

CRÍA DE ÁCAROS FITÓFAGOS Y DEPREDADORES EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Cristina A. Gómez-Moya, PhD

Profesora Investigadora, Universidad Tecnológica del Cibao
Oriental, UTECO.

Resumen

En este documento se presenta una revisión de las técnicas empleadas para mantener a nivel de laboratorio, colonias de ácaros pertenecientes a la familia Phytoseiidae, al género Tetranychus Dufour (Acari: Tetranychidae), y de Raoiella indica (Acari: Tenuipalpidae). Los fitoseidos y tetraníquidos son ácaros importantes en cultivos protegidos; los primeros como controladores biológicos y los segundos como plagas. Mientras, que R. indica es una plaga exótica invasiva que podría poner en riesgo a decenas de palmeras nativas o naturalizadas. Crías de ácaros fitófagos y depredadores son ampliamente utilizadas en la entomología aplicada. Pero, en la República Dominicana hasta el momento no existe una documentación sobre el uso y mantenimiento de esas crías a nivel de laboratorio. Por esas razones, se hace necesario difundir las diferentes técnicas que se utilizan. Se espera que este documento sea de utilidad para investigadores, profesores y estudiantes en la conducción de experimentos o prácticas. Así como también, para productores en el control biológico a pequeña escala.

Palabras claves: Phytoseiidae, Tetranychidae, Tenuipalpidae, *Raoiella indica*, control biológico, entomología aplicada

Abstract:

This document presents a review of the techniques used to maintain, at the laboratory level, mite colonies belonging to the Phytoseiidae family, the genus *Tetranychus* Dufour (Acari: Tetranychidae), and *Raoiella* say (Acari: Tenuipalpidae). Phytoseiids and tetranychids are important mites in protected crops; the first as biological controllers and the second as pests. Meanwhile, *R. say* is an invasive exotic pest that could put at risk dozens of native or naturalized palms. Kits of phytophagous mites and predators are widely used in applied entomology. But, in the Dominican Republic so far there is no documentation on the use and maintenance of these pups at the laboratory level. For these reasons, it is necessary to disseminate the different techniques that are used. It is hoped that this document will be useful for researchers, professors and students in conducting experiments or practices. As well as, for producers in small scale biological control.

Keywords:

Phytoseiidae, Tetranychidae, Tenuipalpidae, *Raoiella indica*, biological control, applied entomology.

Introducción

En entomología aplicada las colonias de insectos o ácaros son importantes para conducir investigaciones

y/o para desarrollar y aplicar métodos de control. Principalmente para producir enemigos naturales, conducir estudios taxonómicos y nutricionales, sobre resistencia de insectos o ácaros a insecticidas/acaricidas, la transmisión de patógenos y en biotecnología. Así como también, en estudios de resistencia de plantas a insectos, feromonas y aleloquímicos, bioensayos con insecticidas/acaricidas; en la producción masiva de parasitoides, predadores, patógenos e insectos estériles y para el control genético. Por esas razones, se hace imprescindible el desarrollo de métodos para el mantenimiento de poblaciones en condiciones controladas, es decir, a nivel de laboratorio. Procurando la obtención de poblaciones homogéneas y en cantidades suficientes en el tiempo requerido; padronizando la edad, el sexo, fecundidad u otros parámetros biológicos.

Entre los ácaros de importancia agrícola se distinguen los de las familias Tenuipalpidae, Tarsonemidae, Acaridae, Eriophyidae, Tetranychidae y Phytoseiidae. Especies de las familias Tenuipalpidae, Tarsonemidae, Acaridae, y Eriophyidae son de suma importancia en algunos cultivos y bajo condiciones especiales, pero siempre en menor categoría comparadas con la familia Tetranychidae. Este último grupo de ácaros es el más estudiado.

De las aproximadamente 1310 especies válidas, descritas en 71 géneros, que forman la familia Tetranychidae (Bolland *et al.* 1998, Migeon & Dorkeld 2006-2017), diversas especies son plagas que generalmente defollian y eliminan sus plantas hospederas (Helle & Sabelis 1985ab, Carrillo *et al.* 2015). Algunas especies son plagas polífagas, como es el caso de especies pertenecientes al género *Tetranychus* Dufour. Estas plagas pueden

devastar muchos cultivos, especialmente plantas herbáceas que son importantes económicamente, como el frijol *Phaseolus vulgaris* L y el tomate *Solanum lycopersicum* L. En cambio, los ácaros pertenecientes a la familia Phytoseiidae son los depredadores más conocidos y estudiados. Muchos de ellos son comercializados como agentes en el control biológico de ácaros y pequeños insectos como trips y moscas blancas (Tabla1).

