

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRÍA EN ECOLOGÍA APLICADA**



**“EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA BIOLOGÍA Y
COMPORTAMIENTO DE *Diglyphus websteri* (Crawford)
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)”**

Presentado por:

ANGIE ROMY BURGOS BASTIDAS

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN ECOLOGÍA APLICADA**

Lima - Perú

2013

ÍNDICE

ÍNDICE	i
RELACIÓN DE TABLAS	iii
RELACIÓN DE FIGURAS	iv
AGRADECIMIENTOS	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
I. INTRODUCCIÓN	4
1.1 Objetivos	6
2.1 Antecedentes	7
2.2 Generalidades	8
2.2.1 Aspectos generales de la mosca minadora <i>Liriomyza huidobrensis</i> hospedero de <i>Diglyphus websteri</i>	8
2.2.2 Aspectos generales del parasitoide <i>Diglyphus websteri</i>	13
2.2.3 Efecto de la temperatura en la biología de insectos	16
2.2.4 Tablas de vida y modelo fenológico de un insecto	17
2.2.5 Modelos fenológicos a través del programa ILCYM	19
III MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1 Materiales	21
3.2 Métodos	21
3.2.1 Establecimiento de las crianzas de insectos	21
3.2.2 Bioensayos	27
3.2.3 Desarrollo del modelo fenológico para <i>D. websteri</i>	33
3.2.4 Efecto de la temperatura en la actividad de paralización y parasitismo de <i>D. websteri</i>	36
3.2.5 Análisis estadístico	37
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 Morfología y comportamiento de <i>D. websteri</i>	38
4.1.1 Descripción morfológica de los estados de desarrollo de <i>D. websteri</i>	38
4.1.2 Características del comportamiento de <i>D. websteri</i>	50

4.2	Efecto de la temperatura en el ciclo de vida de <i>D. websteri</i>	56
4.2.1	Ciclo de desarrollo	56
4.2.2	Reproducción	65
4.2.3	Proporción Sexual	65
4.3	Desarrollo de un modelo fenológico dependiente de la temperatura para <i>D. websteri</i>	71
4.3.1	Construcción de los modelos	71
4.3.2	Simulación de los parámetros de crecimiento poblacional de <i>D. websteri</i>	80
4.3.3	Validación de la fenología para <i>D. websteri</i>	81
4.4	Efecto de la temperatura en el potencial de <i>D. websteri</i> como agente de control biológico de <i>I. huidobrensis</i>	85
V	CONCLUSIONES	90
VI	RECOMENDACIONES	91
VII	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
	ANEXO I	

Relación de Tablas

		Págs.
Tabla 1:	Medidas referenciales de ancho de mina (mm) y su relación con los estadíos larvales de <i>L. huidobrensis</i> .	23
Tabla 2:	Duración promedio en días del ciclo de desarrollo de <i>D. websteri</i> en larvas de <i>L. huidobrensis</i> a temperaturas constantes (promedio \pm error estándar). Se considera desde huevo hasta la emergencia del adulto macho o hembra.	57
Tabla 3:	Umbral mínimo de temperatura (°C) estimada por regresión lineal para el desarrollo de hembras y machos de <i>D. websteri</i> (huevo – adulto).	59
Tabla 4:	Tiempo de vida promedio (días \pm Error Estándar) de adultos hembra y machos de <i>Diglyphus websteri</i> a diferentes temperaturas constantes.	63
Tabla 5:	Parámetros de oviposición de <i>D. websteri</i> a diferentes temperaturas constantes.	66
Tabla 6:	Proporción sexual de poblaciones de <i>D. websteri</i> obtenidas en campos de Cañete.	66
Tabla 7:	Parámetros estimados (\pm Error Estándar) de los modelos binarios ajustados a las frecuencias normalizadas de tiempo de desarrollo para los estados inmaduros de <i>D. websteri</i> .	72
Tabla 8:	Parámetros estimados (\pm EE) de los modelos de regresión no lineal para la tasa de desarrollo de los estados inmaduros de <i>D. websteri</i> .	75
Tabla 9:	Parámetros estimados del modelo de regresión no lineal que describen la tasa de mortalidad de los estados huevo-larval y estado pupal de <i>D. websteri</i> .	76
Tabla 10:	Parámetros estimados en la tasa de senescencia del estado adulto de <i>D. websteri</i>	77
Tabla 11:	Modelo de regresión no lineal para establecer la relación existente entre la oviposición total de <i>D. websteri</i> con la temperatura. Se indica también la proporción de la fecundidad.	79
Tabla 12:	Resumen estadístico de la tabla de vida de <i>D. websteri</i> con valores simulados y observados para: tiempo de desarrollo, mortalidad y parámetros poblacionales.	82
Tabla 13:	Número promedio (\pm EE) de larvas de mosca minadora paralizadas y parasitadas por el adulto de <i>D. websteri</i> durante su ciclo de vida a diferentes temperaturas constantes.	86

