra en el momento de la cópula, según Nelson-Res (1960), las hembras más fecundas son las que copulan inmediatamente después de llegar a la edad adulta. A medida que pasa el tiempo y la hembra adulta no se acopla con un macho, se produce una reabsorción parcial de sus ovarios, que se traduce en una menor cantidad de huevos en el ovisaco (Nelson-Res, 1960). En el presente ensayo, la edad de las hembras al ser fecundadas se desconoce, aun así, el descenso de la cantidad de machos que se produce entre primavera y verano (gráfico 2) es posible que ocasione que muchas hembras retrasen el momento de la cópula. Además de esto, estudios anteriores realizados sobre *D. aberiae* concluyen que, la primera generación del año está fuertemente correlacionada con el periodo de floración de los cítricos. A medida que van apareciendo las siguientes generaciones los individuos empiezan a perder dicho sincronismo, comenzando a solaparse las diferentes generaciones (Martínez-Blay *et al.*, en prep.). Esta descoordinación puede estar afectando el momento de la cópula.

2.2.2. FECUNDIDAD DE LAS HEMBRAS EN LABORATORIO

El resultado de la fecundidad de *D. aberiae* en condiciones de cría artificial ($t^{\circ}=25^{\circ}\text{C}$; HR=60-80%; oscuridad; sustrato=calabaza) es de $96,6 \pm 34$ huevos por hembra. Al compararlo con la fecundidad natural del insecto en campo, se aprecia un descenso del nº de huevos (Tabla 6). Incluso el número de huevos en la época en la que la fecundidad en campo es menor (verano) es significativamente más elevado que la puesta realizada en condiciones de laboratorio.

Tabla 6: Media (\pm SEM) de la fecundidad de *Delottococcus aberiae* según hospedante y época (Valores de media seguidos de letras diferentes en las columnas tienen diferencias significativas).

Hospedante y (Época)	Fecundidad (nº huevos/hembra)
Cítricos (Primavera)	229,0 \pm 9,9 c
Cítricos (Verano)	144,7 \pm 8,3 b
Calabaza (Laboratorio)	96,6 \pm 6,9 a
n	75
F ratio	62,28
P	<0,0001

Comparando el resultado de fecundidad obtenido para *D. aberiae* con otras especies de pseudocóccidos criadas también en condiciones de laboratorio, encontramos resultados bastante dispares. Arai (1996) compara la fecundidad de *Planococcus citri*, *Pseudococcus citriculus* y *Planococcus kraunhiae*, sobre hojas de cítricos a una temperatura estable de 25°C, obteniendo resultados de 86, 223 y 52 huevos por hembra respectivamente. Siendo los valores para *P. citri* y *P. kraunhiae* ligeramente inferiores a los propuestos en el presente estudio. Resultados parecidos obtuvieron Hogendorp *et al.* (2006) para *Planococcus citri* alimentado sobre cóleos a 24°C, siendo de 110 huevos y Jhonson & Giliomee (2011) con la especie *Paracoccus burnerae*, que resultó ser de 105 huevos alimentada sobre brotes de patata a 25°C. Existen también estudios en los que la fecundidad de las hembras de otras especies es bastante más elevadas que la del presente ensayo, como es el caso de *Phenacoccus maderiensis* que resultó 288 huevos/hembra a 25°C sobre crisantemo (Chong *et al.*, 2003), *Maconellicoccus hirsutus* con 178 huevos/hembra a 27°C sobre hibisco (Persad & Khan, 2007) o para *Phenacoccus solani* con una fecundidad de 347 huevos/hembra a 25°C sobre hoja de pimiento (Nakahira & Arakawa, 2006).

La disminución de la fecundidad en crías artificiales de insectos con respecto a su fecundidad en condiciones naturales, suele ser un problema habitual. El apiñamiento, el cambio en la dieta, la endogamia o la presión de selección inadecuada pueden producir una reducción del rendimiento de las especies (Sorensen *et al.*, 2012). Algunos estudios han demostrado que la calidad en la dieta es un factor clave en la fecundidad de los pseudocóccidos. Colmenarez (2005) estudia la fecundidad de *Paracoccus marginatus*, obteniendo un descenso de más de 100 huevos por hembra al pasar de alimentar la población de plantones de papaya a hojas de papaya cortadas. Zaviezo *et al.* (2010), obtiene en su estudio sobre *Pseudococcus calceolariae* una reducción a la mitad en el número de huevos al cambiar su sustrato alimenticio de calabaza a limón utilizando las mismas condiciones ambientales. También en el trabajo de Sana-Ullah *et al.* (2011), donde se comprueba la fecundidad de *Phenacoccus solenopsis* sobre 20 plantas distintas, se observan resultados ampliamente distintos, fluctuando desde 150 a 420 huevos por hembra según la planta utilizada.

2.3. BIOLOGÍA DEL HUEVO DE *Delottococcus aberiae*

2.3.1. FERTILIDAD

La fertilidad de los huevos provenientes de hembras alimentadas con calabaza es del $89\% \pm 9,3$. Las condiciones ambientales y alimenticias propuestas en el ensayo (25°C , 65-85% HR, régimen de oscuridad total y sustrato alimenticio calabaza), mantienen la media general de eclosión en un rango elevado.

