

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**FACULTAD CIENCIAS**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**



**EFEECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL DESARROLLO,  
LONGEVIDAD Y FECUNDIDAD DE *Chrysocharis flacilla* Walker  
(HYM.: EULOPHIDAE) PARASITOIDE DE *Liriomyza huidobrensis*  
Blanchard (DIP.: AGROMYZIDAE), “MOSCA MINADORA DE  
LA PAPA”**

Tesis para optar el Título de:

**BIÓLOGO**

**MARÍA LUCERO RAMÍREZ CALDERÓN**

LIMA - PERU

2008

## INDICE

<b>CAPITULO I</b>	
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>1</b>
<b>CAPITULO II</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Aspectos generales de la mosca minadora <i>Liriomyza huidobrensis</i></b>	<b>4</b>
<b>2.1.1. Clasificación taxonómica</b>	<b>5</b>
<b>2.1.2. Ciclo biológico</b>	<b>6</b>
<b>2.1.3. Hospederos</b>	<b>8</b>
<b>2.1.4. Daños e importancia económica</b>	<b>9</b>
<b>2.1.5. Métodos de control</b>	<b>10</b>
<b>2.1.5.1. Control biológico de moscas minadoras</b>	<b>12</b>
<b>2.2. Aspectos generales del parasitoide <i>C. flacilla</i></b>	<b>14</b>
<b>2.2.1. Determinación taxonómica</b>	<b>14</b>
<b>2.2.2. Descripción</b>	<b>16</b>
<b>2.2.3. Origen, áreas de distribución y rango de hospederos</b>	<b>16</b>
<b>2.2.4. Ciclo biológico</b>	<b>18</b>
<b>2.2.5. Importancia de <i>C. flacilla</i> dentro del complejo de parasitoides de <i>L. huidobrensis</i></b>	<b>19</b>
<b>2.3. Efecto de la temperatura en el desarrollo del parasitoide</b>	<b>21</b>
<b>CAPITULO III</b>	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>23</b>

<b>3.1. Materiales</b>	<b>23</b>
<b>3.2. Métodos</b>	<b>25</b>
<b>3.2.1. Establecimiento de la crianza del hospedero</b>	
<i>L. huidobrensis</i>	<b>25</b>
<b>3.2.2. Establecimiento de la crianza del parasitoide</b>	<b>26</b>
<b>3.2.3. Efecto de la temperatura en el parasitoide</b>	<b>27</b>
<b>3.2.3.1. Morfología y tiempo de desarrollo de los estados inmaduros de <i>C. flacilla</i></b>	<b>27</b>
<b>3.2.3.2. Longevidad del adulto, capacidad de reproducción y proporción sexual de <i>C. flacilla</i></b>	<b>28</b>
<b>3.2.4. Análisis estadístico</b>	<b>30</b>
<b>CAPITULO IV</b>	
<b>RESULTADOS</b>	<b>32</b>
<b>4.1. Morfología de los estados de desarrollo de <i>C. flacilla</i></b>	<b>32</b>
<b>4.1.1. Huevo</b>	<b>32</b>
<b>4.1.2. Estadios Larvales</b>	<b>34</b>
<b>4.1.2.1. Primer Estadio Larval</b>	<b>34</b>
<b>4.1.2.2. Segundo Estadio Larval</b>	<b>37</b>
<b>4.1.2.3. Tercer Estadio Larval</b>	<b>39</b>
<b>4.1.1.3. Pupa</b>	<b>41</b>
<b>4.1.1.4 Adulto</b>	<b>43</b>
<b>4.2. Efecto de la temperatura en el desarrollo de los estados inmaduros de <i>C. flacilla</i></b>	<b>46</b>
<b>4.2.1. Ciclo de Desarrollo de <i>C. flacilla</i></b>	<b>46</b>
<b>4.2.2. Desarrollo del Huevo</b>	<b>53</b>
<b>4.2.3. Desarrollo de la Larva</b>	<b>56</b>

4.2.4. Desarrollo de la Pupa	60
4.3. Efecto de la temperatura en el adulto de <i>C. flacilla</i>	63
4.3.1. Longevidad de adultos de <i>C. flacilla</i>	64
4.3.1.1. Longevidad de adultos Hembra de <i>C. flacilla</i>	65
4.3.1.2. Longevidad de adultos Macho de <i>C. flacilla</i>	68
4.3.2. Capacidad de reproducción y proporción sexual de <i>C. flacilla</i>	70
4.3.3. Observaciones sobre el comportamiento de <i>C. flacilla</i>	77
4.3.3.1. Emergencia de los Adultos	77
4.3.3.2. Comportamiento de Apareo	78
4.3.3.3. Comportamiento de Oviposición	78
4.3.3.4. Partenogenesis	79
4.3.3.5. Comportamiento Diapausal	80
CAPITULO V	
DISCUSIÓN	81
5.1. Morfología de los estados de desarrollo de <i>C. flacilla</i>	81
5.2. Efecto de la temperatura en el desarrollo de los estados inmaduros de <i>C. flacilla</i>	82
5.3. Efecto de la temperatura en el adulto de <i>C. flacilla</i>	85
5.4. Temperatura en las zonas de distribución de <i>C. flacilla</i>	88
CAPITULO VI	
CONCLUSIONES	89
6.1. Morfología de los estados de desarrollo de <i>C. flacilla</i>	89

<b>6.2. Efecto de la temperatura en el desarrollo de los estados inmaduros de <i>C. flacilla</i></b>	<b>89</b>
<b>6.3. Efecto de la temperatura en el adulto de <i>C. flacilla</i></b>	<b>90</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>93</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>94</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>107</b>

## CAPITULO I

### JUSTIFICACIÓN

*Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Díptera: Agromyzidae) se presenta alrededor del mundo y es plaga de importancia económica en muchos cultivos agrícolas (Spencer, 1973; Parrella, 1987; Kaspi y Parrella, 2005). El control químico de las moscas minadoras es difícil, en parte porque las larvas se encuentran dentro de la hoja y también debido a que esta plaga ha desarrollado niveles significativos de resistencia a los insecticidas comúnmente utilizados para controlar larvas y adultos, por ejemplo hidrocarburos clorados, órgano fosforados, carbamatos, y piretroides (Parrella *et al.*, 1983; Parrella *et al.*, 1984; Minkenberg y Van Lenteren, 1986; Parrella, 1987; Parrella y Trumble, 1989; Minkenberg, 1990; MacDonald, 1991). El desarrollo de métodos alternativos a los insecticidas es una necesidad urgente para mantener la viabilidad económica de la producción en los cultivos. Una de las mejores alternativas a los insecticidas es el uso de agentes de control biológico en el manejo de minadores (Johnson, 1993).

Los parasitoides son enemigos naturales que tienen el potencial de controlar poblaciones de otros artrópodos (La Salle y Gauld, 1993). *Chrysocharis flacilla* (Walker) (Hymenóptera: Eulophidae) es reportada como una especie importante dentro del complejo de parasitoides de mosca minadora *L. huidobrensis* en la región

neotropical (Redolfi *et al.*, 1987; Salvo y Valladares, 1995; 1998; 1999; Murphy y LaSalle, 1999; Salvo *et al.*, 2005). En el Perú *C. flacilla* constituyó el 19.5% del total de parasitoides recuperados y fue más abundante en la estación de otoño (38.9%) (Mujica *et al.*, 2007).

La temperatura es un factor abiótico crítico que afecta el desarrollo e influye en la dinámica de los insectos. La temperatura fija los límites de las actividades biológicas de los artrópodos, de tal manera que los parámetros de óptima temperatura y de temperatura máxima y mínima deben ser estimados para calcular todos los principales procesos de vida. Los requerimientos térmicos pueden variar entre especies, etapas de desarrollo y en relación a otros factores como fuente alimenticia (Gilbert y Raworth, 1996; Roy *et al.*, 2002). La estimación de los umbrales de temperatura máxima y mínima para el desarrollo de los enemigos naturales puede contribuir substancialmente a la selección del enemigo natural más adecuado para ser usado para el control biológico a diferentes condiciones ambientales (Ozawa *et al.*, 2001; Fathipour *et al.*, 2006).

La información básica de la biología de *C. flacilla* y de cómo la temperatura la afecta, es deficiente. Dicha información es necesaria para la utilización apropiada de esta especie en los programas de control biológico en mosca minadora. Por consiguiente es necesario realizar estudios de *C. flacilla* con la finalidad de conocer aspectos de su biología a distintos regimenes de temperatura.

La presente investigación tuvo como fin establecer el efecto de la temperatura sobre algunos aspectos de la biología de *Chrysocharis flacilla* (Hym.: Eulophidae), parasitoide de *Liriomyza huidobrensis* (Dip.: Agromyzidae)

Los objetivos que se tuvieron en cuenta para ello fueron:

- Determinar la morfología de estados inmaduros de *C. flacilla*.
- Determinar el efecto de la temperatura en el desarrollo del parasitoide *C. flacilla* (ciclo de desarrollo, longevidad, fecundidad y proporción sexual)
- Determinar el comportamiento de los adultos de *C. flacilla*.



## CAPITULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. Aspectos generales de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis*

El genero *Liriomyza* contiene más de 300 especies que están ampliamente distribuidas en el Nuevo y Viejo Mundo, pero sin embargo, mayormente ocurren en regiones más cálidas (Parrella, 1987). Las diferentes especies de mosca minadora atacan a varios cultivos vegetales y plantas ornamentales. Los adultos producen picaduras al alimentarse y ovipositar. Las larvas minan las hojas de las plantas reduciendo su actividad fotosintética; finalmente, las hojas se desecan y la planta queda defoliada (Parrella *et al.*, 1985; 1987).

La mosca minadora *Liriomyza huidobrensis*, es una plaga nativa del neotrópico que se distribuyó hasta la década de 1980 desde California hasta Chile, más abundantemente en la costa oeste del continente americano pero también había sido reportada en Brasil. Hoy en día esta especie es citada como una plaga invasora en varias regiones de África, Europa y Asia (Spencer, 1973; 1989; Murphy y La Salle, 1999). La Organización Europea y Mediterránea para la Protección de Plantas (EPPO) (2007) registra a *L. huidobrensis* como presente en casi todo el globo (Mapa 1), a excepción de Dinamarca, Estonia, Irlanda, Eslovenia, Suecia, Irlanda Norte,

Escocia, Japón, Kenia, México, Florida, UTA, Virginia y Australia; lugares donde se encuentra como ausente o erradicada. La amplia distribución geográfica de los minadores puede ser atribuida a varios factores incluyendo: resistencia a los insecticidas, su carácter polífago, incremento en los monocultivos hortícolas, incremento en el comercio hortícola entre países, la falta de cuarentena internacional, y su resistencia al frío (Murphy y LaSalle, 1999; Zhao y Kang, 2000; Chen y Kang, 2002; Chan y Kang, 2004).

#### **2.1.1. Clasificación taxonómica**

EPPO (2007) reconoce como sinónimos de *L. huidobrensis* a: *Agromyza huidobrensis* Blanchard, *Liriomyza cucumifoliae* Blanchard, *Liriomyza langei* Frick, *Liriomyza dianthi* Frick.

*Liriomyza huidobrensis* se clasifica de la siguiente manera (Spencer, 1991):

**Phyllum** Artropoda

**Subphyllum** Mandibulata

**Clase** Insecta

**Orden** Díptera

**Suborden** Cyclorapharra

**División** Schizophora

**Seccion** Acaliptrate

**Superfamilia** Opomyzoidea

**Familia** Agromyzidae

**Subfamilia** Phytomyzinae

**Genero** *Liriomyza*

**Especie** *huidobrensis*

Blanchard

### **2.1.2. Ciclo biológico**

La biología de *L. huidobrensis* esta descrita según datos generales de otros Agromyzidae (Parrella *et al.*, 1981). Su ciclo de vida consta de cuatro estados de desarrollo huevo, larva, pupa y adulto.

Huevo: Levemente arriñonado, blanquecino y translucido mide 0.28mm x 0.15mm. Se depositan en la superficie adaxial y abaxial de la hoja por separado pero generalmente en áreas cercanas. El periodo de desarrollo del huevo es de 2 a 8 días dependiendo de la temperatura (Parrella, 1987; Lizárraga, 1990; EPPO, 2007).

Larva: Vermiforme de color blanquecino cremoso. Comienza su alimentación del mesófilo esponjoso de la hoja inmediatamente luego de la eclosión y lo hace sin parar hasta su emergencia de la hoja. Se mueve por acción peristáltica del esqueleto hidrostático. Existen tres estadios larvales diferenciados por sus ganchos cefálicos o por el grosor de la mina. El primer estadio larval no tiene una cabeza diferenciada mide 3.25 mm de largo, es incoloro, se vuelve amarillo o anaranjado pálido. Los estadios posteriores son amarillo- anaranjado. La duración del desarrollo larval también varía con la temperatura y la planta hospedera, pero en general dura de 4 a 7 días a una temperatura promedio de 24°C (Parrella, 1987; Lizárraga, 1990).

Pupa: El puparium es oval, ligeramente alisada en la parte ventral. Mide 1.3 a 2.3 mm largo y 0.5 a 0.75 ancho (Parrella, 1987; Lizárraga, 1990). La pupación es afectada negativamente por humedad elevada y por la resequeidad (EPPO, 2007). La pupa es coartada, transversalmente segmentada. En el extremo posterior sobresalen los espiráculos. La coloración varía de amarillo a café oscuro.

Adultos: Los adultos son de color negro con el escutelo frente, genas, patas de color amarillo y cuerpo compacto. Las hembras son ligeramente más grandes que los machos, 2.3 mm y 1.8 mm de largo respectivamente (Lizárraga, 1990). El ancho de cuerpo de ala a ala varía entre 1.3 a 2.3 mm. Los adulto emergen 7 a 14 días después de la pupación, a temperaturas entre 20°C y 30°C. Los machos emergen antes que las hembras. El apareamiento ocurre después de 24 horas de la emergencia y una sola cópula es necesaria para fertilizar todos los huevos. La hembra perfora la hoja con su ovipositor haciendo puncturas de las cuales se alimenta tanto el macho como la hembra (puncturas de alimentación) o se depositan los huevos (puncturas de oviposición). El número de huevos ovipuestos varía con la temperatura y la planta hospedera.

### **2.1.3. Hospederos**

Rauf *et al.* (2000) menciona a 45 especies de plantas hospederas de *L. huidobrensis* dispuestas en trece familias, Brassicaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Liliaceae, Umbelliferae, Asteraceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae, Convolvulaceae, Basellaceae, y Lamiaceae.

EPPO (2007) reporta a catorce familias como hospederas de *L. huidobrensis*, entre las cuales destacan a las especies: *Amaranthus* spp., *Aster* spp., *Solanum melongena* (L.), *Beta vulgaris* (L.), *Capsicum annuum* (L.), *Apium graveolens* (L.),

*Dendranthema morifolium* (L.), *Cucumis sativus* (L.), *Dahlia* spp., *Dianthus* spp., *Vicia faba* (L.), *Allium sativum* (L.), *Gypsophila* spp., *Cannabis sativa* (L.), *Lathyrus* spp., *Lactuca sativa* (L.), *Medicago sativa* (L.), *Cucumis melo* (L.), *Allium cepa* (L.), *Pisum sativum* (L.), *Phaseolus vulgaris* (L.), *Solanum tuberosum* (L.), *Primula* spp., *Raphanus sativus* (L.), *Spinacia oleracea* (L.), *Lycopersicon esculentum* (M.), *Tropaeolum* spp., *Verbena* spp. y *Zinnia* spp.

#### **2.1.4. Daños e importancia económica**

El mayor daño que produce *L. huidobrensis* es causado por la larva que se alimenta en su camino dentro del mesófilo de la planta hospedera, y por el comportamiento de alimentación de la hembra (punturas la hoja con su ovipositor, y alimentándose de la sabia de la hoja). La habilidad fotosintética de las plantas es reducida pues las células que contienen la clorofila son destruidas. Las hojas se secan y caen dejando los tallos descubiertos y los frutos escaldados. Además, las moscas hembras transmiten fitopatógenos durante la oviposición (Johnson *et al.*, 1980; Parrella *et al.*, 1983; Minkenberg y Helderma, 1990).

Desde hace más de tres décadas es considerada la plaga más dañina de la papa en los valles costeros del Perú donde puede causar reducciones de la producción mayores al 50%, obligando a los productores a realizar aplicaciones continuas de insecticidas (8 a 13) por campaña (un promedio de \$600/ha). Además las frecuentes

aplicaciones generan brotes de otras plagas como “ácaros blancos” *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) y “mosquilla del brote” *Prodiplosis longifila* (Gagne) (Carmona, 2002; Mujica y Cisneros, 1997).

El control químico de las moscas minadoras es difícil, en parte porque las larvas se desarrollan dentro de la hoja. Los minadores han desarrollado niveles significativos de resistencia a los insecticidas comúnmente usados incluyendo los hidrocarburos clorados, órgano fosforados, carbamatos, y piretroides. El desarrollo de resistencia y el fracaso de los insecticidas disponibles comercialmente han estimulado la búsqueda de métodos alternativos de control de estas especies (Parrella *et al.*, 1983; Parrella *et al.*, 1984; Minkenberg y Van Lenteren, 1986; Parrella, 1987; Parrella y Trumble, 1989; Minkenberg, 1990; MacDonald, 1991). La resurgencia de plagas que incluyen especies de *Liriomyza* han sido reportados en todos los agroecosistemas del mundo, principalmente debido al uso indiscriminado de insecticidas incompatibles con la actividad de los parasitoides (Johnson, 1993; Saito *et al.*, 1996).

#### **2.1.5. Métodos de control**

En general, se acepta que el control de una plaga consiste en mantener la densidad de su población debajo del nivel en el cual comienza a causar perjuicio económico. El control de plagas se entiende como todo sistema natural o artificial que

da como resultado la prevención, represión, contención, destrucción o exclusión de una plaga. La implementación de las estrategias del control de plagas requiere la utilización de diversos métodos o técnicas de control: control mecánico, control físico, control cultural, control biológico, control químico, control etológico, control genético, control legal, y control integrado o Manejo Integrado de Plagas (MIP) (Cisneros, 1995).

El control de plagas convencional estaba ampliamente dominado por el control químico, por ello, el MIP se inició como una respuesta a las deficiencias y complicaciones del uso de pesticidas en la protección de los cultivos (desarrollo de resistencia, costos de aplicación, contaminación residual, entre otros). El MIP es un sistema integrado que utiliza preferentemente los factores naturales adversos al desarrollo de las plagas (estableciendo los niveles de las plagas y sus enemigos naturales, y los límites de infestación que pueden tolerar los cultivos); y sólo recurre al uso de pesticidas como medida de emergencia. La introducción y protección de enemigos naturales es una de las principales técnicas de este sistema para restaurar el balance natural en la producción (Cisneros, 1995; Cisneros *et al*, 1995).

La ineficiencia y uso indiscriminado de insecticidas para el control de *Liriomyza* provocó el desarrollo de métodos alternativos a los insecticidas, como una necesidad urgente para mantener la viabilidad económica de la producción de los



cultivos hortícolas. Una de las mejores alternativas a los insecticidas es el uso de agentes de control biológico en el manejo de minadores (Johnson, 1993).

#### **2.1.5.1. Control biológico de moscas minadoras**

El control biológico es la represión de las plagas mediante sus enemigos naturales; es decir mediante la acción de predadores, parasitoides y microorganismos patógenos. Se sabe que las especies de *Liriomyza* son reguladas por varios enemigos naturales (Minkenberg, 1990; Murphy y LaSalle, 1999; Cisneros, 1995).

El control biológico de mosca minadora es efectuado generalmente por parasitoides Hymenóptera (Redolfi, 1996; Shepard *et al.*, 1998). Muy pocos estudios han dado importancia a los predadores de las moscas minadoras (Parrella, 1987). Larvas y pupas de las moscas minadoras Agromyzidae son afectadas por un gran número de parasitoides, que ejercen un alto grado de control. Los principales parasitoides pertenecen a la Superfamilias Chalcidoidea e Ichneumonoidea, dentro de las cuales las Familias Eulophidae y Braconidae, respectivamente, son las que dominan las comunidades de parasitoides (Redolfi, 1996; Shepard *et al.*, 1998). Los parasitoides pueden ser usados de maneras distintas para el control de mosca minadora: liberaciones inoculativas (método clásico de control biológico), liberaciones inoculativas estacionales, y liberaciones inundativas (Minkenberg, 1990).

Los parasitoides pueden presentar dos estrategias distintas: ovipositar en las larvas del hospedero matándolas o paralizándolas permanentemente (parasitoides larvales), o bien ovipositan en las larvas sin causarles daño aparente hasta que el hospedador construye su pupario, del cual emergen los parasitoides adultos (parasitoides larvo- pupales). Especies pertenecientes a ambas categorías han sido utilizadas con éxito en programas de Control Biológico de moscas minadoras (Spencer, 1973; Minkenberg y Van Lenteren, 1986). En Ecuador el control biológico de *L. huidobrensis*, mediante la liberación de *Chrysocharis* sp. y *Diglyphus* sp. mostró buena eficiencia en el control de esta plaga. El cultivo de papa presentó el 36.8% de parasitismo de *Chrysocharis* sp., mientras que cultivo de haba el 40.8 % de parasitismo, presentando un menor daño larval (6.9%) y el mayor rendimiento de tubérculo comercial y semilla (Gallegos *et al*, 2002).

