



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Dpto. de Ecosistemas Agroforestales

Evaluación del potencial biocida de especies de la familia  
Brassicaceae sobre pupas de la mosca mediterránea de la  
fruta, *Ceratitis capitata* Wiedemann

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Sanidad y Producción Vegetal

AUTOR/A: Rubio Esteve, Borja

Tutor/a: Soto Sánchez, Antonia Isabel

Director/a Experimental: MONZO FERRER, CESAR

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA  
**MÁSTER UNIVERSITARIO EN SANIDAD Y  
PRODUCCIÓN VEGETAL**  
TRABAJO FIN DE MÁSTER

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOCIDA  
DE ESPECIES DE LA FAMILIA  
BRASSICACEAE SOBRE PUPAS DE LA  
MOSCA MEDITERRÁNEA DE LA FRUTA,  
*CERATITIS CAPITATA* WIEDEMANN.

**AUTOR:** Borja Rubio Esteve

**Tutora:** Antonia Isabel Soto Sánchez

**Cotutor externo colaborador:** César Monzó Ferrer

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio  
Natural (ETSIAMN)

Valencia, marzo 2023

## RESUMEN

La mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitis capitata* Wiedemann, es considerada una plaga clave en numerosas especies de frutales entre las que se incluyen los cítricos. Para su gestión efectiva, se requiere de aproximaciones multitácticas, como los tratamientos con insecticidas, el trampeo masivo, la liberación de machos estériles y el control biológico. La siembra de cubiertas vegetales entre las filas de cultivos leñosos como los cítricos es una estrategia cada vez con más aceptación dirigida a mejorar el control biológico por conservación. Las cubiertas vegetales sembradas, aparte de ofrecer servicios ecosistémicos a los enemigos naturales en forma de recursos alimenticios y refugio, pueden ser beneficiosas en otros aspectos para el cultivo. Numerosas especies de la familia Brassicaceae son utilizadas como plantas biocidas principalmente contra hongos y nematodos. Estas especies pueden contener concentraciones elevadas de glucosinolatos, compuestos orgánicos que son fácilmente degradados a isotiocianatos. Estas últimas son moléculas volátiles con actividad biocida. La liberación de isotiocianatos puede realizarse por la degradación de material vegetal tanto de la parte aérea como de las raíces de la planta. Numerosas plagas clave de los cítricos, como es el caso de la mosca mediterránea de la fruta, desarrollan parte de su ciclo en el suelo y, por lo tanto, podrían ser susceptibles de verse afectadas por estas moléculas biocidas. En el presente trabajo, se han realizado en condiciones de invernadero las primeras evaluaciones registradas del potencial efecto biocida de cuatro especies de brassicáceas comercializadas como plantas biocidas (*Brassica carinata* A. Braun, *B. juncea* (L.) Czernajew, *Raphanus sativus* L. y *Sinapis alba* L.) y una especie de uso común en cubiertas vegetales florales (*Lobularia maritima* (L.) Desv.) en pupas de mosca de la fruta. A través de la bibliografía revisada para la realización de este trabajo, se sabe que durante los procesos de desarrollo y descomposición natural del sistema radicular de este tipo de plantas se liberan concentraciones variables de isotiocianatos. Por lo que, el objetivo principal del trabajo es tratar de investigar si, de esta forma, pueden llegar a afectar a la supervivencia de pupas enterradas en suelos donde se desarrollan estas especies vegetales. En las evaluaciones realizadas se encontró una supervivencia de pupas significativamente menor en suelos donde crecía la especie *S. alba*, en comparación con el resto de los tratamientos y con el control. Futuros trabajos permitirán conocer si esta actividad es extrapolable a condiciones de campo o únicamente parece funcionar en invernadero. La demostración de algún grado de actividad biocida de ésta u otras especies vegetales de la familia Brassicaceae permitiría considerar su uso en cubiertas vegetales sembradas para la gestión de plagas que desarrollan parte de su ciclo en el suelo.

**Palabras clave:** plagas del suelo, cubiertas vegetales, servicios ecosistémicos, glucosinolatos, isotiocianatos, infraestructuras ecológicas.

## ABSTRACT

The Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* Wiedemann, is considered key pest of many fruit species, including citrus. In order to achieve an effective management, multi-tactic approaches are required, like insecticide treatments, mass trapping, sterile males' releases and biological control approaches. Sowing plant cover crops between the rows of woody crops such as citrus is an increasingly accepted strategy aimed at improving conservation biological control. Sown cover crops, aside from offering ecosystem services to natural enemies, such as food resources or shelter, can be also beneficial in other ways for the crop. Many species of Brassicaceae family are used as biocidal plants, mainly against fungus and nematodes. These species may contain high concentrations of glucosinolates, organic compounds which are easily degraded to isothiocyanates. The later molecules are volatile compounds with biocidal activity. The release of isothiocyanates can be a consequence of the degradation of plant material both from the aerial part and from the plant roots. Many citrus pests, such as the Mediterranean Fruit Fly, develop part of their cycle in the soil and, therefore, they could be susceptible to being affected by these biocidal molecules. In this end-of-Master's project, the first recorded evaluations of the potential biocidal effect of four brassicas species commercialized as biocidal plants (*Brassica carinata* A. Braun, *B. juncea* (L.) Czernajew, *Raphanus sativus* L. and *Sinapis alba* L.) and one commonly used for plant species in cover crops (*Lobularia maritima* (L.) Desv.) against fruit fly pupae was carried out under greenhouse conditions. From the bibliography reviewed for this work, it is known that during the processes of development and natural decomposition of the root system of this type of plant, variable concentrations of isothiocyanates are released. Therefore, the main objective of this work is to investigate whether, in this way, they can affect the survival of pupae buried in soils where these plant species develop. In this experiment, it was found a significant lower survival rate of *C. capitata* pupae buried in soils where *S. alba* was grown, compared to the other treatments and to the control. Further research must be aimed at evaluating whether this biocidal activity is also observed under field conditions or only seems to work in greenhouses. The demonstration of some grade of biocidal activity of these plant species would make it possible to consider their use in sown vegetation covers as part of multitactic strategies for the management of pests' which develop part of their cycle in the soil.

**Keywords:** soil pests, vegetation covers, ecosystems services, glucosinolates, isothiocyanates, ecological infrastructures.

## RESUM

La mosca mediterrània de la fruita, *Ceratitis capitata* Wiedemann, és considerada una plaga clau en nombroses espècies de fruïteres entre la qual s'inclouen els cítrics. Per a la seua gestió efectiva, es requereixen d'aproximacions multitàctiques, com els tractaments amb insecticides, el parany massiu, l'alliberament de mascles estèrils i el control biològic. La sembra de cobertes vegetals entre les files de cultius llenyosos com els cítrics és una estratègia cada vegada amb més acceptació dirigida a millorar el control biològic per conservació. Les cobertes vegetals sembrades, a part d'oferir serveis ecosistèmics als enemics naturals en forma de recursos alimentosos i refugi, poden ser beneficioses en altres aspectes per al cultiu. Nombroses espècies de la família Brassicaceae són utilitzades com a plantes biocides principalment contra fongs i nematodes. Aquestes espècies poden contindre concentracions elevades de glucosinolats, compostos orgànics que són fàcilment degradats a isotiocianats. Aquestes últimes són molècules volàtils amb activitat biocida. L'alliberament de isotiocianats pot realitzar-se per la degradació de material vegetal tant de la part aèria com de les arrels de la planta. Nombroses plagues clau dels cítrics, com és el cas de la mosca mediterrània de la fruita, desenvolupen part del seu cicle en el sòl i, per tant, podrien ser susceptibles de veure's afectades per aquestes molècules biocides. En el present treball de màster, s'ha realitzat en condicions d'hivernacle les primeres avaluacions registrades del potencial efecte biocida de quatre espècies de brassicaceas comercialitzades com plantes biocides (*Brassica carinata* A. Braun, *B. juncea* (L.) Czernajew, *Raphanus sativus* L. i *Sinapis alba* L.) i una espècie d'ús comú en cobertes vegetals florals (*Lobularia maritima* (L.) Desv.) en pupes de mosca de la fruita. A través de la bibliografia revisada per a la realització d'aquest treball, se sap que durant els processos de desenvolupament i descomposició natural del sistema radicular d'aquest tipus de plantes s'alliberen concentracions variables de isotiocianats. Pel que, l'objectiu principal del treball és tractar d'investigar si, d'aquesta manera, poden arribar a afectar la supervivència de pupes enterrades en sòls on es desenvolupen aquestes espècies vegetals. En les avaluacions realitzades es troba una supervivència de pupes significativament menor en sòls on creixia l'espècie *S. alba*, en comparació amb la resta dels tractaments i amb el control. Futurs treballs permetran conèixer si aquesta activitat es extrapolable a condicions de camp o únicament sembla funcionar en hivernacle. La demostració d'algun grau d'activitat biocida d'aquesta o altres espècies vegetals de la família Brassicaceae permetria considerar el seu ús en cobertes vegetals sembrades per a la gestió de plagues que desenvolupen part del seu cicle en el sòl.

**Paraules claus:** plagues del sòl, cobertes vegetals, serveis ecosistèmics, glucosinolats, isotiocianats, infraestructures ecològiques.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1. Gestión de plagas y control biológico en la agricultura.....</b>	<b>7</b>
<b>1.2. Gestión de plagas en cítricos.....</b>	<b>7</b>
<b>1.3. Plagas clave presentes en los suelos de cítricos.....</b>	<b>9</b>
<b>1.4. Cubiertas vegetales como estrategia de gestión de plagas.....</b>	<b>10</b>
<b>1.5. Cubiertas vegetales para la gestión en el suelo de cítricos.....</b>	<b>12</b>
<b>1.6. Cubiertas vegetales biocidas.....</b>	<b>13</b>
<b>1.7. Interacciones entre brasicáceas y plagas en el suelo.....</b>	<b>15</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
<b>3.1. Selección de especies vegetales.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2. Preparación de plantas.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3. Preparación pupas de <i>Ceratitis capitata</i>.....</b>	<b>21</b>
<b>3.4. Diseño experimental.....</b>	<b>21</b>
<b>3.5. Análisis estadístico.....</b>	<b>24</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
<b>4.1. Selección de especies vegetales.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2. Emergencia de <i>Ceratitis capitata</i>.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2.1. Primer ensayo.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2.2. Segundo ensayo.....</b>	<b>30</b>
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>35</b>
<b>Perspectivas de futuro.....</b>	<b>35</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>36</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>39</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Lotes de semillas de <i>Raphanus sativus</i> , <i>Brassica juncea</i> y <i>Brassica carinata</i> . .....	20
<b>Figura 2.</b> Bandeja de 104 alveolos. ....	20
<b>Figura 3.</b> Maceta con <i>Brassica carinata</i> trasplantada. ....	20
<b>Figura 4</b> Cría de <i>Ceratitis capitata</i> en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). .....	21
<b>Figura 5.</b> Representación hipotética de uno de los 4 bloques con los 6 tratamientos y sus 2 repeticiones por tratamiento. ....	22
<b>Figura 6.</b> Maceta con pupas de mosca de la fruta ya colocadas. ....	22
<b>Figura 7.</b> Macetas control (suelo desnudo) con pupas de mosca de la fruta ya colocadas. ....	23
<b>Figura 8.</b> Macetas en el invernadero repartidas en bandejas (bloques) al azar. ....	23
<b>Figura 9.</b> Número de adultos (promedio $\pm$ error estándar) emergidos de pupas enterradas en suelos de macetas en las que crecían distintas especies de brasicáceas: <i>Brassica carinata</i> , <i>B.</i> <i>juncea</i> , <i>Lobularia maritima</i> , <i>Rapahanus sativus</i> y <i>Sinapis alba</i> . También se incorporó un tratamiento control con suelo en el que no crecía ninguna planta. ....	29
<b>Figura 10.</b> Número de adultos (promedio $\pm$ error estándar) emergidos de pupas enterradas en suelos de macetas en las que crecían distintas especies de brasicáceas: <i>Brassica carinata</i> , <i>B.</i> <i>juncea</i> , <i>Lobularia maritima</i> , <i>Rapahanus sativus</i> y <i>Sinapis alba</i> . También se incorporó un tratamiento control con suelo en el que no crecía ninguna planta. Para cada especie vegetal, la asignación de las mismas letras indica que no existen diferencias significativas entre ellas (Tukey, $P < 0.05$ ). ....	30