En la actualidad, más de 20 especies de ácaros fitoseidos son criadas de forma masiva y vendidas aproximadamente por 50 compañías en todo el mundo (Gerson & Weintraub 2007, Knapp et al. 2013). Entre las especies comerciales, más usadas en invernaderos, se destacan *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, *Amblydromalus limonicus* (Garman & McGregor), *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans), *Neoseiulus barkeri* Hughes, *Neoseiulus californicus* (McGregor), *Neoseiulus fallacis* (Garman), *Iphiseius degenerans* Berlese y *Galendromus occidentalis* Nesbitt (Koppert 2018, Syngenta 2018, Biobest 2018).

En la República Dominicana, hasta el momento, no se tiene documentación sobre la cría a nivel de laboratorio de ácaros de importancia agrícola. Por ese motivo, este documento presenta un condensado de la metodología utilizada para la cría de varias especies de ácaros fitófagos (*Tetranychus urticae* Koch, *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard, *Tetranychus turkestanii* McGregor y *Raoiella indica* Hirst). Además se presentan algunas técnicas para criar ácaros depredadores (*Amblyseius largoensis* (Muma), *Neoseiulus californicus* (McGregor) y *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot), y sobre los cuidados que se deben tomar con las crías a nivel de laboratorio. Con este trabajo se procura motivar la

cría y uso de ácaros depredadores en la producción agrícola nacional, especialmente en los cultivos de invernaderos.

Tabla 1. Agentes de biocontrol utilizados en el manejo de plagas en sistemas agrícolas.

Cultivo	Plaga	Depredador comercializado
Cítricos y frutos de pepitas	Panonychus citri (McGregor)	<i>Euseius stipulatus</i> ¹
	Tetranychus urticae (Koch)	<i>Neoseiulus californicus</i> ^{1, 2}
	Eriophyes sheldoni (Ewing)	<i>Phytoseiulus persimilis</i> ^{1, 2}
		<i>Kampimodromus aberrans</i> ¹
		<i>Zetzellia mali</i> ¹
Diversos cultivos de invernadero:	<i>Frankliniella occidentalis</i>	<i>Amblyseius cucumeris</i> ^{1, 2, 5}
Pimiento, berenjenas, pepino, pimiento, judía, tomate, fresa, rosa, crisantemo, etc.	Moscas blancas	<i>A. swirskii</i> ^{1, 2}
		<i>Iphiseius degenerans</i> ¹
		<i>Amblydromalus limonicus</i> ³
		<i>Transeius montdorensis</i> ^{4, 6}

¹<https://www.syngenta.es/>; accesos 14/abril /2018.

²<https://www.biobestgroup.com/es/>; accesos 14/abril /2018.

³<https://www.koppert.com/pests/thrips/product-against/limonica/>; acceso 17/abril/2018.

⁴<https://www.agrobio.es/productos/control-de-plagas/moncontrol-amblyseius-montdorensis-control-trip-mosca-blanca/>; acceso 17/abril/2018.

⁵https://www.biobestgroup.com/es/biobest/productos/control-biologico-4462/#productGroup_4477

⁶No controla en tomate.

Crías de Ácaros

Técnica de crías de tetraníquidos

Inicialmente, se prepara una pre-cría. Esta consiste en colocar en el fondo de una bandeja, de 30 x 40 cm, una banda de algodón humedecido de 26 x 36 cm. Encima del algodón se colocan hojas cotiledóneas, previamente lavadas con abundante agua corriente, donde se transfieren como mínimo de 75 a 100 hembras de *Tetranychus*, colectadas en el campo de un hospedero conocido. Pasadas 24 h, todas las hembras son retiradas, dejando apenas los huevos. Esta pre-cría es observada diariamente hasta la emergencia de los adultos, manteniendo la bandeja en condiciones adecuadas de humedad, evitando la deshidratación o envejecimiento de las hojas. En caso de envejecimiento de las hojas, estas pueden ser cambiadas, preparando una nueva bandeja como fue descrito anteriormente. Para confirmar la especie se preparan 5 láminas, c/u con un macho para confirmar la especie. Sólo la forma del edeago permite una clara separación entre varias especies de *Tetranychus* (Fig. 1).