La fertilidad depende de las condiciones ambientales a las que se incuban los huevos, además de estar influida, entre otras cosas, por la calidad del alimento que tomaron los progenitores (Zaviezo *et al.*, 2010; Wakari & Giliomee, 2003). En general, los valores de eclosión de huevos de pseudocóccidos se mantienen elevados, siendo en ocasiones superiores al 90% (Mendel, 1991), valor muy semejante al obtenido en el presente estudio. Algunos valores de fertilidad reportados para otras especies de pseudocóccidos son menores que los obtenidos en el presente estudio. Se pueden citar, entre otros, un 72% para la especie *Maconellicoccus hirsutus* en hojas de hibisco a 25°C (Chong *et al.*, 2008) y valores entre 82,2 – 83,5% para *Paracoccus marginatus* sobre diferentes sustratos a 25°C (Amarasekare *et al.*, 2008).

2.3.2. DURACIÓN DE LA FASE DE HUEVO

La duración de la fase de huevo de *D. aberiae* se ha evaluado a 4 temperaturas diferentes: 22, 24, 25 y 27°C ; los resultados muestran que la temperatura influye significativamente en el desarrollo del huevo, siguiendo una tendencia decreciente a medida que aumenta la temperatura (tabla 7). La duración más corta se produjo a la temperatura de 27°C , siendo la media ligeramente superior a 8 días, mientras que, a la temperatura de 22°C , la media de la fase de huevo fue de 14 días.

Tabla 7: Duración media (días \pm SEM) de la fase de huevo de *D. aberiae* a temperatura constante (Valores de media seguidos de letras diferentes en las columnas tienen diferencias significativas).

Temperatura ($\pm 1^{\circ}\text{C}$)	Duración (Días)
27	$8,4 \pm 0,18$ a
25	$10,6 \pm 0,17$ b
24	$12 \pm 0,19$ c
22	$14 \pm 0,18$ d
n	167,63
F ratio	194,29
df	3
P	<0,0001

Al representar gráficamente el tiempo de desarrollo del huevo (como la inversa de los días de desarrollo) frente a las temperaturas ensayadas (Campbell *et al.*, 1974), se observa una relación lineal entre la tasa de desarrollo y el aumento de la temperatura (Gráfico 6), ajustándose al modelo de regresión lineal ($y=a+bx$).

En el gráfico 6 también se puede definir el umbral mínimo de temperatura (T_{\min}) por debajo del cual el huevo no se desarrolla. Este valor es representado como el punto de la línea de

regresión que intercepta el eje de la temperatura (Honek, 1996). Por lo tanto, para el huevo de *D. aberiae* este valor es de 14,8°C.

La constante térmica (K), definida como los grados-día necesarios para completar el desarrollo, se puede obtener mediante la inversa de la pendiente del modelo lineal (Honek, 1996). Según nuestro modelo obtenido ($Y = -0,1422 + 0,0096x$), *D. aberiae* necesita un total de 104 Grados-Día para completar el desarrollo de su fase de huevo (Gráfico 6).

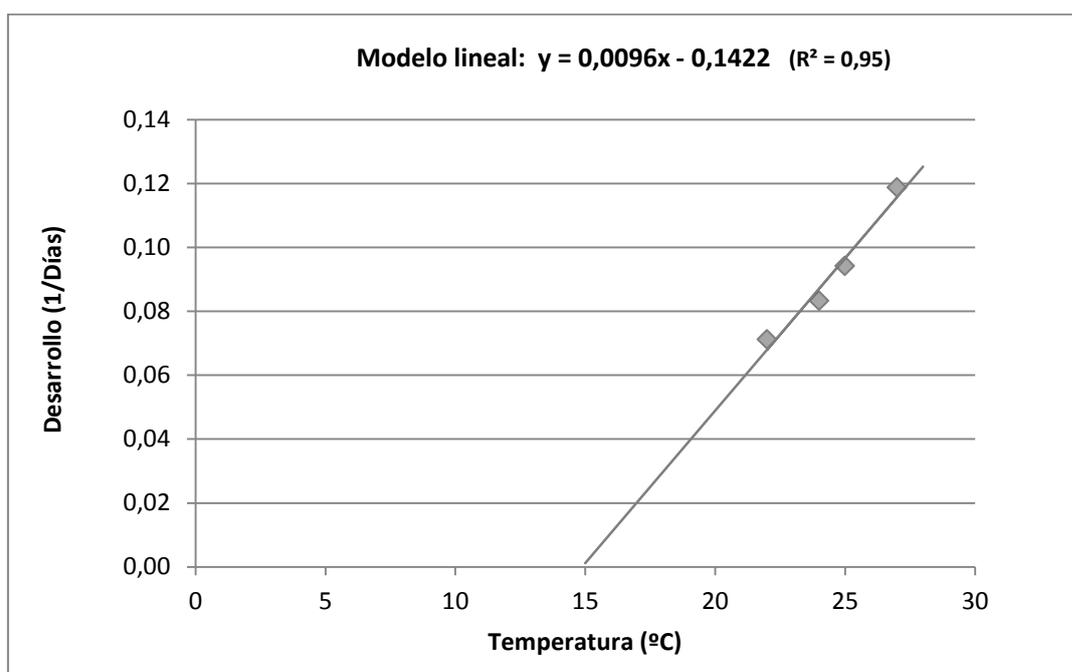


Gráfico 6: representación gráfica del modelo lineal de temperatura obtenido para *Delottococcus aberiae*.