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Uso y características a nivel general de las especies de plantas seleccionadas para el estudio: <i>Brassica juncea</i> , <i>B. carinata</i> , <i>Raphanus sativus</i> , <i>Sinapis alba</i> y <i>Lobularia maritima</i> (Vargas <i>et al.</i> , 2013; Warwick, 2011). ....	26
<b>Tabla 2.</b> Tabla de reacción de las especies de plantas seleccionadas para el estudio, a excepción de <i>Lobularia maritima</i> dado que carece de potencial biocida, frente a algunas plagas de nematodos y hongos (Intersemillas, 2022). ....	27
<b>Tabla 3.</b> Glucosinolatos totales en brotes de brócoli ( <i>Brassica oleraceae</i> ) y rábano ( <i>Raphanus</i> <i>sativus</i> ) (mg/100g Peso fresco) tras aplicación de tratamiento con elicitador metil jasmonato (MeJA) en diferentes concentraciones (Baenas <i>et al.</i> , 2015). ....	28

# 1. INTRODUCCIÓN.

## 1.1. Gestión de plagas y control biológico en la agricultura.

La gestión de plagas en la agricultura es una de las piezas claves para garantizar la viabilidad económica de nuestros cultivos. El control químico de éstas mediante la utilización de plaguicidas de síntesis ha sido la estrategia más utilizada durante el último siglo. Sin embargo, a día de hoy es de sobra conocido los efectos negativos que este tipo de gestión puede provocar sobre el medio ambiente, la salud humana y la funcionalidad de los agroecosistemas (Monzó *et al.*, 2020). Por esta razón, para una gestión de plagas sostenible, es necesario desarrollar estrategias alternativas al control químico de plagas, de bajo impacto en el sistema agrícola y en el entorno sobre el que éste se desarrolla. Las nuevas políticas Comunitarias reflejadas en la Estrategia ‘De la Granja a la Mesa’ hacen precisamente especial hincapié en el desarrollo de métodos de gestión de plagas alternativos al control químico, multi-tácticos y basados en los recursos que la propia naturaleza nos puede ofrecer. El control biológico (CB), ha de ser la base de estos nuevos programas de gestión de plagas en la agricultura. Éste consiste en la utilización de organismos vivos (enemigos naturales) para la regulación de las poblaciones de fitófagos con potencial de alcanzar la categoría de plaga. Aunque este tipo de estrategia posee una larga tradición, gracias a su estudio, la implementación de estrategias de CB asociado a la agricultura moderna ha ido perfeccionándose y mejorándose desde que por primera vez se empleara en cítricos, a finales del siglo XIX, con la importación del coccinélido *Rodolia cardinalis* Mulsant para el control de la cochinilla acanalada, *Icerya purchasi* Maskell (Monzó & Urbaneja, 2020). Este tipo de aproximación, que implica la introducción de enemigos naturales exóticos, se conoce como Control Biológico Clásico y se practica todavía hoy y desde hace más de 100 años con distintos resultados. La cría artificial de enemigos naturales, para su posterior liberación en campo es lo que se conoce como Control Biológico Inoculativo. Este tipo de CB, de gran importancia en cultivos protegidos, ha abierto un nuevo mercado en el que los enemigos naturales se crían en masa y se comercializan. La gestión de los recursos naturales que te ofrece el propio agroecosistema para mejorar el control biológico natural de plagas es lo que se conoce como Control Biológico por Conservación (Monzó & Urbaneja, 2020). Este tipo de CB tradicionalmente ha sido minusvalorado y solamente en las últimas décadas ha sido estudiado más a fondo y se ha reconocido su importancia.

## 1.2. Gestión de plagas en cítricos.

El cultivo de los cítricos resulta paradigmático en cuanto a la importancia que el control biológico por conservación tiene en la regulación de las poblaciones de fitófagos que amenazan su



producción. Su carácter perenne y la larga duración de sus plantaciones, llegando a perdurar décadas con una presencia constante de un follaje denso en los árboles, facilitan la existencia de un medio más o menos estable que favorece el desarrollo de diversas y abundantes comunidades de artrópodos, que incluyen numerosas especies de fitófagos, pero también de enemigos naturales.

Así pues, hoy en día, se reconoce que el control biológico realizado por estos complejos de enemigos naturales es el responsable de la regulación exitosa de la mayoría de los fitófagos que pueden amenazar a este cultivo (Urbaneja *et al.*, 2015). Solamente unas pocas especies, denominadas plagas clave, escapan con frecuencia a su control y requieren, por lo tanto, de la utilización de otras estrategias de gestión para evitar que sus poblaciones rebasen los umbrales económicos de daño. El control químico suele ser en estos casos la principal herramienta de gestión.

Entre las plagas claves que han afectado durante las últimas décadas a la citricultura en nuestro país, podemos citar la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* Wiedemann o el piojo rojo de California *Aonidella aurantii* Maskell que afectan a todas las especies y cultivares de cítricos, y la araña roja *Tetranychus urticae* Koch o los pulgones *Aphis gossypii* Glover y *Aphis spiraecola* Patch que afectan especialmente a clementinos. Además, a estas hay que añadir varias especies de reciente introducción en nuestra citricultura como *Pezothrips kellyanus* Bagnall, el trips de la orquídea, *Chaetanaphothrips orchidii* Multon, los ácaros de Texas y oriental, *Eutetranychus banksii* Mc Gregor y *Eutetranychus orientalis* Klein, respectivamente, o el cotonet de Sudáfrica, *Delottococcus aberiae* De Lotto (Monzó & Urbaneja, 2020)

La Estrategia ‘De la Granja a la Mesa’ tiene como objetivo una reducción importante del uso de fitosanitarios para el año 2030 (Monzó *et al.*, 2021). Como consecuencia de esto, se está realizando una revisión exhaustiva de las materias activas registradas para el control de plagas y muchas de las autorizaciones de éstas no están siendo renovadas. Por esta razón, la gestión eficaz de plagas clave en la agricultura y en el cultivo de cítricos en particular se ha convertido en el principal desafío de nuestra sanidad vegetal. En este contexto, el CBC nos ofrece numerosas oportunidades para desarrollar nuevas estrategias de gestión de plagas más sostenibles y en total consonancia con las nuevas políticas europeas.

Estudios recientes demuestran que una adecuada conservación del complejo de enemigos naturales asociados al agroecosistema de cítricos, aseguran una mortalidad mayor de lo que era reconocido en determinadas plagas clave (Bouvet *et al.*, 2019; Bouvet *et al.*, 2021). Por lo que, cabe esperar que, el beneficio derivado del control biológico se traduzca en una reducción progresiva en la frecuencia de las aplicaciones químicas contra plagas clave del cultivo.

### 1.3. Plagas clave presentes en los suelos de cítricos.

Algunas de las plagas claves de los cítricos, como por ejemplo la mosca mediterránea de la fruta, los trips y los cotonets desarrollan al menos una fase de su ciclo biológico en el suelo del cultivo (GIP Cítricos, 2023). Durante esa fase, estos fitófagos suelen escapar al efecto de los tratamientos químicos. Sin embargo, este momento de su desarrollo puede ser el más indicado para aplicar determinados métodos o estrategias que permitan reducir o eliminar su presencia en el cultivo.

Los trips (Thysanoptera) son insectos muy comunes en todo tipo de plantas. En su mayoría son especies fitófagas y algunas de éstas se asocian con frecuencia al cultivo de cítricos. Las especies más frecuentes pertenecen a la familia Thripidae y dentro de ella a los géneros *Thrips* y *Frankliniella*. De las numerosas especies de trips descritas sobre cítricos en todo el mundo, solo unas pocas se comportan como plagas (Navarro *et al.*, 2008). Sin embargo, en cuanto al desarrollo de aquellas especies de trips consideradas plagas en los frutos cítricos jóvenes, se advierten importantes daños estéticos y la consecuente depreciación comercial. Su gestión tradicionalmente se ha llevado a cabo mediante la aplicación de insecticidas de amplio espectro, como los organofosforados, que además de tener impactos negativos sobre el agroecosistema, a menudo proporcionaban pobres resultados. En nuestra citricultura, hoy en día, el pezotrips, *P. kellianus*, y el trips de la orquídea, *C. orquidii*, son las dos especies de trips que causan más daños económicos. Tanto adultos como ninfas de estas dos especies de trips pueden ser encontradas en la copa del árbol. Sin embargo, al final del segundo estadio las ninfas saltan al suelo para pupar y así completar su metamorfosis a la fase de adulto.

Los Pseudocóccidos (Hemiptera: Pseudococcidae) son insectos fitófagos muy polífagos, móviles que viven principalmente en hábitats protegidos como el envés de las hojas, en grietas de troncos, hendiduras o agrupaciones de frutos. Estos insectos usualmente están recubiertos de una secreción cerosa que les sirve de protección frente a enemigos naturales y también frente a tratamientos químicos. Los daños que producen los pseudocóccidos como consecuencia de su alimentación son muy variados. Durante ésta, causan debilitamiento de la planta por la absorción de fluidos del floema, pudiendo producir defoliaciones y caída prematura de órganos ante infestaciones graves. Además, también producen otros daños indirectos por su capacidad para transmitir virosis y micoplasmas. Dado su forma de alimentación, también producen gran cantidad de melaza, la cual puede recubrir la planta y provocar el desarrollo de negrilla, alterando el correcto crecimiento de ésta. Algunas especies, como por ejemplo el Cotonet de Sudáfrica, al alimentarse del fruto inyectan toxinas que producen deformaciones en éstos devaluando su comercialización. La mayoría de las especies asociadas a los cítricos realizan la puesta en una estructura conformada por filamentos cerosos unidos entre sí formando lo que se conoce como ovisaco. Las hembras con frecuencia realizan la puesta en la base del tronco e incluso en el suelo (Benito, 2017).

Dentro del orden Díptera, la familia Tephritidae, de amplia distribución en todos los continentes, es conocida como “verdaderas moscas de la fruta” y son uno de los grupos más diversos de moscas verdaderas, incluyendo más de 5000 especies distribuidas por todo el mundo. De los géneros reconocidos en esta familia, *Ceratitis* y *Bractocera* principalmente, seguidos de *Anastrepha* y *Rhagoletis*, destacan por albergar importantes especies invasoras, que han conseguido traspasar las fronteras de distribución natural y colonizar multitud de áreas con el clima y los hospedadores adecuados para su establecimiento (EPPO Global Database, 2023). El género *Ceratitis* recoge más de 78 especies, siendo *Ceratitis capitata* la más importante por su incidencia en zonas tropicales, subtropicales y mediterráneas. En España, donde sus daños ocasionados se han hecho más patentes, es conocida vulgarmente como la mosca mediterránea de la fruta. En definitiva, se trata de la especie más polífaga y que presenta un área de distribución más extensa, resultando, por lo tanto, la especie de mayor importancia económica. (García, 2017)

Hoy en día, *C. capitata* es considerada como especie cosmopolita, siendo auxiliada en su dispersión por el transporte de productos realizado por el hombre. Desde su zona africana de origen ha logrado extenderse a todos los lugares no solo de clima cálido, sino también a las zonas templadas. Su alto potencial reproductor, su adaptabilidad alimentaria y la casi ausencia de enemigos naturales altamente eficaces explican su enorme expansión, alcanzando un alto poder destructivo al pasar desde las primigenias plantas silvestres hospedantes que la albergaban a los más diversos frutos cultivados por el hombre, entre los que se encuentran, evidentemente, los cítricos (Ros, 1988).