Relación de Figuras

	Págs.
Figura 1: Esquema que representa la crianza de <i>Liriomyza huidobrensis</i> en condiciones de laboratorio	24
Figura 2: Esquema de la crianza de <i>Dilgyphus websteri</i> en condiciones de laboratorio e invernadero.	26
Figura 3: Imagen del tercer estadio de <i>Diglyphus websteri</i> dentro de mina y en la imagen derecha sobre una placa petri.	29
Figura 4: Imagen del proceso para la descripción y medidas de los estados de <i>D. websteri</i> .	29
Figura 5: Imágenes de hojas de frijol colocadas en placas luego de ser analizadas para ver el tipo de paralización.	29
Figura 6: Imagen de plantas de frijol infestadas con larvas de moscas minadoras.	32
Figura 7: Esquema de unidad de ensayo: Frasco de 1L con vial y hojas de frijol minada.	32
Figura 8: Imagen de frascos con plantas de frijol que contienen larvas entre el 2° y 3° estadio larval de mosca minadora.	32
Figura 9: Secuencia de los estados inmaduros hasta la emergencia del adulto: A.- Huevo. B.- 1° Estadio larval. C.- 2° Estadio larval. D.- 3° Estadio larval. E.- Pupa exarate. F.- Adulto macho de <i>D. websteri</i> .	39
Figura 10: Imágenes del estado de huevo. A.- Tres huevos teñidos (4x) B.- Fotografías del estado huevo de <i>Diglyphus websteri</i> , se aprecia el corión separado del embrión (10x). C.- Huevo donde se distinguen las espinas (20x).	41
Figura 11: Imágenes del primer estadio larval de <i>D. websteri</i> , donde se aprecia el primer estadio larval extraído de la mina de la hoja de frijol (A), la larva procesada (B) (20x) y dos vistas de los ganchos bucales (C y D) (60x).	42
Figura 12: Imágenes del segundo estadio larval de <i>D. websteri</i> , donde se aprecia en la primera imagen los segmentos abdominales (A) (10x), las espinas en la superficie (B) (10x) y dos imágenes de los ganchos bucales (C y D) (60x).	43
Figura 13: Imágenes del tercer estadio larval de <i>D. websteri</i> , donde se aprecia la larva procesada (A) (20x), y ganchos bucales desarrollados (B y C) (60x).	44
Figura 14: Imágenes de la vista dorsal de la pupa de <i>D. websteri</i> . A.- Pupa verde extraída de la mina de hoja de frijol. B.- Pupa en su última etapa de melanización. C.- Pupa limpiada y teñida (4x) donde se aprecian claramente partes en proceso de esclerotización.	46
Figura 15: Imágenes de la vista ventral de los aparatos reproductores de <i>D. websteri</i> . A.- Abdomen de una pupa que se convertirá en un adulto hembra. Se aprecia que el ovipositor abarca más de la mitad de los segmentos abdominales (10x) B.- Abdomen de una pupa que se convertirá en un adulto macho. Se aprecia un órgano reproductor que abarca la tercera parte del abdomen (10x).	47
Figura 16: Imágenes del adulto de <i>D. websteri</i> y apéndices. A.- Adulto en el haz de la hoja de frijol. B.- Adulto de 2.1mm.; se distinguen los ojos rojos, la coloración distintiva en patas y el color marrón metálico característico de esta especie. C.- Esquema del ala de <i>D. websteri</i> . D.- Pata donde se distinguen los 4 tarsómeros y espuela (10x). E.- Ala anterior con vena marginal (10x). F.- Antena con 6 artejos (10x).	16
Figura 17: Imagen del macho de <i>D. websteri</i> buscando copular con hembra.	52