Los tiempos de desarrollo de la fase huevo obtenidos en este estudio son similares a los obtenidos en otros trabajos para diversas especies de pseudocóccidos. La media obtenida en *Paracoccus marginatus* es de 8,4 días a 27°C sobre plantas de hibisco, (Amarasekare *et al.*, 2008); para *Maconellicoccus hirsutus* (Aristizábal *et al.*, 2012) fue de 7,5 días a 27°C sobre hojas de algodón; para la especie *M. hirsutus* la media fue de 9,3 y 8,6 días a 25 y 27°C respectivamente (Chong *et al.*, 2008); y para *Pseudococcus calceolariae* se obtuvo una duración de 9,6 días a 25°C, en poblaciones sobre calabaza. Por otro lado, para otras especies se obtuvieron tiempos más cortos que los del presente trabajo, es el caso de *Planococcus kraunhiae* con 8 días a 24°C sobre judías (Narai & Murai, 2002); *Phenacoccus maderiensis* con una duración de 8,2 días a 25°C en crisantemo (Chong *et al.*, 2003); *Planococcus citri* resultando 4,25 días a 25°C sobre hoja de vid (Filho *et al.*, 2008); y para *Planococcus ficus* siendo de 7,75 días a 25°C, sobre hojas de vid (Varikou *et al.*, 2010).

Los datos obtenidos en relación al desarrollo del huevo de *D. aberiae* se ajustan perfectamente al modelo lineal de temperatura ($R^2=0,95$), al igual que en otros estudios sobre distintas especies de insectos (Campbell *et al.*, 1974; Wagner *et al.*, 1984; Honek, 1996; Trudgill *et al.*, 2005). Los resultados del presente trabajo proporciona parámetros térmicos (T_{min} y K) coincidentes con los obtenidos para *Maconellicoccus hirsutus*, siendo su T_{min} de 14,5°C y la

constante térmica de 101,7 GD, sobre hojas de hibisco (Chong *et al.*, 2008); y son inferiores a los reportados para *Saccharicoccus sachari*, con una T_{min} de 17°C (Rae & De'ath, 1991). A diferencia de estos, existen otros estudios donde los parámetros térmicos estimados son generalmente más bajos que en el presente estudio. Para *Planococcus ficus* la T_{min} y K obtenidas de la fase de huevo son de 10,26°C y 98 GD respectivamente (Varikou *et al.*, 2010) y para *P.citri* dichos parámetros térmicos son de 10,9°C y 67,6 GD (Laflin & Parrella, 2004). Al comparar gráficamente los parámetros térmicos de *D.aberiae* con el pseudocóccido más abundante en los cítricos de la Comunidad Valenciana, *Planococcus citri*, se observa que *D.aberiae* tiene una fase de huevo con una línea de regresión desplazada hacia la derecha (Gráfico 7), y con una menor pendiente que la de *P.citri* (Tabla 8).

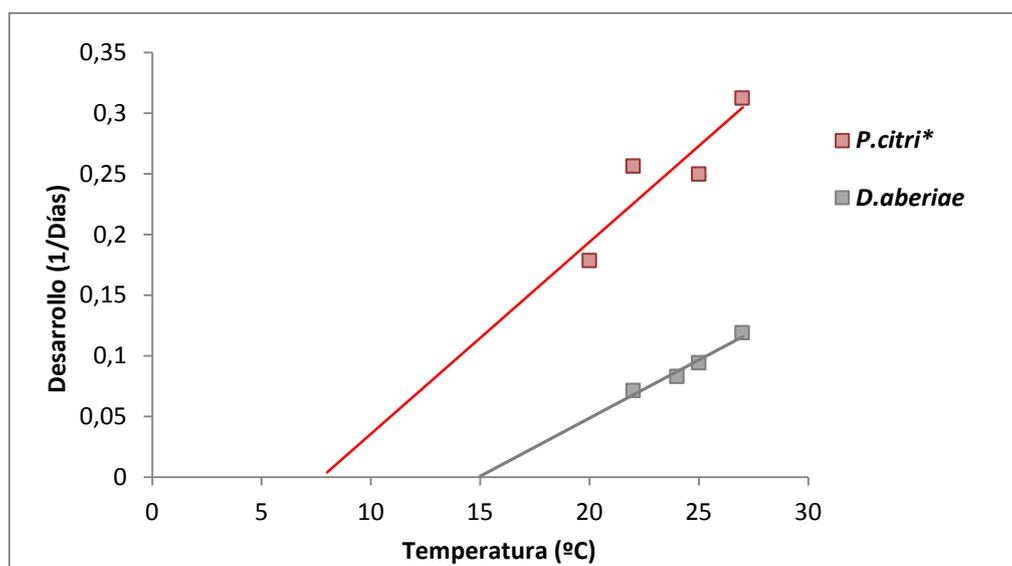


Gráfico 7: comparación del modelo lineal de temperatura para dos especies de pseudocóccidos.

* Datos de Arai (1996), adaptado de Johnson (2010)

Según esto, el modelo predice que los huevos de *D.aberiae* necesitarán más temperatura y durante más tiempo para que se produzca la eclosión que los de *P. citri*.

Tabla 8: parámetros térmicos estimados para 2 especies de Pseudocóccidos.

*Datos de Arai (1996), adaptado de Johnson (2010)

Parámetro	<i>D.aberiae</i>	<i>P.citri*</i>
a ± SE	-0,142 ± 0,03	-0,1227
b ± SE	0,0095 ± 0,001	0,0158
K (= 1/b) (G.D)	104	63,3
Tmin (= -a/b) (°C)	14,8	7,8
R ²	0,95	0,8
P	0,016	0,05

Estas diferencias observadas en el modelo, con respecto a los parámetros térmicos de ambas especies, posiblemente se deban a los factores climáticos específicos del lugar de origen del insecto (Trugdill *et al.*, 2005). Las especies tropicales suelen tener una T_{min} más elevada que las especies de climas templados (Trugdill *et al.*, 2005), ya que las pertenecientes a latitudes altas (<23°) están mejor adaptadas al frío, siendo capaces de desarrollarse más rápidamente a bajas temperaturas que las especies tropicales (Honek, 1996). Según Honek (1996), quien correlacionó los parámetros térmicos de multitud de insectos con respecto a su origen geográfico, *D. aberiae* se englobaría como una especie adaptada a latitudes tropicales. Hay que puntualizar que en el presente trabajo tan sólo se ha hecho la estimación de los parámetros térmicos para el estado de huevo, siendo difícil la extrapolación de los resultados para el resto de estadios de dicha especie.

