

La mosquita de los brotes, *Prodiplosis longifila*. Pautas, equipos, materiales y procedimientos para muestreos

Ante la aparente presencia en Venezuela (Región Los Andes) de este insecto (Geraud-Pouey *et al.* 2024), basado en investigaciones realizadas en Ecuador (Geraud-Pouey *et al.* 2022), tomando en cuenta el ciclo de vida del insecto en las condiciones de campo (Fig. 1), se proponen las siguientes pautas metodológicas y materiales necesarios para iniciar muestreos en las zonas afectadas de Venezuela, conducentes a identificar el agente causal, presumiblemente *P. longifila*, posteriormente aplicable a las diferentes fases del programa de investigación-acción propuesto para su manejo racional, esbozado en Geraud-Pouey *et al.* (2024). Este material está orientado a complementar la formación y capacidad operativa de los participantes en el equipo de trabajo que estamos conformando, para acometer las tareas en pro del alcance de los objetivos ecológico y socioeconómicos racionales perseguidos.

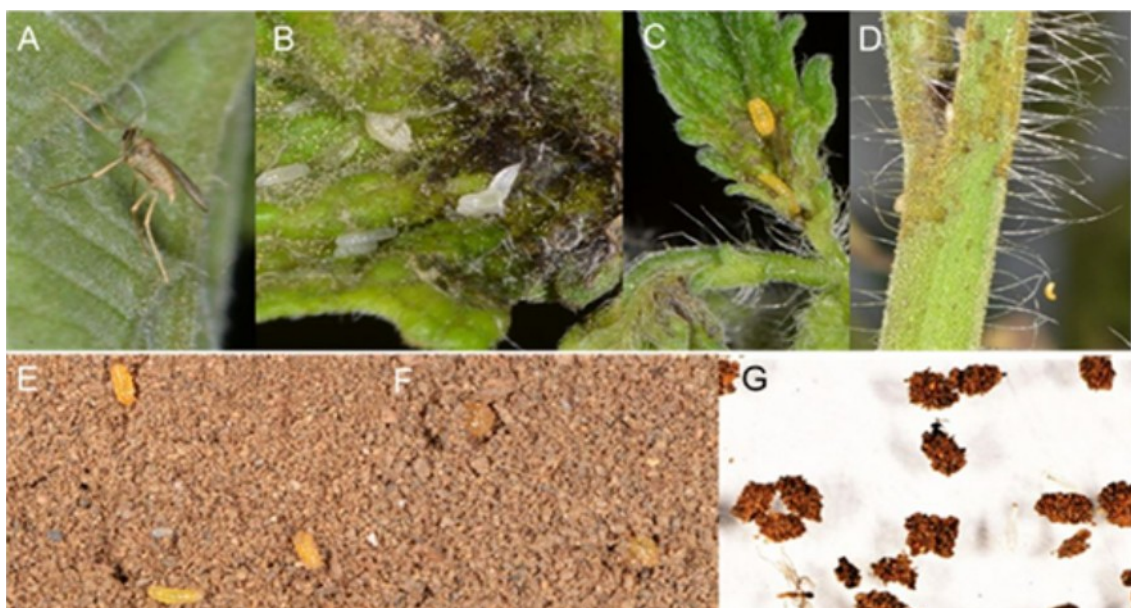


Figura 1. Ciclo de vida de *Prodiplosis longifila*. A. Hembra adulta de. B. Larvas dañando folíolo tierno. C. Larvas de finales del tercer estadio (L3). D. L3 abandonando la planta para ir al suelo a pupar. E. L3 sobre el suelo. F. L3 tejiendo capullo dentro del suelo. G. Capullos recubiertos de partículas de suelo, recuperados al cernir la arena fina en el fondo del contenedor de muestra (ver Fig. 2 D y E).

Basado en este conocimiento, desarrollamos una secuencia metodológica (campo, laboratorio-insectario-museo) que permita, confirmar la presencia del supuesto agente causal de esos daños tan característicos y determinar los aspectos bioecológicos críticos, para establecer pautas racionales de manejo del mismo.

Campo:

1. Contenedores de muestras y hielera atemperada (18-20 °C) para transportar las muestras colectadas en campo, para ser procesadas en laboratorio.
- 1.1. Contenedores (envases plásticos (aprox. 500 cc) con tapa de cierre a presión, con agujeros central (diámetro 1,5 cm, cortado con “sacabocado”) para aireación, cubierto con organza, adherida mediante pegamento instantáneo de cianoacrilato (“pega loca”), después de haber raspado el borde del agujero con papel de lija, para mejor adherencia (Fig. 3).