Figura 1. Morfología de los edeagos de diferentes especies de la familia Tetranychidae (Diseños: F. Beaulieu en NAPPO 2014).

Una vez determinada la especie, los ácaros pueden ser transferidos colocando las hojas infestadas sobre las plantas hospederas, que pueden ser plantas de frijoles en caso de *T. urticae* y *T. turkestani* y en tomate, papa o *Sola-*

num nigrum en el caso de *T. evansi*. Esas plantas, previamente son sembradas utilizando dos bandejas plásticas superpuestas de 55 x 40 x 10 cm (Fig. 2). En la superior se perfora para facilitar el drenaje, se coloca el sustrato¹ (una mezcla de 90% de humus y 10% de perlita), y en la inferior se deposita el agua de riego, una o dos veces por semana. También, las plantas se pueden sembrar en tarros o macetas de 2 a 4 L. Las crías se renuevan semanalmente, colocando sobre las plantas limpias² hojas infestadas con abundante araña roja de la cría anterior (Fig. 2).

Para evitar contaminaciones, las plantas limpias se mantienen en un lugar o cámara separadas de las plantas infestadas. Siempre es conveniente realizar control de calidad, por lo menos una vez al mes. Se recomienda no manipular al mismo tiempo especies diferentes. Primero se observan o riegan las plantas limpias, luego las infestadas con tetraníquidos (una especie por día, en caso de mantener más de una), y por último, las crías de fitoseidos (igualmente una especie a la vez). En caso de necesidad, se espera pasar un tiempo de 4 horas como mínimo. Pero, es recomendable para evitar contaminaciones tomar baño y cambiarse la ropa y bata, una vez manipulada una especie y antes de manipular otra en un mismo día. Este sistema fue adaptado para crías de *T. urticae*, *T. turkestanii* y *T. evansi* de Gómez-Moya (2007).

1 El sustrato debe ser mantenido en el congelador por una semana antes de su utilización, con el fin de esterilizarlo.

2 Plantas sin ningún tipo de artrópodo ni polvo, mantenidas desde la germinación en condiciones controladas y en cámara separada de las crías de los ácaros.

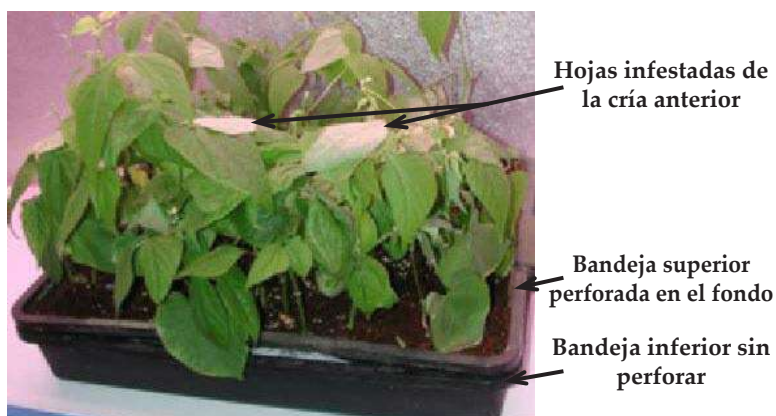


Figura 2. Crías de tetraníquidos. Foto: Gómez Moya (2007).



Figura 2. *Tetranychus* Dufour. Foto: Gómez Moya (2007).