La mayoría de estudios sobre minadores *Liriomyza* y sus parasitoides se han concentrado en la identificación del complejo parasitoides, en estimar la habilidad de estos parasitoides para el control efectivo (Johnson *et al.*, 1980; Minkenberg y van Lenteren, 1986), y en determinar el efecto de los insecticidas en los parasitoides. Pero para maximizar el potencial de los parasitoides en el control biológico de *Liriomyza* spp., los estudios deben enfocarse en más detalles sobre la biología de los parasitoides, según estos usen a las diferentes especies de *Liriomyza* como hospedero (Parrella, 1987).

En Perú, Redolfi *et al.* (1985) registran seis especies de parasitoides pertenecientes a 4 familias: *Halticoptera arduine* W. (Pteromalidae), *Chrysocharis phytomyzae* B., *Chrysocharis* sp., *Diglyphus websteri* C. (Eulophidae), *Ganaspidium* sp. (Cynipidae) y *Opius* sp. (Braconidae); encontrados en *L. huidobrensis* en cultivos de papa en tres valles de la costa central peruana. En estudios posteriores *C. phytomyzae* es denominada como *C. flacilla*. Mujica (2007) registra la composición de especies de parasitoides hallados en malezas, encontrando 29 especies de Eulophidae, 58% del total de especies de parasitoides; de donde *Chrysocharis* fue el género predominante (47,7%) de los siete géneros de esta familia que parasitaron moscas Agromyzidae. Del total de especies de parasitoides 19 fueron encontrados en *L. huidobrensis* de los cuales 13 pertenecían a la familia Eulophidae.

## **2.2. Aspectos generales del parasitoide *C. flacilla***

El género *Chrysocharis* Förster (1856) (Chalcidoidea: Eulophidae: Entedoninae) comprende cerca de 222 especies según The Natural History Museum (NHM) (2007), siendo el género más abundante en número de especies de la subfamilia que lo contiene (Gauld *et al.*, 1988)

### 2.2.1. Determinación taxonómica

*C. flacilla* Walker, 1842 presenta los siguientes sinónimos (Hansson, 1987; NHM, 2007)

*Chrysocharis phytomyzae*, Brèthes

*Entedon flacilla*, Walker

*Euparacrias phytomyzae*, Brèthes

*Paracrias phytomyzae*, Brèthes

*Euparacrias phytomyzae*, Brèthes

Triplehorn *et al.* (2005) clasifica esta especie de la siguiente manera:

**Phyllum** Artropoda

**Subphyllum** Mandibulata

**Clase** Insecta

**Orden** Hymenoptera

**Serie** Parasitica

**Superfamilia** Chalcidoidea

**Familia** Eulophidae

**Genero** *Chrysocharis*

**Especie** *flacilla* Walker.

### **2.2.2. Descripción**

Mediante métodos taxonómicos clásicos *C. flacilla* puede ser reconocida por no presentar los brazos horizontales de la sutura frontal, peciolo dos veces más largo que ancho con bordes dentados y con superficie reticulada a estriada, escutellum con reticulación prominente. Antena insertada arriba de la sutura ocular. Cara y clípeo azul metálico o verde-dorado. Orbita interna del ojo con una línea de setas. Vertex verde-dorado o azul metálico. Frons azul metálico, verde metálico, verde dorado o morado metálico, con la parte baja lisa o reticulada con pequeñas y angostas septas, y parte superior lisa. Hembra: Parte apical del escapo oscurecida o completamente oscura, flagelo oscuro, el escapo apenas alcanza los ocelos frontales. Segmentos funiculares I 1.4x – 1.8x, II y III 1.4x más largo que ancho. Macho: Escapo más ancho y más grueso que el de la hembra, alcanza los ocelos frontales. Algunos especímenes con el vertex y frons rojo dorado. Segmento funicular I 2.0x, II y III 1.8x mas largo que ancho (Hansson, 1987).

### **2.2.3. Origen, áreas de distribución y rango de hospederos**

*C. flacilla* es originaria y está distribuida en la región neotropical: Argentina, Chile, Colombia, Ecuador, El Salvador, México, Perú y Uruguay (Hansson, 1987). *C. flacilla* generalmente se encuentra en la costa del Perú pero también ha sido reportado

como parasitoide de mosca minadora en zonas altoandinas (Huancayo, Perú) (Mujica, comunicación personal).

El género *Chrysocharis* parasita generalmente a minadores de los órdenes Lepidóptera, Díptera e Hymenóptera (Gaul *et al.*, 1988). Para NHM (2007) los insectos hospederos principales de *C. flacilla* son siete especies de moscas minadoras *Liriomyza huidobrensis*, *L. bahamondesi*, *L. flaveola*, *L. quadrata*, *Liriomyza* sp., *Melanagromyza virens*, y *Phytomyza platensis* todas pertenecientes al Orden Díptera, Familia Agromyzidae.

Salvo (1996) identifica 34 especies de mosca minadora parasitadas por *C. flacilla* en Córdoba. Estas son: *Amauromyza maculosa*, *Calycomyza achalensis*, *C. brewerae*, *C. cruciata*, *C. humeralis*, *C. longicaudata*, *C. malvae*, *C. mikaniae*, *C. platyptera*, *C. verbenivora*, *Chromatomyia platensis*, *Haplopeodes gomphrenae*, *H. cordobensis*, *H. lycivora*, *Haplopeodes* sp. A, *Haplopeodes* sp. B, *Liriomyza* sp. A, *Liriomyza* sp. B, *Liriomyza* sp. D, *L. cesalpiniae*, *L. commelinae*, *L. brassicae*, *L. huidobrensis*, *L. microglossae*, *L. cerca sabaziae*, *L. sativae*, *L. schmidti*, *L. spencerella*, *L. thalictrivora*, *Ophiomyia camarae*, *Phytomyza crassiseta*, *P. pampeada*, *P. williamsoni*, Agromyzidae spp.

The Natural History Museum (2007) propone la infestación preferente de siete plantas por *L. huidobrensis* cuando *C. flacilla* es su parasitoide; cuatro Fabaceae:

*Vicia faba* (L.), *Medicago sativa* (L.), *Phaseolus vulgaris* (L.), *Trifolium* sp.; dos Solanaceae: *Solanum tuberosum* (L.), *Lycopersicon esculentum* (M.); y una Chenopodiaceae: *Beta vulgaris* (L.).

#### **2.2.4. Ciclo biológico**

La biología de *C. flacilla* no ha sido descrita detalladamente aún, pero, se puede tener una descripción general. Huevo: los huevos de los Eulophidae son normalmente elongados, ovalados o arriñonados u ocasionalmente presentan un largo filamento anterior (Gauld *et al.*, 1988). Cuando *Chrysocharis oscinidis* (Ashmead) de origen neotropical parasita *Liriomyza* spp. presenta huevos casi cilíndricos con una pequeña proyección y de color blanco. El embrión es traslúcido y difícil de apreciar en el interior del huevo (Van Der Linden y Van Achterberg, 1989). En *Galeopsomyia fausta* La Salle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitoide neotropical criado a 25 °C en *Phyllocnistis citrella* Staiton (Lepidoptera: Gracilaridae) se observa que el huevo es hymenopteriforme, traslúcido a blanco opaco, de corion liso, cilíndrico, alargado en un extremo (Llácer, 2005). Larva: generalmente existen de tres a cinco estadios larvales. El primer estadio larval es hymenopteriforme, 13 segmentado, y ocasionalmente tiene tubérculos carnosos o líneas de espinas en su cuerpo (Gauld *et al.*, 1988). La larva de *C. oscinidis* es traslúcida y sus mandíbulas no están conspicuamente coloreadas, su cabeza es flexible en relación a su cuerpo (Van Der

Linden y Van Achterberg, 1989). *G. fausta* presenta tres estadios larvales diferenciables por su cápsula cefálica, todos ellos hymenopteriformes, con el cuerpo 13 segmentado, con espinas y una fisura en el último segmento abdominal (Llácer, 2005). La larva empupa dentro de este círculo y los pilares endurecidos le sirven de apoyo para prevenir el colapso de la mina del hospedero (Gauld *et al.*, 1988). Pupa: exarata, sin protección de un cocon especial. La pupa de *G. fausta* inicialmente es amarilla, para luego volverse oscura con ojos rojos y eventualmente virar uniformemente a negro (Llácer, 2005).

*C. flacilla* puede presentar un comportamiento diapausal. Redolfi *et al.* (1985), registraron la emergencia de adultos que permanecieron en estado pupal durante cinco a nueve meses; mientras que Mujica y Cisneros (1994) obtuvieron que *L. huidobrensis* parasitadas por *Chrysocharis* sp. colectados en el mes de Setiembre emergen en Abril, resultando un periodo diapausal de siete meses. Salvo (1996) la califica como una especie koinobionte y generalista.

#### **2.2.5. Importancia de *C. flacilla* dentro del complejo de parasitoides de *L. huidobrensis***

En valles de la costa central del Perú, Redolfi *et al.* (1985) hallaron a *C. flacilla* (identificado como *C. phytomyzae* B.) como el parasitoide de mayor presencia después de *Halticoptera arduine* (Walker), logrando 14.73% de parasitismo en el



valle de Rímac. Mujica *et al.* (2006) encuentra que *C. flacilla* constituyó el 19.5% del total de parasitoides recuperados en la costa peruana y fue el más abundante en la estación de otoño (38.9%).

*C. flacilla* se encuentra ampliamente reportada por los autores que han realizado estudios en el neotrópico. Salvo y Valladares (1995) hallaron a *C. flacilla* dentro de las especies con mayor porcentaje de parasitismo (12%) en Córdoba, mencionándola como especie clave del complejo parasítico en Jujuy con 85% de parasitismo y 35% en Buenos Aires. En Córdoba, distintos estudios han identificado a *C. flacilla* como una parasitoide de gran importancia. Salvo (1996) menciona que *C. flacilla* tiene una presencia dominante dentro de la familia (15.14%) y en total parasita a 8.73% de la pupas de mosca minadora. Salvo *et al.* (1998) registraron a *C. flacilla* como un parasitoide principal dentro de un amplio complejo parasítico, con presencia en todos los habitats y cultivos analizados. Valladares y Salvo (2001) determinan a *C. flacilla* como parasitoide dominante de *L. huidobrensis* sólo en algunas fechas de muestreo. Salvo *et al.* (2005) obtuvo como resultado 34% de parasitismo de *L. huidobrensis* por *C. flacilla* en áreas naturales, urbanas y cultivadas.

*C. flacilla* es más abundante en las estaciones de otoño e invierno, similar a la de la mosca y es más abundante a mayores densidades del minador (Salvo y Valladares, 1995; Redolfi *et al.*, 1985; Mujica y Cisneros, 1997; Mujica *et al.* 2006), por lo que es un parasitoide útil en el control de *L. huidobrensis*.

### **2.3. Efecto de la temperatura en el desarrollo del parasitoide**

La temperatura es un factor abiótico crítico que afecta el desarrollo e influye en la dinámica de los insectos. La temperatura fija los límites de las actividades biológicas de los artrópodos, de tal manera que los parámetros de óptima temperatura y de temperatura máxima y mínima deben ser estimados para calcularse todos los principales procesos de vida. Los requerimientos térmicos pueden variar entre especies, etapas de desarrollo y en relación a otros factores como fuente alimenticia (Gilbert y Raworth, 1996; Roy *et al.*, 2002).

La temperatura afecta la tasa de crecimiento, es decir, tiempo de desarrollo, mortalidad de estadios inmaduros, y longevidad y fecundidad de adultos. El tiempo de desarrollo usualmente decrece con el incremento de la temperatura. El umbral de temperatura de desarrollo es diferente para cada especie y estadio, también depende de la especie hospedera (Minkenbergh, 1990). La estimación de los umbrales de temperatura máxima y mínima para el desarrollo de los enemigos naturales puede contribuir substancialmente a la selección del enemigo natural más adecuado para ser usado a diferentes condiciones ambientales (Ozawa *et al.*, 2001; Fathipour *et al.*, 2006).

Se han realizado diversos estudios para evaluar el efecto de la temperatura en el ciclo de vida de varios parasitoides. Mikenberg (1990) evaluó el efecto de tres temperaturas (15, 20 y 25° C) sobre *Diglyphus isaea*, hallando que este parasitoide se desarrolla rápidamente, tiene una baja mortalidad en sus estados inmaduros y los adultos producen más huevos que sus hospederos *L. trifolii* y *L. bryoniae* a 25° C; mientras que, los adultos tienen un periodo de vida más largo a 20° C. Chistie y Parella (1987) estudiaron el efecto de la temperatura en *Chrysocharis oscinidis* (= *C. parksi* Crawford) encontrando que el tiempo de desarrollo de los estados inmaduros se acelera a partir de los 27°C, la longevidad es más alta para los adultos provistos de miel a 21°C y las hembras mantenidas a 27°C producen 134.6 huevos durante su vida. Hondo (2006) realizó ensayos sobre la tolerancia termal de *Chrysocharis pentheus* (Walker) hallando que el periodo de desarrollo desde la oviposición hasta la emergencia se reduce con el aumento de la temperatura; la mortalidad de los estados inmaduros sobre los 33°C es cercana al 100% y los umbrales de temperatura para hembras y machos son diferentes. Baeza (2007) encuentra que el tiempo promedio de desarrollo de *Chrysocharis pubicornis* (Zetterstedt) varía según la temperatura y el fotoperiodo, desde unos pocos días hasta periodos largos, en los que los estados inmaduros se encuentran en estado diapausal; y los umbrales de temperatura de hembras y machos también son diferentes para hembras y machos de esta especie.

## CAPITULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo durante el periodo de Junio de 2007 a Enero de 2008, en las instalaciones del área de Entomología del Centro Internacional de la Papa (CIP) en el distrito de La Molina, Lima-Perú (L.S. 12 05', L.O. 76 57', 240 m.s.n.m)

El status taxonómico del parasitoide fue determinado por comparación con el material de la colección del Museo de Entomología del CIP-Lima. Los especímenes de *C. flacilla* de esta colección fueron identificados por la Dr. Silvia Adriana Salvo de la Universidad Nacional de Córdoba Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales – Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba.

#### 3.1. MATERIALES

- **Material biológico**

Proporcionado por el Centro Internacional de la Papa

- Adultos y larvas de la mosca minadora *L. huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae)
- Adultos del parasitoide *C. flacilla* (Hymenoptera: Eulophidae)

- Plantas de haba *Vicia faba* L.

- **Equipos**

Cuartos de crianza de temperatura controlada, cámaras incubadoras, cámaras de refrigeración, microscopio estereoscopio Olympus ®, lámparas con lupa, controlador de datos para la temperatura y humedad Hobo ®.

- **Material de Vidrio**

Tubos de ensayo pirex, tubos folines, frascos de 50 ml, porta y cubre objetos, frascos de 30 ml para almacenamiento de muestras.

- **Material de Plástico**

Vasos de 1 L con tapa, vasos de 0.5 L, frascos de 30 ml para almacenamiento de muestras, placas petri, Parafilm®

- **Reactivos**

NaOH, Essiq, Lactofenol, Ácido acético, Aceite de clavo, Bálsamo de Canadá, Xilol.

- **Otros**

Jaulas de crianza de 100 x 50 x 50 cm, macetas, miel de abeja, telas de tul, arena, contómetros, pinceles, estiletes, algodón, bandas elásticas, bisturí para microcirugía, alcohol al 70%, plumones indelebles, cuaderno de apuntes, lápices, placas cóncavas.

### **3.2. METODOS**

#### **3.2.1. Establecimiento de la crianza del hospedero *L. huidobrensis***

Los adultos de *L. huidobrensis* utilizados en este estudio fueron obtenidos de la crianza masiva sobre plantas de haba mantenida en el CIP a 20°C. Quince macetas, conteniendo 5 plantas de haba cada una (6 hojas/planta) de 20 días de edad, fueron colocadas por 48 horas en jaulas de crianza y expuestas a 400 adultos de *L. huidobrensis* de 3 días de edad. Transcurrido este tiempo, las plantas de haba fueron retiradas de las jaulas de crianza y llevadas al invernadero para permitir la incubación de los huevos de la mosca minadora y el desarrollo de las larvas hasta que alcancen entre el final del segundo estadio e inicio del tercer estadio larval. Este procedimiento fue repetido en paralelo a los experimentos para obtener el estadio larval adecuado

para el desarrollo de las diferentes pruebas. El ancho de la mina se utilizó como parámetro de los diferentes estadios larvales de la mosca minadora (Tabla 1).

**Tabla 1.** Desarrollo de estadios larvales de la mosca minadora a 20°C (Sotomayor, 1998)

<b>Estadio Larval</b>	<b>Días después de la oviposición (Inicio del estadio)</b>	<b>Promedio de ancho de la mina (mm)</b>
Estadio I	5 días	0.3 – 0.4
Estadio II	10 días	0.5 – 0.8
Estadio III	12 días	1.0 – 1.2

### **3.2.2. Establecimiento de la crianza del parasitoide *C. flacilla***

Los adultos de *C. flacilla* utilizados en este estudio fueron obtenidos de la crianza masiva mantenida en el CIP, dentro de un cuarto de crianza temperatura controlada a 25°C, utilizando *L. huidobrensis* como insecto hospedero. En una jaula de crianza se colocaron plantas de haba infestadas con aproximadamente 300 larvas de mosca minadora entre el final del segundo estadio e inicio del tercer estadio larval. Una

solución de miel y agua (1:3) fue colocada en forma de pinceladas sobre un papel parafilm adherido al techo de la jaula para la alimentación de los adultos. Las plantas fueron expuestas a los adultos del parasitoide por un periodo de 24 horas y luego removidas. Las plantas de haba fueron luego cortadas por la base y colocadas en bandejas de plástico conteniendo una capa delgada de arena fina para permitir la pupación de la larva del minador. Los puparios fueron colectados luego de 5 días y almacenados en placas petri de plástico hasta la emergencia de los adultos. Los parasitoides adultos se utilizaron para el mantenimiento de la crianza, la observación y descripción de su comportamiento y para los estudios biológicos a diferentes temperaturas.

### **3.2.3. Efecto de la temperatura en el parasitoide *C. flacilla***

Todos los experimentos fueron conducidos en laboratorio dentro de incubadoras a las temperaturas de 10, 15, 20, 25 y 30°C y un fotoperíodo de 12 L: 12N.

#### **3.2.3.1. Morfología y tiempo de desarrollo de los estados inmaduros de *C. flacilla***

En una jaula de crianza se colocaron 8 plantas de haba (8 hojas/planta), cada una infestada con aproximadamente 200 larvas de mosca minadora entre el final del segundo estadio e inicio del tercer estadio larval y se liberaron 50 parejas del



parasitoide de un día de vida. Las plantas permanecieron en las jaulas por 24 horas para permitir a los parasitoides colocar sus huevos en las larvas del minador. Transcurrido el tiempo, las plantas fueron removidas de la jaula de oviposición. Luego de la exposición, diariamente se seleccionaron y guardaron en alcohol al 70%, una muestra al azar de 10 larvas o pupas parasitadas hasta la emergencia de los parasitoides adultos de los puparios de la mosca minadora. Las muestras fueron disectadas bajo un estereoscopio para encontrar, separar, contar y describir los ejemplares de los estados inmaduros del parasitoide captados y medir las dimensiones de la cápsula cefálica y largo de cuerpo de estos. Los ejemplares de los estados larvales fueron sometidos a solución de NaOH en baño maría, o a lactofenol en frío; para expulsar el contenido blando de las larvas y luego montados en un portaobjetos con bálsamo de Canadá para permitir la apreciación de sus mandíbulas. Las muestras de los estadios larvales fueron observadas al microscopio para distinguir y describirlos morfológicamente. Se registro el número de ejemplares capturados por día, el estado y estadio de desarrollo en el que se encuentran, y sus medidas corporales.

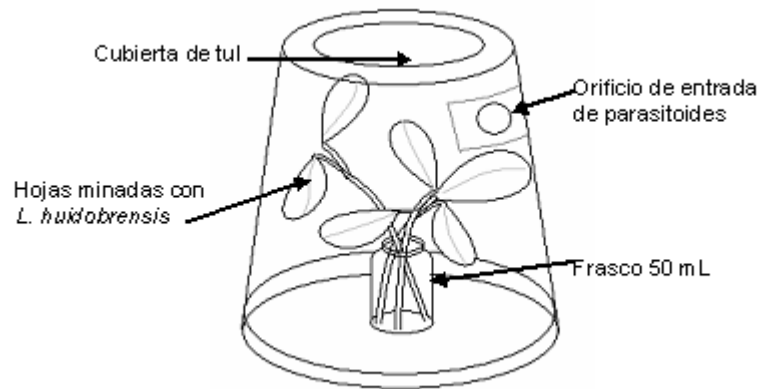
### **3.2.3.2. Longevidad del adulto, capacidad de reproducción y proporción sexual de *C. flacilla***

Estos ensayos se llevaron a cabo en cámaras de crianza. La cámara de crianza consistió de un vaso de plástico transparente con tapa de un litro de capacidad, el cual

fue utilizado en forma invertida, siendo la tapa el piso de la cámara. En el techo de la cámara se hizo un orificio de 5 cm de diámetro, que fue cubierto con un tul para facilitar la aireación de la cámara. En el piso de la cámara se hizo un orificio de 2 cm de diámetro para introducir un frasquito de vidrio de 50 ml de capacidad. Adicionalmente, en la pared de la cámara se realizó un orificio de 0.5 cm de diámetro para facilitar la introducción de los adultos del parasitoide (Figura 1). Hojas de haba conteniendo en promedio 40 larvas de mosca minadora entre el final del segundo estadio e inicio del tercer estadio larval fueron colocadas en el frasquito de 50 ml y fijadas en el piso de la cámara. Una pareja de parasitoides adultos recién emergidos fueron liberados al interior de la cámara. Una solución de miel y agua (1:3) se proveyó diariamente para la alimentación de los adultos. Cada 24 horas, las hojas expuestas fueron removidas y cambiadas por hojas infestadas con la misma cantidad de larvas del minador. Este procedimiento se repitió hasta la muerte del adulto hembra. La longevidad de los adultos fue determinada utilizando los datos del número de días de vida de los adultos machos y hembras.