Del mismo modo que ocurre con los trips, la mosca de la fruta también comprende una fase de pupa en su desarrollo. Las hembras adultas realizan la puesta en frutos, del huevo emerge la larva que se desarrolla alimentándose de éstos, y tras realizar su segunda muda, las larvas de tercer estadio abandonan el fruto y saltan al suelo para completar su desarrollo a la fase de adulto. En el suelo, concluida su tercera muda, la exuvia se convierte en una cubierta protectora en forma de pequeño tonel de color castaño, conocido con el nombre de pupa. La pupa permanece enterrada en el suelo por un período entorno a los 10 días en condiciones favorables, pudiendo ser de varios meses durante el invierno. Es precisamente este el período de mayor mortalidad y la oportunidad perfecta para poner en marcha métodos de gestión que actúen en el suelo (García, 2003).

#### **1.4. Cubiertas vegetales como estrategia de gestión de plagas.**

La utilización de cubiertas vegetales se concibe como una estrategia de gestión del suelo que consiste en mantener una cobertura parcial o total de la calle del cultivo con especies vegetales distintas a la cultivada, con el objetivo de gestionar la flora arvense y aprovechar los posibles

beneficios derivados de una serie de servicios ecosistémicos que genera (Monzó *et al.*, 2020). Las cubiertas vegetales afectan positivamente sobre los suelos del cultivo al incrementar el contenido de materia orgánica, mejorar la estructura de éstos o reducir los procesos de erosión. También una cubierta vegetal puede cumplir el papel de sumidero de CO<sub>2</sub> atmosférico, al fijar este gas de efecto invernadero en forma de carbono orgánico en la planta o en fauna microbiana del suelo (Life Vida for Citrus, 2022). Sin embargo, uno de los principales beneficios reconocidos al uso de cubiertas vegetales en muchos cultivos de frutales es el de incrementar la eficacia del control biológico por conservación de plagas clave (Bouvet, 2018). La cubierta vegetal crea medios estructuralmente más complejos donde los enemigos naturales pueden encontrar lugares de puesta o refugio frente a condiciones ambientales adversas. Más importante aún, una gestión adecuada de una cubierta vegetal ayuda a incrementar la disponibilidad de recursos alimenticios alternativos para los enemigos naturales cuando estos escasean en el cultivo. Las especies vegetales que la componen pueden ofrecer néctar, polen o incluso semillas como fuente de alimento a depredadores o parasitoides y, además, pueden fomentar la presencia de otros artrópodos en el cultivo, fitófagos y saprófagos, que podrían ser utilizados como fuente de alimento alternativa por los depredadores (Monzó & Urbaneja, 2020). El uso de cubiertas vegetales como estrategia de gestión de plagas viene utilizándose en la citricultura comercial desde hace prácticamente dos décadas (Pons *et al.*, 2000). A pesar de todo ello, aún hay mucho que aprender en cuanto al diseño de cubiertas vegetales adaptadas a la problemática específica de cada zona o parcela.

A rasgos generales, las cubiertas vegetales podrían dividirse en dos grupos, encontrando en el primero, a aquellas generadas de manera natural a través del propio banco de semillas del suelo cultivado, lo que se conoce como cubiertas espontáneas, mientras que en el segundo grupo aparecen aquellas cuya composición específica ha sido previamente diseñada, es decir, hablamos de cubiertas vegetales sembradas (Monzó *et al.*, 2020).

Las cubiertas espontáneas se caracterizan por su mayor diversidad de especies vegetales. Además, en las comunidades que constituyen este tipo de cubiertas generalmente se da una sucesión vegetal desde su instauración. En las primeras etapas de la instauración de una cubierta espontánea dominarán aquellas especies más adaptadas a las condiciones de gestión del suelo previas a la existencia de cubierta. Éstas son generalmente especies capaces de desarrollarse a un ritmo adecuado en suelos compactos con una elevada presión de herbicidas. Esta primera comunidad vegetal poco a poco dejará paso a otros grupos de plantas menos adaptados a esas condiciones iniciales y que toleran mejor otras estrategias de gestión como puedan ser las siegas. Otra de las características de este tipo de cubiertas es que la composición florística suele ser muy variable en función de las condiciones edafoclimáticas de cada zona. La instauración de cubiertas vegetales espontáneas es probablemente más sencilla debido a que el banco de semillas estará constituido por especies adaptadas a las condiciones de la parcela. Sin embargo, la gestión de los servicios

ecosistémicos que pueden ofrecer es mucho más compleja ya que no se decide que especies la componen y, por lo tanto, qué servicios nos pueden ofrecer.

La utilización de cubiertas vegetales sembradas busca la gestión deliberada de determinados servicios ecosistémicos ofrecidos por las especies vegetales que las componen. La selección de estas deberá tener en cuenta, por un lado, su capacidad de adaptación a las condiciones edafoclimáticas y de cultivo y, por otro lado, se buscarán especies que ofrezcan soluciones específicas a la problemática fitosanitaria de cada parcela, región, especies y variedades cultivadas (Monzó *et al.*, 2020). Para poder realizar un diseño y una gestión eficaz de una cubierta vegetal sembrada es fundamental conocer qué enemigos naturales queremos conservar y qué recursos pueden ser limitantes para la conservación de éstos. También es importante saber en qué momento del año se da de manera natural una mayor carencia de estos recursos. Una vez caracterizada la carencia de recursos, realizaremos una selección de especies que puedan darnos una oferta alternativa de éstos en los momentos del año que son más necesarios.

En los avances que se han realizado en la gestión de estas plagas claves, se ha constatado que las comunidades de artrópodos depredadores polífagos asociados al suelo de los cítricos, entre los que se incluyen estafilínidos, dermápteros y numerosas especies de arañas cazadoras, pueden verse beneficiadas por la utilización de cubiertas vegetales diversas en especies (Monzó & Urbaneja, 2020). Depredando a la mosca de la fruta cuando la encuentran en el suelo del cultivo y potenciando, de esta forma, el control biológico de esta plaga clave.

### **1.5. Cubiertas vegetales para la gestión en el suelo de cítricos.**

Las cubiertas vegetales pueden ser una herramienta muy útil para ayudar a regular las poblaciones de plagas que llevan a cabo parte de su ciclo en el suelo del cultivo. Los suelos de cítricos pueden albergar importantes comunidades de depredadores polífagos. Además, su abundancia y diversidad se ve incrementada en parcelas donde existen establecidas cubiertas vegetales (Monzó *et al.*, 2011a). Numerosos estudios evidencian que estos depredadores utilizan como presa estos fitófagos cuando se encuentran en su fase en el suelo. Un ejemplo claro de esto podría ser el papel de los depredadores *Pardosa cribata* (Arachnida: Lycosidae) o *Pseudophonus rufipes* (Coleoptera: Carabidae) como agentes de control biológico de *C. capitata* (Monzó *et al.*, 2010; Monzó *et al.*, 2011b). También se conoce el papel que los ácaros depredadores que habitan en el suelo pueden llegar a tener en la mortalidad de pupas del trips invasor de los cítricos *P. kellyanus* (Navarro *et al.*, 2012).

Frente a la problemática ocasionada por la presencia de este tipo de plagas en el cultivo, nace la necesidad de diseñar nuevos métodos de gestión caracterizados por provocar un menor impacto

ambiental, basados en la gestión de recursos naturales y con resultados próximos a los que se obtienen mediante la aplicación de plaguicidas sintéticos. Entre estos métodos, cabe destacar la utilización de las propias plantas como principal defensa contra las plagas, a través de determinados metabolitos especializados que contienen (Arriaga, 2019). Estos, están directamente relacionados con los mecanismos de respuesta a la defensa de las plantas, inducidos por los estreses bióticos y abióticos. En el caso de las especies pertenecientes a la familia Brassicaceae, estos metabolitos especializados son conocidos como glucosinolatos.

## **1.6. Cubiertas vegetales biocidas.**

La familia Brassicaceae es un grupo de angiospermas, presente en regiones montañosas y regiones tropicales de todos los continentes, excepto en la Antártida. Esta familia incluye 338 géneros y alrededor de 3709 especies que poseen un especial interés científico, económico y agronómico, incluyendo especies modelo de estudio bilógico, así como aquellas que son ampliamente cultivadas, como numerosas especies de los géneros *Brassica*, *Raphanus* o *Sinapsis*. En esta familia también se incluyen más de 120 especies arvenses, algunas de ellas consideradas importantes malezas agrícolas cosmopolitas (Vargas *et al.*, 2013).

Las brasicáceas se caracterizan por su elevado contenido en metabolitos. En ellas podemos encontrar tres grupos químicos importantes: fenoles, terpenoides y compuestos orgánicos que contienen nitrógeno. En primer lugar, los compuestos fenólicos, sintetizados a partir de la ruta del ácido shikímico o la del ácido malónico, son compuestos que presentan actividad antioxidante y que adicionalmente sirven de apoyo al sistema de desintoxicación dependiente de ascorbato. El segundo grupo de metabolitos son los terpenos, sintetizados a partir de dos rutas, la ruta del mevalonato, que se encuentra en el citosol y es precursor en la producción de sesquiterpenos, triterpenos, esteroides y politerpenos. Y la ruta del metileritritol fosfato que se encuentra generalmente en los plastidios, y es precursor en la ruta que lleva a isoprenos, monoterpenos, diterpenos y carotenoides. Y, por último, tenemos los compuestos orgánicos que contienen nitrógeno o azufre y que son sintetizados a partir de aminoácidos e incluyen glucósidos cianogénicos, glucosinolatos o alcaloides. En la familia Brassicaceae los glucosinolatos son metabolitos que ocurren de manera abundante y característica. (Vargas *et al.*, 2013).

La cantidad de glucosinolatos varía de una especie a otra e influye de manera directa el tipo de tejido de la planta, existiendo especies con pocos glucosinolatos y otras con una cantidad mayor. Estos metabolitos se encuentran en diferentes concentraciones en función del estado fenológico de la planta y de la concentración y disponibilidad de algunos nutrientes para la propia planta. Los glucosinolatos son hidrolizados por la enzima mirosinasa, obteniéndose compuestos

biológicamente activos entre los que se destacan isotiocianatos, sulfuranos, nitrilos y tiocianatos. Este proceso de hidrólisis tiene lugar en los glucosinolatos cuando el tejido del vegetal se rompe como consecuencia de un daño mecánico, es entonces cuando la enzima se pone en contacto con el sustrato y libera moléculas de glucosa, de bisulfato y de aglucona (Arriaga, 2019). En el campo, esta desintegración puede llevarse a cabo mediante la siega, el pastoreo, la congelación, el laboreo o la muerte de las raíces (Haramoto & Gallandt, 2004).

Así pues, la mirosinasa es considerada un sistema de defensa químico que se activa al daño en los tejidos de las plantas y actúa como primera barrera química para disuadir a un amplio espectro de patógenos. Los insectos que se alimentan del floema de brassicáceas adquirirán metabolitos resultantes de la degradación de glucosinolatos actúan como aleloquímicos y poseen un rango de actividad antifúngica, antibacteriana e incluso insecticida.