Figura 18:	Imagen de la larva de <i>L. huidobrensis</i> paralizada.	52
Figura 19:	Imágenes de larvas del II y III estadio de <i>D. websteri</i> A.- Larva del segundo estadio alimentándose de su hospedero. B.- Larva III a punto de separarse de su presa. C.- Se observa el último estadio larval formando los pilares de excremento alrededor de su cuerpo y a unos milímetros se encuentra la larva de mosca de la que obtuvo su alimento.	53
Figura 20:	Imágenes vista dorsal de una pupa y dos adultos de <i>D. websteri</i> en el interior de la hoja de frijol. A.- Pupa exarate de color verde claro dentro de mina, donde se aprecian claramente los pilares de excremento protegiéndola. B.- Desarrollo completo de la etapa de adulto. C.- Adulto tratando de emerger de la mina.	54
Figura 21:	Comparación de la duración promedio del ciclo de desarrollo entre hembras y machos de <i>D. websteri</i> a cinco temperaturas constantes.	21
Figura 22:	Regresión lineal de la tasa de desarrollo para hembras y machos de <i>D. websteri</i> entre los 15°C y 35°C. (Puntos = datos observados; líneas = líneas de tendencia).	58
Figura 23:	Comparación de porcentajes de mortalidad entre los estados huevo-larval y pupal.	61
Figura 24:	Regresión polinomial de la mortalidad de los estados inmaduros de <i>D. websteri</i> . (Puntos = datos observados; líneas = líneas de tendencia).	63
Figura 25:	Regresión polinomial de la longevidad en días de machos y hembras de <i>D. websteri</i> . (Puntos = datos observados; líneas = líneas de tendencia).	63
Figura 26:	Sobrevivencia de ectoparasitoides hembras a cinco temperaturas constantes.	64
Figura 27:	Sobrevivencia de ectoparasitoides machos a cinco temperaturas constantes.	64
Figura 28:	Ritmo de oviposición diaria de <i>D. websteri</i> a cinco temperaturas constantes.	67
Figura 29:	Porcentaje de hembras y machos de <i>D. websteri</i> emergidos a diferentes temperaturas constantes.	67
Figura 30:	Frecuencia acumulada (%) del tiempo de desarrollo de los estados inmaduros de <i>Diglyphus websteri</i> (A: huevo-larval, B: pupal). Las curvas indican el ajuste de cada modelo. La línea horizontal negra en el 50% del eje "Y" indica la línea en que el 50% de la población pasa al estado de pupa, las líneas verticales que se desprenden de éstas indican el tiempo en que esto sucede.	73
Figura 31:	A.- Tasa de desarrollo del estado huevo-larval para cada temperatura según el modelo Sharpe & DeMichele 1. B.- Tasa de desarrollo del estado pupal para cada temperatura según el modelo Sharpe & DeMichele 12. Los puntos azules son los datos observados, la línea roja es la línea predictiva del modelo, las líneas punteadas azules son los límites de confianza y el cuadrado indica la T_0 . La línea punteada roja hace referencia la modelo lineal.	75
Figura 32:	Tasa de mortalidad dependiente de la temperatura en los estados inmaduros de <i>D. websteri</i> . Curvas en base al modelo de regresión no lineal. A: huevo-larval, B: pupal.	76
Figura 33:	Tasa de senescencia de los hembras y machos vs la temperatura, según el modelo de Stinner – 4. Los puntos azules son los datos observados, la línea roja es la línea predictiva del modelo. Las líneas punteadas azules son los límites de confianza y la línea roja punteada es el modelo lineal A:	77

	Machos. B: Hembras.	
Figura 34:	Tasa acumulada de oviposición (%) vs la edad normalizada de las hembras, (días de sobrevivencia de una hembra entre el tiempo de sobrevivencia promedio de las hembras en un tratamiento (xts), para cada temperatura). La línea de color negro es la tendencia del modelo, las líneas punteadas azules, son los intervalos de confianza. Cada punto de color indica una temperatura.	78
Figura 35:	Fecundidad de <i>D. websteri</i> dependiente de la temperatura y la edad de las hembras. Los puntos indican las medias observadas.	79
Figura 36:	Comparación de resultados simulados (líneas) con los datos observados en las tablas de vidas estudiadas para temperatura ambiente. Las líneas continuas son los porcentajes de datos simulados, las líneas punteadas indican el valor máximo y mínimo obtenido de las simulaciones. Los puntos son de los datos observados para una tabla de vida. E-L (estado huevo- larval), P (estado pupal), F (Hembras) y M (Machos).	83
Figura 37:	Porcentaje de control por paralización del hospedero.	86
Figura 38:	Control de hospederos por oviposición y por paralización a seis temperaturas constantes.	87