- 1.2. Sostenedor interno de la muestra (material vegetal infestado) a media altura del envase contenedor. Consistente en mallá mosquitero de aluminio con rebordes amoldados a las paredes internas, para retener la muestra separada del fondo (aprox. 2 cm) con arena cernida fina (2-4 mm de espesor) (Fig. 2 A-C)), donde las larvas (L3) que se dejan caer, formarán sus puparios (capullos) (Fig. 1 C-G). También puede utilizarse mallá plástica rígida (Fig. 3)
- 1.3. Arena cernida fina para el fondo de los contenedores (Figs. 2 A y 3), donde cada larva formará su pupario al segregar el filamento de seda (proteína) con la cual se envuelve, en cuyo alrededor se pegan las partículas de suelo cuando aún está húmeda (Fig. 1 E-G).

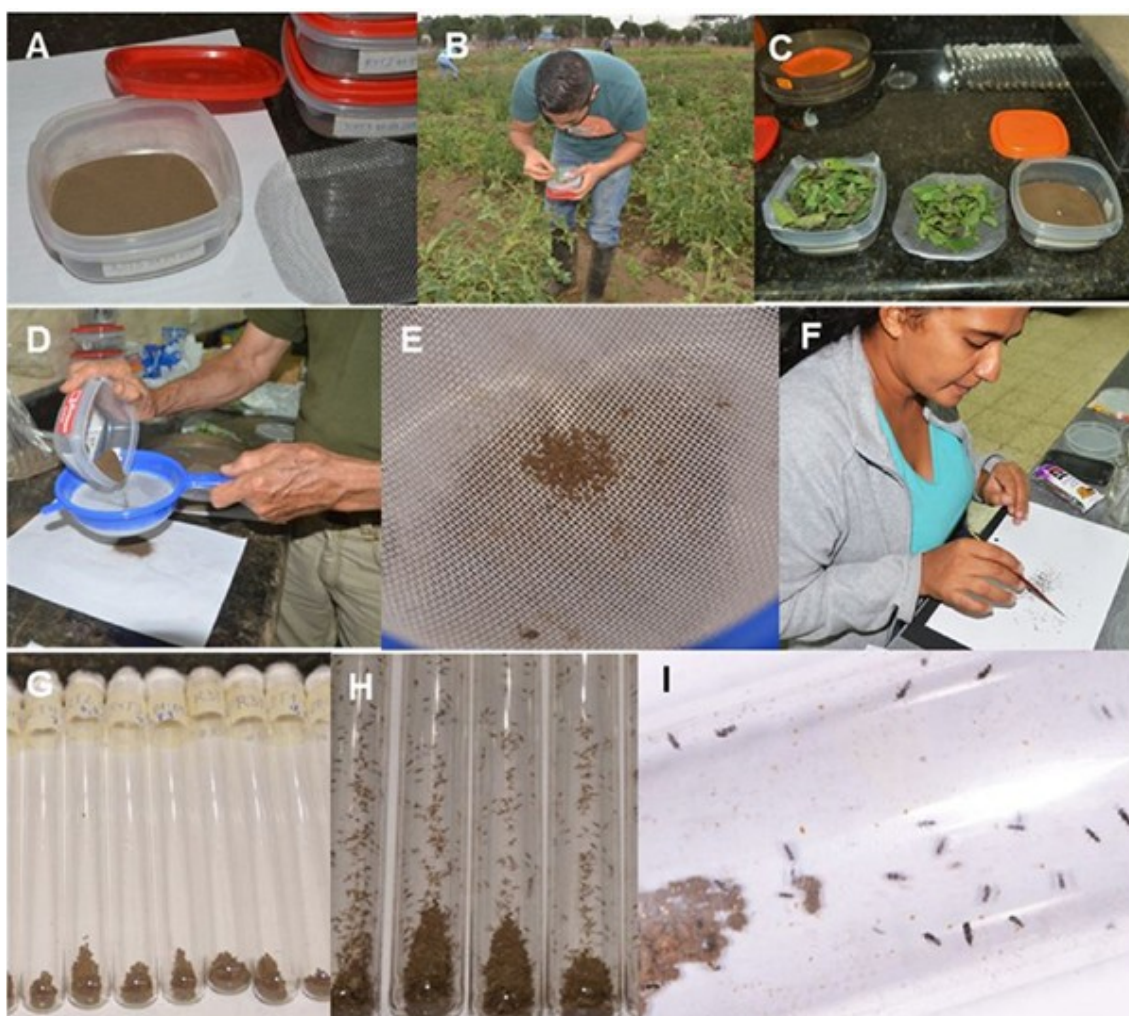


Figura 2. Muestreo de *Prodiplosis longifila* en tomate, utilizando contenedor de muestra con suelo en el fondo. A. Envase contenedor de muestra con suelo y rejilla mosquitero de aluminio. B. Toma de muestra en campo. C. muestras listas para pesaje en laboratorio. D. Cernido del suelo de la muestra. E. Puparios de *P. longifila* recubiertos de arena, separados por el cernidor. F. Conteo de puparios obtenidos de la muestra. G. Viales que contienen puparios. H. Viales con adultos de *P. longifila* emergidos de los puparios. I. Adultos de parasitoides emergidos de los puparios de *P. longifila*.



Figura 3. Alternativas de contenedores de muestras de órganos de plantas infestados por *P. longifila* utilizando malla plástica como sostenedor de muestra.

1.4. Hielera (aprox. 52 x 25x 27 cm, largo x ancho x alto) atemperada con paneles de “hielo azul” (18-20 °C), para transportar desde el campo al laboratorio unas 30 muestras, si los envases contenedores miden 12 x 12 x 6 cm (largo x ancho x altura). Para facilitar la manipulación de las muestras a medida que van siendo recolectadas, cada capa de contenedores será colocada en una cesta de malla plástica gruesa, ajustada a las dimensiones internas de la hielera y a la altura de los contenedores. Podrán acomodarse 3-4 cestas con contenedores, de acuerdo al espacio disponible dentro de la hielera. El espacio sobrante será utilizado para colocar los paneles refrigerantes.

2. Procedimientos:

2.1. En localidades con evidente existencia del “problema”, ubicar sembradíos con visibles infestaciones actuales.