Las hojas parasitadas fueron colocadas en vasos de plástico de 0.5 L de capacidad conteniendo una capa de arena fina en la base, hasta la pupación de las larvas. Los puparios fueron luego colectados y colocados en tubos de ensayo de vidrio, con un algodón como tapa, hasta la emergencia de los adultos de la mosca minadora o los parasitoides. Se registró diariamente el número de parasitoides

emergidos y la proporción sexual. Los parasitoides emergidos fueron sexados bajo microscopio estéreo. Este ensayo fue repetido 3 veces y se evaluaron 10 parejas por repetición.



**Figura 1:** Cámara de Crianza

### 3.2.4. Análisis Estadístico

Los efectos de la temperatura en el desarrollo de los estados inmaduros, longevidad, fecundidad, y ratio sexual del parasitoide fueron determinadas mediante el análisis de varianza (ANVA y ANOVA) y las medias fueron comparadas mediante las pruebas Kruskal-Wallis y T del programa estadístico R. Las curvas de distribución de frecuencias y tasas, de desarrollo y senescencia, fueron estimadas por el modelo no lineal Sharpe de Michelle, y complementadas por las funciones cloglog, logit y

probit con el software ILCM (Sporleder *et al*, 2008). El porcentaje de mortalidad dependiente de la temperatura fue descrito por ecuaciones polinomiales.

## CAPITULO IV

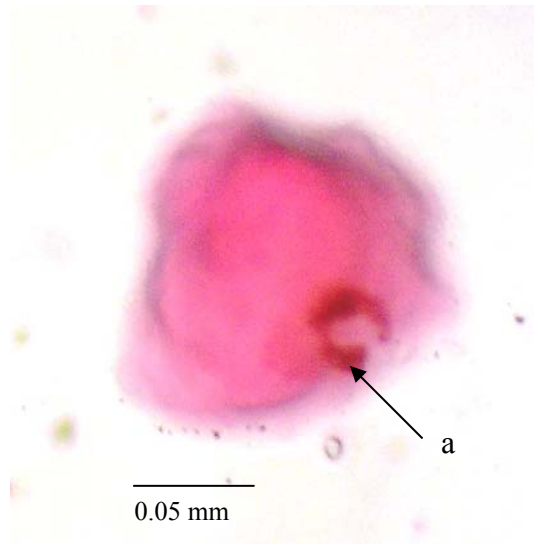
### RESULTADOS

#### 4.1. Morfología de los estados de desarrollo de *C. flacilla*

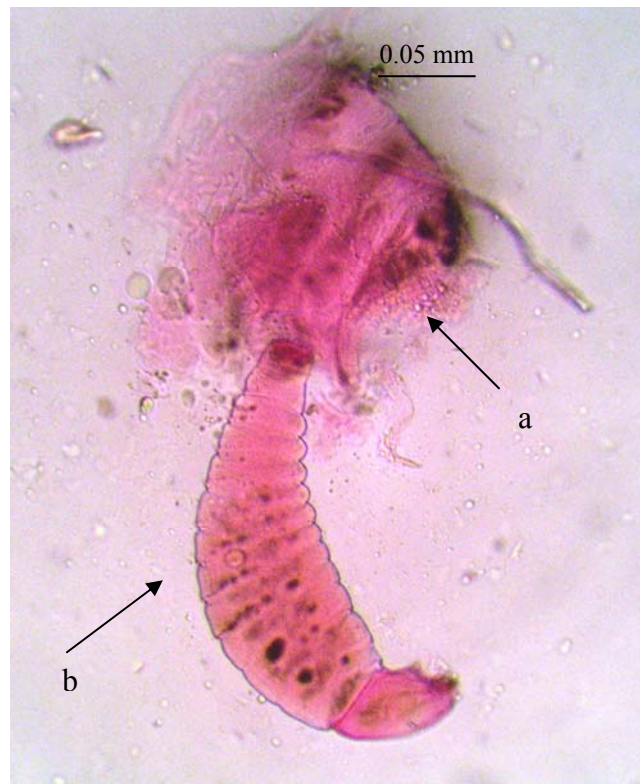
*C. flacilla* pasa por cuatro estados de desarrollo definidos: huevo, larva, pupa y adulto. En el estado larval se distinguieron 3 estadios. Todos los estados inmaduros completaron su desarrollo dentro del hospedero.

##### 4.1.1. Huevo

El huevo es monoembriónico, ovalado, de bordes redondeados y superficie glabra. Según Clausen (1962) y Streinhaus *et al* (1985) por su forma puede ser clasificado como hymenopteriforme. Presenta un corion grueso y liso, de color transparente a blanquecino, que cumple las funciones de protección y nutrición. El micrópilo de posición anterior es notorio durante todo el desarrollo del huevo (Figura 2). El huevo tardío es ovalado-elongado. Luego de la eclosión del huevo y la emergencia de la larva quedan restos del corion que no fueron consumidos por el embrión (Figura 3). El huevo es el estado de menor tamaño, midiendo menos de 0.1 mm en sus dos dimensiones (0.0733 mm largo x 0.0933 mm ancho).



**Figura 2.** Huevo de *C. flacilla*. Detalle del micrópilo (a)



**Figura 3.** Eclosión del huevo de *C. flacilla*. Restos del corion (a). Larva I recién emergida (b).

#### 4.1.2. Estadios larvales

Las larvas de *C. flacilla* son de tipo hymenopteriforme (Clausen, 1962; Streinhaus *et al.*, 1985) Se determinaron 3 estadios larvales en *C. flacilla*, diferenciables por su morfología externa y sus mandíbulas. Las mediciones de los estadios larvales de *C. flacilla* se realizaron basándose en el ancho de cápsula cefálica y largo de cuerpo (Tabla 2).

**Tabla 2.** Ancho y largo de los diferentes estadios larvales de *C. flacilla*

Estadio	N	Ancho (mm*10 <sup>-1</sup> ) X ± ES	Largo (mm*10 <sup>-1</sup> ) X ± ES
Larva I	110	1.43 ± 0.04	4.36 ± 0.10
Larva II	50	4.53 ± 0.21	11.07 ± 0.37
Larva III	26	4.28 ± 0.14	10.99 ± 0.52

(\*) promedio ± error estándar

##### 4.1.2.1. Primer estadio larval (LI)

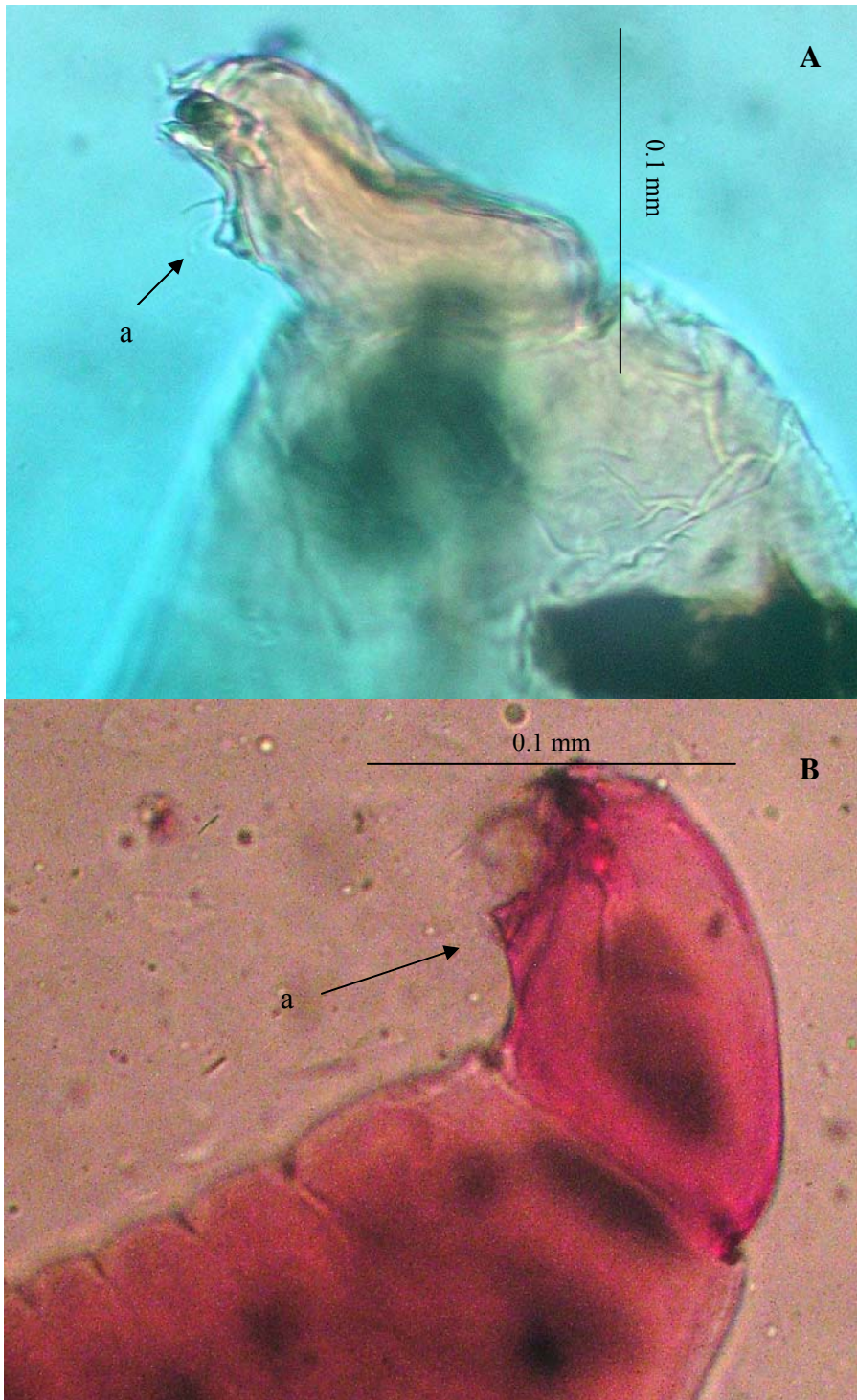
Es el estadio más distintivo del estado larval de esta especie. El primer estadio larval es de tipo hymenopteriforme mandibulado, blanco cremoso a amarillo pálido, ápedo, elongado y segmentado, y arqueado en la posición ventral. El cuerpo posee 12 segmentos y en la intersección de cada segmento presenta setas dispuestas en hilera y orientadas hacia la región caudal (Figura 4). Posee una cápsula cefálica subcónica con 2 escleritos bucofaríngeales o mandíbulas expuestas que abarcan casi la totalidad

de la cápsula cefálica. Las mandíbulas son falcadas, lisas, fuertemente esclerotizadas y fusionadas por la base, cada una presenta en su lado interno un diente en posición media (Figura 5). Durante el desarrollo del primer estadio larval las mandíbulas se engrosarán y posicionarán ventralmente. La larva I es gregaria, encontrándose hasta en un número de 6 inmersas en el contenido del pupario del hospedero. Algunas pueden presentar el décimo segmento corporal pigmentado. Tiene en promedio una longitud de 0.436 mm y un ancho de cápsula cefálica de 0.143 mm.



**Figura 4.** Larva I de *C. flacilla*. Cápsula cefálica (a).Cuerpo 12 segmentado (b). Setas (c).





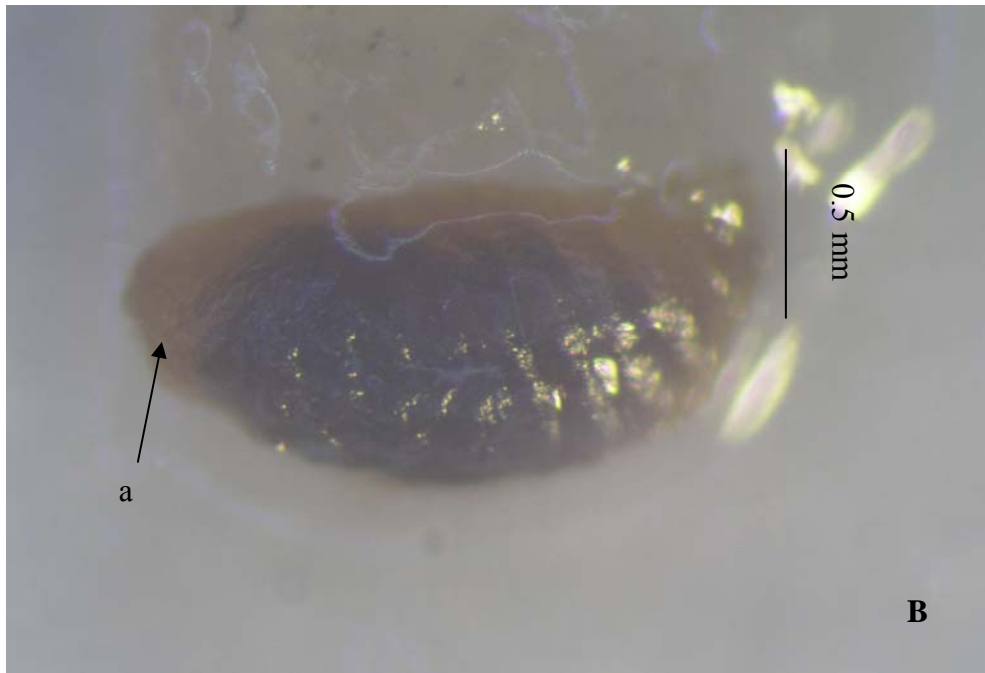
**Figura 5 (A y B).** Detalle de las mandíbulas de la Larva I de *C. flacilla*.

Diente de posición media (a).

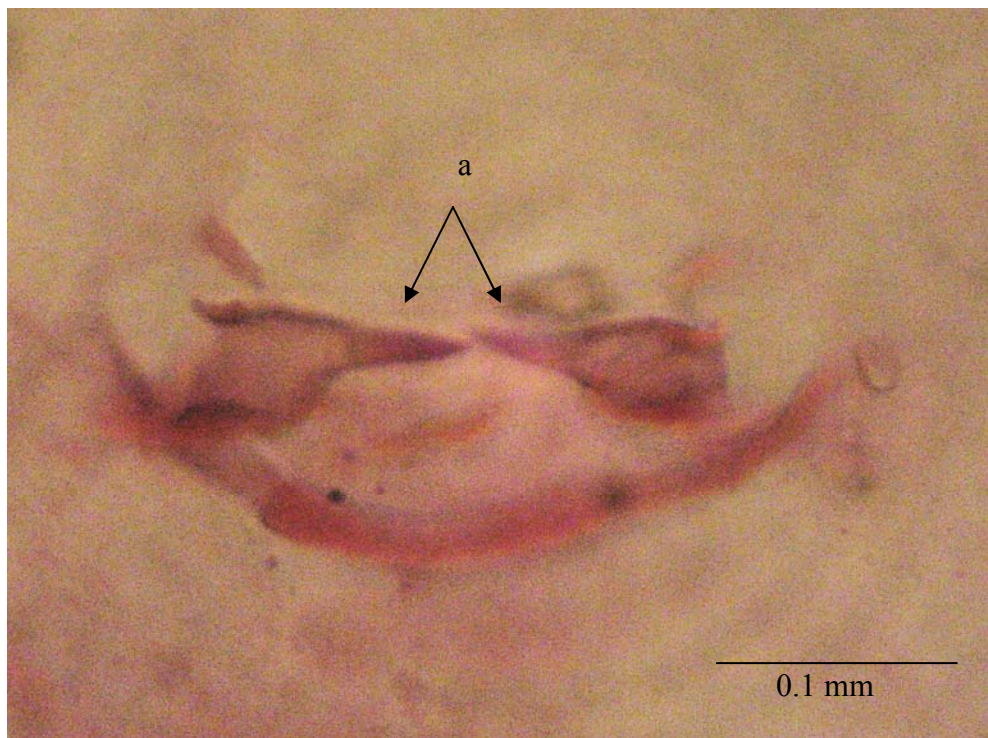
#### 4.1.2.2. Segundo estadio larval (LII)

El segundo estadio larval es de tipo hymenopteriforme, ápoda, vermiforme elongada, mucho más gruesa y ancha que el estadio anterior, arqueada en la posición ventral y glabra. Cuerpo de color amarillo pálido a marrón claro transparente y contenido marrón oscuro a lo largo del cuerpo (Figura 6). Posee 12 segmentos y una cápsula cefálica subcónica redondeada con los escleritos bucofaríngeales ocultos en la parte ventral. Las mandíbulas fuertemente esclerotizadas están separadas en la base, son de bordes aserrados, y lanceoladas (Figura 7). Esta larva es solitaria, pero excepcionalmente se encontró al primer estadio larval en el mismo pupario hospedero. Este estadio aún se encuentra inmerso en la pupa de la mosca. El paso al segundo estadio larval muestra un crecimiento marcado con promedios de 0.4526 mm en el ancho de la cápsula cefálica y de 1.1070 mm de longitud.





**Figura 6 (A y B).** Larva II de *C. flacilla*. Cápsula cefálica (a).

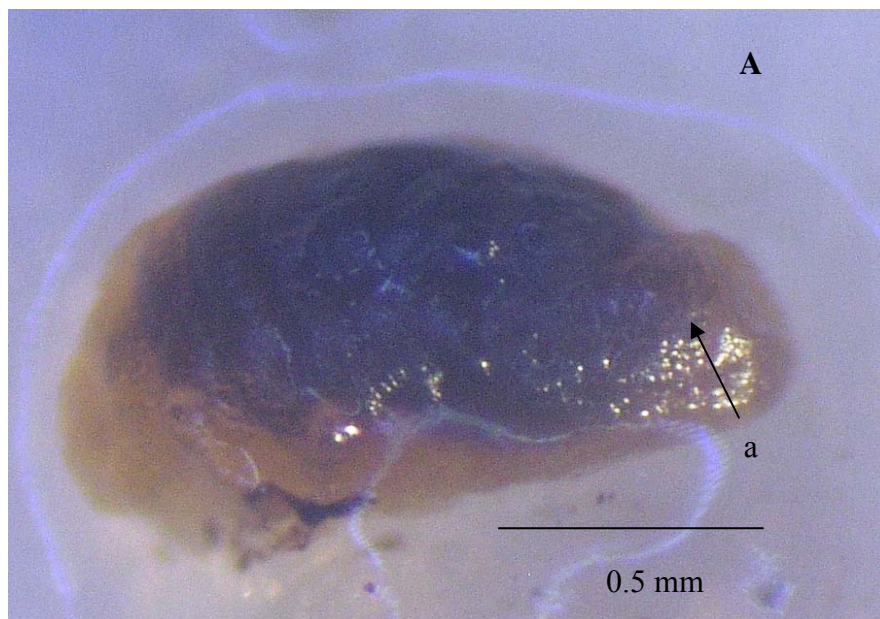


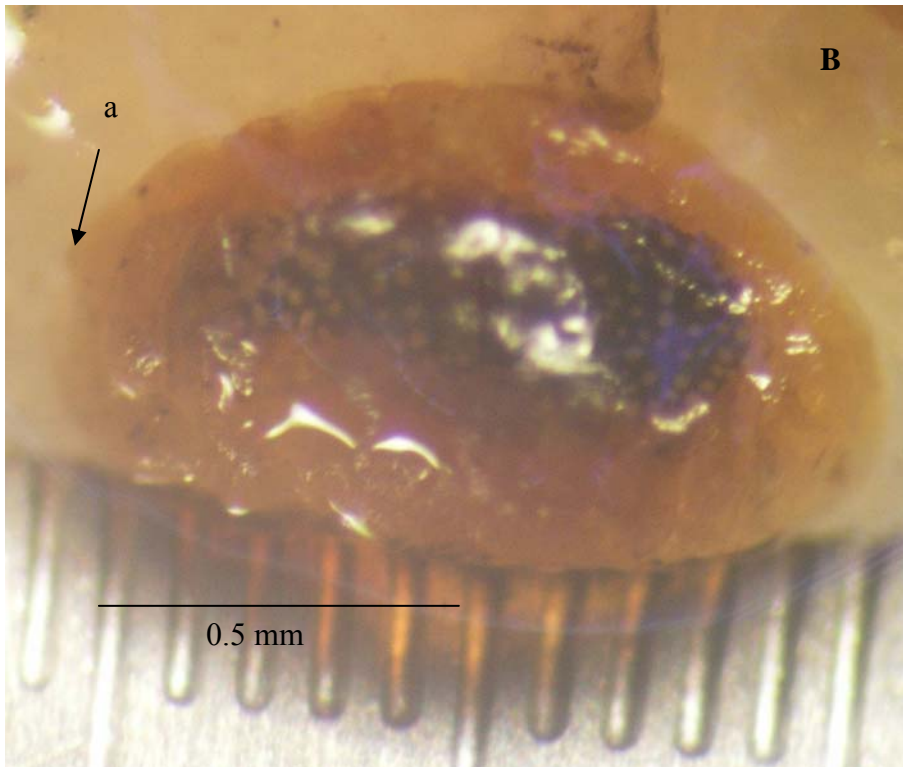
**Figura 7.** Detalle de las mandíbulas de la Larva II de *C. flacilla* (a).