***Técnica de cría de Raoiella indica* Hirst**

Para iniciar una cría de *R. indica* los especímenes de este ácaro pueden ser colectados a partir de hojas de plantas de coco (*Cocos nucifera* L.) o de *Phoenix roe-*

belenii O'Brien, pero preferiblemente del hospedero a ser evaluado. Los adultos de *R. indica* se transfieren con un pincel no°. 000 para una unidad de cría (arena) constituida por una bandeja plástica de 30 x 19 x 5 cm, conteniendo en su interior una esponja de polietileno de 1 cm de espesor y papel filtro, ambos con dimensiones de aproximadamente 28 x 17 cm. De tres a cuatro trozos con dimensiones aproximadas de 25 x 3 cm de folíolos de la palma de Manila (*Adonidia merillii* (Becc.) Becc.) son colocados sobre el papel filtro. Estos trozos de folíolos a su vez, se circundan con cola (Tanglefoot©) y algodón húmedo para evitar la fuga de los ácaros (Fig. 3). El algodón debe ser humedecido de forma inter-diaria. Esta cría puede ser mantenida en condiciones de laboratorio a 27 ± 1.00 °C y 60 ± 0.50 % de humedad relativa, en fotofase natural de 12 h, aproximadamente durante cuatro meses antes de la utilización de los ácaros en los experimentos.

Para iniciar los bioensayos, 21 días previos son preparadas nuevas arenas (bases de las crías). En cada arena se transfieren 100 hembras adultas de la cría estoque, las cuales son retiradas pasadas 24 h, dejando solamente los huevos. Esas unidades de cría son monitoreadas diariamente hasta la emergencia de los adultos y mantenidas en las mismas condiciones que la cría estoque. Las colonias pueden ser tapadas con tela anti-trips, o con un cristal dejando una ranura para el intercambio de gases y evitar la condensación de agua y proliferación de hongos. Se debe tener cuidado con la manipulación de fitoseidos, y también de no colocar las crías donde haya acumulación de polvo, pueden contaminarse con *Tyrophagus* spp.



Figura 3. Cría de *Raiella indica*. Fotos: Gómez Moya, Embrapa Roraima, Boa Vista, RR, Brasil (2015).

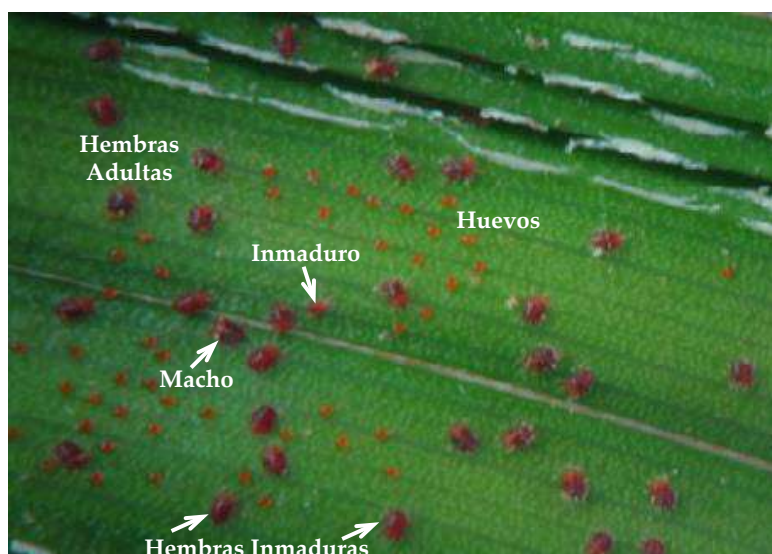


Figura 4. *Raoiella indica*. Foto C. Gómez Moya, Boa Vista, RR, Brasil (2015)

Técnica de crías de fitoseidos en bandejas en cama húmeda

Los fitoseidos se colectan preferentemente en plantas de donde fueron extraídas las presas. Las crías se conservan en bandejas plásticas de 31 x 19 x 6 cm, en las cuales se coloca una base de algodón saturado de agua y separada de las paredes de la bandeja por 1 cm. Sobre el algodón se colocan hojas de frijoles, preferentemente las cotiledóneas, con el envés hacia arriba donde se depositan los fitoseidos y hojas infestadas de su presa, las cuales se suplen cada dos días como alimento. También se les puede colocar polen de higuera (*Ricinus communis* L.), enea (*Typha angustifolia* L.) o *Carpobrotus edulis* (L.), encima de un cubre objeto de 18 x 18 cm. El polen se puede mantener en el congelador por largo

período de tiempo (6 meses, aproximadamente). Otra forma de alimentar los fitoseidos en laboratorio es con masa de huevos de tetraníquidos, que puede ser guardado en el refrigerador por varios días.