CONCLUSIONES

Las conclusiones sobre la cría y algunos aspectos biológicos de *Delottococcus aberiae* a las que se llega en el presente trabajo son las expuestas a continuación:

1. La calabaza variedad redonda de asar se considera un sustrato alimenticio adecuado para una cría masiva de *D.aberiae*, pese al descenso en la fecundidad de las hembras comparado con su hábitat natural.
2. *D.aberiae* es capaz de completar varias generaciones al año en nuestras condiciones climáticas. Siendo las de abril y junio las de mayor densidad.
3. Las trampas pegajosas cebadas con feromona y las de cartón corrugado son útiles para el muestreo de las poblaciones de *D.aberiae*, detectando sus principales generaciones en el cultivo de los cítricos.
4. La tasa de fecundidad de *D.aberiae* en su hábitat natural es variable a lo largo del año, siendo mayor en primavera que en verano, 229 huevos frente a 142.
5. La fertilidad de los huevos obtenida en la cría masiva del insecto es muy elevada, del 89%.
6. El tiempo de la fase de huevo del insecto, según la temperatura, se ajusta a un modelo lineal. Se estima, para este estado, una temperatura umbral de desarrollo de 14,8°C y una constante térmica de 104 grados día.

REFERENCIAS

- AFIFI, SA.** 1968. Morphology and taxonomy of the adult males of the families Pseudococcidae and Eriococcidae (Homoptera: Coccoidea). Bulletin of the British Museum (Natural History), London. Entomology, Supplement, 13: 1–210.
- AGUSTÍ, M.** 2003. Citricultura. Ed Mundi-Prensa. 422 pp.
- ALVIS, L; RAIMUNDO, A; VILLALBA, M & GARCÍA-MARÍ, F.** 2002. Identificación y abundancia de coleópteros coccinélidos en los cultivos de cítricos valencianos. Bol San Veg Plagas, 28: 479-491.
- AMARASEKARE, K; MANNION, M; OSBORNE, L & EPSKY, N.** 2008. Life history of *Paracoccus marginatus* (Hemiptera: Pseudococcidae) on four host plant species under laboratory conditions. Environmental Entomology 37: 630-663.
- ARAI, T.** 1996. Temperature-dependent developmental rate of three mealybug species, *Pseudococcus citriculus*, *Planococcus citri* and *Planococcus kraunhiae* (Homoptera: Pseudococcidae) on Citrus. Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology 40: 25– 34.
- ARISTIZABAL, L; MANNION, C; BERGH, C & ARTHURS.** 2012. Life History of Pink Hibiscus Mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) on Three *Hibiscus Rosa-Sinensis* Cultivars. Florida entomologist, 95 (1): 89-94.
- BARTLETT, BR & LLOYD, DC.** 1958. Mealybugs attacking citrus in California – A survey of their natural enemies and the release of new parasites and predators. J Econ Entomol 51: 90-93.
- BARTLETT, B & CLANCY, D.** 1972. The Comstock mealybug in California and observations on some of its natural enemies. J Econ Entomol 65: 29-32.
- BELTRÀ, A & SOTO, A.** 2012. Pseudocócidos de importancia agrícola y ornamental en España. Editorial Universitat Politècnica de València, Spain. 96pp.
- BELTRÀ, A; GARCIA-MARÍ, F & SOTO, A.** 2013. El cotonet de Les Valls, *Delottococcus aberiae*, nueva plaga de los cítricos. Levante Agrícola, 419: 348–352.
- BELTRÀ, A; ADDISON, P; ÁVALOS, JA; CROCHARD, D; GARCIA-MARÍ, F; GUERRIERI, E; GILIOMEE, JH; MALAUSA, T; NAVARRO-CAMPOS, C; PALERO, F & SOTO, A.** 2015. Guiding classical biological control of an invasive mealybug using integrative taxonomy. PLoS ONE, DOI: 10.1371/journal.pone.0128685, Jun: 1-14.
- BEN-DOV, Y; MILLER, DR & GIBSON, GAH.** 2010. ScaleNet, A Systematic Database of the Scale Insects of the World. <http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>
- BEUNING, LL; MURPHY, P; WU, E; BATCHELOR, TA & MORRIS, BAM.** 1999. Molecular-based approach to the differentiation of mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) species. J of Econ Entomol 92: 463–472.
- BODENHEIMER, F.** 1951. Citrus Entomology in the middle East. Hoitsema Brothers Groningen (Holland): 396-454.