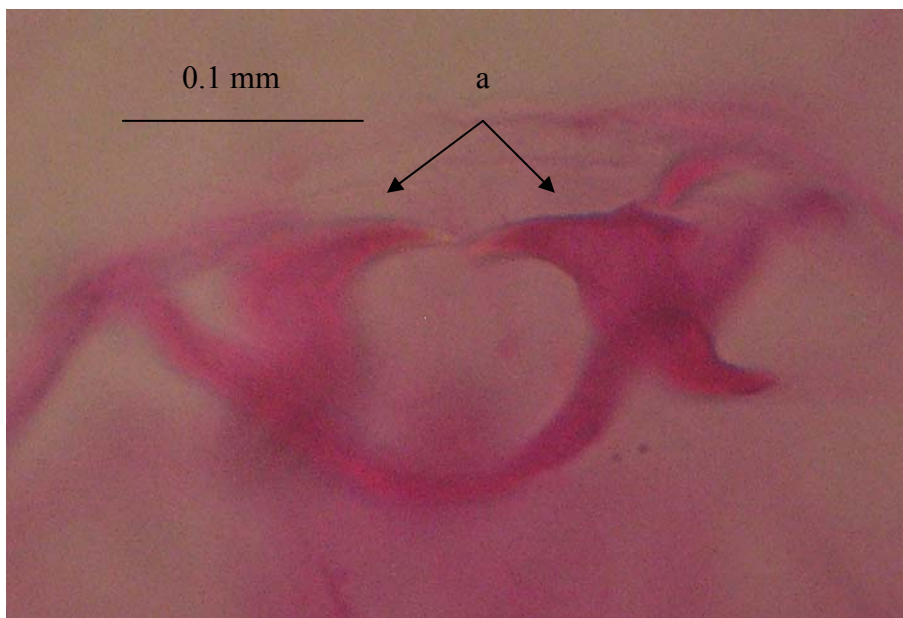
#### 4.1.2.3. Tercer estadio larval (L III)

La larva III es de tipo hymenopteriforme, ápoda, vermiforme, arqueada en la posición ventral, glabra y con una región anterior diferenciada. Cuerpo de color amarillo pálido a marrón claro transparente y contenido marrón oscuro entre los segmentos 2 y 11 (Figura 8). Al igual que los anteriores estadios, posee 12 segmentos; y tiene una cápsula cefálica redondeada con los escleritos bucofaríngeales ocultos. Las mandíbulas están fuertemente esclerotizadas y separadas en la base, son lanceoladas con bordes aserrados, muy similares a las de los adultos (Figura 9). La larva III es solitaria, y abarca casi la totalidad de la cavidad del pupario de la mosca minadora, sin encontrarse restos del contenido interno de este. En este estadio se produce una reducción de las medidas con promedios de 0.4285 mm para el ancho de la cápsula cefálica y una longitud de 1.0988 mm.





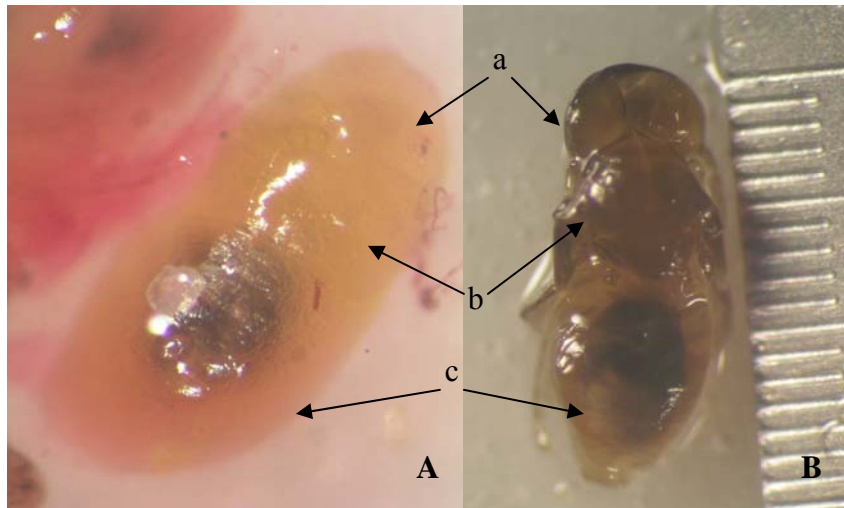
**Figura 8(A y B).** Larva III de *C. flacilla*. Cápsula cefálica (a).



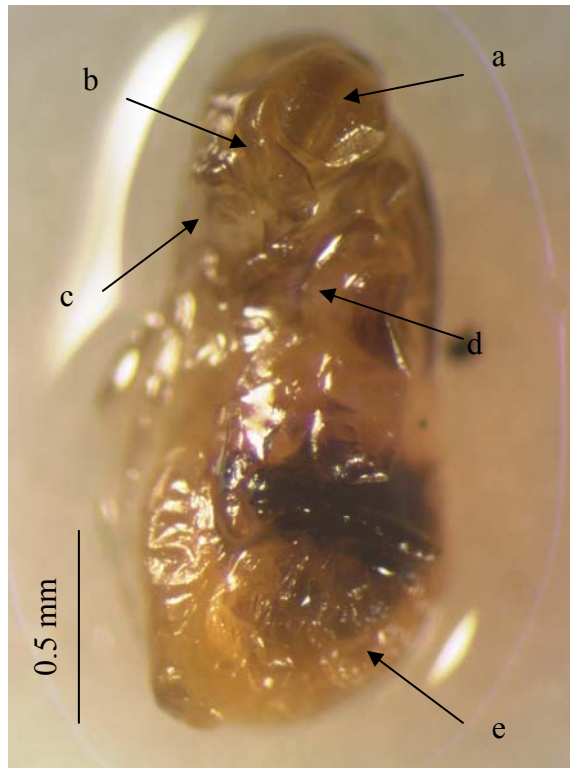
**Figura 9.** Detalle de las mandíbulas de la Larva III de *C. flacilla* (a).

### **4.1.3. Pupa**

La pupa es exarata, de color blanquecino transparente a marrón muy oscuro (Figura 10). El pupario es delgado y transparente y mantiene plegadas contra el sternum a las antenas y las patas, y plegadas contra el tergum a las alas. Durante todo el desarrollo, esclerotización y melanización de este estado se puede diferenciar cabeza, tórax y abdomen. La cabeza es redondeada y posee ojos compuestos de posición lateral, las piezas bucales completas de posición anterior ventral, y las antenas insertadas en la parte dorsal (Figura 11). El tórax es en promedio 0.01mm menos ancho que la cabeza, el mesonotum y escutellum son notorios, y posee notaulis visibles que no alcanzan el borde posterior del mesonotum. El abdomen tiene ocho segmentos, y puede observarse los órganos que este contiene como una masa oscura. Al inicio la pupa es blanda y blanquecina transparente, notándose los tejidos internos de todo el cuerpo. La melanización es progresiva, la cutícula se va oscureciendo, iniciándose por los ojos y tergum, luego la zona dorsal del abdomen y las patas, y finalmente el resto del cuerpo. La esclerotización de la pupa es tardía, la cutícula se torna dura y sólida hacia el final de este estado. El estado de pupa tiene en promedio una longitud de 1.467 mm y un ancho de cápsula cefálica de 0.435 mm.



**Figura 10.** Proceso de melanización de la Pupa de *C. flacilla*. Pupa hialina (A). Pupa pigmentada (B). Cabeza (a), tórax (b), abdomen (c).

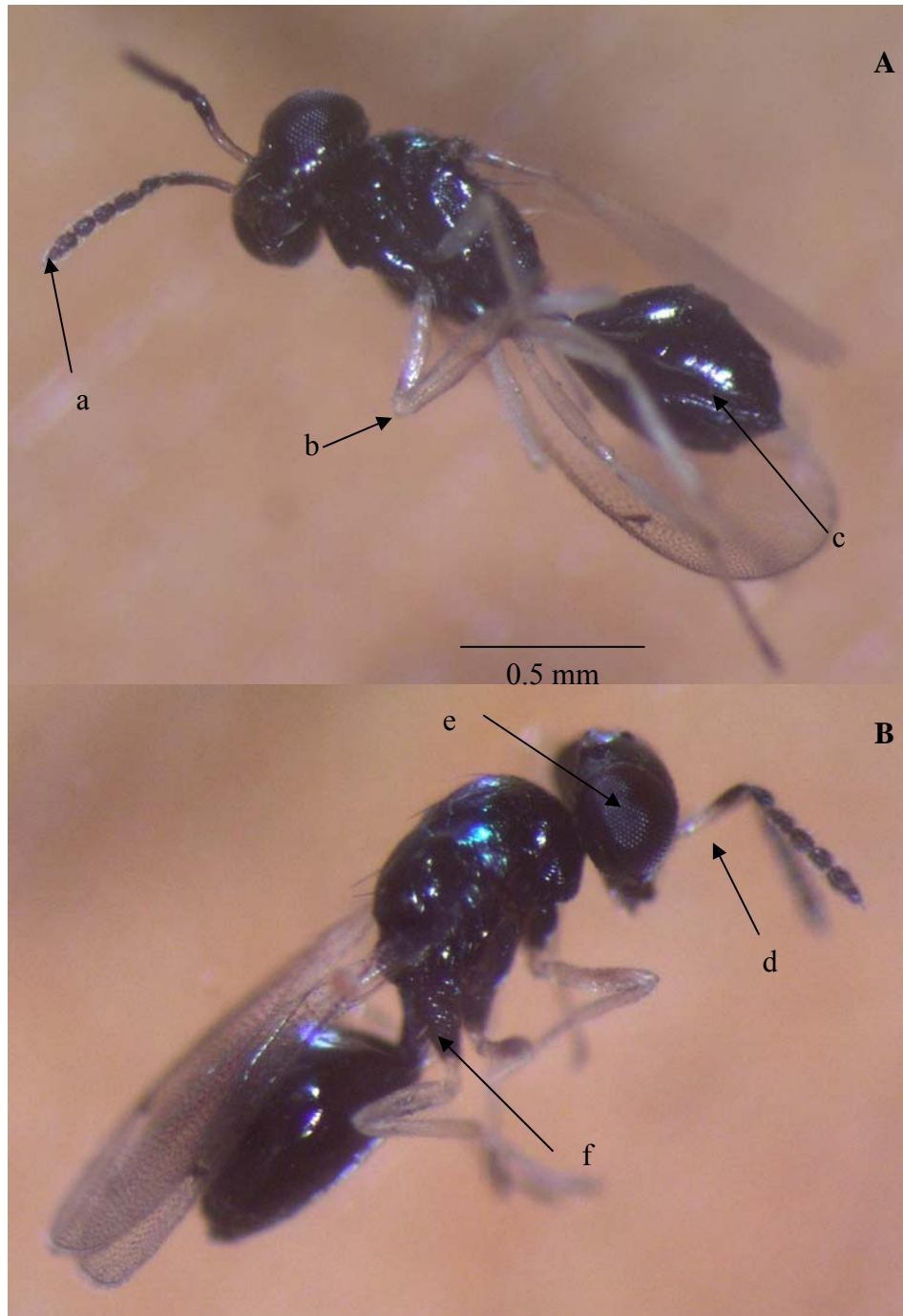


**Figura 11.** Detalle de la Pupa de *C. flacilla*. Ojos (a), antenas(b), piezas bucales (c), patas (d), abdomen (e).

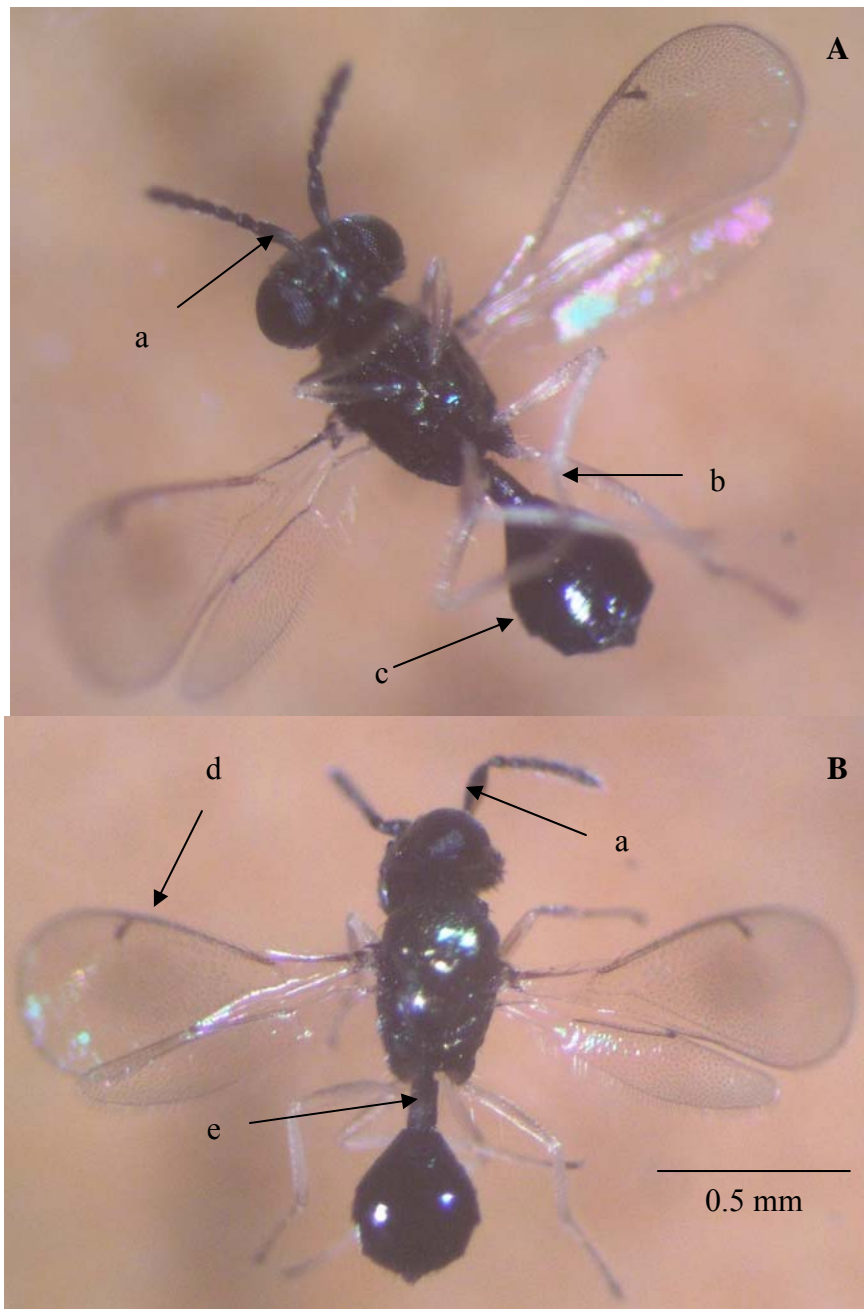
#### **4.1.4. Adulto**

Tal como describe Hansson (1987). La hembra de *C. flacilla* es de color azul a verde metálico oscuro y presenta el peciolo reticulado. El abdomen es de aspecto romboide y anguloso y con ovipositor retráctil, de posición media ventral y orientado hacia la región anterior. Primer, segundo y tercer par de patas hialinas con coxas oscuras. Antenas 5 segmentadas, insertadas sobre la sutura ocelar, escapo alargado y de base hialina (Figura 12). El macho es muy similar a la hembra, pero presenta el escapo más ancho y largo que el de la hembra, abultado en la parte apical (Figura 13). Los adultos de *C. flacilla* tienen una longitud de cuerpo promedio de 1.523 mm y un ancho de cabeza 0.44 mm.





**Figura 12.** Adulto Hembra de *C. flacilla*. Vista ventral (A). Vista lateral (B). Antena 5 segmentada (a), patas hialinas (b), ovipositor retráctil (c), escapo antenal hialino (d), ojos compuestos (e), coxas oscuras (f).



**Figura 13.** Adulto Macho de *C. flacilla*. Vista ventral (A). Vista dorsal (B). Antena 5 segmentada con escapo engrosado (a), patas hialinas con coxas oscuras (b), abdomen romboide (c), vena marginal presente (d), pedicelo (e).

## **4.2. Efecto de la temperatura en el desarrollo de los estados inmaduros de *C. flacilla***

El estudio de la influencia de la temperatura en el desarrollo de los diferentes estados inmaduros (huevo, larva y pupa) de *C. flacilla* incluyó el análisis estadístico del periodo de desarrollo observado y sus umbrales para hembra y macho, así como la estimación de sus valores, el establecimiento de los umbrales de temperatura y la tasa de mortalidad de cada estado.

### **4.2.1. Ciclo de desarrollo de *C. flacilla***

La duración del ciclo de desarrollo de *C. flacilla*, es decir, el promedio de días desde la parasitación hasta la emergencia de los adultos del parasitoide *C. flacilla* es afectado por la temperatura (Tabla 3).

**Tabla 3.** Ciclo de desarrollo de hembras y machos de *C. flacilla* a diferentes temperaturas constantes en larvas de *L. huidobrensis*

Temperatura °C	n (♀/♂)	Periodo de desarrollo de oviposición a emergencia del adulto	
		Hembras (días ± SE)	Machos (días ± SE)
10	0	NO	NO
15	50 (25/1)	30 ± 1.39 a <sup>1</sup>	23 a <sup>1</sup>
20	50 (25/7)	28.08 ± 0.74 a <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	26 ± 1.29 a <sup>1</sup> A <sup>2</sup>
25	50 (25/25)	25.48 ± 0.67 b <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	24.88 ± 0.67 a <sup>1</sup> A <sup>2</sup>
30	50 (25/25)	22.44 ± 0.72 c <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	22.24 ± 0.48 a <sup>1</sup> A <sup>2</sup>

<sup>1</sup> promedios seguidos por la misma letra minúscula en la misma columna no son significativamente diferentes

<sup>2</sup> promedios seguidos por la misma letra mayúscula en la misma fila no son significativamente diferentes

NO: No se observó emergencia

La emergencia de las hembras es afectada por las diferentes temperaturas, a excepción de 15°C y 20°C que no tienen diferencias significativas entre sus promedios; sus valores fueron disminuyendo de 30 días hasta 22 días en el rango de 15°C a 30°C. La emergencia de los machos no es afectada significativamente a

ninguna de las temperaturas evaluadas, siendo sus valores 26, 25, y 22 días a 20°C, 25°C y 30°C ( $P < 0.05$ ). A 15°C sólo emergió 1 macho, por lo que esta temperatura no puede ser comparada estadísticamente con las demás. Al comparar los promedios de los periodos de desarrollo entre hembras y machos a una misma temperatura, encontramos que no existen diferencias entre la emergencia de hembras y machos a ninguna de las temperaturas evaluadas ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 4.** Regresión y umbrales teóricos mínimos de temperatura para el ciclo de desarrollo de hembras y machos de *C. flacilla*.

Sexo	Ecuación de regresión	R <sup>2</sup>	P	T umbral (°C)
Hembras	Y= 0.00744594T - 0.071687266	0.71	0.07	9.63
Machos	Y=0.006920935T- 0.057125298	0.82	0.03	8.25

La estimación de los umbrales teóricos de temperatura mínima para el desarrollo de las hembras y de los machos son 9.63 y 8.25 respectivamente, siendo ambos menores a la menor temperatura evaluada (10°C).

Al analizar el rango del tiempo de desarrollo observado de cada uno de los estados inmaduros se encuentra que este es inversamente proporcional a la temperatura (Tabla 5).

**Tabla 5.** Rango de tiempo observado de desarrollo de los estados inmaduros de *C. flacilla* a diferentes temperaturas constantes en larvas de *L. huidobrensis*.