Para evitar el escape de los fitoseidos y la contaminación de otras crías, sobre todo de las arañas rojas, en la parte superior de la bandeja se colocaba una barrera con pegamento Tangle-Food® (Fig. 2). Además, la unidad de cría se puede colocar en una segunda bandeja de mayor tamaño, como una segunda barrera, con una lámina de agua aproximadamente de 1cm. Ambas bandejas permanecer tapadas o ligeramente tapadas con un cristal para mantener un nivel de humedad adecuado en las crías. Cada unidad de cría de estas características puede contener unos 2000 ó 3000 depredadores al mismo tiempo.

Las crías de los fitoseidos se pueden conservar en el laboratorio en condiciones ambientales de cámara a 25°C, 70 % de humedad y fotofase de 12 horas. Estas crías deben ser renovadas cada 10 ó 15 días, cuando las hojas que forman la base de la unidad comienzan a deteriorarse. Para esto, las hojas superiores donde se encuentra la mayor parte de depredadores son trasladadas a unidades de cría recién montadas. Como mínimo, una vez al mes es recomendable realizar control de calidad, montando de 4 a 5 láminas, cada una con cinco especímenes adultos de ambos sexos. Este método puede ser utilizado en la cría de *P. persimilis* y *N. californicus* (Gómez-Moya 2007) u otro fitoseido.



Figura 5. Cría de fitoseidos en bandeja en cama húmeda. Foto: Gómez Moya (2007).



Figura 5. Hembra adulta y huevo (forma ovoide) de *Neoseiulus californicus* y tres huevos de *Tetranychus urticae* (forma redonda). Foto: Gómez Moya (2007).

Técnica de crías de fitoseidos en platos plásticos

A partir de 100 hembras de un fitoseido se puede iniciar una colonia a nivel de laboratorio, por ejemplo, como fue criado *Amblyseius largoensis* Muma colectado a partir de hojas de coco (*Cocos nuciferas*) por Gómez-Moya (2016). Es recomendable, en todo caso, registrar la fecha, geo-referenciar el lugar y la planta hospedera de donde fueron colectados los fitoseidos.

La unidad de cría es formada por un disco de polietileno de color negro, de 13 cm de diámetro. Este es colocado sobre un disco de papel filtro, que a su vez es puesto sobre otro disco de esponja de polietileno de 1 cm de grosor; ambos con 15 cm de diámetro. Todos los discos son colocados dentro de una bandeja plástica de 16 cm de diámetro (Fig. 3). El disco de polietileno se bordea con algodón hidrofílico, que se mantiene húmedo al igual que el papel filtro y la esponja. Para mantener la humedad, y evitar la fuga de los ácaros, se adiciona agua mineral dos veces por semana.



Figura 3. Crías de fitoseidos en plato plástico. Foto: C. Gómez Moya & V. Farías, UFRPE, Recife, PE, Brasil (2014).

Los depredadores se deben alimentar cada tres días, o dos veces por semana, con polen de higuera (*R. communis*) o de enea (*T. angustifolia*) ofrecido sobre un cubre objeto de 18 x18 cm y con *T. urticae*, ofrecida en trozos de hojas de frijol infestadas. En el momento de alimentar los fitoseidos se revisan las condiciones de higiene, se retiran los cubreobjetos con polen viejo y las hojas secas que no contengan huevos. También, es recomendable colocar unas bolitas de algodón debajo de un cubre objeto para que las hembras ovipositen. La colonia puede ser mantenida en medio ambiente natu-

ral o en cámara climática, tipo BOD, a $27 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $80 \pm 10\%$ de humedad relativa y 12 h de fotofase.

Cuidados de las crías en laboratorio

En las crías a nivel de laboratorio, hay que tener en cuenta algunos detalles, tales como:

- a. Mantener las colonias en un lugar exclusivo para las crías, con temperatura, humedad relativa del aire y fotoperíodo controlados, con cierta semejanza a las condiciones ambientales de su local de ocurrencia natural. En caso de que se pretenda utilizar esas poblaciones en condiciones ambientales diferentes de su local de ocurrencia, deben ser adaptadas paulatinamente. El factor ambiental puede convertirse en una limitante en el éxito de la cría.
- b. Mantener limpia la sala o cámara donde permanece la cría, para evitar contaminaciones con otros agentes y microorganismos.
- c. El sustrato o suelo que será utilizado para las plantas debe ser esterilizado. Una manera fácil es manteniéndolo en un congelador (tipo frízer), por una semana antes de su utilización.
- d. El polen utilizado para la alimentación de los fitoseídos también debe ser esterilizado. Se logra, colocándolo 24 horas antes de su uso en el congelador. Si se tiene mucha cantidad de polen, se puede mantener en el frízer, sacando apenas el que será utilizado durante la semana, pero manteniéndolo refrigerado en la nevera.
- e. Introducir en las crías del laboratorio poblaciones salvajes (tres o cuatro veces al año), para mantener

la variabilidad genética, evitando de esa manera la endogamia.

Consideraciones finales

Cuando la crianza se ha logrado con éxito, los ácaros obtenidos pueden ser usados en los experimentos sobre control biológico, plaguicidas u otros tópicos, tanto en laboratorio, a nivel de campo e invernaderos. También, los ácaros fitófagos se pueden utilizar como alimentos de los depredadores y algunas especies de *Tetranychus* en la industria farmacéutica para la producción de vacunas antialérgicas.

Referencias Bibliográficas

- Bolland H. R., Gutierrez, J., & Flechtmann C.H.W. 1998. World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae). Leiden, Brill, 392pp.
- Carrilo D., de Moraes G.J & Peña J.E. (eds.). 2015. Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms. Cham (CH): Springer International. 328pp.
- Gerson U. & Weintraub, P.G. 2007. Mites for the control of pests in protected cultivation. Pest Manág. Sci 63: 658-676.
- Gerson, U., R.L. Smiley, & R. Ochoa. 2003. Mites (Acari) for pest control. Oxford, Blackwell Science, 539pp.
- Gómez-Moya, C.A. 2007. Dinámica del sistema depredador- presa de las arañas rojas y los fitoseidos (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) en cultivos hortícolas. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, 148pp.

- Gómez-Moya, C.A. 2016. *Raoiella indica* Hirst Acari: Tenuipalpidae): hospedeiros nativos no Brasil e potencial de *Amblyseius largoensis* Muma (Acari: Phytoseiidae) para seu controle biológico. Tese de doutorado, Universidad Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE, Brasil. 68p.
- Helle, W. & Sabelis, M.W. 1985a. Spider mites their biology, natural enemies and control. Elsevier, Amsterdam. Vol. 1A: 405 pp.
- Helle, W. & Sabelis, M.W. 1985b. Spider mites their biology, natural enemies and control. Elsevier, Amsterdam. Vol. 1B: 458 pp.
- Knapp, M., Van Houten Y., Hoogerbrugge, H. & Bolckmans, K. 2013. *Amblydromalus limonicus* (Acari: Phytoseiidae) as a biocontrol agent: literature review and new findings. *Acarologia*, 53 (2):191-202.
- Koppert. 2018. Control de plagas – productos. Koppert Biological Systems. <https://www.syngenta.es/>; accesos 14/abril /2018.
- McMurtry, J.A. & Croft, B.A. 1997. Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. *Annu. Rev. Entomol.* 42: 291-321.
- North American Plant Protection Organization, NAPPO. 2014. Protocolos de Diagnóstico de la Nappo. PD 03: Identificación morfológica de las arañas rojas (Tetranychidae) que afectan a las frutas importadas. Nappo, Ottawa, Canadá, 36 pp. [En español]. Acceso 11/Abril/2014: https://www.nappo.org/files/3414/4043/0682/DP_03Tetranychidae-s.pdf
- Scriven, G.T. & J.A. McMurtry. 1971. Quantitative production and processing of tetranychid mites for large-scale testing or predator production. *J. Econ. Entomol.* 64: 1255-1257.

- Syngenta. 2018. Bioline. Syngenta Biological control. <https://www.syngenta.es/>; accesos 14/abril /2018.
- Zhang, Z.Q. 2003. Mites of greenhouses: identification, biology and control. CABI Publishing, Wallingford. 244 pp.
- Zhang, Z.Q. 2013. Phylum Arthropoda. In Zhang, Z.-Q. (Ed.). *Animal Biodiversity: An Outline of Higher-level Classification and Survey of Taxonomic Richness* (Addenda 2013). Zootaxa, 3703 (1), 017–26.