- BRAIN, CK.** 1915. The Coccidae of South Africa. Transactions of the Royal Society of South Africa 5: 65–194.
- CAMPBELL, A; FRAZER, BD; GILBERT, N; GUTIERREZ, AP & MACKAUER, M.** 1974. Temperature requirements of some aphids and their parasites. J of App Ecol 11: 431 –438.
- CASTILLO, J & BELLOTTI, AC.** 1990. Caracteres diagnósticos de cuatro especies de piojos harinosos (Pseudococcidae) en cultivos de yuca (*Manihot esculenta*) y observaciones sobre algunos de sus enemigos naturales. Revista Colombiana de Entomología. 16: 33-43.
- CHARLES, JG; FROUD, KJ & HENDERSON, RC.** 2000. Morphological variation and mating compatibility within the mealybugs *Pseudococcus calceolariae* and *P. similans* (Hemiptera: Pseudococcidae), and a new synonymy. Systematic Entomology 25: 285–294.
- CHONG, J; OETTING, R & IERSEL, M.** 2003. Temperature effects on the development of the madeira mealibug, *Phenacoccus maderiensis* Green. Ann Entomol Soc Am 96(4): 539-543.
- CHONG, J; RODA, A & MANNION, C.** 2008. Life history of the mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae), at constant temperature. Environmental Entomology. 37: 323-332.
- COLMENAREZ, Y.** 2005. Biología de *Paracoccus marginatus* (hemiptera: pseudococcidae) e de seu parasitóide *Acerophagus papaya* (hymenoptera: encyrtidae) em diferentes plantas hospedeiras e levantamento de inimigos naturais em Barbados. PhD, UNESP, Botucatu.
- DE LOTTO, G.** 1961. New Pseudococcidae (Homoptera: Coccoidea) from Africa. Bulletin of the British Museum (Nat. Hist.) Entomol. 10: 211-238.
- ENGELMANN, F.** 1984. Reproduction in insects. Ecological Entomolgy. New York, pp 113-147.
- FERRIS, GF.** 1918. The California Species of Mealy Bugs. ED Stanford University Publications, University Series, Palo Alto.
- FILHO, W; DIONEI, A; BOTTON, M & BERTIN.** 2008. Biología e tabela de vida de fertilidade de *Planococcus citri* em diferentes estruturas vegetativas de cultivares de videira. Pesq Agrop bras. 8: 941-947.
- FRANCO, JC.** 1997. Contribuição para a protecção integrada em citrinos: caso das cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae). Tese Doutor Eng Agron, ISA/UTL, Lisboa.
- FRANCO, JC; SILVA, EB & CARVALHO, JP.** 2000. Cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae) associadas aos citrinos em Portugal. ISA Press, Lisboa, Portugal. 142pp.
- GARCIA-MARÍ, F.** 2012. Plagas de los cítricos. Gestión integrada en países de clima mediterráneo. Phytoma, Valencia, 556 pp.
- GARCÍA-MARTÍNEZ, O; URBANEJA, A; BEITIA, F; PEREZ-HEDO, M.** 2016. Presencia, identificación y distribución de Pseudocóccidos de caqui en la Comunidad Valenciana. IX Congreso Nacional de Entomología Aplicada, Valencia.

- GHAURI, MSK.** 1962. The morphology and taxonomy of male scale insects (Homoptera: Coccoidea). Bulletin of the British Museum (Natural History), London. 221 pp.
- GILIOMEE, JH.** 1961. Morphological and taxonomic studies on the males of three species of the genus *Pseudococcus*. Ann Univ Stell. Vol 36(6): 241-288.
- GOLDASTEH, S; TALEBI, A; FATHIPOUR, Y; OSTOVAN, H; ZAMANI, A & SHOUSHARI, R.** 2009. Effect of temperature on life history and population growth parameters of *Planococcus citri* (Homoptera, Pseudococcidae) on coleus [*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd.]. Biol Sci, Belgrade, 61 (2): 329-336.
- GOMEZ-CLEMENTE, F.** 1943. Cochinillas que atacan a los agrios en la Región de Levante. Bol Patol Beg Entomol Agric, 12: 299-328.
- GÓMEZ MENOR, J.** 1937. Cócidos de España. ED INIA. Madrid. 432 pp.
- GRANARA DE WILLINK, MC.** 1990. Conociendo nuestra fauna II. Pseudococcidae (Homoptera: Coccoidea). ED Universidad Nacional de Tucumán, Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo (Serie Monográfica y Didáctica nº 8). 26 p.
- GULLAN, PJ & CRANSTON, PS.** 2005. The Insects: An Outline of Entomology. ED Blackwell Publishing Ltd, 505 pp.
- GULLAN, PJ. & KOSZTARAB, M.** 1997. Adaptations in scale insects. Annu Rev Entomol. 42: 23-50.
- HEIDARI, M.** 1989. Biological control of glasshouse mealybugs using coccinellid predators. PhD Thesis, Univ Lond, London.
- HODGSON, CJ & HENDERSON, RC.** 2004. Coccidae (Insecta: Hemiptera: Coccoidea): adult males, pupae and prepupae of indigenous species. Fauna of New Zealand, (51). 258pp.
- HOGENDORP, BK; CLOYD, RA & SWIADER, JM.** 2006. Effect of Nitrogen Fertility on Reproduction and Development of Citrus Mealybug, *Planococcus citri* Risso (Homoptera: Pseudococcidae), Feeding on Two Colors of Coleus, *Solenostemon scutellarioides* L. Codd. Environmental Entomology. 35(2): 201-211.
- HONEK, A.** 1996. Geographical variation in thermal requirements for insect development. European Journal of Entomology 93: 303–312.
- HUGHES, RD; JONES, RE & GUTIERREZ, AP.** 1984. Short-term patterns of population change: the life system approach to their study. Ecological entomology. ED John Wiley & Sons, NY.
- JOHNSON, T.** 2010. Biology of the oleander mealybug , *Paracoccus Burnerae* Brain. PhD Thesis, University of Stellenbosch.
- JOHNSON, T & GILIOMEE, J.** 2011. Evaluation of citrus, butternut and sprouting potato as mass rearing substrates for the oleander mealybug, *Paracoccus burnerae* (Brain) (Hemiptera: Pseudococcidae). African Journal of Biotechnology Vol. 10(42): 8320-8344.