Dado que la mirosinasa no solo es producida por las plantas, sino también por los insectos, los hongos y las bacterias, su actividad también se puede encontrar en el suelo, permitiendo el uso de plantas que contengan glucosinolatos como una fuente viable para el control de una amplia variedad de plagas y enfermedades de los cultivos, es decir, permite el uso de estos compuestos como biofumigantes reduciendo de esta manera el uso de pesticidas y el potencial contaminante asociado. (Arriaga, 2019).

Se conocen más de 96 glucosinolatos en la familia Brassicaceae, de los cuales la mayoría son únicos para ciertas especies y géneros (Vargas *et al.*, 2013), de modo que muchas de estas plantas presentan un potencial importante para ser cultivables con el fin de obtener beneficios agronómicos y, en definitiva, económicos. Los glucosinolatos son inducidos por diversos factores, dentro de los cuales se encuentran las heridas o el ataque de patógenos, insectos y herbívoros, tal y como ya hemos visto. Pero también pueden derivarse a partir de los reguladores de crecimiento, el estrés salino, la densidad del cultivo, diversos factores ambientales o por la participación de algunas moléculas de señalización de las plantas, incluyendo el tratamiento con ácido salicílico, ácido jasmónico y metil jasmonato. Dependiendo de las condiciones de hidrólisis y del glucosinolato en particular los productos resultantes pueden tener naturalezas y actividades biocidas distintas. Los glucosinolatos son agrupados en clases según las similitudes estructurales que presentan, destacando de entre los más estudiados los alifáticos, aromáticos, heterocíclicos y metiltioalquílicos, principalmente encontrados en los cultivos pertenecientes al género Brassica (Vargas *et al.*, 2013).

## 1.7. Interacciones entre brasicáceas y plagas en el suelo.

El papel de los glucosinolatos en las interacciones entre planta-insecto y entre planta-patógeno en la parte aérea de las plantas se ha estudiado ampliamente en ecosistemas tanto naturales como gestionados. Sin embargo, se encuentran muchos menos estudios que hayan considerado las interacciones entre los glucosinolatos de raíz y los organismos del suelo (Van Dam *et al.*, 2009). Y, es por esto, por lo que este trabajo se puede entender como una puerta hacia un nuevo campo de investigación.

Según Van Dam *et al.* (2009), a través de un análisis de 74 estudios sobre glucosinolatos de raíces y brotes de 29 especies vegetales mostraron que, de manera general, las raíces poseen mayores concentraciones y una diversidad superior de glucosinolatos que los brotes. Esto puede ser debido a una serie de diferencias entre las raíces y la parte aérea de la planta, como el entorno físico y químico, el cual condiciona la composición de estas partes de la planta alterando su comportamiento para lograr cumplir funciones biológicas similares. Además, la presión ejercida por la biota del suelo resulta más persistente, de modo que las raíces se enfrentan a una mayor exposición y a una constante presión de patógenos en las comunidades del suelo.

Dado su potencial contribución a la gestión de plagas, existe un creciente interés por el cultivo de brasicáceas, tanto como cultivos de cobertura como para la producción de aceite. Además, algunos estudios de campo han confirmado la capacidad de las brasicáceas en las rotaciones para suprimir las malas hierbas, los nematodos y los patógenos fúngicos (Haramoto & Gallandt, 2004). Estas posibilidades de gestión de plagas hacen de las brasicáceas una herramienta prometedora para su uso en sistemas agronómicos y hortícolas.

Miembros de las *Brassicaceae*, como la mostaza blanca (*Sinapis alba*), la mostaza castaña (*Brassica juncea*) y la colza etíope (*Brassica carinata*), se utilizan cada vez más y se introducen como cubierta vegetal en las regiones templadas de Norteamérica. Estas especies se cultivan normalmente por sus semillas, que se cosechan para la producción de aceite, como en el caso de la canola o la colza (*Brassica napus* L.), o se utilizan para la producción de condimentos, como en el caso de la mostaza. Sin embargo, cada una de estas especies puede cultivarse como cultivo de cobertura de corta duración o, si el clima lo permite, durante el invierno (Haramoto & Gallandt, 2004).

Las mostazas, por ejemplo, suelen tener un alto contenido de glucosinolatos en la semilla, como demuestran sus sabores picantes. En cambio, la colza, tiene un contenido más bajo de glucosinolatos y ácido erúico en la semilla. Por lo tanto, existen diferencias entre las distintas



especies de brasicáceas, entre individuos de la misma especie e incluso dentro de los distintos tejidos vegetales de un mismo individuo (Haramoto & Gallandt, 2004).

Los isotiocianatos y el resto de derivados de los glucosinolatos tienen una presión de vapor relativamente alta y se dispersan por todo el suelo circundante, donde pueden afectar a los hongos patógenos del suelo, los insectos y los nematodos. Una técnica muy común y conocida es la supresión de hongos patógenos causada a partir de aplicaciones de tejidos de brasicáceas. En su inicio fue tan prometedora que un investigador acuñó el término biofumigación, en referencia a sus efectos (Haramoto & Gallandt, 2004). De un modo parecido ocurre con los nematodos, viéndose su población reducida cuando se incorporan residuos de brasicáceas al suelo.

Por otra parte, y respecto al tema que nos ocupa en este trabajo, los efectos de los glucosinolatos sobre las plagas de insectos han sido variables y se complican por las interacciones específicas de cada especie. Las plagas especializadas pueden ser atraídas por los propios glucosinolatos y los daños causados por estos especialistas tienden a aumentar con el incremento del contenido de glucosinolatos de la planta. Sin embargo, las tasas de crecimiento de los insectos generalistas y la alimentación de invertebrados y vertebrados generalistas disminuyen cuando se produce una exposición a concentraciones crecientes de glucosinolatos (Haramoto & Gallandt, 2004).

Sobre el modo de acción de los glucosinolatos se sabe poco. Los derivados de éstos ejercen una toxicidad insecticida que actúa sobre el sistema nervioso de los insectos, a través de la inhibición de la acetilcolinesterasa. La toxicidad de los isotiocianatos se ha achacado a la inactivación del grupo tiol de enzimas esenciales. El modo de acción de muchos compuestos de isotiocianato también se ha atribuido a su capacidad de alquilación de los grupos nucleófilos de biopolímeros como el ADN, por lo que tienen propiedades citotóxicas que pueden afectar a la formación de la epidermis de los espiráculos y el ganchillo en las patas delanteras de algunas orugas. Es muy probable que el efecto insecticida de estos compuestos se deba a la inhalación del producto químico por los insectos a través de sus espiráculos, y no por el contacto directo (Tsao *et al.*, 2002).

La producción de glucosinolatos se puede ver condicionada también por el efecto de diversos factores, como la nutrición mineral, la temperatura, la radiación, el pH, el agua, etc. El uso de fertilizantes, con bajo contenido de nitrógeno y alto de azufre, favorece, generalmente, un incremento en la acumulación de glucosinolatos indólicos, alifáticos y aromáticos. El someterse a una temperatura elevada, de manera relativamente prolongada, durante la etapa de crecimiento puede implicar un incremento en la concentración de glucosinolatos. Sin embargo, de forma contraria, una temperatura baja, inferior a 12°C, puede provocar que las plantas experimenten una

disminución del 29% de glucosinolatos en todos los tejidos de estas. Por lo que, la variación estacional influye de manera importante en el contenido de glucosinolatos (Vargas *et al.*, 2013).

El pH del suelo es otro factor determinante de la cantidad de glucosinolatos que hay en la planta. Se ha demostrado que la degradación de la mirosinasa es dependiente de esta variable, además se sabe que los isotiocianatos se producen bajo un pH neutro. Por su parte, el agua es otro factor influyente puesto que aquellas plantas con un riego escaso o deficiente aumentan el contenido en glucosinolatos, al someterse a un estrés hídrico (Vargas *et al.*, 2013).

La utilización de especies de brassicáceas con la posibilidad que tengan actividad biocida sobre plagas que desarrollan parte de su ciclo en el suelo, es una línea de investigación que apenas ha sido explorada. La liberación de isotiocianatos desde el tejido radicular de estas especies podría tener un efecto directo sobre la supervivencia de estas plagas. En este caso, la incorporación a una cubierta vegetal de especies de esta familia botánica con actividad biocida podría ser una nueva estrategia para reducir la presión de plagas con parte de su ciclo en el suelo.

## **2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.**

Ante el desconocimiento de las posibilidades de algunas especies de plantas pertenecientes a la familia Brassicacea con relación a su efecto en la gestión y control de plagas de cultivos, se requieren nuevos estudios y trabajos de investigación que profundicen en la posible actividad biocida que especies de esta familia podrían tener sobre plagas clave de los cítricos en la parte de su ciclo en el suelo. En base a ello, este trabajo presenta los siguientes objetivos:

- Realizar una selección de especies vegetales de la familia Brassicaceae como posibles candidatas a su uso como cubiertas biocidas para plagas de cítricos que desarrollen parte de su ciclo en el suelo del cultivo.
- Evaluar en condiciones controladas (invernadero) la capacidad y el potencial de diferentes especies de brasicáceas para desarrollar actividad biocida sobre la mosca de la fruta, reduciendo así su presencia en el cultivo.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS.**

El estudio fue realizado a lo largo de 2022, empleándose diferentes materiales para diseñar el ensayo y dando buen uso de las distintas instalaciones que el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) nos podía ofrecer, tales como laboratorios o invernaderos.

#### **3.1. Selección de especies vegetales.**

Al tratarse de un ensayo sin precedentes, se encontró con una gran escasez de información sobre este tipo de trabajos y una absoluta ausencia de un experimento similar, por lo que fue necesario una amplia revisión bibliográfica para dar con las especies que mejores resultados pudieran brindar.

Así pues, Como primera etapa, se realizó un estudio bibliográfico sobre las especies vegetales de la familia Brassicaceae más conocidas por su actividad biocida. Sobre este primer listado se elaboró una selección de distintas especies de esta familia cuya semilla se comercializa precisamente para su uso como plantas biocidas: *Brassica juncea*, *Brassica carinata*, *Raphanus sativus* y *Sinapis alba*. A estas cuatro especies se añadió *Lobularia maritima*, que no posee ningún efecto como planta biocida, pero que sí pertenece a la misma familia botánica y es comúnmente utilizada en cubiertas vegetales en nuestra citricultura. Además, al utilizar un control de suelo desnudo, es decir, sin planta, se consideró oportuno incluir un segundo control, en forma de maceta con especie vegetal sin propiedades biocidas, para evitar que la ausencia de raíces afectara de algún modo en el estudio.

Las pautas para seleccionar estas especies se basaban, mayoritariamente, en su alto contenido en glucosinolatos y su aparición en artículos y trabajos de investigación que garantizaban su funcionalidad como plantas biocidas, en comparación con otras con menos glucosinolatos y menor potencial biocida, y siendo utilizadas también en la lucha contra hongos y nematodos. Además de ser plantas conocidas y comercializadas en nuestro país, permitiéndonos esperar, de esta forma, una rápida e ideal adaptación a nuestro medio y nuestras condiciones ambientales.

#### **3.2. Preparación de plantas.**

Todas las especies seleccionadas son comercializadas por la empresa Intersemillas S.A. (figura 1) para su uso como plantas biocidas en suelos con problemas de hongos y nemátodos, exceptuando, evidentemente, a *L. maritima*.