Temperatura (°C)	Estados de Desarrollo (días después de la parasitación)					
	Huevo (*)		Larva (*)		Pupa (*)	
	(días ± SE)	N	(días ± SE)	N	(días ± SE)	N
10	ND	0	ND	0	ND	0
15	18 ± 0.40 a	20	27 ± 0.47 a	65	32 ± 0.44 a	14
20	15 ± 0.84 a	41	21 ± 0.45 b	77	26 ± 0.34 b	17
25	12 ± 0.42 b	86	19 ± 0.45 c	31	19.5 ± 0.29 c	23
30	8 ± 0.52 c	43	14 ± 1.15 d	8	15 ± 0.26 d	18

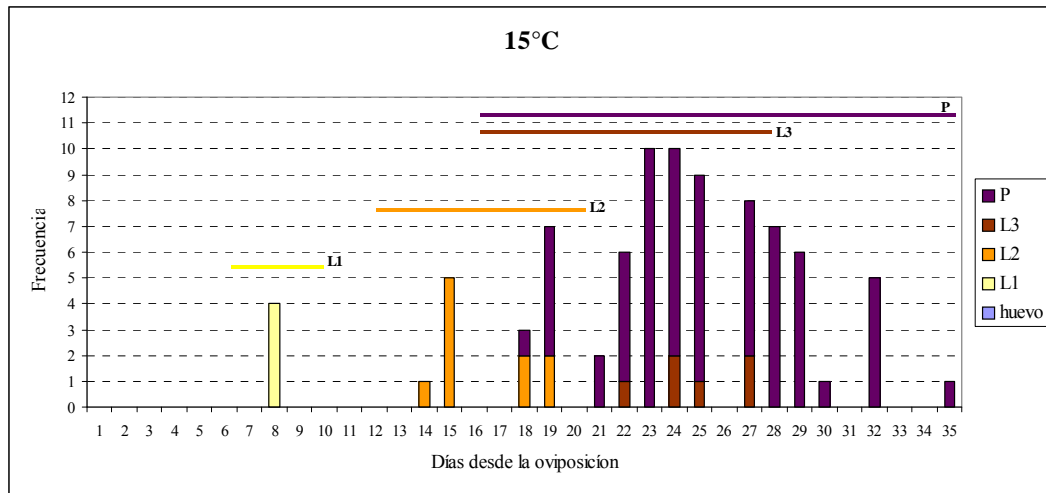
(\*)promedios ± error estándar seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes

ND = no desarrollo

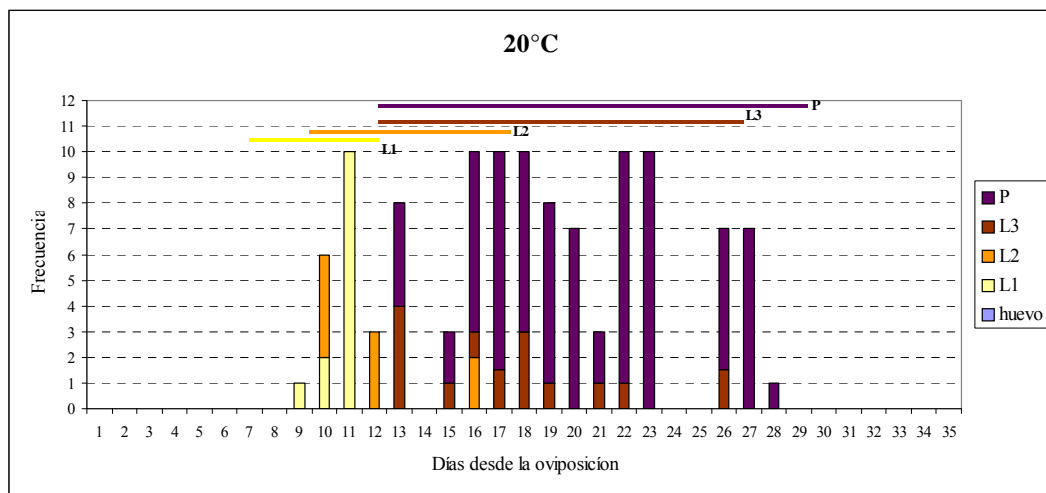
La duración del estado de huevo fue disminuyendo significativamente con el aumento de la temperatura, excepto entre 15°C y 20°C. El huevo duró 18 días a 15°C, 15 días a 20°C, 12 días a 25°C hasta 8 días a 30°C. El periodo de desarrollo del

estado larval también se ve afectado por la temperatura, siendo significativamente diferente a todas las temperaturas. La larva duró un rango de tiempo de 27, 21, 19.5 y 14 días desde la oviposición, respecto a las mismas temperaturas. El tiempo de desarrollo de la pupa se acorta o extiende significativamente según la temperatura. La pupa logra completar su desarrollo a los 32, 26, 19.5 y 15 días después de la parasitación a 15°C, 20°C, 25°C y 30°C ( $P < 0.05$ ). También se puede apreciar que a la menor temperatura evaluada, 10°C, no se observó ningún indicio de desarrollo, tanto del parasitoide como de la mosca. En ninguna de las repeticiones a 10°C se detectó la presencia y/o maduración de los huevos del parasitoide, y por tanto no se sucedieron los estados de desarrollo consecutivos. Mientras que las larvas de mosca tuvieron una alta mortalidad, pasando al estado de pupa muy pocas por repetición, y estas no prosperaron pues no ocurrió la emergencia de los adultos de mosca (Tabla 5).

Debido a que el tiempo de desarrollo observado de cada uno de los estados inmaduros es menor a medida que aumenta la temperatura, los estados se suceden con mayor velocidad. El estado huevo sólo se encontró a 30°C. El primer día en el que se halla un estado de desarrollo disminuye en relación con el aumento de la temperatura evaluada. La extensión con la que se colecta el estado larval (y sus estadios) es inversamente proporcional a la temperatura evaluada y la del estado de pupa es directamente proporcional (Figuras 14, 15, 16 y 17).

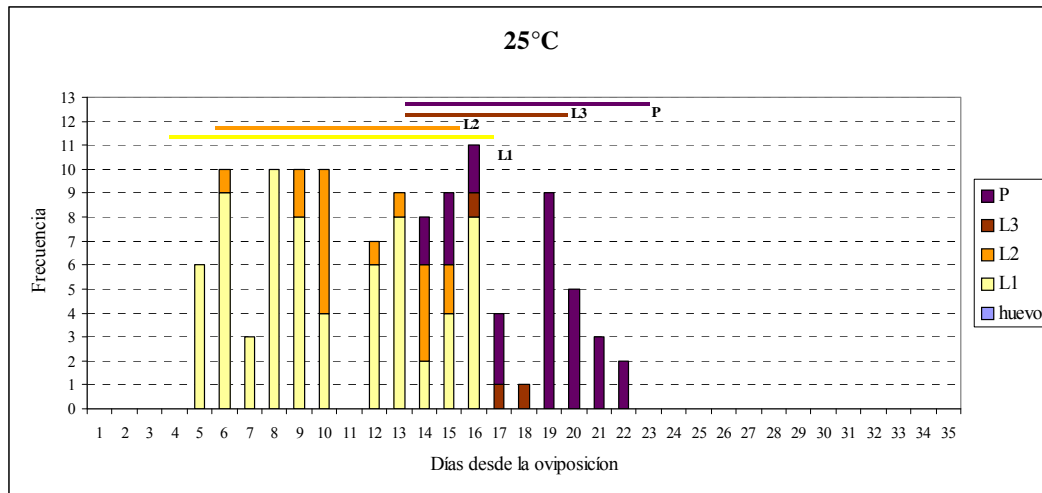


**Figura 14.** Sucesión de los estados de desarrollo de *C. flacilla* a 15°C, hallados por disección de larvas de mosca minadora parasitada.

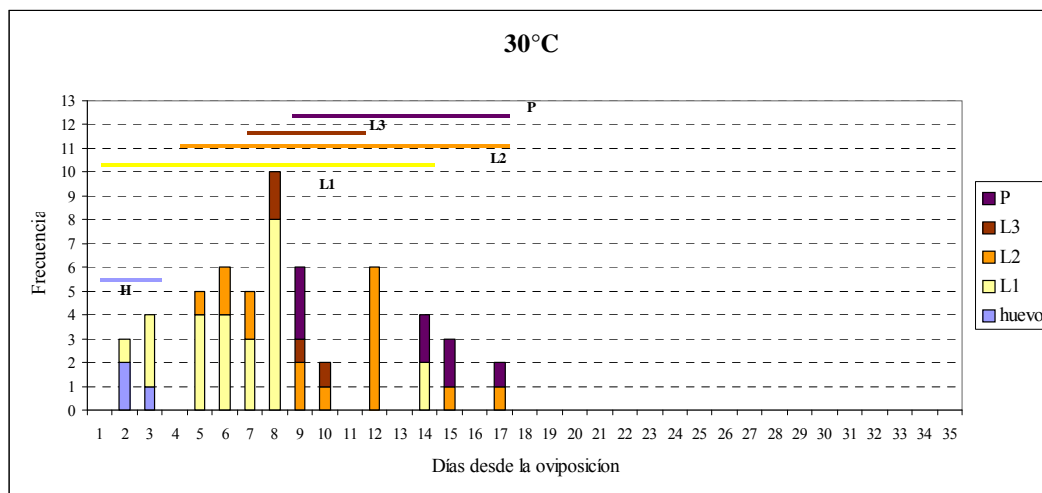


**Figura 15.** Sucesión de los estados de desarrollo de *C. flacilla* a 20°C, hallados por disección de larvas de mosca minadora parasitada.





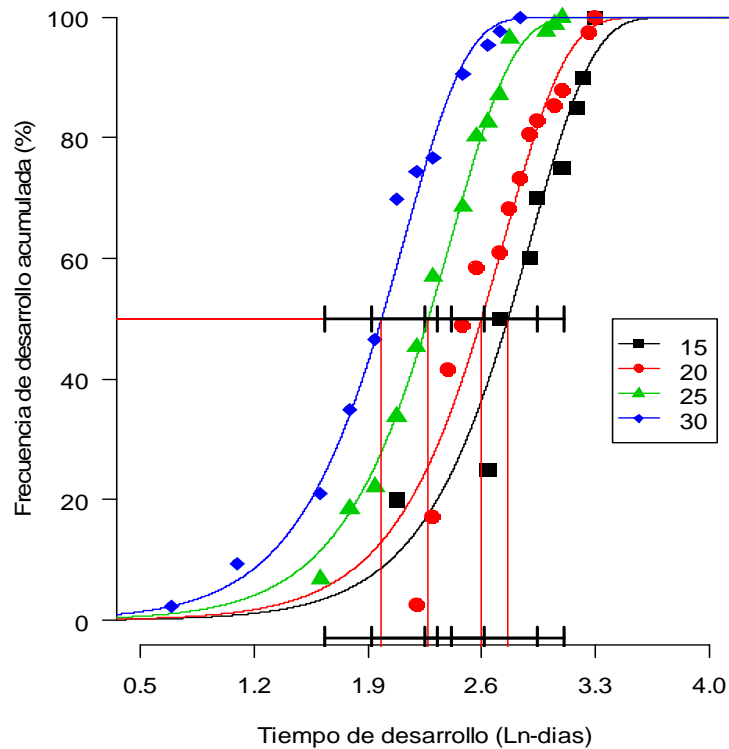
**Figura 16.** Sucesión de los estados de desarrollo de *C. flacilla* a 25°C, hallados por disección de larvas de mosca minadora parasitada.



**Figura 17.** Sucesión de los estados de desarrollo de *C. flacilla* a 30°C, hallados por disección de larvas de mosca minadora parasitada.

#### 4.2.2. Desarrollo de huevos

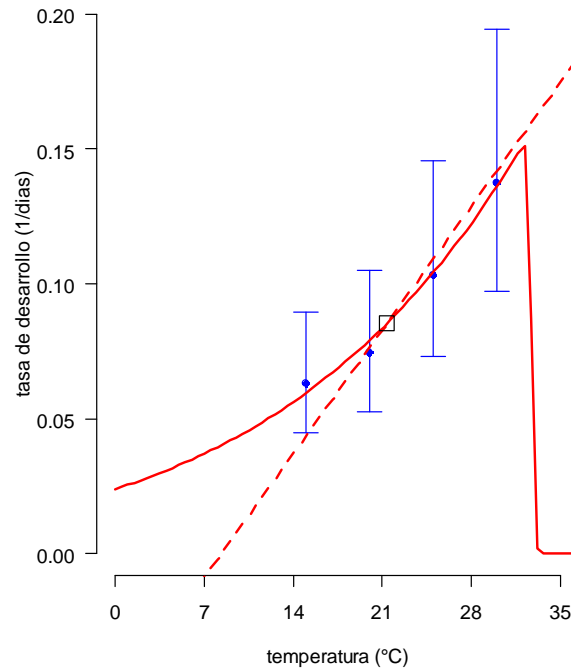
La Figura 18 muestra las curvas de distribución del desarrollo del estado de huevo a lo largo del tiempo (Ln-días) a las temperaturas de 15, 20, 25, y 30 °C. Las curvas y su pendiente común (slope =  $2.608 \pm 0.101$ ) han sido estimadas con la función complementaria cloglog, siendo altamente significativa ( $P < 0.001$ ).



**Figura 18.** Distribución de las frecuencias de desarrollo acumuladas del estado de huevo de *C. flacilla* (Líneas rojas: mediana y sus proyecciones en el eje X, Curvas: frecuencias esperadas usando los modelos Sharpe & DeMichele y cloglog)

Se observa que el tiempo del desarrollo decrece significativamente con el incremento de la temperatura, representado en la gráfica por las proyecciones de la mediana sobre el eje X, siendo sus valores estimados  $15.81 \pm 0.47$ ;  $13.44 \pm 0.53$ ;  $9.69 \pm 0.41$ ;  $7.27 \pm 0.30$ , para 15, 20, 25 y 30 °C, respectivamente. La variabilidad (SD y SE) del desarrollo también es inversamente proporcional, siendo menor a medida que aumenta la temperatura. Los valores estimados del tiempo mediano de desarrollo del huevo son menores a los valores observados promedio, debido a que los datos no se distribuyen homogéneamente en la curva, y sus valores se aproximan con el aumento de la temperatura.

Para hallar la tasa de desarrollo del huevo se utilizó el modelo de regresión no lineal Sharpe DeMichele, por ser el que mejor se adapta a los objetivos del estudio, a pesar de no ser significativo ( $P = 0.2319$ ) en el análisis ANVA.

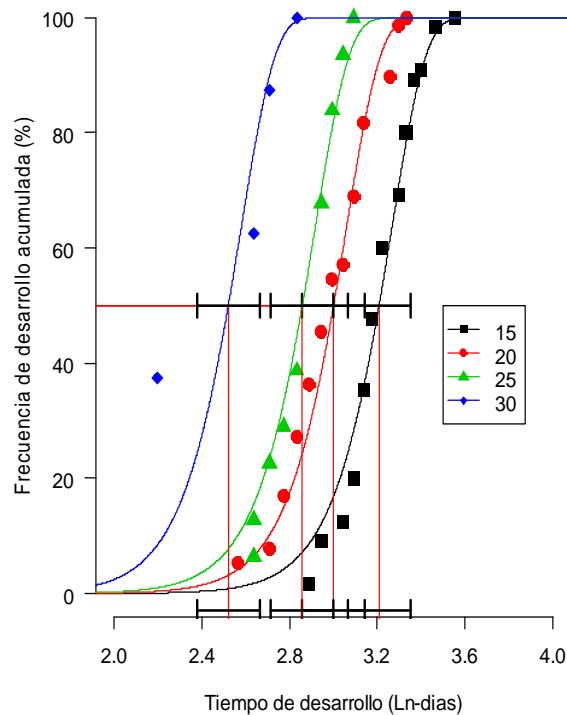


**Figura 19.** Tasa de desarrollo (días<sup>-1</sup>) dependiente de la temperatura del estado huevo de *C. flacilla*. (Barras azules: límites de confianza; línea roja: línea predicativa por el modelo de Sharpe & DeMichele).

Se observa que a la mayor temperatura evaluada (30°C) no se alcanza el máximo desarrollo; y por encima de esta temperatura se encuentra el punto de inflexión de la curva, que estima que el desarrollo tiene una brusca caída y vuelve a ser cero aproximadamente a 32.69°C. El umbral de temperatura mínima estimada fue de 8.35°C. La temperatura media óptima para el desarrollo de este estado es de 21.38°C. La variabilidad de los datos aumenta a medida que aumenta la temperatura (Figura 19).

### 4.2.3. Desarrollo de larvas

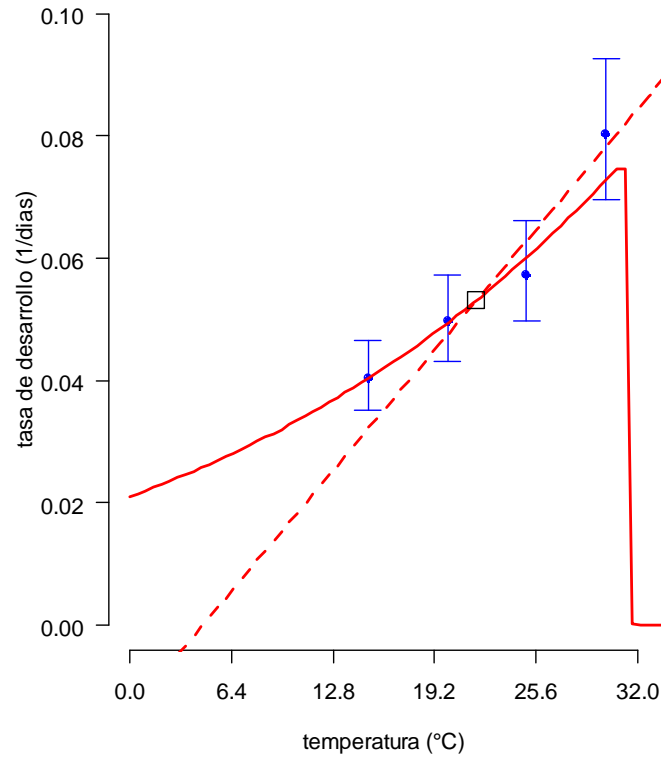
Las curvas de distribución del desarrollo del estado de larva a lo largo del tiempo a las temperaturas 15, 20, 25, y 30 °C, y su pendiente común (slope =  $6.39 \pm 0.25$ ) han sido estimadas con la función complementaria cloglog, siendo altamente significativa ( $P < 0.001$ ) (Figura 20).



**Figura 20.** Distribución de las frecuencias de desarrollo acumuladas del estado de larva de *C. flacilla* (Líneas rojas: mediana y sus proyecciones en el eje X, Curvas: frecuencias esperadas usando los modelos Sharpe & DeMichele y cloglog)

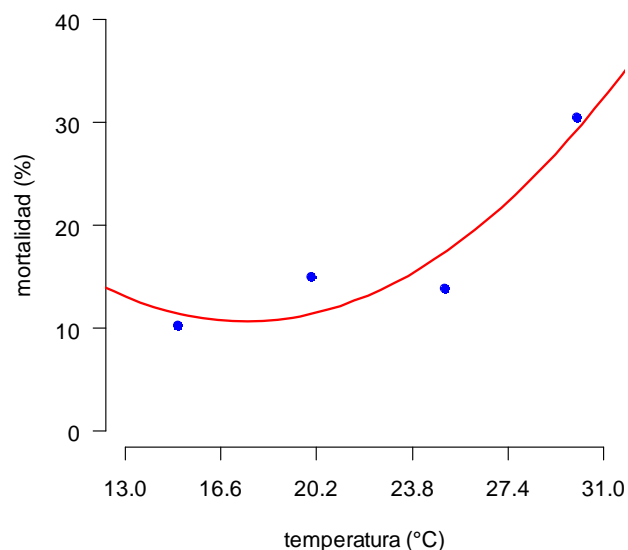
Se aprecia que el tiempo del desarrollo de las larvas decrece notoriamente con el incremento de la temperatura al igual que en el caso de los huevos pero con una mayor pendiente (Figura 20). El tiempo de desarrollo medio estimado (Ln-días) es  $24.71 \pm 0.39$  a  $15^{\circ}\text{C}$ ,  $20.10 \pm 0.35$  a  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $17.43 \pm 0.23$  a  $25^{\circ}\text{C}$ , y  $12.44 \pm 0.09$  a  $30^{\circ}\text{C}$ . La variabilidad disminuye con relación al aumento de la temperatura, y también lo hace con mayor énfasis que la del huevo. Los valores estimados del tiempo mediano de desarrollo de la larva son menores a los valores observados promedio, debido a que los datos no se distribuyen homogéneamente en la curva, y sus valores se aproximan con el aumento de la temperatura.

La tasa de desarrollo con respecto a la temperatura fue descrita significativamente por el modelo de regresión no lineal Sharpe DeMichel ( $P = 0.026$ ) en el análisis ANVA (Figura 21).



**Figura 21.** Tasa de desarrollo (días<sup>-1</sup>) dependiente de la temperatura del estado larva de *C. flacilla*. (Barras azules: límites de confianza; línea roja: línea predicativa por el modelo de Sharpe & DeMichele).

A la mayor temperatura evaluada 30°C no se supera el umbral máximo de desarrollo; siendo el punto de inflexión de la curva 31.37°C (umbral de temperatura máxima). La tasa máxima de desarrollo, es decir, la temperatura media óptima para el desarrollo de la larva es de 21.8°C. El umbral de temperatura mínimo fue de 4.58°C. La variabilidad de los datos aumenta a medida que aumenta la temperatura (Figura 21).