- KLEIN, M.** 1994. Studies of the citrus mealbug *Planococcus citri* (Risso): Dynamics of fruit infestation and biological control. PhD Thesis, Hebr Univ Jerus, Rehovot.
- LAFLIN, H & AND PARRELLA, M.** 2004. Developmental biology of citrus mealybug under conditions typical of California rose production. *Ann Entomol Soc Am*, 97: 982-988.
- MANI, M & SHIVARAJU, C.** 2016. Mealybugs and their Management in Agricultural and Horticultural crops. Springer-Verlag, 753 pp.
- MARTÍNEZ-FERRER, M.** 2003. Biología y control del cotonet *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) en huertos de cítricos. Tesis Doctoral. UPV, Valencia.
- MCKENZIE, HL.** 1967. Mealybugs of California: With taxonomy, biology, and control of North American species (Homoptera, Coccoidea, Pseudococcidae). Berkeley: University of California Press. 632pp.
- MENDEL, Z; BLUMBERG, D & ISHAAYA, I.** 1991. Effect of buprofezin on *Icerya purchasi* & *Planococcus citri*. *Phytoparasitica* 19: 103 – 112.
- MEYERDIRK, DE; WARKENTIN, R; ATTAVIEN, B; GERSABECK, E; FRANCIS, A; ADAMS, M & FRANCIS, G.** 2001. Biological Control of Pink Hibiscus Mealybug Project Manual. United States Department of Agriculture (USDA), Washington, USA. 340pp.
- MILLER, DR & KOSZTARAB, M.** 1979. Recent advances in the study of scale insects. *Ann Rev Entomol* 24: 1-27.
- MILLER, DR; MILLER, GL; HODGES, GS & DAVIDSON, JA.** 2005. Introduced scale insects (Hemiptera: Coccoidea) of the United States and their impact on U.S. agriculture. *P Entomol Soc Wash.* 107:123-158.
- MILLER, DR & GILIOMEE, JH.** 2011. Systematic revision of the mealybug genus *Delottococcus* Cox & Ben-Dov (Hemiptera: Pseudococcidae) *African Entomology* 19: 614-640.
- MORENO, DS; FARGERLUND, J & EWART, WH.** 1984. Citrus mealbug (Homoptera: Pseudococcidae): behavior of males in response to sex pheromone in laboratory and field. *Ann Entomol Soc Am*, 77: 32-38.
- NAKAHIRA, K & ARAKAWA, R.** 2006. Development and reproduction of an exotic pest mealybug, *Phenacoccus solani* (Homoptera: Pseudococcidae) at three constant temperatures. *Appl Entomol Zool*, 41 (4): 573–575.
- NARAI, Y & MURAI, T.** 2002. Individual rearing of the Japanese mealybug. *Planococcus kraunhiae* (Kuwana) (Homoptera: Pseudococcidae) on a germinated broad bean seeds. *App Entomol Zool*, 37: 295-298.
- NELSON-RES, WA.** 1960. A study of sex predetermination in the mealbug *Planococcus citri* (Risso). *J exp Zool* 144(2): 111-137.

- PALMERO, D; IGLESIAS, C; MUÑOZ, S; MORENO, A & HERMOSO DE MENDOZA, A.** 2008. Microbiota fúngica asociada a la fumagina de madroño (*Arbutus unedo* L.) parasitado por pulgones (Homiptera, Aphidoidea) en la Comunidad de Madrid. Bol San Veg, Plagas, 34(4): 537-547.
- PANIS, A.** 1969. Observations faunistiques et biologiques sur quelques Pseudococcidae (Homoptera: Coccoidea) vivant dans le midi de la France. Ann Zool Ecol Anim. 3: 211-244.
- PANIS, A.** 1986. Biological features of *Pseudococcus affinis* (Mask.) (Homoptera:Pseudococcid) as guidelines of its control in water-sprinkled citrus orchards. Int Pest Cont: 59-65.
- PELLIZZARI, G & GERMAIN, JF.** 2010. Scales (Homiptera, Superfamily Coccoidea), Chapter 9.3 BioRisk 4:475-510.
- PEREIRA, R.** 1991. Estudo da influencia da temperature na fecundidad e fertilidade da cochinilla algodao dos citrinos (*Planococcus citri*). Trab Fim Curso Eng Agron, ISA, Lisboa.
- PERERA, HAS.** 1990. Effect of host plant on mealybugs and their parasitoids. Ph.D. Thesis, University of London.
- PERSAD, A & KHAN, A.** 2007. Effects of four host plants on biological parameters of *Maconellicoccus hirsutus* Green (Homoptera : Pseudococcidae) and efficacy of *Anagyrus kamali* Moursi (Hymenoptera : Encyrtidae). J Plant Prot Res. 47: 35-42.
- QIN, Z; WU, J; QIU, B; REN, S & ALI, S.** 2011. Effects of host plant on the development, survivorship and reproduction of *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley (Homiptera: Pseudococcidae). Crop Protection, 30: 1124 – 1128.
- RAE, D & DE'ATH, G.** 1991. Influence of constant temperature on development, survival and fecundity of sugarcane mealybug, *Saccharicoccus sacchari* (Cockerell) (Homiptera: Pseudococcidae). Aust J Zool, 39: 105-122.
- ROQUES, A; RABITSCH, W; RASPLUS, JY; LOPEZ-VAAMONDE, C; NENTWIG, W & KENIS, M.** 2009. Alien Terrestrial Invertebrates of Europe. In: Handbook of Alien Species in Europe. Invading Nature. Springer Series in Invasion Ecology, vol 3: 63-79.
- ROTUNDO, G & TREMBLAY, E.** 1979. Collection, purification and preliminary stage of identification of the sex pheromone of *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera, Coccoidea). OILB Pheromone Meet, Wädenswil.: 1-7.
- SANA-ULLAH, M; ARIF, M; GOGI, M; SHAHID, M; ADID, M; RAZA, A; & ALI, A.** 2011. Influence of different plant genotypes on some biological parameters of cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* and its predator, *Coccinella septempunctata* under laboratory conditions. Intl J Agric Biol. 12: 125-129.
- SERRANO, M; LAPOINTE, S & MEYERDIRK, A.** 2001. Attraction of Males by Virgin Females of the Mealybug *Maconellicoccus hirsutus* (Homiptera: Pseudococcidae). Environ Entomol 30(2): 339–345.