**Figura 1.** Lotes de semillas de *Raphanus sativus*, *Brassica juncea* y *Brassica carinata*.

Las semillas se plantaron en bandejas de 104 alveolos (figura 2) el 18 de febrero permitiendo su desarrollo durante las siguientes 4 semanas en un invernadero de planta del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Tras este período de crecimiento, las plantas fueron trasplantadas a macetas con un volumen de 0.5 litros (figura 3) donde se dejaron crecer durante 8 semanas para que así su sistema radicular alcanzara el desarrollo adecuado y poder comenzar el ensayo.



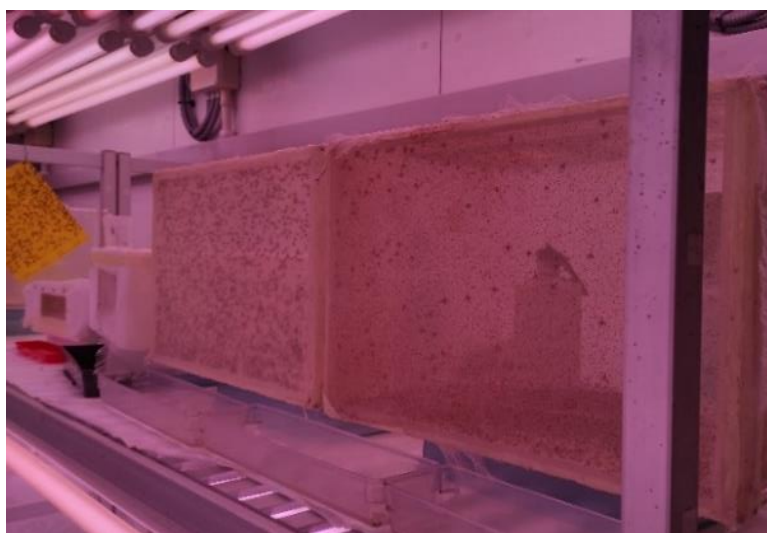
**Figura 2.** Bandeja de 104 alveolos.



**Figura 3.** Maceta con *Brassica carinata* trasplantada.

### 3.3. Preparación pupas de *Ceratitis capitata*.

El ensayo se realizó utilizando pupas de *C. capitata* provenientes de la colonia del IVIA de esta especie (figura 4). Dicha colonia se mantiene en condiciones controladas,  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  de temperatura, 60-70% de humedad relativa y fotoperiodo 14:10 h (luz:oscuridad), desde el año 2014 y es refrescada con individuos de campo procedentes de frutos infestados. El mantenimiento de la colonia se lleva a cabo según la metodología descrita por Jacas *et al.* (2008). Para obtener individuos con ciclo sincronizado, 10 días antes de iniciar los ensayos, se llevó a cabo una siembra de 6000 huevos en una bandeja de plástico que contenía un substrato de salvado de trigo y azúcar. La bandeja fue cubierta con papel de aluminio para que las larvas se desarrollasen en oscuridad y posteriormente ésta fue depositada en una cámara climática con las mismas condiciones descritas anteriormente. De este modo, se garantizaba obtener un gran número de larvas de tercer estadio a punto de pupar, las cuales se utilizarán en el ensayo.

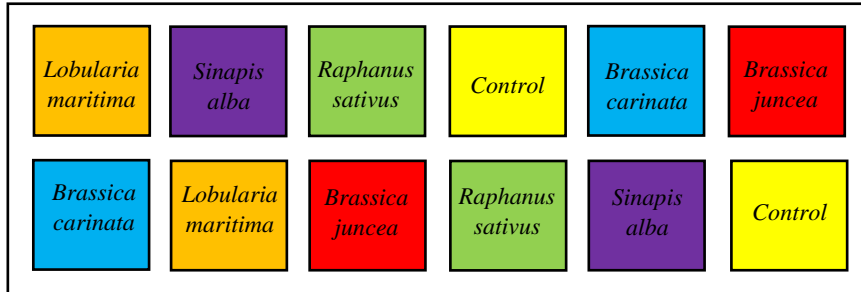


**Figura 4** Cría de *Ceratitis capitata* en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA).

### 3.4. Diseño experimental.

Mientras se garantizaba la obtención de un gran número de individuos a través de la cría de *C. capitata*, el experimento siguió adelante a partir de un diseño de bloques al azar en el que las cuatro especies vegetales con potencial biocida sumado a la otra especie sin dicho potencial, además de un control de suelo desnudo serían replicados en 4 bloques. Estos bloques quedan representados por 4 bandejas de plástico. Dentro de cada bloque o bandeja se colocaron 2 repeticiones de cada tratamiento (especie vegetal), en total 8 repeticiones por cada tratamiento.

Por tanto, en cada una de las bandejas se dispusieron 12 macetas, las cuales se encontraban repartidas de manera aleatoria dentro de la misma bandeja tal y como se puede ver representado a modo de ejemplo en la figura 5.



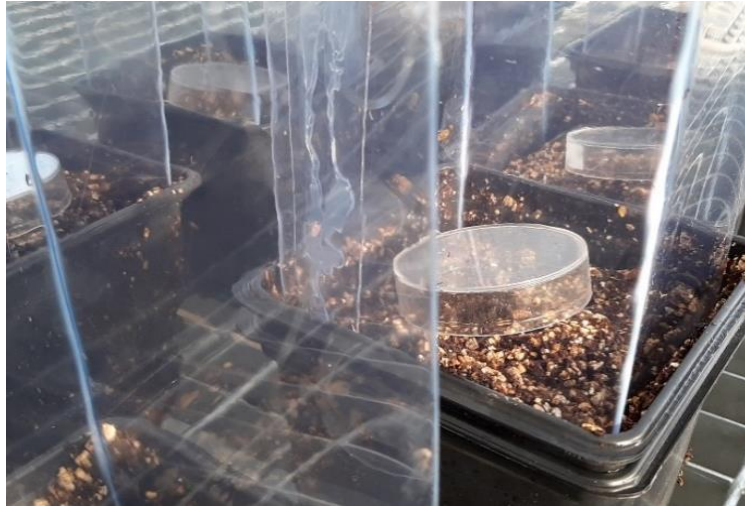
**Figura 5.** Representación hipotética de uno de los 4 bloques con los 6 tratamientos y sus 2 repeticiones por tratamiento.

Cada unidad experimental consistía en una planta trasplantada en una maceta con un volumen de 0.5 litros, sobre la que se liberaban 10 larvas de mosca de la fruta de tercer estadio a punto de pupar. Las larvas eran transferidas con extremo cuidado, una a una, desde las bandejas de cría hasta placas Petri de 5 cm de diámetro (10 larvas por placa), utilizando pinzas entomológicas blandas. Las placas eran inmediatamente cerradas para evitar que las larvas escapasen. Posteriormente, las placas Petri se depositaban sobre las macetas y se destapaban permitiendo que las larvas saltasen a la tierra de las macetas (figuras 6 y 7).



**Figura 6.** Maceta con pupas de mosca de la fruta ya colocadas.





**Figura 7.** Macetas control (suelo desnudo) con pupas de mosca de la fruta ya colocadas.

Nada más liberar las larvas, la planta era rodeada por un prisma de acetato de 35 cm de altura y 10 cm de ancho por cada lado, evitando de esta forma que las larvas de mosca saltasen y escapasen fuera de las macetas, así como los adultos tras su emergencia. El prisma únicamente quedaba abierto por su parte superior. Esta parte, se cubrió con una tela de muselina fijándola al prisma con silicona termofusible (figura 8). De este modo, se favorecía la transpiración y se evitaba la condensación. Las larvas al poco tiempo de ser liberadas se enterraban en la tierra de la maceta para pupar.



**Figura 8.** Macetas en el invernadero repartidas en bandejas (bloques) al azar.

Tras introducir las larvas y cubrir cada maceta con el acetato y la muselina, las unidades experimentales se depositaron en un invernadero de cristal con temperatura regulada durante los



próximos 7 días. Desde el día 4, el invernadero se visitó diariamente para comprobar el momento en el que comenzaba la emergencia de las moscas adultas.

Una vez emergidas, éstas quedaban confinadas dentro del prisma de acetato. Cuando ya habían emergido la mayor parte de adultos, se realizó el conteo correspondiente de estos en todas las unidades, facilitado por el acetato y la muselina, ambos materiales transparentes que permitían contabilizar el número de moscas emergidas sin necesidad de destapar la maceta y evitando así la liberación y huida de los individuos. Este conteo se realizó a simple vista y se revisó durante 4 días, para evitar no contabilizar posibles emergencias tardías y confundirlo con un aumento de la mortalidad.

Para cada una de las especies vegetales y repeticiones, se estimó la supervivencia como el número de adultos emergidos respecto al número de larvas introducidas al inicio del ensayo.

El proceso de colocación de larvas en las macetas y el conteo de adultos emergidos se realizó en dos ocasiones distintas ya que, los resultados del primer ensayo tuvieron como resultado una mortalidad excesiva en los adultos del control, lo que desvirtuaba claramente el estudio, restando fiabilidad al resto de resultados obtenidos.

Al disponer de una colonia de *C. capitata* en el IVIA, se realizó de nuevo la siembra, volviendo a contar así con un cuantioso número de larvas preparadas para pupar. Del mismo modo, y teniendo en cuenta que el ensayo podría volver a repetirse, ya fuera por necesidad o por interés científico, desde el principio del experimento se sembraron más plantas de las que hubieran sido precisas para un único ensayo, por lo que también se contaba con las plantas necesarias en estado óptimo de desarrollo para dar lugar a esta repetición, sin necesidad de desarrollar el segundo ensayo en las mismas plantas utilizadas para el primero.

### **3.5. Análisis estadístico.**

Para estudiar las diferencias entre tratamientos en el número de adultos de *C. capitata* emergidos de los suelos de las plantas elegidas se utilizó un Modelo Lineal Generalizado Mixto para ambos ensayos.

Esta clase de modelos permite modelizar distintos tipos de distribución de la variable dependiente y también diferencian entre factores fijos (aquellos cuya influencia sobre la variable dependiente es de interés para su estudio) y factores de azar (aquellos no controlados que pueden influir en la varianza de la variable dependiente). En este caso, el número de adultos emergidos fue considerado como la variable dependiente mientras que la especie vegetal ensayada fue incluida en el modelo como factor fijo. Los bloques (bandejas) fueron considerados como un factor de

azar ya que dependiendo de su localización en el invernadero pueden tener una influencia distinta sobre el ensayo, pero su efecto no es de interés en el resultado final.

Para la selección final de los modelos se utilizaron tres tipos distintos de distribución de la variable dependiente, usados frecuentemente en biología: distribución normal, distribución de Poisson y distribución binomial negativa. Para cada una de estas distribuciones se evaluó si existía sobredispersión (*overdispersion*) (relación lineal positiva entre la media y la varianza) descartándose aquellos modelos en los que aparecía. La *overdispersion* se puede identificar cuando el cociente entre la Chi-cuadrado del modelo y los grados de libertad totales es superior a 1. Después de esto, para la selección definitiva entre aquellos modelos que no presentaron *overdispersion*, se utilizó el criterio de información de Akaike. Así pues, los modelos con valores más pequeños eran considerados como los que mejor se ajustaban a nuestros datos.

En el primer ensayo, el modelo con distribución normal presentó una *overdispersion* elevada y por esta razón se descartó. Entre las otras dos distribuciones se eligió la de Poisson ya que dicho modelo presentó un valor Akaike menor.