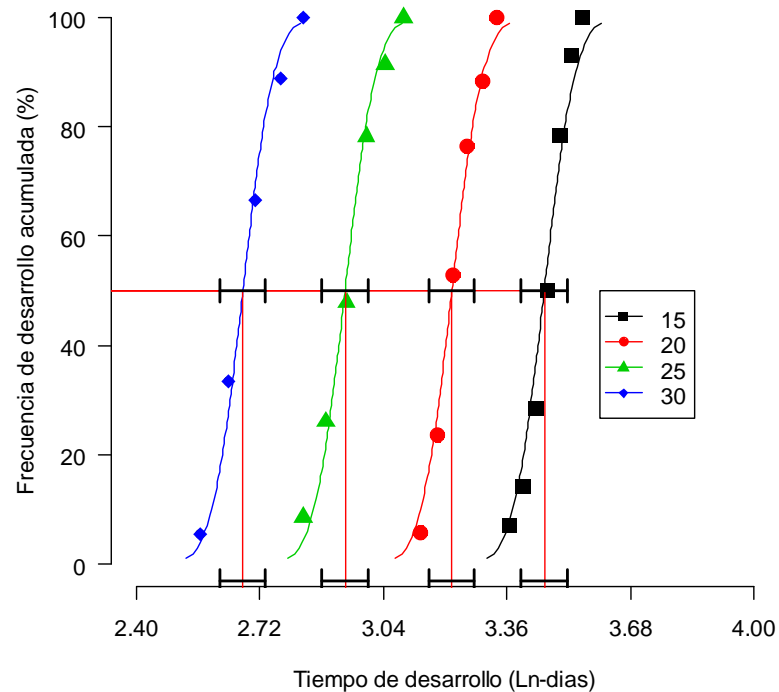
**Figura 22.** Porcentaje de mortalidad dependiente de la temperatura para el estado de larva de *C. flacilla*. (Puntos azules: datos observados; línea roja: línea de tendencia)

El porcentaje de mortalidad del estado de larva presenta una curva de tendencia típica en forma parabólica ( $0.0012T^2 - 0.04196T + 0.47388$ ), la cual en el análisis ANVA no es significativa ( $P = 0.338$ ) al no poder incluir una temperatura menor a  $15^{\circ}\text{C}$  (Figura 22). La temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$  fue la que generó mayor mortalidad observada, por ser una temperatura extrema; mientras que las temperaturas de  $15^{\circ}\text{C}$ ,  $20^{\circ}\text{C}$  y  $25^{\circ}\text{C}$  fueron las que generaron menor mortalidad observada. La mortalidad observada a las temperaturas de  $15^{\circ}\text{C}$ ,  $20^{\circ}\text{C}$  y  $25^{\circ}\text{C}$  no es afectada por estas, que presentan valores muy similares; pero en la estimación, la mortalidad a  $20^{\circ}\text{C}$  es menor y a  $25^{\circ}\text{C}$  es mayor a sus observados.



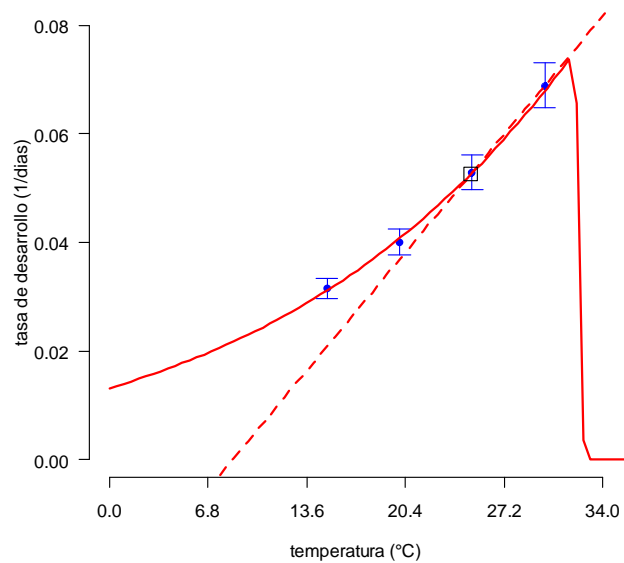
#### 4.2.4. Desarrollo de pupas

Las curvas de distribución del desarrollo del estado de pupa a lo largo del tiempo a las temperaturas evaluadas (Figura 23) y su pendiente común (slope =  $15.76 \pm 1.275$ ) han sido estimadas con la función complementaria probit, siendo altamente significativa ( $P < 0.001$ ).



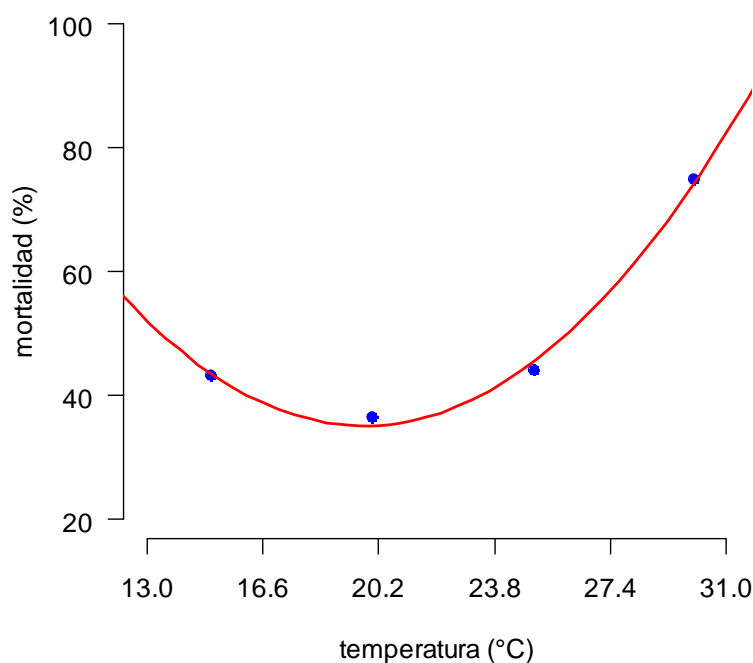
**Figura 23.** Distribución de las frecuencias de desarrollo acumuladas del estado de Pupa de *C. flacilla* (Líneas rojas: mediana y sus proyecciones en el eje X, Curvas: frecuencias esperadas usando los modelos Sharpe & DeMichele y probit)

Se observa que el tiempo del desarrollo de las pupas y su variabilidad decrecen con el incremento de la temperatura (Figura 23), siendo el tiempo de desarrollo medio estimado (Ln-días) de  $31.7 \pm 0.16$  a  $15^{\circ}\text{C}$ ,  $24.96 \pm 0.13$  a  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $18.93 \pm 0.11$  a  $25^{\circ}\text{C}$ , y  $14.53 \pm 0.09$  a  $30^{\circ}\text{C}$ . Los valores estimados del tiempo mediano de desarrollo de la pupa son menores a los valores observados promedio, debido a que los datos no se distribuyen homogéneamente en la curva, y sus valores se aproximan con el aumento de la temperatura.



**Figura 24.** Tasa de desarrollo ( $\text{días}^{-1}$ ) dependiente de la temperatura del estado pupa de *C. flacilla*. (Barras azules: límites de confianza; línea roja: línea predicativa por el modelo de Sharpe & DeMichele).

El modelo de regresión no lineal (Sharpe DeMichel) fue altamente significativo para describir la tasa de desarrollo con respecto a la temperatura ( $P < 0.001$ ). A la mayor temperatura evaluada (30°C), no se alcanza el máximo desarrollo (Figura 24); siendo el umbral de temperatura máxima 32.35°C (punto de inflexión de la curva). La temperatura media óptima estimada para el desarrollo de la pupa es 24.90°C, en la cual la tasa de desarrollo es máxima. El umbral de temperatura mínima estimada fue de 8.49°C. La variabilidad de los datos aumenta a medida que aumenta la temperatura.



**Figura 25.** Porcentaje de mortalidad dependiente de la temperatura para el estado de pupa de *C. flacilla*. (Puntos azules: datos observados; línea roja: línea de tendencia)

El porcentaje de mortalidad del estado de pupa presenta una curva de tendencia típica en forma parabólica (Figura 25), la cual en el análisis ANVA es significativa al 1% y cuya función es  $0.00374T^2 - 0.14765T + 1.80843$ . Siendo 10°C y 30°C las temperaturas que generan mayor mortalidad observada, 0.43 a 15°C y 0.74 a 30°C, por ser las temperaturas extremas evaluadas; mientras que 20°C y 25°C generan menor mortalidad observada, 0.36 y 0.44 respectivamente. La curva tiene mayor profundidad que la del estadio larval, siendo 20°C la temperatura de mayor porcentaje de supervivencia (1 menos porcentaje de mortalidad), lo que nos indica que la mortalidad del estado de pupa es más dependiente de la temperatura.

#### **4.3. Efecto de la temperatura en el adulto de *C. flacilla***

El estudio del efecto de la temperatura en el adulto de *C. flacilla* incluyó el análisis estadístico de los datos y sus valores estimados para la longevidad, la capacidad de reproducción y proporción sexual, así como observaciones de su comportamiento.

#### 4.3.1. Longevidad de adultos de *C. flacilla*

La longevidad de los adultos es inversamente proporcional a la temperatura, tal como en el caso de todos los estados inmaduros, a mayor temperatura menor será el tiempo de vida de este estado (Tabla 5).

**Tabla 5.** Longevidad de adultos de *C. flacilla* a diferentes temperaturas constantes

Temperatura °C	N (♀/♂)	Longevidad (días ± SE)	
		Hembra (*)	Macho (*)
10	(32/32)	31.88 ± 1.95 a <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	29 ± 1.68 a <sup>1</sup> A <sup>2</sup>
15	(33/33)	27.30 ± 0.69 b <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	24.73 ± 0.60 a <sup>1</sup> B <sup>2</sup>
20	(30/35)	22.10 ± 2.40 b <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	17.1 ± 1.54 b <sup>1</sup> A <sup>2</sup>
25	(35/35)	13.49 ± 1.50 c <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	11.03 ± 1.45 c <sup>1</sup> A <sup>2</sup>
30	(32/31)	5.03 ± 0.63 d <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	5.48 ± 0.73 d <sup>1</sup> A <sup>2</sup>

<sup>1</sup> promedios seguidos por la misma letra minúscula en la misma columna no son significativamente diferentes

<sup>2</sup> promedios seguidos por la misma letra mayúscula en la misma fila no son significativamente diferentes

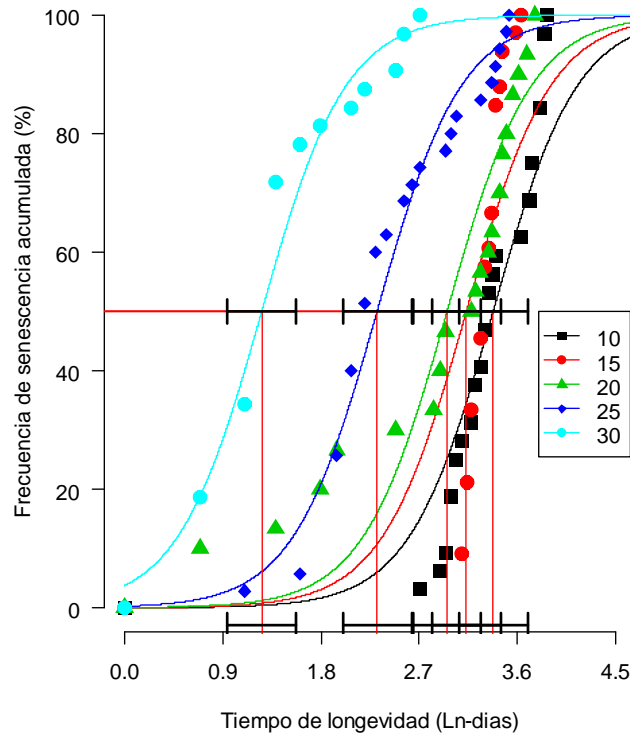
La longevidad de las hembras fue afectada por la temperatura, encontrando diferencias significativas entre los valores de su longevidad a todas las temperaturas,

excepto entre 15 y 20°C. Del mismo modo, en el caso de los machos se encontraron diferencias significativas entre todas las temperaturas, excepto entre 10 y 15°C ( $P < 0.05$  en prueba de Kruskal Wallis).

La longevidad de hembras y machos no tuvo diferencias significativas a cada una de las temperaturas evaluadas, a excepción de 15°C, temperatura en la cual si se diferenciaron ( $P < 0.05$  en prueba t). La hembra tuvo una mayor longevidad que el macho a 10, 15, 20 y 25 °C, mientras que el macho fue ligeramente más longevo a 30 °C (Tabla 5).

#### **4.3.1.1. Longevidad de los Adultos Hembra de *C. flacilla***

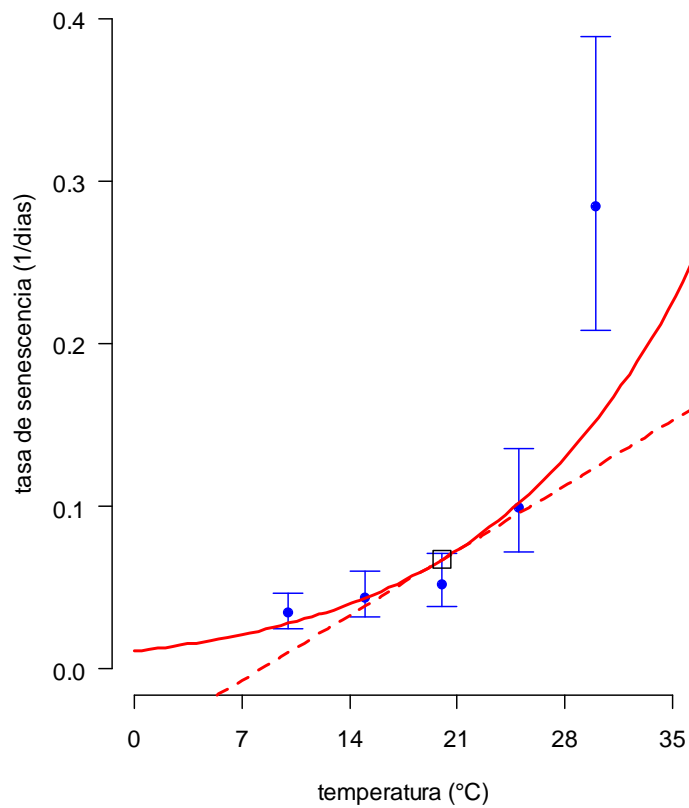
Las curvas de distribución de la longevidad o senescencia de la hembra a las temperaturas evaluadas (Figura 26) y su pendiente común ( $\text{slope} = 2.58 \pm 0.12$ ) han sido estimadas con la función complementaria logit, siendo altamente significativa ( $P < 0.001$ ). La longevidad de las hembras y su variabilidad decrecen con el incremento de la temperatura. Los valores estimados del tiempo mediano de senescencia ( $\text{Ln-días}$ )  $\pm$  su error estándar son  $29.27 \pm 1.24$  a 10°C,  $22.91 \pm 0.55$  a 15°C,  $19.19 \pm 0.95$  a 20°C,  $10.11 \pm 0.66$  a 25°C y  $3.52 \pm 0.26$  a 30°C, siendo todos estos menores a los de las medias observadas en la Tabla 4.



**Figura 26.** Distribución de las frecuencias de senescencia acumuladas para los adultos hembra de *C. flacilla* (Líneas rojas: mediana y sus proyecciones en el eje X, Curvas: frecuencias esperadas usando los modelos Sharpe & DeMichele y logit)

El modelo de regresión no lineal (Sharpe DeMichel) no fue significativo para describir la tasa de desarrollo con respecto a la temperatura ( $P = 0.1104$ ) en el análisis ANVA. La curva de tendencia al infinito de la Figura 27 se debe a que la mayor temperatura evaluada  $30^{\circ}\text{C}$  no se aproxima al umbral máximo de temperatura, siendo este el punto de inflexión de la curva que no aparece. La temperatura media óptima

estimada para la longevidad de la hembra es 19.99°C. La tasa de senescencia y la variabilidad de los datos aumentan exponencialmente a medida que aumenta la temperatura.

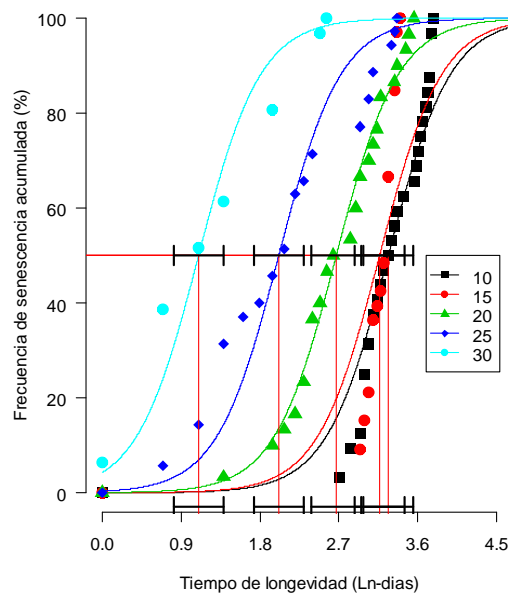


**Figura 27.** Tasa de senescencia ( $\text{días}^{-1}$ ) dependiente de la temperatura de los adultos hembra de *C. flacilla*. (Barras azules: límites de confianza; línea roja: línea predicativa por el modelo de Sharpe & DeMichele).



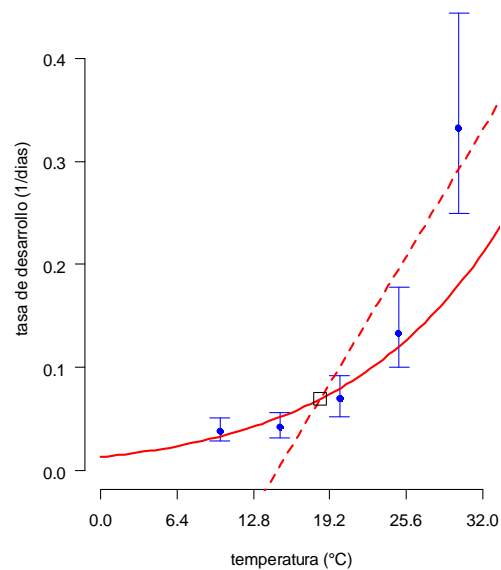
#### 4.3.1.2. Longevidad de los Adultos Macho de *C. flacilla*

Las curvas de distribución de la longevidad o senescencia del macho a las temperaturas evaluadas (Figura 28) y su pendiente común (slope =  $2.829 \pm 0.13$ ) han sido estimadas con la función complementaria logit, siendo altamente significativa ( $P < 0.001$ ). La longevidad de los machos y su variabilidad decrecen con el incremento de la temperatura, siendo el tiempo mediano de senescencia estimado (Ln-días)  $\pm$  su error estándar  $26.15 \pm 1.025$ ,  $23.68 \pm 0.45$ ,  $14.44 \pm 0.78$ ,  $7.5 \pm 0.61$ , y  $3.005 \pm 0.28$  a  $10^\circ\text{C}$ ,  $15^\circ$ ,  $20^\circ\text{C}$ ,  $25^\circ\text{C}$  y  $30^\circ\text{C}$  respectivamente. Todas las medianas estimadas son menores a las medias observadas en la Tabla 4.



**Figura 28.** Distribución de las frecuencias de senescencia acumuladas para los adultos macho de *C. flacilla* (Líneas rojas: mediana y sus proyecciones en el eje X, Curvas: frecuencias esperadas usando los modelos Sharpe & DeMichele y logit)

El modelo de regresión no lineal Sharpe DeMichel fue significativo para describir la tasa de senescencia con respecto a la temperatura al 1% en el análisis ANVA. A la mayor temperatura evaluada 30°C el umbral máximo desarrollo estimado no esta próximo pues la curva no presenta punto de inflexión (Figura 29). La temperatura media óptima estimada para la senescencia del macho es 18.39°C. La variabilidad de los datos, al igual que la tasa de desarrollo, aumenta a medida que aumenta la temperatura.



**Figura 29.** Tasa de senescencia ( $\text{días}^{-1}$ ) dependiente de la temperatura de los adultos macho de *C. flacilla*. (Barras azules: límites de confianza; línea roja: línea predictiva por el modelo de Sharpe & DeMichele).

#### 4.3.2. Capacidad de reproducción y proporción sexual de *C. flacilla*

Los datos promedio de fecundidad por hembra, oviposición por día, pico de oviposición y proporción sexual de *C. flacilla* son influenciados a las cinco temperatura evaluadas (Tabla 6). La temperatura influyó en la capacidad de reproducción, pues a 10°C, a pesar de ser la temperatura de mayor longevidad para las hembras, no existió evidencias de oviposición.

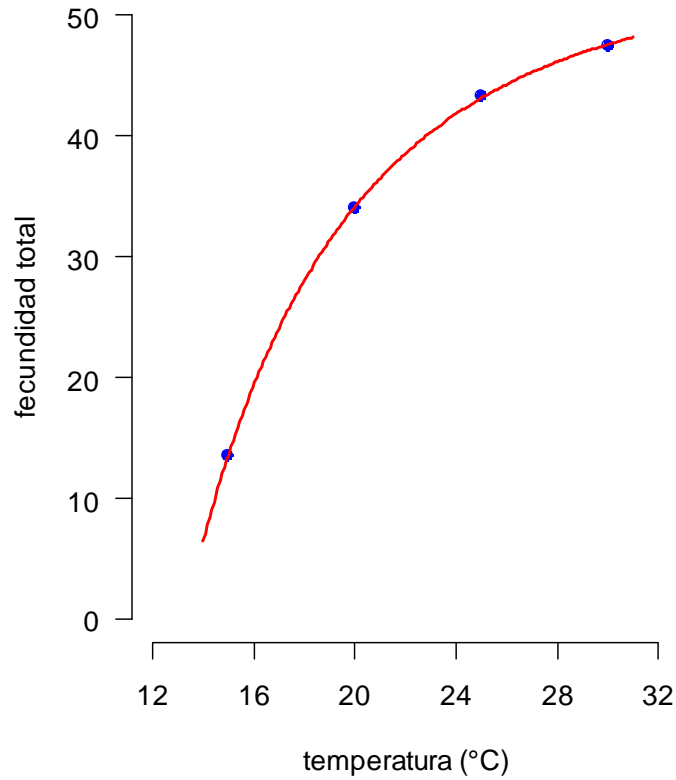
**Tabla 6.** Fecundidad y Oviposición de *C. flacilla* a distintas temperaturas

Temperatura °C	N	Fecundidad (huevos/hembra) (*)	Oviposición Media (huevos/día)	Pico de oviposición	
				Nº de huevos	Día
10	32	0	0	0	-
15	33	13.59 ± 1.53 b	0.29	2	1
20	30	34 ± 3.05 a	1.17	3.81	1
25	35	43.34 ± 4.64 a	2.29	6.83	1
30	32	47.52 ± 8.54 a	7.09	10	2

(\*) promedios ± error estándar, seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes.