2.2. Colectar muestras de material infestado (brotes y folíolos tiernos, flores y frutos comenzando a formarse), colocar dentro del contenedor, rotular con código de la muestra (RegBio: año.mes.día. # muestra en el día de muestreo). Asegurarse que los códigos de muestras estén asociados con sus respectivos sitios de recolección. Obviar frutos con áreas dañadas cicatrizadas (daños viejos).

2.3. Guardarlas en hielera atemperada (aprox. 18-20 °C), para transportarlas al laboratorio.

Nota: asegurarse que la muestra dentro del contenedor no exceda unos 3-4 cm de espesor, sin apretarla contra la malla sostenedora; así permitir el libre paso de las larvas para dejarse caer al fondo del envase con arena cernida, donde formar los puparios (capullos). Documentar fotográficamente todo lo que se

estime pertinente, asegurándose de que estén asociadas con el muestreo mediante los correspondientes rótulos (códigos) de muestras.

Laboratorio.

3. Procesamiento de las muestras para obtención de adultos de insectos asociados con la infestación y daños a la planta, incluye los causantes de los daños específicos y sus enemigos naturales (EN= especialmente parasitoides, pero también depredadores y entomopatógenos, si los hubiese):
 - 3.1. Pesado de las muestras para determinar peso fresco. Una vez pesada la muestra se regresa a su contenedor para más adelante recuperar puparios y adultos. Posterior a eso, algunas de las muestras se dejarán secar, para relacionar poblaciones de insectos con la biomasa vegetal muestreada (materia seca).

Equipo. Microbalanza para cocina (amplitud: hasta 250 gr; precisión: 0,01 gr)

- 3.2 Los puparios se recuperarán mediante cernido del suelo en el fondo del contenedor (Fig. 2 D y E). Solo para afinar la metodología de investigación, inicialmente en algunas muestras, esa recuperación se realizará en forma seriada a partir del 2do. día después de tomada la muestra, repetido a los 4, 6, 8 y 10, días o hasta que no se recupere ninguno. Los puparios de cada muestra por día serán contados y colocados por separado en tubos de ensayo (10 x 1,5 cm) taponeados con algodón (debidamente rotulados con código de la muestra y día de cernidas), para la emergencia de adultos (Fig. 2 F-I). Esta discriminación temporal seriada (distribución de frecuencia), permitirá determinar tiempo óptimo para realizar un solo cernido de la arena en los contenedores de muestras, a ser aplicado en el reconocimiento biogeográfico del problema, centrado en la existencia del problema y los organismos asociados (P. longifila y parasitoides), objetivo de los proyectos 1, 3 y 4 dentro del Programa de investigación propuesto (Geraud-Pouey et al. 2024).