Por otra parte, en el segundo ensayo, no se detectó *overdispersion* con ninguna de las tres distribuciones y finalmente se seleccionó la distribución normal en función del criterio de información de Akaike. Como se obtuvo un efecto significativo del factor fijo (especie vegetal) sobre la variable dependiente (emergencia de adultos), se realizó el test post hoc de Tukey para conocer las diferencias significativas existentes entre los distintos niveles del factor fijo (diferencias en supervivencia entre las distintas especies ensayadas). Los análisis se realizaron con el software libre SAS® ONDEMAND FOR ACADEMICS.

$$MODELO = n^{\circ} \text{adultos emergidos} = a \cdot \text{especie vegetal} + \alpha \cdot \text{bandeja} + \text{error}$$

Donde “a” y “ $\alpha$ ” son los parámetros que nos indican cuanto influye cada una de esas variables (especie vegetal y bandeja) sobre la variable dependiente (número de adultos emergidos). Utilizándose las letras del alfabeto latino para el factor fijo y los símbolos para el factor de azar, en este caso “a” y “ $\alpha$ ”, respectivamente.

## 4. RESULTADOS.

### 4.1. Selección de especies vegetales.

Para seleccionar las especies vegetales de la familia Brassicaceae se tuvieron en cuenta tanto el manejo más habitual, como las características más importantes de estas, las cuales quedan representadas a nivel general en las tablas 1 y 2 del Anexo I. En cuanto a las especies elegidas, sí que podemos verlas con mayor detalle a continuación y en las tablas 1 y 2.

**Tabla 1.** Uso y características a nivel general de las especies de plantas seleccionadas para el estudio: *Brassica juncea*, *B. carinata*, *Raphanus sativus*, *Sinapis alba* y *Lobularia maritima* (Vargas *et al.*, 2013; Warwick, 2011).

<i>Especies</i>	<i>Uso y características</i>
Pertenecientes al género <i>Brassica</i> : <i>B. juncea</i> , <i>B. carinata</i>	Poseen raíces, tallos, hojas, brotes, flores y semillas comestibles, los cuales son fuente de aceite e incluso algunas son ornamentales. <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Cultivadas durante siglos en Europa para obtener aceite, utilizados con fines culinarios y en lámparas.</li><li>▪ Presenta adaptaciones climáticas, en suelos nutricionalmente pobres y resistencia a varias enfermedades y plagas.</li><li>▪ En Europa se cultiva por su potencial como alimento, y en industrias de pintura, tintes, cosméticos y biocombustible. En América se cultiva a modo de prueba, por su potencial como biocombustible.</li></ul>
<i>Raphanus sativus</i>	Se obtienen raíces y vainas de semillas comestibles, para alimentar animales o como abono verde.
<i>Sinapis alba</i>	Semillas para la producción de mostaza y uso como forraje fresco y abono verde
<i>Lobularia maritima</i>	Uso popular medicinal

























Estas especies se seleccionaron por su fácil comercialización, así como, por su presencia y utilización, en nuestro país en la lucha contra nematodos y hongos. En ellas, su potencial biocida es más conocido que en el resto, igual que ocurre con su contenido en glucosinolatos. Es decir, utilizando estas plantas se esperaba obtener mejores resultados que con otras especies de la misma






familia, sobre todo por su mayor contenido en glucosinolatos, su fácil y rápida adaptación a las condiciones de la zona y su empleo ya conocido en nematodos y hongos.

Esto último queda constatado en la tabla 2, en la cual se pueden ver los resultados de una serie de ensayos llevados a cabo por la empresa Intersemillas en diferentes áreas de cultivo con el fin de controlar nematodos y hongos, así como también para reducir la lixiviación de nutrientes y agua excedente, evitar la erosión del suelo, favorecer la infiltración en suelos compactados, disminuir el desarrollo de plantas adventicias dominantes y prevenir enfermedades del suelo.

Todo ello de forma ecológica evitando el empleo de sustancias químicas, con un efecto a corto-medio plazo manteniendo un equilibrio sanitario y nutricional.

**Tabla 2.** Tabla con la reacción de las especies de plantas previamente seleccionadas para el estudio, a excepción de *Lobularia maritima* dado que carece de potencial biocida, frente a algunas plagas de nematodos y hongos (Intersemillas, 2022).

<i>Variedad</i>	<i>NEMATODOS</i>					<i>HONGOS</i>
	<i>Heterodera schachtii</i>	<i>Globodera rostochiensis</i> , <i>G. pallida</i> y <i>G. tabacum</i>	<i>Meloidogyne hapla</i>	<i>M. javanica</i>	<i>M. incognita</i>	<i>Rhizoctonia, sclerotinia, pythium</i>
<i>Brassica juncea</i>						
<i>B. carinata</i>						
<i>Raphanus sativus</i>						
<i>Sinapis alba</i>						

**Simbología:**  No idóneo  Sin acción  No testado  Recomendada  Muy recomendada

Además, para completar la selección de especies vegetales se buscó una información más concreta y sesgada en cuanto al contenido de glucosinolatos de las mismas a partir de diferentes estudios. Teniendo lugar así, un trabajo bibliográfico más amplio permitiendo seleccionar las especies previamente elegidas con una mayor seguridad dado que existían referencias y argumentos sólidos para llevarlo a cabo. Pudiendo, en definitiva, obtener mejores resultados.

Un ejemplo de ello se muestra con la información recogida por Fernández *et al.* (2015). En su artículo, se muestra una investigación en la que se analiza la producción de biomasa radical, la concentración y el perfil de glucosinolatos en las especies *B. carinata* y *B. juncea* para evitar la expansión de *Phytophthora cinnamomi* Rands en las dehesas, llegándose a la conclusión de que las raíces de estos cultivos pueden contribuir en el proceso de biofumigación, aportando cantidades considerables de biomasa que no es necesario incorporar al suelo.

En otro estudio, llevado a cabo por Baenas *et al.* (2015), se intenta inducir el metabolismo secundario de brotes de especies ricas en compuestos bioactivos, como los compuestos fenólicos y los glucosinolatos, utilizando para ello *R. sativus*. Con el objetivo de incrementar la biosíntesis de glucosinolatos, a través del elicitor metil jasmonato (MeJA) el cual es un compuesto químico que se encuentra de forma natural en los brotes como fitohormona. En este trabajo se compara a *R. sativus* con otra especie de brasicacea, *Brassica oleraceae* L. y se obtiene una gran diferencia en la cantidad de glucosinolatos, siendo muy superior en los brotes de *R. sativus* tal y como se puede ver en la tabla 3.

**Tabla 3.** Glucosinolatos totales en brotes de brócoli (*Brassica oleraceae*) y rábano (*Raphanus sativus*) (mg/100g Peso fresco) tras aplicación de tratamiento con elicitor metil jasmonato (MeJA) en diferentes concentraciones (Baenas *et al.*, 2015).

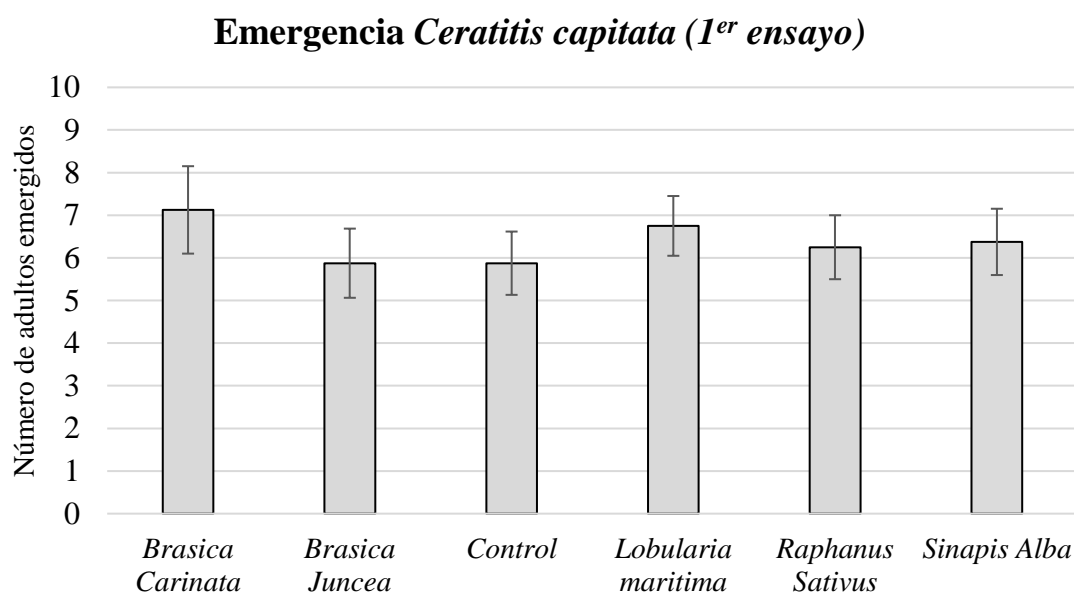
<i>Tratamiento</i>	<i>Brotes de Brassica oleraceae</i>	<i>Brotes de Raphanus sativus</i>
Control	202.06	276.63
25 $\mu$ M	284.54	413.24
50 $\mu$ M	277.53	483.57
125 $\mu$ M	270.81	405.77
250 $\mu$ M	358.70	494.19

Por último, *Sinapis alba* aparece como una especie muy utilizada y estudiada en numerosos trabajos del CSIC, entre los que destacan su investigación acerca del tratamiento de la verticilosis del olivar y de la seca de la encina (Obregón & De Haro, 2021), la posible capacidad antifúngica de los extractos de la planta, determinando si poseen efecto fungicida sobre las levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen y *Candida albicans* (Duran, 2017) o la variabilidad en su contenido en glucosinolatos cuando son cultivadas en condiciones ecológicas frente a las convencionales (Obregón *et al.*, 2021).

## 4.2. Emergencia de *Ceratitis capitata*.

### 4.2.1. Primer ensayo.

En este primer ensayo no se encontró una influencia significativa de la especie vegetal utilizada sobre el número de adultos de *C. capitata* emergidos del suelo ( $F = 0.37$ ; g.l. = 42, 5;  $P = 0.87$ ).



**Figura 9.** Número de adultos (promedio  $\pm$  error estándar) emergidos de pupas enterradas en suelos de macetas en las que crecían distintas especies de brassicáceas: *Brassica carinata*, *B. juncea*, *Lobularia maritima*, *Raphanus sativus* y *Sinapis alba*. También se incorporó un tratamiento control con suelo en el que no crecía ninguna planta.