La **fecundidad** expresada en cantidad total de huevos puestos por hembra disminuye significativamente a medida que disminuye la temperatura ( $P < 0.05$ ). La menor fecundidad observada se dio a 15°C con 13.6 huevos por hembra, mientras que a 20°C, 25°C y 30°C las fecundidades observadas fueron similares 34, 43.3 y 47.5 (huevos por hembra) respectivamente (Tabla 6).

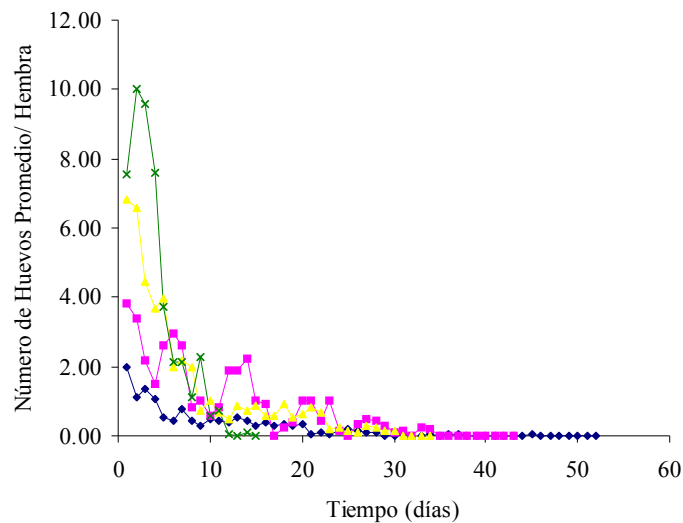
La estimación de la tasa de fecundidad total (huevos/hembra) respecto a la temperatura fue descrita con alta significancia ( $P < 0.001$ ) por la función de polinómica  $-11085.1/T^2 + 0.19434T + 65.74404$  (Figura 30). Se observa que la curva se ajusta muy bien a los datos, siendo los valores estimados próximos a los observados. La tasa máxima de oviposición estimada es 47.60 a 30°C y la tasa mínima estimada es 13.56 a 15°C, las tasa medias fueron 34.14 a 20°C y 43.15 a 25°C. La curva no tiene forma de parábola invertida debido a que la tasa de fecundidad a la mayor temperatura evaluada no alcanza su valor máximo (punto de inflexión).



**Figura 30.** Fecundidad total (Número promedio de huevos) de hembras de *C. flacilla* a temperaturas constantes. (Símbolos = datos observados, línea roja = línea predictiva)

La **oviposición media** (número promedio de huevos por día), también tiene una relación directamente proporcional al aumento de la temperatura (Tabla 6). El menor valor de esta corresponde a la menor temperatura en la que ocurre oviposición, 15°C; mientras que el mayor se da a los 30°C, siendo esta la mayor temperatura evaluada. La tasa de oviposición esta relacionada a la longevidad de las hembras, por ello el aumento de esta tasa es exponencial, tal como la longevidad de las hembras.

El ritmo de oviposición promedio observado (Figura 31) muestra un comportamiento similar para todas las temperaturas, dándose la mayor oviposición en los primeros días de la vida de la hembra. La curva de menor extensión en el tiempo y mayor acumulación de frecuencia es la de 30°C (la mayor temperatura evaluada); y la de mayor extensión en el tiempo y menor acumulación de frecuencias es la de 15°C (la menor temperatura evaluada).



**Figura 31.** Ritmo de oviposición diario por hembra de *C. flacilla*. (Símbolos: datos observados)

El pico de oviposición, en número de huevos, tiene valores mayores a mayores temperaturas, pero ocurre siempre en los primeros días de vida de la hembra, sin importar la temperatura (Tabla 6). El número de huevos (pico de oviposición) más alto de todas las temperaturas corresponde a 30°C y es cinco veces mayor al de 15°C,

siendo este el valor menor. El día pico de oviposición es el primer día para 10, 15, 20, y 25°C, mientras que, para 30°C es el segundo día.

Los periodos de pre-oviposición, oviposición y post-oviposición también son afectados significativamente por la temperatura (Tabla 7). El periodo de pre-oviposición es menor a 1 día, para todas las temperaturas a excepción de 15°C. A 15°C se da el valor más alto, seguido por 20 °C y 30°C, por otro lado el menor valor se da a 25°C. El periodo de oviposición es menor a 30°C, seguido por 15°C, mientras que la temperatura que abarco un mayor periodo de oviposición fue 20°C. El periodo de post-oviposición decrece con el aumento de temperatura, es muy alto a 15°C durando más de dos semanas y es muy bajo a 30°C siendo menor al día (P<0.05).

**Tabla 7.** Etapas del periodo de la oviposición de *C. flacilla*

Temperatura °C	N	Periodo de oviposición (días)		
		Pre-	Oviposición	Post-
15	33	1.56 ± 0.39 a	9.59 ± 1.65 a	17.38 ± 1.82 a
20	30	0.81 ± 0.33 b	17.52 ± 2.05 ab	4.13 ± 0.79 b
25	35	0.23 ± 0.09 bc	11.31 ± 1.50 b	1.943 ± 0.28 b
30	32	0.61 ± 0.14 c	4 ± 0.62 c	0.55 ± 0.16 c

(\*)promedios ± error estándar seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes

La proporción sexual de la progenie de *C. flacilla* es la más afectada por la temperatura. A mayor temperatura emerge un mayor número de machos, mientras que, a menor temperatura emerge mayor número de hembras (Tabla 8). A 15°C y 20°C de temperatura la dominancia de progenie hembra es notoria, a 25°C la proporción sexual es dominada por las hembras, pero en número no tan elevado, mientras que a 30°C el ratio sexual es favorable para los machos.

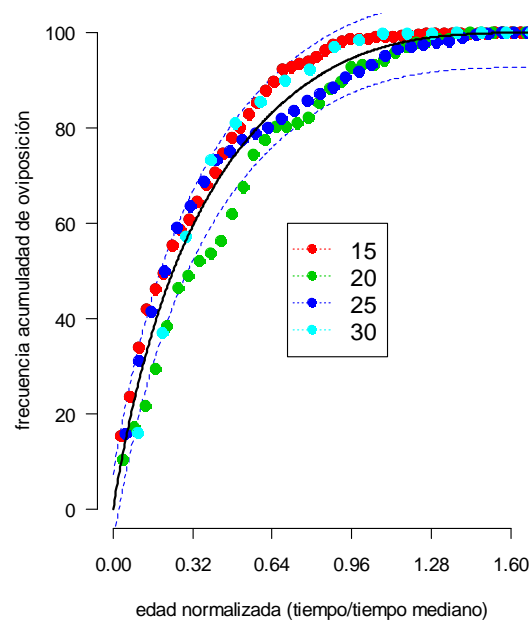
**Tabla 8.** Proporción sexual de *C. flacilla* a distintas temperaturas

Temperatura °C	Proporción sexual (♀:♂)	Probabilidad de Progenie Hembra	Probabilidad de Progenie Macho
10	-	-	-
15	434.0 : 1	0.998	0.002
20	147.5 : 1	0.993	0.007
25	11.76 : 1	0.922	0.078
30	0.18 : 1	0.153	0.847

El modelo de regresión no lineal describió con alta significancia la frecuencia acumulada de oviposición ( $P < 0.001$ ). Se observa que a edad normalizada (edad



entre edad mediana), los valores ploteados de la frecuencia de oviposición para todas las temperaturas, caen dentro de los límites de confianza; a excepción de algunos valores intermedios de 20°C (Figura 32). Las temperaturas extremas de 15°C y 30°C muestran una tendencia similar, en la que las hembras más jóvenes ovipositan más. 25°C sigue esta tendencia hasta el 80% de las observaciones, luego sigue la tendencia de los 20°C (las hembras ovipositan más a mayor tiempo de vida).



**Figura 32.** Frecuencia de oviposición acumulada por edad normalizada de hembra de *C. flacilla*. (Símbolos: datos observados, Línea punteada: límites de confianza)

### **4.3.3. Observaciones sobre el comportamiento de los Adultos de *C.***

#### ***flacilla***

##### **4.3.3.1. Emergencia de los adultos**

Los adultos de *C. flacilla* ya formados dentro de su pupario rompen este y permanecen dentro del pupario de *L. huidobrensis* por un periodo mientras se termina el proceso de esclerotización que sufrió la pupa, luego emergen del pupario de la mosca en las horas de luz. El adulto del parasitoide rompe con sus mandíbulas el pupario de la mosca, en la fisura transversal de la parte anterior de la pupa, que abarca los primeros cuatro segmentos. Inicia la emergencia sacando la cabeza y luego las patas anteriores, con las cuales camina tratando de deshacerse del pupario de mosca en el que esta aún inmerso. Luego de haber logrado sacar su tórax, patas medias y posteriores, y abdomen, culmina la emergencia desprendiendo el pupario y restos de este de sus alas. La actividad en la emergencia es intermitente y puede durar sólo unos minutos o algunas horas, dependiendo de la temperatura. Inmediatamente después de la emergencia el adulto se alimenta; y tras un corto periodo o inmediatamente después se produce el apareamiento.

#### **4.3.3.2. Comportamiento de apareo**

En presencia de una o más hembras, el macho camina rápidamente con un zigzaguo detrás de una hembra, haciendo vibrar sus alas. Cuando logra alcanzarla, toca con sus antenas las de la hembra, luego de este contacto, la sostiene con sus mandíbulas por la intersección de la cabeza y el tórax de esta. Una vez la tiene dominada, ocurre la cópula, el macho y la hembra arquean sus abdómenes, para lograr que el aedeagus del macho haga contacto con el extremo posterior ventral medio de la hembra, dónde se encuentra el ovipositor. Durante al apareamiento, ambos individuos permanecen quietos, luego se separan. El macho se retira y busca a otra hembra. En algunos casos se puede observar que el macho es tan agresivo durante la excitación que logra matar a la hembra decapitándola.

#### **4.3.3.3. Comportamiento de oviposición**

Cuando la hembra de *C. flacilla* camina sobre una hoja de haba *V. faba* infestada con larvas de mosca minadora *L. huidobrensis*, y encuentra una mina, acerca sus antenas y realiza rápidos toques sobre la hoja para seguir el camino de la mina. La hembra examina la hoja, camina dando vueltas, en un sentido y otro de la mina, mientras que continua palpando con sus antenas. Cuando encuentra la larva se detiene y clava su ovipositor, una o más veces en una misma larva para asegurarse de contactar a la larva hospedera. Una vez asegura al hospedero, procede a ovipositar, la

oviposición toma entre 2 a 15 segundos regularmente, pero puede durar varios minutos en los cuales la hembra queda paralizada realizando suaves toques a la mina con sus antenas. Finalizada la oviposición, la hembra continúa el palpado de la hoja en busca de otras larvas hospederas, pudiendo parasitar más de una vez la misma larva, sin que esto dañe al hospedero o a los otros huevos antes depositados.

#### **4.3.3.4. Partenogénesis**

Durante el mantenimiento de la crianza masal del parasitoide, se observó que las hembras vírgenes de *C. flacilla* en presencia de hojas de *V. faba* infestada con larvas de *L. huidobrensis* realizaban el comportamiento de oviposición antes descrito. Se procedió a aislar hembras recién emergidas para que no tuviesen contacto con ningún macho, y se las colocó en una jaula de crianza a 20°C, tal como se describe en la metodología. El resultado la oviposición fue una progenie 100% hembra, y así se mantuvo durante todas las generaciones que se sucedieron durante el periodo de experimentación. Las hembras de estas progenies al ser cruzadas con machos, en los ensayos a distintas temperaturas sobre la capacidad de reproducción y proporción sexual, produjeron prole tanto hembra como macho.

#### 4.3.3.5. Comportamiento diapausal

Del ensayo sobre la capacidad de reproducción y proporción sexual de *C. flacilla* en cada temperatura, se obtuvieron datos adicionales sobre esta especie. Veinte días después del último día de emergencia de los adultos de los parasitoides, se procedía a contar las pupas de *L. huidobrensis* y diferenciando las llenas de las vacías. Para ello se disectaron las pupas. En todas las repeticiones de cada una de las temperaturas se observó que una cantidad de las pupas de mosca contenían estados inmaduros de *C. flacilla* vivos, en estado latente de desarrollo, es decir en estado diapausal. El 0.29% y el 0.17% de las pupas de mosca minadora parasitada a 20°C y 25°C, respectivamente, se encontraron en diapausa. La mayor parte de estos ejemplares diapausales eran pupas, pero también se encontró larvas en tercer estadio.

## CAPÍTULO V

### DISCUSION

#### 5.1. Morfología de los estados de desarrollo de *C. flacilla*

En este estudio se describe a todos los estados del ciclo de vida de *C. flacilla*, y también a sus estadios larvales. Según Clausen (1962) y Steinhaus *et al.* (1985) por lo menos el primer y el último estadio larval deben ser descritos en cualquier estudio biológico, pues estos estadios ofrecen las mejores pistas sobre la naturaleza y tipo de parasitoide.

*C. flacilla* es endopterigoto holometábolo, como lo son generalmente los endoparasitoides, pues atraviesa los estados de huevo, larva, pupa y adulto. Al igual que la mayoría de los Eulophidae no forma cocon (Clausen, 1962; Steinhaus *et al.*, 1985; Yacer, 2005).

El huevo de los Eulophidae suele ser elongado oval (Yacer, 2005). Las larvas de los Chalcidoidea usualmente son hymenopteriformes. El número de estadios larvales de los Eulophidae endoparasitoides comúnmente es de tres a cinco (Clausen, 1962), siendo tres para *C. flacilla*. La mejor evidencia del número de estadios larvales es el número de diferentes sets de mandíbulas encontradas durante el desarrollo larval

(Clausen, 1962; Steinhaus *et al.*, 1985), por ello se uso esta técnica para contrastar los resultados obtenidos mediante la diferenciación por la morfología externa

Estudios realizados por Van Der Linden (1989) reconoce los estados inmaduros de *Chrysocharis oscinidis* (Ashmead) y establecen similitudes con los estados de desarrollo de *C. flacilla* descritos en este documento. El huevo de *C. oscinidis* es casi cilíndrico con una pequeña proyección en un extremo, es de color blanco. Su embrios es traslúcido, difícilmente diferenciable en el interior del huevo. La larva de *C. oscinidis* es traslúcida, sus mandíbulas no tienen coloración y la cápsula cefálica es flexible con relación al cuerpo.

## **5.2. Efecto de la temperatura en el desarrollo de los estados inmaduros de *C.***

### ***flacilla***

El presente estudio provee información sobre el efecto de un amplio rango de temperaturas constantes sobre el desarrollo de *C. flacilla* criada en *L. huidobrensis* en plantas de *V. faba*, mostrando que a mayor temperatura menor es el tiempo de desarrollo de los estados inmaduros, y que este factor también tiene efecto en su mortalidad. Estudios sobre el efecto de la temperatura en el desarrollo de otros *Chrysocharis* establecen la misma tendencia (Hondo *et al.*, 2006; Baeza *et al.*, 2007; Christie y Parella, 1987).

Hondo *et al* (2006) encuentra que el tiempo de desarrollo total de *Chrysocharis pentheus* (Walker) decrece con el aumento de la temperatura, usando *Liriomyza trifolii* como hospedero. El desarrollo se ve muy retrasado a 15°C, temperatura a la cual el tiempo de desarrollo es más del doble del correspondiente a 25°C. Las diferencias en el tiempo de desarrollo a cada temperatura son significativas a 15°C, 20°C y 25°C en las hembras y a 15°C y 20°C en los machos, temperaturas mayores no mostraron diferencias significativas.

Baeza *et al* (2007) evalúa el efecto del fotoperiodo y la temperatura en el desarrollo de *Chrysocharis pubicornis* (Zetterstedt), cuando *Chromatomyia horticola* es su hospedero, hallando que el tiempo de desarrollo de cada uno de los estados es inversamente proporcional a la temperatura. Para *C. pubicornis* el tiempo de desarrollo desde el estado de huevo hasta la emergencia del adulto macho y hembra fueron de 17 días a 25°C, 24 y 25 días a 20°C y 38 días a 15°C. El tiempo de desarrollo total de los machos de *C. pubicornis* es significativamente diferente al de las hembras, los machos emergen antes.

Christie y Parella (1987) encuentran que el tiempo de desarrollo de *Chrysocharis parksi* (Crawford), con *L. trifolii* como su hospedero, disminuye significativamente a medida que aumenta la temperatura de 21°C a 27°C, y se mantiene similar entre 27°C y 32°C. El periodo de desarrollo de hembras y machos no difiere, siendo de 23 días a 21°C, 14.5 días a 27°C y 14 días a 32°C.



Otro método de estimación del efecto de la temperatura son los días grados o constante térmica. Para completar el desarrollo hembras y machos de *C. pentheus* los días grados es de 270.3 y 256.4 respectivamente (Hondo, 2006), mientras que los estudios de *C. pubicornis* (Baeza, 2007) estimaron a 307.5 los días grados para el desarrollo de hembras y 297.4 los días grados para el desarrollo de machos.

El umbral de temperatura mínima necesaria para el desarrollo puede ser calculado para cada estado de desarrollo o se puede hallar para el periodo de desarrollo completo desde la oviposición hasta la emergencia del adulto. En este estudio se estimaron ambos. Hondo (2006) halló el umbral de desarrollo completo de los machos de *C. pentheus* a 6.7°C y el de las hembras a 6.8°C. Baeza (2007) estimó el umbral de desarrollo por estados y en total de *C. pubicornis*, hallando los umbrales de 7.2°C y 7.4°C para huevos – larvas machos y hembras respectivamente, 7.8°C y 7.0°C para pupas machos y hembras respectivamente y finalmente 7.4°C para los machos y 7.2°C para las hembras.

La estimación de los umbrales de temperatura mínima teórica para el desarrollo de las hembras y de los machos en este estudio fueron 9.63 y 8.25°C respectivamente, siendo ambos menores a la menor temperatura evaluada (10°C), lo que nos indica que a la menor temperatura evaluada debería darse la emergencia de

adultos y hembras de *C. flacilla*. El umbral estimado puede diferir del umbral observado, debido a la forma sigmoidea de la curva y al modelo de predicción que se use (Minkenberg, 1990; Mostafa *et al*, 2006). Por ello, para este estudio el modelo de regresión no es útil en la estimación del umbral de temperatura mínima.

La mortalidad de los estados inmaduros de *C. flacilla* también fue evaluada, encontrando que la pupa es el estado con mayor mortalidad; carácter compartido por *C. pentheus* que a temperaturas sobre los 33°C tiene una mortalidad muy alta en el periodo anterior a la eclosión (Hondo, 2006).

### **5.3. Efecto de la temperatura en el adulto de *C. flacilla***

En este trabajo la longevidad de hembras y la de machos son afectadas por la temperatura de manera significativa, mientras que la comparación de la longevidad de hembra y macho sólo muestra diferencias significativas a 15°C. Christie y Parella (1987) evaluaron el efecto de la temperatura en la longevidad de *C. paksi*, encontrando un efectos similar al hallado en *C. flacilla*. La temperatura afecta tanto la longevidad de hembras como la de los machos, sin que estas difieran significativamente entre si a cada temperatura evaluada. Hondo (2006) halló que la longevidad de *C. pentheus* es significativamente menor con el aumento de la temperatura, a 15°C es 22 días, a 20°C es 17 días, a 25°C es 10 días, y a 30°C es 2

días. Otros seis eulophidos evaluados en el mismo estudio comparten la misma tendencia.

La capacidad de oviposición de *C. flacilla* es menor a la encontrada en los estudios de Christie y Parella (1987), quienes obtienen que para *C. parksi*, la fertilidad media es de 135 (huevos/hembra) y la oviposición media por día es 11.4 a 27°C. A esta temperatura la proporción sexual fue próxima a 1:1. Además se pudo apreciar que el adulto de esta especie, no sólo parasitó larvas de *Liriomyza trifolii*, también las depredó, aumentando su mortalidad en 11%.

La partenogénesis de *C. flacilla* parece ser de tipo telitoquia, pero existen factores externos, como la temperatura, el hospedero, entre otros; que pueden determinar la proporción sexual de la progenie que emerge exitosamente proveniente de hembras vírgenes de *C. flacilla*. La temperatura puede determinar el sexo de la progenie que logra la emergencia, este efecto discriminador lo nota Hondo *et al* (2006) quien reportó que a 30°C no emergen hembras de *Diglyphus minoens* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae).

Gauld *et al.* (1988) describen el comportamiento típico de partenogénesis arrenotoquia de los Chalcidoidea parásitos. Las hembras vírgenes de *Melittobia acasta* Balfour-Browne (Eulophidae), ovipositan huevos no fecundados, que

desarrollarán en machos, con los que se cruzaran, para lo cual, esperan a la emergencia de su progenie o la aceleran.

La diapausalidad de *C. flacilla* es un fenómeno registrado por Redolfi *et al* (1985) y Mujica y Cisneros (1994). Este fenómeno puede deberse a factores como temperatura, fotoperiodo y humedad entre otros.