- SILVA, E; BRANCO, M; MENDEL, Z & FRANCO, JC.** 2012. Mating Behavior and Performance in the Two Cosmopolitan Mealybug Species *Planococcus citri* and *Pseudococcus calceolariae* (Hemiptera: Pseudococcidae). *J Insect Behav*, 26: 304–320.
- SORENSEN, J; ADDISON, M & TERBLANCHE, J.** 2012. Mass-rearing of insects for pest management: Challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. *Crop Prot.* 38: 87-94.
- SOTO, A; MARTÍNEZ-BLAY, V; BENITO, M & BELTRÀ, A.** 2016a. *Delottococcus aberiae* (De Lotto) (Hemiptera:Pseudococcidae): viabilidad de su control biológico. *Phytoma* nº 284: 85-87.
- SOTO, A; MARTÍNEZ-BLAY, V; BELTRÀ, A; PÉREZ-RODRÍGUEZ, J & TENA, A.** 2016b. *Delottococcus aberiae* (De Lotto) (Hemiptera:Pseudococcidae), comportamiento de la plaga en parcelas de cítricos valencianos. *Phytoma* nº 227: 49-53.
- TENA, A; PÉREZ-RODRIGUEZ, J; CATALÁN, J & BRU, P.** 2015. Integración del control de la nueva plaga de cítricos *Delotococcus aberiae* en los programas de Gestión Integrada de Plagas. *Phytoma* nº 270: 20-24.
- TENA, A; BELLÓN, J & URBANEJA, A.** 2016a. Native and naturalized mealybug parasitoids fail to control the new citrus mealybug pest *Delottococcus aberiae*. *J Pest Sci*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. DOI 10.1007.
- TENA, A; PÉREZ-RODRÍGUEZ, J & URBANEJA, A.** 2016b. Bases para la gestión integrada del cotonet de Les Valls, *Delottococcus aberiae*. *Phytoma* 284: pag 82-84.
- TRUDGILL, D; HONECARON, A; LI, D & VAN STRAALEN, M.** 2005. Thermal time: concepts and utility, *Ann Appl Biol* 146: 1-14.
- URBANEJA, A; CATALÁN, J; TENA, A & JACAS, J.** 2015. Gestión Integrada de Plagas de Cítricos. www.GIPcítricos.IVIA.es.
- VARIKOU, K; BIROURAKI, N; BAGIS, N & KONTODIMAS, D.** 2010. Effect of Temperature on the Development and Longevity of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Ann Entomol Soc Am*, 103(6): 943-948.
- VIGGIANI, G.** 1970. Lo *Pseudococcus fragilis* Brain (Homoptera: Pseudococcidae) sugli agrumi in Campania. *Boll Lab Entomol Agrar F Silvestri* 28: 55-61.
- WAGNER, TL; WU, HI; SHARPE, PJH; SCHOOL-FIELD, RM & COULSON, RN.** 1984. Modeling insect development rates: a literature review and application of a biophysical model. *Ann Entomol Soc Am*, 77: 208–225.
- WAKGARI, WM & GILIOMEE, JH.** 2003. The biology of three mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae) found on citrus in the Western Cape Province, South Africa. *African Entomology* 11: 173–182.
- WILLIAMS, DJ.** 1985. Australian Mealybugs. *Bulletin British Museum (natural History)*, London, Publication 953. 431 pp.

WILLIAMS, DJ. 1991. Coccoidea. The insects of Australia. v. 2. New York: Cornell University Press. p. 457-464.

WILLIAMS, D.J. & GRANARA DE WILLINK, M.C. 1992. Mealybugs of Central and South America. ED CAB International, Wallingford, 635 p.

ZAVIEZO, T; CADENA, E; FLORES, MF & BERGMANN, J. 2010. Influence of different plants substrates on development and reproduction for laboratory rearing of *Pseudococcus calceolariae* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae). Cien Inv Agr, 37(3):31-37.

ANEXO

PROTOCOLO DE CRÍA DE *Delottococcus aberiae*

1. INTRODUCCIÓN

La intención de este manual es preparar una cría de *D. aberiae* para mantener una población de este insecto de forma permanente. La finalidad de dicha cría es la utilización de esta población para la realización de ensayos de laboratorio y el posible establecimiento futuro de la cría de su parasitoide en caso de que se lleve a cabo su importación.

Para el manejo de la cría se utilizan 2 niveles tróficos: sustrato alimenticio vegetal y *Delottococcus aberiae*. Este último nivel se divide a su vez en 2 subniveles: fase de cuarentena y fase de mantenimiento de la cría. Para evitar contaminaciones de unas zonas a otras, se recomienda realizar las actividades de los subniveles y niveles en días diferentes.