Este ensayo fue rechazado, ya que como se puede ver en la figura 9 se encuentra una elevada mortalidad en el control (suelo desnudo), desvirtuando el resto de los datos obtenidos en las macetas con plantas:

#### **Mortalidad macetas Control (%)**

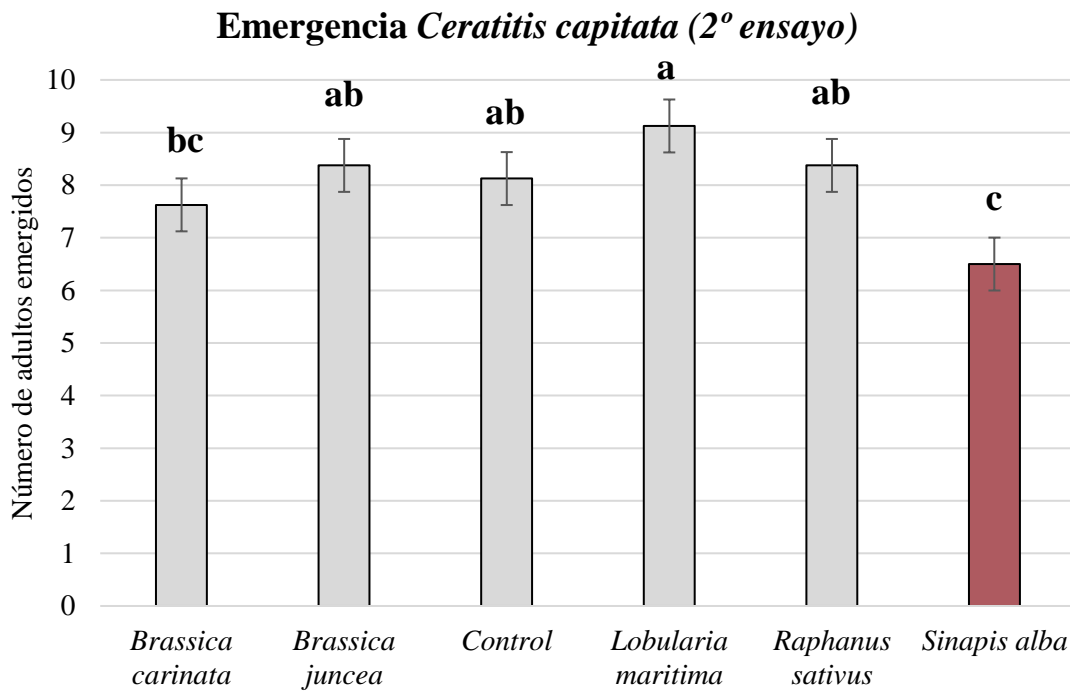
$$= \left( 1 - \left( \frac{\text{media de adultos emergidos en macetas control}}{n^{\circ} \text{ de pupas totales}} \right) \right) \times 100$$

$$\text{Mortalidad macetas Control (\%)} = \left( 1 - \left( \frac{5,88}{10} \right) \right) \times 100 = 41.2\%$$

Al encontrar una mortalidad superior al 20%, el ensayo se rechaza y se procede con su repetición, dando lugar al segundo ensayo.

#### 4.2.2. Segundo ensayo.

En el segundo ensayo, la especie vegetal utilizada tuvo una influencia significativa sobre el número de adultos de *C. capitata* emergidos del suelo de las macetas ( $F = 3.53$ ; g.l. = 39, 5;  $P = 0.01$ ).



**Figura 10.** Número de adultos (promedio ± error estándar) emergidos de pupas enterradas en suelos de macetas en las que crecían distintas especies de brassicáceas: *Brassica carinata*, *B. juncea*, *Lobularia maritima*, *Raphanus sativus* y *Sinapis alba*. También se incorporó un tratamiento control con suelo en el que no crecía ninguna planta. Para cada especie vegetal, la asignación de las mismas letras indica que no existen diferencias significativas entre ellas (Tukey,  $P < 0.05$ ).

En este ensayo, la figura 10 muestra una mortalidad más baja en el control, con lo que incrementa la validez de los datos, confirmándose con el cálculo:

#### **Mortalidad macetas Control (%)**

$$= \left( 1 - \left( \frac{\text{media de adultos emergidos en macetas control}}{n^{\circ} \text{ de pupas totales}} \right) \right) \times 100$$

$$\text{Mortalidad macetas Control (\%)} = \left( 1 - \left( \frac{8,13}{10} \right) \right) \times 100 = \mathbf{18.8\%}$$

Como  $18.8\% < 20\%$ , tenemos una mortalidad aceptable en el control, por lo que el ensayo se acepta.

Continuando con este segundo ensayo, el número de adultos emergidos de suelos de las macetas en las que crecía *S. alba* ( $6.50 \pm 0.50$  adultos) fue significativamente menor al de las macetas control (sin planta) y a la de las macetas en las que crecía *L. maritima* (figura 10). La emergencia de adultos de pupas que se encontraban en los suelos de las macetas con *B. carinata* ( $7.63 \pm 0.50$  adultos) fue también significativamente menor a la de los suelos en las que crecía *L. maritima*. En cambio, no se vieron diferencias estadísticas entre los adultos emergidos de pupas de macetas de *B. carinata* y de macetas de *S. alba*. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre la emergencia de adultos de macetas con *B. juncea*, *R. sativus* y *L. maritima*. Además, la emergencia con estas especies fue similar a la obtenida en las macetas control. En todos estos casos, emergieron un promedio de más de 8 adultos de las 10 pupas que habían enterradas por maceta.



## 5. DISCUSIÓN

Sin ningún precedente a la vista sobre este tema, permite erigir a este estudio como el primer trabajo realizado hasta la fecha, tratando de evaluar la actividad biocida de especies vegetales de la familia Brassicaceae sobre una plaga clave de insectos que desarrolla parte de su ciclo biológico en el suelo. Y es que, existe una escasez importante de información acerca de esta posibilidad y apenas algunas hipótesis sobre su éxito o fracaso.

Si que existe información ampliamente conocida acerca de la existencia de glucosinolatos y también sobre como estos actúan sobre hongos y nematodos, del mismo modo, también se conocen los efectos producidos por estos glucosinolatos sobre insectos que se alimentan y afectan a la parte aérea de la planta. Por ello, toda esta información alcanzable debe ser utilizada para profundizar sobre aquello que se desconoce y es desde aquí, desde donde debe nacer y también crecer la investigación y el trabajo acerca de la producción de glucosinolatos de la parte subterránea de la planta y del potencial de esos glucosinolatos para poder afectar a las plagas que presentan una fase de su ciclo en el suelo en estado de pupa.

La información revisada y reunida para determinar que especies dentro de la familia de las brasicáceas emplear, garantiza que estas plantas seleccionadas presentan un alto contenido en glucosinolatos (Baenas *et al.*, 2015; Intersemillas, 2022), además de un amplio historial donde se puede comprobar su beneficiosa utilización para otras investigaciones relacionadas, como las citadas anteriormente, desarrolladas por el CSIC.

En el primer ensayo de los dos realizados, se obtuvo un control con una elevada mortalidad, además, en la figura 9 se puede apreciar como el número de adultos emergidos no solo se ve reducido en el control, si no que aparece con unos valores muy similares en el resto de las macetas con las distintas plantas utilizadas, todas con una mortalidad por encima del 20%, por lo que, se decidió repetir el experimento para garantizar los resultados que se obtuvieran. Esto no ocurre en la figura 10, correspondiente al segundo ensayo. Todo ello invita a pensar que se ha podido producir algún tipo de error en el diseño experimental, encontrando el problema en diversas causas. Pudiendo deberse a un mal cerrado de la unidad de ensayo con el pegado de la muselina o con la fijación del prisma de acetato, permitiendo que las moscas adultas emergidas se escaparan, por lo que no fueran contabilizadas. También ha podido ser causado por unas condiciones del invernadero desfavorables que, por algún motivo ajeno al proyecto, pudieran haber alterado la tierra de la maceta, dejándola excesivamente seca al modificarse la temperatura y humedad del ambiente.

Por otra parte, los resultados obtenidos en el segundo ensayo sí que sugieren que la supervivencia en el suelo de pupas de *C. capitata* se ve afectada por la presencia de especies vegetales de la

familia Brassicacea. Los procesos naturales de crecimiento de las raíces de estas plantas, así como sus interacciones con el suelo podrían suponer una degradación de glucosinolatos de manera que sus subproductos afectaran al desarrollo del adulto mediante su metamorfosis en la fase de pupa (Van Dam *et al.*, 2009).

De todas las especies ensayadas, la emergencia de adultos de mosca mediterránea de la fruta fue menor en la mostaza, *S. alba*, seguida de la colza etíope (*B. carinata*). El aliso marítimo (*L. marítima*), especie a la que no se le atribuye actividad biocida, fue la que presentó una menor mortalidad en pupas, siendo está similar a la del control sin planta o suelo desnudo. Las diferencias en actividad biocida entre especies vegetales estarían justificadas, ya que los contenidos en glucosinolatos varían entre las especies vegetales de esta familia botánica (Arriaga, 2019). Además, el contenido de glucosinolatos también es dependiente de los estreses bióticos y abióticos a los que están sometidos las plantas y es por esto por lo que, cada especie vegetal puede responder de manera distinta a las condiciones de contorno sobre las que se están desarrollando (Vargas *et al.*, 2013). Según nuestros resultados, tanto *S. alba* como *B. carinata* podrían ser especies candidatas a utilizarse como biocidas en cubiertas vegetales.

Aunque en este estudio se ha encontrado un efecto significativo del tipo de especie vegetal usada sobre la supervivencia de pupas, es cierto que este efecto no ha sido muy acusado. En el mejor de los casos (*S. alba*), la supervivencia se redujo de 10 a 6.5 adultos emergidos. Aunque, con estos valores, el efecto biocida de esta especie pudiese considerarse relativamente limitado desde el punto de vista de la protección de cultivos, se ha de destacar que este ha sido un primer ensayo realizado en condiciones artificiales. Las plantas crecieron sobre macetas en invernaderos. Según la bibliografía, la síntesis de glucosinolatos se vería incrementada en condiciones de campo donde la planta está sometida a muchos más estreses tanto bióticos como abióticos, en su parte aérea, pero también en su sistema radicular (Vargas *et al.*, 2013; Arriaga, 2019). Por esta razón, sería conveniente completar estos estudios con trabajos de campo que simulen mejor las condiciones reales en el cultivo.

Por otro lado, sería interesante conocer cuáles son los glucosinolatos dominantes en las especies que presentaron mayor actividad biocida (Vargas *et al.*, 2013; Warwick, 2011). Con dicha información, se podría buscar material vegetal en el germoplasma de esta familia botánica que contenga un mayor contenido de aquellos glucosinolatos que mostraron una mayor actividad.

Nuestra citricultura presenta además otros dos grupos de plagas de mucha importancia económica que también desarrollan parte de su ciclo en el suelo, los trips y los pseudocóccidos. Sería por lo tanto interesante completar los estudios evaluando la actividad biocida de brasicáceas sobre estos otros dos grupos de plagas clave.

La mayoría de brasicáceas presentan un ciclo de crecimiento durante el invierno en climas mediterráneos. Tanto moscas de la fruta, como trips y pseudocóccidos pueden hibernar en el suelo hasta que suban las temperaturas. En este sentido, la utilización de brasicáceas como cubiertas de invierno que al inicio de la primavera se trituran e incorporan al suelo podría plantearse como una estrategia para reducir la presión de estas plagas, posteriormente durante el periodo de crecimiento del cultivo.

En conclusión, el uso de cubiertas vegetales con representantes de la familia Brassicaceae, que tengan elevados contenidos en glucosinolatos, se nos presenta como una nueva estrategia de gestión de plagas, sostenible, basada en la gestión de recursos naturales y en consonancia con las nuevas políticas Comunitarias de la Estrategia ‘de la Granja a la Mesa’. Futuros estudios permitirán corroborar la viabilidad de esta aproximación y seleccionar nuevas especies o variedades que puedan ofrecer una mayor actividad biocida sobre plagas clave que desarrollen parte de su ciclo biológico en el suelo del cultivo.

## 6. CONCLUSIONES

- La utilización de determinadas plantas pertenecientes a la familia Brassicaceae con actividad biocida podría incrementar la mortalidad de pupas de mosca de la fruta.
- La capacidad biocida varía según la especie de Brassicaceae utilizada. Siendo, bajo esta premisa, especialmente *Sinapis alba*, pero también *Brassica carinata* las principales especies candidatas a ser utilizadas para esta función.
- Esta es la primera evaluación de la actividad biocida con artrópodos plaga del suelo de especies vegetales con posibilidad de poder utilizarse en una cubierta vegetal. En este sentido, este estudio abre una nueva línea de trabajo para el control de plagas mediante la gestión de los recursos naturales.
- El uso de cubiertas vegetales con este tipo de especies podría ayudar a reducir la presión de las 3 principales plagas clave que existen actualmente en el cultivo de los cítricos y que producen numerosas pérdidas económicas en la citricultura, aportando un importante beneficio a dicho cultivo.
- El control se realiza en la fase de suelo, lo que contribuye a una menor presión de insecticidas en la parte foliar aumentando la sostenibilidad del cultivo.