RESUMEN

Parasitoides del género *Diglyphus* son consideradas como eficientes agentes de control biológico de moscas minadoras (Diptera: Agromyzidae). En Perú *D. websteri* ha sido registrada a lo largo de la costa y en la sierra central indicando su amplia adaptación a diferentes condiciones climáticas. El conocimiento de la biología y el estudio de su dinámica permitirán establecer tácticas de manejo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la temperatura en la biología de *Diglyphus websteri* (Crawford, 1912) (Hymenoptera: Eulophidae) un ectoparasitoide de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926) (Diptera: Agromyzidae) y su potencial como agente de control biológico. Se construyeron tablas de vida a seis temperaturas constantes (10, 15, 20, 25, 30 y 35 °C) bajo condiciones de laboratorio (12L: 12O) y a temperatura ambiente. La información fue analizada mediante el programa: Modelamiento del ciclo de vida de insectos (ILCYM) que permitió obtener el modelo fenológico del parasitoide así como la validación del mismo y la simulación de los parámetros poblacionales. Adicionalmente se describió la morfología de los estados inmaduros y algunos aspectos de comportamiento. La temperatura afecta significativamente el ciclo de vida de *D. websteri*. El ciclo de desarrollo tiende a decrecer con el incremento de la temperatura entre los 15 y 35°C. A 10°C no se presenta desarrollo alguno. La longevidad disminuye a medida que se incrementa la temperatura, alcanzando un máximo de 39.9 y 45.3 días a 15°C y un mínimo de 17.3 y 22.3 días a 30°C, para hembras y machos respectivamente. La reproducción de *D. websteri* se ve afectada significativamente por la temperatura, con la más baja fecundidad a 35°C con un promedio de 1.1 progenies/hembra y la mayor fecundidad a 25°C, con promedios de 35 progenies/hembra. La proporción de sexos no fue afectada por la temperatura, con predominancia de machos. Hembras vírgenes presentaron partenogénesis arrenotokia. Los parámetros de las tablas de vida muestran que las poblaciones *D. websteri* se desarrollan en un rango entre 15°C y 35°C, con valores muy similares a los observados a temperatura ambiente en laboratorio para la tasa intrínseca de crecimiento natural (r_m) y la tasa finita de crecimiento (λ). El comportamiento de paralización efectuado por la hembra de *D. websteri* en larvas de mosca minadora varía con la temperatura. El mayor nivel de control se observó a 25°C con 246 larvas paralizadas/ hembra, correspondiendo al 85% de larvas muertas por paralización sin oviposición. *D. websteri* posee un gran potencial para el control biológico de larvas de *L. huidobrensis*.

ABSTRACT

Diglyphus parasitoids are considered as efficient biological control agents of leafminer flies (Diptera : Agromyzidae) . In our country *D. websteri* has been recorded along the coast and in the central highlands indicating its wide adaptation to different climatic conditions. Biology knowledge and growth potential pest insect populations are crucial for the study of their dynamics and pest management. The aim of this study was to evaluate the effect of the temperature in the biology of *Diglyphus websteri* (Crawford , 1912) (Hymenoptera : Eulophidae) ectoparasitoid of *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926) (Diptera : Agromyzidae) and its potential as biological control agent . Life tables were constructed at six constant temperatures (10, 15, 20, 25, 30 and 35°C) under laboratory conditions (12L : 12D) and one fluctuating temperature. The information was analyzed by the program: Insect Life Cycle Modeling (ILCYM) that enabled to obtain a phenology model, its validation and simulation of population parameters. Additionally, the morphology of the immature stages and behavioral aspects of adult parasitoids were described. The temperature significantly affects the life cycle of *D. websteri*. Development cycle tends to decrease with increasing temperature between 15 and 35°C. At 10°C, parasitoids does not show any growth. Longevity decreases as temperature increases, reaching a maximum of 39.9 and 45.3 days at 15°C and a minimum of 17.3 and 22.3 days at 30°C , for females and males respectively. Reproduction of *D. websteri* is significantly affected by temperature, with the lowest fertility at 35°C with an average of 1.1 progeny / female and higher fertility at 25°C, with an average of 35 progeny / female. The sex ratio was not affected by temperature, with a predominance of males in all temperatures. Virgin females presented arrhenotoky parthenogenesis. The parameters of life tables show that populations *D. websteri* develop in a range between 15°C to 35°C , with values very similar to those observed at fluctuating temperature in the laboratory, especially in intrinsic rate of natural increase (r_m) and finite rate of increase (λ) . Behavior based on paralysis of leafminer larvae varies with temperature. The highest level of control was observed at 25°C with 246 larvae per female paralyzed, corresponding to 85% of larvae killed by paralysis without oviposition. *D. websteri* has a great potential as a biological control of *L. huidobrensis* due to its high paralyzing activity reducing significantly leafminer populations.