Baeza *et al* (2007) observa que, en el comportamiento diapausal de *C. pubicornis*, el desarrollo de las larvas se suprime después de que la larva consume todo el tejido hospedero.

El fotoperiodo y la temperatura tienen un efecto altamente significativo en la inducción de la diapausa larval de *C. pubicornis*. A 15°C y un fotoperiodo de 12:12 el rango diapausal fue de 0%, a 25°C y un fotoperiodo de 16:8 el rango diapausal es de 75%. El fotoperiodo crítico es de 12 a 14 h, en el cual 50% de los individuos entra en diapausa (a 25°C) (Baeza *et al*, 2007).

En general, la temperatura afecta todos los aspectos del ciclo de vida de *C. flacilla*, por ello, la temperatura (entre otras condiciones climáticas) afecta la distribución espacial y temporal de esta especie.

#### 5.4. Temperatura en las zonas de distribución de *C. flacilla*

*C. flacilla* se encuentra en casi toda el litoral peruano, teniendo una abundancia de 95.4% del total capturado, sólo en la costa sur (Arequipa, Moquegua y Tacna), regiones en las que *L. huidobrensis* es la especie de Agromyzidae más importante y cuyas temperaturas promedio oscilan entre 22.65 y 14.2; 23.8 y 15.3; 22.9 y 12.65 respectivamente. Las abundancias difieren entre estaciones; en invierno es de 93.8% cuando las temperaturas máxima y mínima son 20.5°C y 11.1°C y en otoño es de 97.9% cuando estas son 25.7°C y 17°C. *C. flacilla* también puede hallarse en zonas altoandinas como en el valle del Río Mantaro (Mujica *et al.*, 2006).

Neder de Roman (1986) describe la ocurrencia de *C. flacilla* en los Andes Argentinos, que se caracterizan por un clima cálido, con una temperatura promedio de 18-20°C (máximo 30°C y mínimo 4°C). Sobre la distribución de las poblaciones naturales de *C. flacilla* en áreas urbanas, cultivadas y naturales en Argentina, no se han encontrado diferencias significativas en el promedio de parasitismo causado por *C. flacilla* (Salvo *et al.*, 2005).

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

#### **6.1. Morfología de los estados de desarrollo de *C. flacilla***

*C. flacilla* atraviesa cuatro estados de desarrollo que se suceden dentro de su hospedero *L. huidobrensis* y cuyas medidas biométricas pueden servir para la diferenciación de estados. Los estadios de desarrollo larval de *C. flacilla* son diferenciables morfológicamente. Este endoparasitoide posee las características típicas de los estadios de desarrollo de un Chalcidoidea.

#### **6.2. Efecto de la temperatura en el desarrollo de los estados inmaduros de *C. flacilla***

La temperatura es un factor que afecta el desarrollo de los estados inmaduros de *C. flacilla*, disminuyendo el tiempo de desarrollo de un estado y acelerando la sucesión del siguiente. Cada estado inmaduro es más susceptible que el estado anterior, siendo el estado de pupa el más afectado por la temperatura.

El modelo no lineal Sharpe De Michelle fue efectivo para la estimación de la mediana del tiempo de desarrollo para todos los estados de *C. flacilla* con lo cual se

puede estimar el comportamiento de los estados de desarrollo del parasitoide a otras temperaturas.

Los umbrales de temperatura de cada uno de los estados del ciclo de desarrollo y del adulto de *C. flacilla* difieren entre sí. El umbral de temperatura mínima de todos los estados fue inferior a 10°C, a pesar de ello no existió desarrollo ni emergencia de *C. flacilla* a esta temperatura, lo que posiblemente se debe a la mortalidad del hospedero.

La mortalidad de *C. flacilla* es dependiente de la temperatura y afecta más al estado de pupa.

### **6.3. Efecto de la temperatura en el adulto de *C. flacilla***

La longevidad de hembras y machos de *C. flacilla* es similar, en cada una de las temperaturas evaluadas. Las temperaturas altas son las que tienen un mayor efecto en la senescencia de los adultos.

Las medianas estimadas de longevidad de hembras y machos son menores a las medias observadas pues la distribución de los datos no es homogénea en las curvas, pero esta curva puede predecir la longevidad de un adulto de *C. flacilla*.

La temperatura tiene un marcado efecto en la fecundidad y la proporción sexual de la progenie del parasitoide *C. flacilla*.

Los periodos de pre oviposición, oviposición y post oviposición también son afectados por la temperatura, pues estos periodos tuvieron una amplitud significativamente mayor a la menor temperatura en la que ocurrió parasitismo.

La mayor tasa de oviposición de *C. flacilla* se obtiene a la mayor temperatura evaluada, pero la proporción sexual a esta temperatura favorece a los machos, por lo que esta temperatura no es la más apropiada para la reproducción de esta especie.

La temperatura más adecuada para reproducir *C. flacilla* es 25°C, por tener una mayor capacidad de oviposición, presentar un corto periodo de pre y post oviposición, y un ratio sexual de 92% hembras por progenie.

El adulto de *C. flacilla* presenta un comportamiento de emergencia de adultos, oviposición y apareo típico de los Chalcidoidea parasíticos.

La partenogénesis de *C. flacilla* es de tipo telitokia por producir sólo hembras en su prole, pero el efecto de la temperatura en el ratio sexual de la progenie puede ser la influencia que determino esta proporción.



*C. flacilla* es un parasitoide con comportamiento diapausal.

## RECOMENDACIONES

Extender el rango de temperaturas evaluadas con temperaturas intermedias a las de estos ensayos (12.5 °C, 17.5 °C, 22.5 °C y 27.5 °C) y a temperaturas superiores a los 30°C.

Realizar una confirmación del número de estadios larvales según el diseño experimental ejecutado, variando la frecuencia de muestreo a seis u ocho horas y manteniendo la población a ser muestreada a una temperatura estable media entre 15°C a 20°C.

Realizar la metodología seguida para establecer la capacidad de reproducción, pero con hembras vírgenes, para evaluar la capacidad partenogenética de esta especie a diferentes regimenes de temperatura.

Realizar ensayos con la finalidad de establecer el periodo diapausal de *C. flacilla* a diferentes temperaturas estables, siguiendo el modelo experimental usado para determinar la capacidad de reproducción, pero manteniendo la muestra en evaluación diaria por 24 meses antes de ser disectada.

Realizar estudios complementarios involucrando como variables a otros factores como por ejemplo fotoperiodo y humedad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Arellano, G.** 1987. Biología de *Halticoptera arduine* (Walker, 1843) (Hymenoptera: Pteromalidae), Parasitoide de *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera: Agromyzidae). Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Ciencias. Tesis para obter el Titulo de Biólogo.
2. **Baeza Larios, G.; Ohno, K.; Fukuhara, F.** 2007. Effects of photoperiod and temperature on preimaginal development and summer diapause of *Chrysocharis pubicornis* (Zetterstedt) (Hymenoptera: Eulophidae), a pupal parasitoid of leafminers (Diptera: Agromyzidae). Applied Entomology and Zoology 42(2): 189 - 197.
3. **Carmona, D.** 2002. La "Mosca minadora de las hojas". Plaga primaria de la papa. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Año 1 - N° 4 Octubre / Noviembre / Diciembre 2002 URL: <http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/agric/hortic/papa/emp/lamosca.htm>.
4. **Chen, B. y Kang L.** 2002. Cold hardiness and supercooling capacity in the pea leafminer *Liriomyza huidobrensis*. Cryoletters 23: 173-182

5. **Chen, B. y Kang L.** 2004. Variation in Cold Hardiness of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) Along Latitudinal Gradients. *Environmental Entomology* 33: 155–164
6. **Cisneros, F.** 1995. Control de Plagas Agrícolas. Pp: 78 - 79, 102 – 103.
7. **Cisneros, F; Alcázar, J; Palacios, M y Ortiz, O.** 1995. A strategy for Developing and Implementing Integrated Pest Managment. International Potato Center. CIP Circular 21 No 3: 1 – 7.
8. **Christie, G. D. y Parella, M. P.** 1987. Biological Studies with *Chrysocharis parksi* (Hym: Eulophidae) a parasite of *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae). *Entomophaga* 32 (2): 115 – 126.
9. **Dempewolf, M.** 2004. Arthropods of Economic Importance - Agromyzidae of the World. Zoological Museum, University of Amsterdam. URL: <http://nlbif.eti.uva.nl/bis/agromyzidae.php> - 17/01/2008
10. **European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO).** 2007. EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests. Data Sheets on Quarentine Pests *Liriomyza huidobrensis*.

URL:[http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Liriomyza\\_huidobrensis/LIRIHU\\_ds.pdf](http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Liriomyza_huidobrensis/LIRIHU_ds.pdf) - 10/11/2007

11. **Fathipour, Y.; Hagani, M; Talebi, AA; BAniameri, V; Zamani, AA.** 2006. Natural parasitism of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on cucumber in field and greenhouse conditions. IOBC/WPRS Bulletin 29: 155 – 160.
12. **Gallegos, P.; Asaquibay, C. y Chulde, R.** Control biológico de la mosca minadora *Liryomyza huidobrensis* con dos parasitoides *Chrysocharis sp.* y *Diglyphus sp.* en papa, *Solanum tuberosum*.
13. **Gauld, I. y Bolton, B.** 1988. The Hymenoptera. British Museum (Natural History) 174 - 177
14. **Gilbert, N y Raworth, DA.** 1996. Insect and temperature, a general theory. Canadian Entomology 128: 1 - 13
15. **Hansson, Ch.** 1987. Revision of the New World *Chrysocharis* Förster (Hymenoptera: Eulophidae). Entomologica Scandinavica supplement 31: 42 - 43

16. **Hawkins, B.A.** 1994. Pattern and process in host-parasitoid interactions  
Cambridge, Cambridge University Press.
  
17. **Hondo, T; Koike, A y Sugimoto, T.** 2006. Comparison of thermal tolerance  
of seven native species of parasitoids (Hymenoptera: Eulophidae) as  
biological control agents against *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) in  
Japan. *Applied Entomology and Zoology* 41 (1): 73 – 82.
  
18. **Johnson, M.** 1987. Parasitization of *Liriomyza* spp. (diptera: Agromyzidae)  
Infesting Comercial Watermelon Plantings in Hawaii. *Journal of Economic  
Entomology* 80: 56-61.
  
19. **Johnson, M.** 1993. Biological Control of *Liriomyza* leafminers in the pacific  
basin. *Micronesia Supplement* 4: 81 – 92.
  
20. **Johnson, M y Hara, A. H.** 1987. Influence of host crop on parasitoids of  
*Liriomyza* spp. *Environmental Entomology*, 16, 339 ± 344.
  
21. **Johnson, M.; Oatman, E.R.; Wyman, J.A.; Van Steenwyk, R.A.** 1980. A  
technique for monitoring *Liriomyza sativae* in fresh market tomatoes. *Journal  
of Economic Entomology* 73: 552 – 555

22. **Kaspi, R; Parrella, M.** 2005. Abamectin compatibility with the leafminer parasitoid *Diglyphus isaea*. *Biological Control* 35: 172 – 179.
23. **Lizarraga, A.** 1990. Biología de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanchard en papa (Diptera: Agromyzidae). *Revista Latinamericana de la papa*. Vol. 3: 30 - 39.
24. **LaSalle, J y Gauld, I.D.** 1993 Hymenoptera: their diversity, and their impact on the diversity of organisms. In: LaSalle, J. Gauld, I.D. (Eds) *Hymenoptera and Biodiversity*. CAB International, Wallingford, pp. 1 - 26.
25. **Lactin, D. J.; Holliday, N. J.; Jonson, D. L.; y Craigen, R.** 1995. Improved Rate Model of Temperatura - Dependent Development by Arthropods. *Environmental Entomology* 24 (1) : 68 -75.
26. **Llácer, E; Urbaneja, A; Garrido, A. y Jacas, J.** 2005. Morphology and Development Inmature Stages of *Gaelopsomyia fausta* (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae) *Entomological Society of America* Vol. 98, No 5.
27. **MacDONald, O.C.** 1991. Responses of the alien leaf miners *Liriomyza trifolii* and *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) to some pesticides schedules for their control in the UK. *Crop Protection* 10(6): 509-513.

28. **Minkenbergh, O.** 1990. On seasonal Inoculative Biological Control. Grafisch Bedrijf Posen & Looijen B. V., Wageningen, pp: 29 - 53
29. **Minkenbergh, O. y Helderman, C.** 1990. Effects of Temperature on Life History of *Liriomyza bryoniae* (diptera; Agromyzidae) on Tomatoe. Journal of Economic Entomology 83: 117-125.
30. **Minkenbergh, O. y Van Lenteren.** 1986. The leafminers *Liriomyza trifolii* and *L. bryoniae* (Diptera: Agromyzidae), their parasites and host plants: a review. Agriculture University Wageningen 86: 1 – 50
31. **Mujica, N. y Cisneros, F.** 1994 Evaluación de Diapausa en endoparasitoides de *Liriomyza huidobrensis* Blanchard en poblaciones de La Molina y Cañete. XXXVI Convención Nacional de Entomología, Perú 23 - 24.
32. **Mujica, N. y Cisneros, F.** 1997. Implementación de un Programa de Manejo Integrado de Plagas de Papa con Énfasis en la Mosca Minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanchard en el Valle de Cañete (Lima – Perú). XIX Congreso Nacional de Entomología, Chile. 95 – 101.



33. **Mujica, N.; Kroschel, J.; Weintraub, P.** 2006. Occurrence and Distribution of Leafmining Flies and Associated Parasitoids in vegetables production systems at the Peruvian coast. En: Memorias del IV Congreso Internacional de Control Biológico, Cali, Colombia.
34. **Mujica, N.** 2007. Malezas hospederas de moscas minadoras (Diptera: Agromyzidae) y sus parasitoides en el ecosistema de papa en La Molina. Lima – Perú.
35. **Murphy, S.T.; LaSalle, J.** 1999. Balancing biological control strategies in the IPM of New World invasive *Liriomyza* leafminers in field vegetable crops. Biocontrol News and Information Volumen 20 No. 3: 91N – 104N  
URL: <http://www.pestscience.com/PDF/BNIRA50.pdf> 28/01/2008
36. **Neder de Roman, L. y Arce de Hamity, M.** 1986. Parasitoid complex of *Liriomyza huidobrensis* in Quebrada de Humahuaca, Jujuy, Argentina. Neotropica 31: 181 – 186.
37. **Ozawa, A; Saito, T; Ota, M.** 2001. Biological Control of the American serpentine leafminer, *Liriomyza trifolii* (Burgess), on tomato in greenhouses by parasitoids . II Evaluation of biological control by *Diglyphus isae* (Walker)

and *Dacnusa siberica* (Telenga) in commercial greenhouses. Japan Journal Applied Entomology Zoology 45: 61 – 74.

38. **Parrella, M.** 1983. Intra specific competition among larvae of *Liriomyza trifolii* (Diptera Agromyzidae) effects on colony production. Environmental Entomology. 12: 1412 –1414
39. **Parrella, M.** 1987. Biology of *Liriomyza*. Annual Review of Entomology 32: 201 – 224
40. **Parrella, M.; Keil, C. y Morse, J.** 1984. Insecticide resistance in *Liriomyza trifolii*. Cal. Agric. 38(1/2): 22-23.
41. **Parrella, M. y Trumble, T.J.** 1989. Decline of resistance in *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) in the absence of insecticide selection pressure. Journal of Economical Entomology 82: 365–368.
42. **Parrella, M. P.; Jones, V. P.; Youngman, R. R; Lebeck,** 1985. Effect of leaf mining and leaf stippling of *Liriomyza* spp. on photosynthetic rates of chrysanthemum. Annals of the Entomological Society of America 78, 90 -93.

43. **Rauf, A; Shepard, B; Merle and Johnson, Marshall, W.** 2000. Leafminers in vegetables, ornamental plants and weeds in Indonesia: surveys of host crops, species composition and parasitoids. *International Journal of Pest Management*. 46:4, 257 - 266
44. **Redolfi, I.; Palacios, M.; Alcázar, J..** 1985. Hymenoptera parasitoides de *Liriomyza huidobrensis* en papa cultivada en Rimac, Cañete e Ica. *Revista Peruana de Entomología* 28: 19 – 21.
45. **Redolfi de Huiza, I.** 1996. Criterios básicos para muestrear, acondicionar, e identificar controladores biológicos de pulgones y moscas minadoras. Seminario Internacional “Moscas Minadoras pulgones y sus controladores biológicos en agroecosistemas de Perú y Argentina”. UNALM
46. **Roy, M.; Brodeur, J.; Cloutier, C.** 2002. Relationship between temperature and development rate of *Stethorus punctillum* (coleopteran: Coccinellidae) and its prey *Tetranychus mcdanieli* (Acarina: Tetranychidae) *Environmental Entomology* 31: 177-187.
47. **Saito, T; Ikeda, F; Ozawa, A.** 1996. Effect of pesticides on parasitoid complex of serpentine leafminer *Liriomyza trifolii* (Burgess) in Shizuoka Prefecture. *Japan Journal Applied Entomology and Zoology* 40: 127 - 133.

48. **Salvo, A.** 1996. Diversidad y Estructura en Comunidades de Parasitoides (Hymenoptera) de minadores de hoja (Diptera: Agromyzidae). Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Cordoba. Facultad de Ciencias Exactas, Fisicas y Naturales – Centro de Investigaciones de Cordoba.
49. **Salvo, A. y Valladares, G.** 1995. Complejo Parasítico (Hymenoptera Parasítica) de *Liriomyza huidobrensis* (Diptera : Agromyzidae) en haba. Agriscientia. Volumen XII: 39 - 47
50. **Salvo, A. y Valladares, G.** 1998. Taxonomic Composition of Hymenopteran Parasitoid assemblages from Agromyzid Leafminers Sampled in central Argentina. Studies on Neotropical Fauna and Environment Volumen 33: 116 – 123.
51. **Salvo, A. y Valladares, G.** 1999. Parasitoid assemblage size and host ranges in parasitoid (Hymenoptera) – agromyzid (Diptera) system from central Argentina. Bulletin of Entomological Research 89: 193 - 197
52. **Salvo, A.; Fengolio, MS; Videla, M.** 2005. Parasitism of leafminer in managed versus natural habitats. Agriculture, Ecosystems and Environment 109: 213 – 220

53. **Southwood, T. R. E.** 1978. Ecological Methods with particular reference to the study of insects. Chapman and Hall. London and New York. Segunda Edición pp: 356 – 387
54. **Sotomayor.** 1998.
55. **Shepard, B.; M. Samsudin; Braun, A.** 1998. Seasonal incidence of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids on vegetables in Indonesia. International Journal of Pest Management 44: 43-47.
56. **Spencer, K. A.** 1973. Agromyzidae (Diptera) of economic importance. Series Ent. 9W. Junk. London.
57. **Spencer, K. A.** 1989. Leafminers. In Kahn, P.R. (ed) Plant protection and quarantine Vol. II. Selected pests and pathogens of quarantine significance. Boca Raton, FL, USA; CRC Press, pp. 77-98.
58. **Spencer, K.A.** 1992. Fly catcher: Memoirs of an amateur entomologist. SPB Academy Publishing, The Hague. Pág. 414

59. **Sporleder, M. ; Kroschel, J.; Gutierrez; Lagnaoui, A.** 2004. A temperature based simulation model for the potato tuberworm, *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera :Gelechiidae). *Environmental Entomology* 33(3): 477-486.
60. **Steinhaus, E. A; Tanada, Y; Telford, A. D; van de Bosch, R.** 1985. *Biological Control of Insect Pest and Weeds*. Chapman and Hall. 145 – 245.
61. **The Natural History Museum.** 2007. Universal Chalcidoidea Database. URL:  
[http://internt.nhm.ac.uk/jdsml/perth/chalcidoids/listChalcids.dsml?Family=Eu  
lophidae&Superfamily=Chalcidoidea&Genus=Chrysocharis](http://internt.nhm.ac.uk/jdsml/perth/chalcidoids/listChalcids.dsml?Family=Eu%20lophidae&Superfamily=Chalcidoidea&Genus=Chrysocharis) - 25/09/2007
62. **Tree of Life Web Proyect.** 2004. Opomyzoidae (Agromyzidae). URL:  
[http://tolweb.org/tree/home.pages/searchTOL?taxon=Agromyzidae&Submit2  
=Find&select=partially&taxonClade=](http://tolweb.org/tree/home.pages/searchTOL?taxon=Agromyzidae&Submit2=Find&select=partially&taxonClade=). 24/01/2008
63. **Triplehorn, C; Borror, D.; y De Long, D.** 2005. *Introduction to the Study of Insects*. Brock Scole USA. 7ma edición
64. **Valladares, G. y Salvo, A.** 2001. Community dynamics of leafminers (Diptera: Agromyzidae) and their parasitoids (Hymenoptera) in a natural habitat from Central Argentina. *Acta Oecologica* 22: 301 – 309.

65. **Van Der Linden, A. y Van Achterberg C.** 1989. Recognition of eggs and larvae of the parasitoids of *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae; Hymenoptera: Braconidae and Eulophidae). Entomologische Berichten Amsterdam 49: 138 - 140.
66. **Zhao, Y.X. y Kang,L.** 2000. Cold tolerance of vegetables leafminer (Diptera: Agromyzidae). Journal Applied Entomology 124: 185 – 189.