2. SUSTRATO ALIMENTICIO:

La cría se mantiene sobre calabaza (*Cucurbita máxima*) de la variedad redonda de asar. La calabaza es proporcionada por un productor local con certificado de residuo cero. Se utilizan unidades de alrededor de 1 kg de peso y recogidas antes del punto de maduración. Para el inicio de la cría y el mantenimiento anual se han requerido unas 60 calabazas.

3. MANEJO DEL SUSTRATO ALIMENTICIO

Antes de empezar a utilizar las calabazas, se procede a la desinfección con lejía al 10%, frotándolas suavemente con un estropajo y jabón. Se dejan secar durante varias horas y se almacenan en un sitio fresco y seco dentro de cajones de plástico ventilados, revisándolas periódicamente para prevenir la contaminación de cualquier plaga o enfermedad, aplicando fungicida si fuera necesario.

4. RECOLECCIÓN DEL INSECTO PLAGA

Una de las formas más óptimas de recolección masiva de insectos es mediante cartones corrugados, para ello se colocan 4 cartones por árbol sobre 15 árboles en una parcela con alto grado de incidencia de plaga. Estos cartones se colocan abrazando el tronco y ramas principales del árbol, permitiendo que las cochinillas encuentren un lugar ideal para la puesta de huevos. Con este método se recolectan sobre todo hembras grávidas y hembras con ovisaco, que serán el punto de partida para el inicio de la cría.

Los cartones se recogen cada semana y se cambian por nuevos, trasladándose al laboratorio para el procesado de la muestra (foto1).



Foto1: detalle de cartón corrugado con población de *Delottococcus aberiae*.

5. CRIA DEL INSECTO PLAGA

Para la cría del insecto se utilizan dos cámaras climáticas independientes, diferenciando en ellas 2 zonas completamente aisladas: la cámara de cuarentena y la cámara de mantenimiento. En la primera cámara (cuarentena) se introduce el material directamente de campo, con la posible presencia de enemigos naturales u otras especies de pseudococcidos no deseadas. Mientras que, en la segunda cámara (cría de mantenimiento), el material que se introduce está siempre seleccionado permitiendo la exclusiva entrada de *D.aberiae*, limpio de enemigos naturales u otros organismos.

- Método de infestación en la cámara de cuarentena:

En el laboratorio y bajo lupa binocular, se procede a la recolección de ovisacos que se encuentran en los cartones corrugados. Esta tarea se realiza con la ayuda de un pincel fino o una lanceta mojada en agua destilada para evitar que este material se adhiera a la masa algodonosa. Entre 50 y 80 ovisacos se depositan sobre la superficie de una calabaza situándolos en forma de círculo alrededor del pedúnculo y situando las calabazas en el interior de evolucionarios.

En esta cámara se recoge todo el material traído de campo durante un periodo de tiempo, cuarentena, en el que se observa la posible infestación de la población de *D. aberiae* por otras especies de insectos. Esta cámara consta de varios evolucionarios pequeños o cajas plásticas con ventilación en los que se colocan dos calabazas por caja. Es aconsejable repartir los pseudocóccidos en el mayor número de evolucionarios posibles para, de esta forma, desechar el mínimo material contaminado y evitar contaminaciones globales. Este método facilita la utilización de la población de campo para la renovación de *D. aberiae* en etapas posteriores de la cría. La cámara se mantiene a 25°C y 60-70% de HR, en completa oscuridad. La habitación de cuarentena necesita una revisión semanal para la pronta detección de contaminaciones

indeseadas, en las que se busca especialmente signos de depredación (*Cryptolaemus montrouzieri*, *Scymnus sp.*) y o presencia de otras especies de cochinillas (*Planococcus citri*).

- **Cámara de mantenimiento de la cría:**

Una vez que *D. aberiae* ha completado un primer ciclo en la zona de cuarentena (30-50 días) y no se ha observado ningún signo de contaminación, se trasladan los ovisacos de la zona de cuarentena a las calabazas de esta cámara de mantenimiento. Esta actividad se realiza de la misma forma que en el apartado anterior.

Las calabazas se colocan en el interior de evolucionarios a dos alturas diferentes separándolas mediante una reja metálica que permite el paso de los insectos (foto 2). *Delottococcus aberiae* tiene tendencia a dejarse caer por gravedad de la calabaza por lo que las calabazas con más población de insectos, generalmente más viejas, se sitúan en la altura superior del evolucionario y las más limpias en el piso inferior. Este tipo de distribución acelera la colonización de las calabazas limpias que se van introduciendo en los evolucionarios. Este procedimiento ha resultado ser mucho más efectivo que el de frutos en contacto en paralelo, en el mismo plano. Posteriormente las calabazas deben ser reubicadas con la finalidad de que no reciban excesiva cantidad de melaza de las situadas en el piso superior ya que, esto facilitaría la pudrición de los frutos.



Foto 2: diferentes pruebas realizadas en el establecimiento de una colonia de *D. aberiae*

El mantenimiento de la cría se continúa con la introducción de nuevas calabazas en el piso inferior cada 50-60 días y la eliminación de las que se encuentran en malas condiciones por la aparición de pudriciones. Antes de eliminarla, se intenta recoger la mayor cantidad de insectos posibles, con la ayuda de un pincel, pasándolos a calabazas limpias ya que, se ha constatado que la mayoría de las cochinillas, en todos sus estadios, no abandonan estas calabazas aunque estén en proceso de pudrición, muriendo finalmente con el colapso de la calabaza.