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

La mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanchard, 1954 (Diptera: Agromyzidae) es una plaga importante en los cultivos hortícolas, ornamentales y agrícolas en los valles costeros y valles abrigados de la sierra del Perú. En la costa central, los agricultores tratan de controlar esta plaga con tratamientos calendarizados de insecticidas que representan entre 8-13 aplicaciones por campaña y constituyen uno de los mayores costos de producción (un promedio de \$600/ha) en el cultivo de papa. Las infestaciones no controladas de la plaga pueden reducir los rendimientos en más del 50% (Cisneros y Mujica, 1998). Esta plaga es descrita como particularmente seria desde Lambayeque hasta Tacna en cultivos como haba (*Vicia faba* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), arveja (*Phaseolus vulgaris* L. var *vulgaris*), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), lechuga (*Lactuca sativa* L.), apio (*Apium graveolens* L. var *dulce*), col (*Brassica oleracea* L. var *capitata* L.), betarraga, (*Beta vulgaris* L. var. *crassa* (Alef.) J.Helm), espinaca (*Spinacea oleracea* L.), pepinillo (*Cucumis sativus* L.) (Mujica y Kroschel, 2011). El control de la mosca minadora es difícil por muchas razones. Los adultos desarrollan resistencia a los pesticidas muy rápidamente (Parrella *et al.*, 1984; MacDonald, 1991) y las larvas son inaccesibles a muchos de ellos debido a su hábito minador y al desarrollo de la pupa en el suelo. El impacto negativo de los pesticidas en los enemigos naturales de la mosca minadora ha obligado a los investigadores a desarrollar medios alternativos de control mediante el Manejo Integrado de Plagas (MIP). Uno de los métodos que emplea el MIP es el control biológico mediante el uso de predadores, parasitoides y entomopatógenos.

Los minadores de la familia Agromyzidae son conocidos por ser atacadas por muchas especies de parasitoides, particularmente con mayor diversidad en su zona de origen, en el Nuevo Mundo (Murphy y Lasalle, 1999; Waterhouse y Norris, 1987; Noyes, 2004) y más de 80 de ellas son conocidas por atacar a varias especies de *Liriomyza*. En el Perú se ha encontrado un diverso complejo de parasitoides que atacan a la mosca minadora *L. huidobrensis* que comprende a 33 especies de himenópteros, resaltando los géneros *Halticoptera*, *Chrysocharis*, *Diglyphus* y *Ganaspidium* (Redolfi *et al.*, 1985; Sánchez y Redolfi, 1985; Cisneros y Mujica, 1998; Mujica y Kroschel, 2011).

Diglyphus websteri (Crawford, 1912) (= *Solenotus websteri*) es mencionado como un importante parasitoide de varias especies de moscas minadoras de las órdenes de insectos Diptera (Agromyzidae) y Lepidoptera (Lithocolletidae y Lyonetiidae). Esta especie ha sido registrada principalmente en las Américas: Argentina, Honduras, México, Perú y Estados Unidos de América. En el Perú, Mujica y Kroschel (2011) identificaron a *D. websteri* como uno de los ectoparasitoides más importantes atacando moscas minadoras en la costa peruana, habiéndose recuperado de los agromícidos *Amauromyza maculosa* (Malloch), *Cerodontha dorsalis* (Loew), *Japanagromyza* sp. Sasakawa, *Liriomyza graminivora* Hering, *L. huidobrensis* y *L. sativae* Blanchard. Además del parasitismo propiamente dicho, las especies del género *Diglyphus* presentan otros dos comportamientos que adicionan mortalidad a los minadores de hojas; el primero es denominado como alimentación sobre el hospedador (*host feeding*) y el segundo como paralización del hospedador sin oviposición ni alimentación (*host stinging*). Estos factores adicionales de mortalidad le confieren un mayor potencial de control de moscas minadoras pero que no han sido muy estudiados.