### **Perspectivas de futuro.**

- Los resultados obtenidos son preliminares, por lo que se deben complementar con otros ensayos similares no solo con mosca de la fruta, sino también con otras plagas clave como trips y cotonets.
- Sería conveniente complementar estos estudios en situaciones reales de campo (en parcelas de cítricos), que representen mejor las condiciones reales de cultivo.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

ARRIAGA MADRID, D. A. (2019). Producción de glucosinolatos en mostaza blanca (*Sinapis alba* L.) con factores modificadores de metabolismo en invernadero. Trabajo de Fin de Grado. Universidad Autónoma de Querétaro.

BAENAS, N.; VILLANO, D.; GARCÍA, C. & MORENO, D. A. (2015). Efecto del elicitador metil jasmonato en la concentración de glucosinolatos en brotes de brócoli (*Brassica oleracea* var. Itálica) y rábano (*Raphanus sativus* cv. Rambo). Laboratorio de Fitoquímica, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC.

BENITO SÁEZ, M. (2017). Observaciones sobre diversos aspectos de la biología de *Delottococcus aberiae* De Lotto (Hemiptera:Pseudococcidae). Tesis de Máster, Universidad Politécnica de Valencia.

BOUVET, J.P. (2018). Revalorización del complejo de depredadores polífagos asociado al cultivo de los cítricos, como agente de control biológico de plagas clave. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

BOUVET, J. P.; URBANEJA, A. & MONZÓ, C. (2019). Life history traits of the coccinellids *Scymnus subvillosus* and *S. interruptus* on their prey *Aphis spiraecola* and *A. gossypii*: Implications for biological control of aphids in clementine citrus. *Biological Control*, 132, 49-56.

BOUVET, J. P.; URBANEJA, A. & MONZÓ, C. (2021). Aphid predators in citrus crops: the least voracious predators are the most effective. *Journal of Pest Science*, 94: 321-333.

DURAN, M. (2017). Determinación de la capacidad antifúngica de extractos totales de *Sinapis alba* L. por el método de placas y pozos. Trabajo de Fin de Grado. Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.

European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) Global Database (2023). Tephritidae, visto el 4 de enero de 2023 <https://gd.eppo.int/taxon/1TEPHF>

FERNÁNDEZ, M. P.; CARBONERO, M. D.; LEAL, J. R.; GARCÍA, A. M.; RÍOS, P.; SÁNCHEZ, M. E.; OBREGÓN, S. & DE HARO, A. (2015). Producción, concentración y perfil de glucosinolatos de *Brassica carinata* y *Brassica juncea* cultivadas en la dehesa. *Pastos y Forrajes en el siglo XXI*: 193-200.

GARCÍA MARÍ, F. (2003). La mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata*). *Vida Rural*, (177): 44-48.

GARCÍA SANSÓN, E. (2017). La importancia de la actividad biológica del suelo en la regulación de las poblaciones de *Ceratitis capitata*. Tesis doctoral, Universidad de Extremadura.

GESTIÓN INTEGRADA DE PLAGAS Y ENFERMEDADES (GIP CÍTRICOS) (2023). Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, visto el 8 de enero de 2023 [www.gipcitricos.ivia.es](http://www.gipcitricos.ivia.es)

HARAMOTO, E. R. & GALLANDT, E. R. (2004). Brassica cover cropping for weed management: A review. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 19(4): 187-198.

INTERSEMILLAS (2022). Cubiertas para agricultura. Cubiertas vegetales: 28-32, visto el 16 de enero de 2023 [https://www.intersemillas.es/wp-content/uploads/2022/10/Catalogo\\_CUBIERTAS-VEGETALES.pdf](https://www.intersemillas.es/wp-content/uploads/2022/10/Catalogo_CUBIERTAS-VEGETALES.pdf)

JACAS, J. A.; PALAU, L.; BEITIA, F. J. & DEL RÍO, M. A. (2008). Controlled in vivo infestation of mandarin fruit with "*Ceratitis capitata*" for development of quarantine treatments. *Spanish journal of agricultural research* (3): 434-440.

LIFE VIDA FOR CITRUS (2023). *LIFE 18CCA/ES/001109*, visto el 8 de enero de 2023 <https://lifevidaforcitrus.eu/>

MONZÓ, C., & URBANEJA, A. (2020). Diseño y utilización de cubiertas vegetales en el control biológico por conservación en cítricos. *Horticultura*, 2(347): 20-23.

MONZÓ, C.; MOCKFORD, A.; TENA, A. & URBANEJA, A. (2020). Cubiertas vegetales como estrategia de gestión de plagas en cítricos. *Agricultura*, (1037): 40-44.

MONZÓ, C.; MOLLÁ, O.; VANACLOCHA, P.; MONTÓN, H.; MELIC, A.; CASTAÑERA, P. & URBANEJA, A. (2011a). Citrus-orchard ground harbours a diverse, well-established and abundant ground-dwelling spider fauna. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(2): 606-616.

MONZÓ, C.; SABATER, B.; URBANEJA, A. & CASTAÑERA, P. (2010). Tracking medfly predation by the wolf spider, *Pardosa cribata* Simon, in citrus orchards using PCR-based gut-content analysis. *Bulletin of Entomological Research*, 100(2): 145-152.

MONZÓ, C.; SABATER, B.; URBANEJA, A. & CASTAÑERA, P. (2011b). The ground beetle *Pesudophonus rufipes* revealed as predator of *Ceratitis capitata* in citrus orchards. *Biological Control*, 56(1): 17-21.

MONZÓ, C.; TENA, A.; URBANEJA, A. & VICENT, A. (2021). Gestión de plagas y enfermedades fúngicas de cítricos en el actual contexto De la Granja a la Mesa. *Vida Rural*, (509): 52-59.

NAVARRO, C.; PASTOR, M. T.; FERRAGUT, F. & GARCÍA-MARÍ, F. (2008). Trips (Thysanoptera) asociados a parcelas de cítricos en la Comunidad Valenciana: abundancia, evolución estacional y distribución espacial. *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas*, 34: 53-64.

NAVARRO, C.; PEKAS, A.; MORAZA, M. L.; AGUILAR, A. & GARCÍA-MARÍ, F. (2012). Soil-dwelling predatory mites in citrus: Their potential as natural enemies of thrips with special reference to *Pezothrips kellyanus* (Thysanoptera: Thripidae). *Biological Control*, 63(2): 201-209.

OBREGÓN, S. & DE HARO, A. (2021). Análisis rápido y no destructivo del contenido en glucosinolatos de las semillas de *Sinapis alba*. *Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*: 136.

OBREGÓN, S.; CÁMARA, F.; CARTEA, M. E. & DE HARO, A. (2021). Variabilidad en el perfil y contenido en glucosinolatos de *Brassica rapa* y *Sinapis alba* cultivadas en condiciones ecológicas y convencionales en el Sur de España. *Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*: 126.

PONS, J. P.; MARTÍNEZ, M. T.; PASTOR, J.; BARCELÓ, F. & FIBLA, J. M. (2000). Establecimiento de cubiertas vegetales en parcelas de producción integrada de cítricos. *Fruticultura profesional* (112): 67-72.

ROS AMADOR J. P. (1988). La mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitis capitata* Wied. *Biología y métodos de control*. Hojas divulgadoras Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, (8/88)

TSAO, R.; PETERSON, C. J. & COATS, J. R. (2002). Glucosinolate Breakdown products as insect fumigants and their effect on carbon dioxide emission of insects. *BMC Ecology*, 2: 1-7.

URBANEJA, A.; TENA, A.; JACAS, J. A. & MONZÓ, C. (2015). IPM in Spanish citrus: current status of biological control. *Acta Horticulture*, 1065: 1075-1082.

VARGAS, C.; SÁNCHEZ, G. & JIMÉNEZ, P. (2013). La producción de metabolitos secundarios en la familia Brassicaceae. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 9(2): 282-305.

VAN DAM, N. M.; TYTGAT, T. & KIRKEGAARD, J. A. (2009). Root and shoot glucosinolates: A comparison of their diversity, function and interactions in natural and managed ecosystems. *Phytochemistry Reviews*, 8(1): 171-186.

WARWICK, S. I. (2011). Brassicaceae in agriculture. *Genetics and Genomics of the Brassicaceae*, 9: 33-65.

## ANEXO I

**Tabla 1.** Descripción de uso y características de especies vegetales dentro de la familia Brassicaceae. De entre las cuales (**en negrita**) aparecen las seleccionadas para desarrollar este trabajo: *Brassica juncea*, *B. carinata*, *Raphanus sativus*, *Sinapis alba* y *Lobularia maritima* (Vargas *et al.*, 2013; Warwick, 2011).

<i>Especies</i>	<i>Uso y características</i>
<p>35 especies del género <i>Brassica</i>.</p> <p>Ejemplos:</p> <p><i>B. nigra</i>, <b><i>B. juncea</i></b>,  <b><i>B. carinata</i></b>, <i>B. rapa</i>,  <i>B. napus</i> y <i>B. oleraceae</i>.</p> <p><i>Camelina sativa</i></p>	<p>Poseen raíces, tallos, hojas, brotes, flores y semillas comestibles, los cuales son fuente de aceite e incluso algunas son ornamentales.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Cultivadas durante siglos en Europa para obtener aceite, utilizados con fines culinarios y en lámparas.</li> <li>▪ Presenta adaptaciones climáticas, en suelos nutricionalmente pobres y resistencia a varias enfermedades y plagas.</li> <li>▪ En Europa se cultiva por su potencial como alimento, y en industrias de pintura, tintes, cosméticos y biocombustible. En América se cultiva a modo de prueba, por su potencial como biocombustible.</li> </ul>
<i>Crambe abyssinica</i>	Obtención de aceites a partir de las semillas, fabricación de lubricantes (eurocamida) y nylon.
<i>Eruca sativa</i>	Uso como ensalada fresca o como verdura cocida. Del prensado de su semilla se obtiene un aceite con usos cosméticos, lubricante y medicinal.
<b><i>Raphanus sativus</i></b>	Se obtienen raíces y vainas de semillas comestibles, para alimentar animales o como abono verde.
<b><i>Sinapis alba</i></b>	Semillas para la producción de mostaza y uso como forraje fresco y abono verde
<i>Lunaria annua</i>	Usos ornamentales, contiene entre 30-40% de aceite, 44% de ácido erúcico y 23% de ácido mervónico



**Tabla 2.** Continuación Tabla 2 (Vargas *et al.*, 2013; Warwick, 2011).

<i>Lesquerella fendleri</i>	Se puede cultivar con facilidad en las tierras áridas de América del Norte para la obtención de aceites.
<i>Lepidium sativum</i>	Propiedades saludables de los alimentos medicinales y funcionales.
<i>Brassica fruticulosa</i> (silvestre)	Estudiada por su diversificación vegetal en las regiones mediterráneas.
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (Europa y Asia)	Uso popular medicinal
<i>Cochlearia arctica</i> y <i>C. officinalis</i> (Europa)	
<i>Coningia orientalis</i> (Europa)	
<i>Descurainia sophia</i> (Afganistán, China)	
<i>Erysimum cheiri</i> y <i>E. diffusum</i> (India, Irak, Rusia)	
<i>Hesperis matronalis</i> (Europa)	
<i>Lepidium meyenii</i> (América del Sur)	
<i>Lobularia maritima</i> (India)	
<i>Rorippa indica</i> (China, Vietnam)	
<i>Matthiola incana</i>	