Nota: En vista que en anterior investigación (Geraud-Pouey et al. 2022), se detectó aparente mortalidad de individuos por desecación dentro del pupario, se realizarán evaluaciones (puparios nebulizados con agua destilada vs. no nebulizados, previo a introducirlos en los tubos de ensayo) para determinar efecto de la humedad en la sobrevivencia de insectos (hospedero y parasitoides) durante el proceso de cría en laboratorio. Se supone que en campos de cultivo este efecto no sería crítico debido a la humedad del suelo regado. El efecto de condición de cría en laboratorio, humedad relativa en este caso, pudiese ser determinante para estudio de ecología de poblaciones. Los muertos desecados serán determinados pasados unos 3-4 días de emergidos los últimos adultos de parasitoides, disolviendo la seda de los capullos con hipoclorito de sodio (lejía) al 5%, identificando los restos flotantes en esa solución. Los resultados del método de muestro, debería ajustarse a la

siguiente ecuación, cuyo perfeccionamiento tendería a minimizar el tercer factor de la sumatoria:

$$\# \text{ puparios} = \# \text{ adultos } \textit{Prodiplosis} + \# \text{ parasitoides} + \# \text{ muertos desecados}$$

- 3.3. Recuperación de adultos emergidos de las crías. Al emerger los adultos, serán preservados en alcohol etílico (>80%), dentro de viales de microcentrifugación, igualmente por separado por fecha en que emergieron. Así, complementando la información de la separación seriada de los puparios, esta información servirá para determinar el momento óptimo para realizar un solo cernido por muestra (economía de tiempo). Dado que los adultos de *P. longifila* emergen durante unos 2-3 días con varios días de antelación de los primeros parasitoides en emerger, ambas categorías serán preservadas en alcohol etílicos en viales separados, para cada fecha. Posteriormente, los parasitoides serán separados por especies y morfotipos (diferencias morfológicas externas potencialmente asociadas a diferencias taxonómicas), para las correspondientes confirmaciones e identificaciones por taxónomos especialistas. afinar

Nota: en el caso de las recuperaciones seriadas de puparios, los adultos de parasitoides emergidos cada día, serán preservados por separado, para así tratar de establecer alguna cronología entre las diferentes especies de los mismos.

Museo

4. Preservación e identificación de insectos adultos. Los adultos preservados, serán contados y registrados, considerando la separación taxonómica posible (orden, familia, género, especie, morfotipo 1, 2,...). Muestras representativas de cada taxón (grupo taxonómico) serán preservadas para posteriores identificaciones más precisas (por taxónomos especialistas) y posibles estudios de genética poblacional para algunas de las especies más relevantes. Las muestras serán preservadas en MALUZ, bajo la responsabilidad del Curador de la Colección de Insectos, bajo la supervisión del coordinador del “Programa de investigación para el manejo racional de la mosquita de los brotes, *Prodiplosis longifila* Gagné, 1986 en Venezuela”. Muestras representativas de especies podrían ser compartidas con otras colecciones entomológicas como MIZA FAGRO UCV, Museo de Insectos de Interés Agrícola (MIIA) CENIAP INIA, entre otras.

Referencias

- GERAUD-POUEY, F.; GARCES, A.; CONTRERAS, N.; GERAUD-CHIRINOS, J. E. 2022. *Prodiplosis longifila* (Diptera: Cecidomyiidae), evolución como plaga y un método para evaluar sus poblaciones en tomate. Revista Colombiana de Entomología 48 (1): e7807.
<https://doi.org/10.25100/socolen.v48i1.7807>
- GERAUD-POUEY, F. HOLMQUIST, O.; ROJAS, K.; LUGO, Z.; RAMIREZ, A. 2024. Notificación a INSAI de alerta fitosanitaria por aparente presencia de la mosquita de los brotes *Prodiplosis longifila* (Diptera: Cecidomyiidae) en tomate y pimentón en los estados Mérida, Táchira y

posiblemente Trujillo. Incluye anteproyecto de investigación-producción Francis Geraud-Pouey, Otón olmquist C., Katty Rojas, Zunilde Lugo, Ángel Ramírez Isea.