La temperatura constituye un factor abiótico crítico que afecta el desarrollo e influye en la dinámica de los insectos (Honek, 1999; Huffaker *et al.*, 1999). El conocimiento de la biología y el potencial de crecimiento de una población de insectos plaga resultan cruciales para el estudio de su dinámica y para establecer tácticas de manejo. Los estudios biológicos son necesarios para proveer un conocimiento básico que permita mejorar el control biológico de *L. huidobrensis* en nuestro país y otras zonas del mundo afectadas por esta plaga. En la literatura consultada no existe un estudio detallado del efecto de la temperatura en la biología y el potencial de crecimiento de este parasitoide. Por lo anteriormente expuesto se llevarán a cabo experimentos en laboratorio para evaluar la respuesta de *D. websteri* a seis temperaturas constantes y una fluctuante a temperatura ambiente. Nuestro estudio proporcionará información que permitirá un mejor uso de esta especie como un agente de control de *L. huidobrensis*.

1.1 OBJETIVOS

Objetivo General:

- Evaluar el efecto de la temperatura en la biología de *Diglyphus websteri* y su potencial como agente de control biológico de *Liriomyza huidobrensis*.

Objetivos Específicos:

- Describir la morfología de los estados de desarrollo de *Diglyphus websteri*
- Determinar el efecto de la temperatura en el periodo de desarrollo, longevidad, reproducción y proporción sexual de *Diglyphus websteri* utilizando *L. huidobrensis* como hospedero.
- Desarrollar un modelo fenológico de *D. websteri* basado en la temperatura que permita predecir el crecimiento potencial de su población
- Evaluar el efecto de la temperatura en el comportamiento de paralización de *D. websteri*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

La familia Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) es una de las familias más extensas de parasitoides con un total de 283 géneros y 3977 especies descritas (Raven, 1988). La mayoría de especies de esta familia son pequeñas; son abundantes en regiones tropicales y muchas de ellas consideradas exitosos agentes controladores de plagas. Si bien es cierto, los eulófidos son en su mayoría parasitoides de insectos holometábolos, el rango de hospederos y biología en Eulophidae es marcadamente diverso (Gauthier *et al*, 2000). Diferentes estudios realizados en el complejo parasítico de la familia Agromyzidae indican que la familia Eulophidae es la más diversa en el Paleártico, Neártico, Pacífico de Asia, y zonas tropicales, comprendiendo el 44 – 83% de parasitoides (Salvo y Valladares 1998, Murphy y Lasalle 1999; Waterhouse y Norris 1987; Noyes 2004).

Las avispa del género *Diglyphus* son consideradas como eficientes agentes de control biológico para moscas minadoras (Diptera: Agromyzidae). Las especies que se encuentran en América del Norte son *D. isaea* (Walker), *D. begini* (Ashmead), *D. websteri* (Crawford), *D. intermedius* (Girault), *D. pulchripes* (Crawford) y *D. carlylei* (Girault) (Lasalle y Parrella, 1991; Stegmaier, 1972). Por otro lado, varias especie de *Diglyphus* también se han observado parasitando larvas de Lepidoptera (Lyonetiidae) (Boucek y Askew 1968).

D. websteri posee una distribución mundial como parasitoides de *L. huidobrensis* y *L. sativae* (Johnson *et al.*, 1983, Murphy y Lasalle 1999). Esta especie ocurre en un amplio rango ecológico desde las zonas costeras hasta zonas andinas desde 2950 a 4050 m.s.n.m. (Argentina, Perú) (De Santis 1979, Sánchez y Redolfi, 1985; Neder de Roman y Arce de Hamity, 1984; Mujica *et al*, 2007). En la Costa peruana se ha podido apreciar la presencia de *D. websteri* mostrando una amplia distribución de Norte a Sur, que indica su adaptación a diferentes tipos de climas (Mujica y Kroschel, 2011). Esto claramente indica su adaptación a diferentes condiciones climáticas. Asimismo, esta especie posee un amplio rango de parasitoidismo en diferentes especies de agromícidos minadores.

Existe una gran diversidad de comunidades de enemigos naturales de *L. huidobrensis*, especialmente parasitoides en América del Sur (Larraín, 2004). Se han registrado diversas especies de parasitoides del orden Hymenoptera, principalmente de las familias Eulophidae, Braconidae y Pteromalidae, que atacan pupas y diferentes estadios larvales de moscas minadora, actuando como reguladores naturales (Mujica *et al.*, 2007; Salvo y Valladares, 2007). Murphy y Lasalle (1999) presentan una revisión de los diferentes géneros y especies que parasitan a las principales especies de la familia Agromyzidae. Existen numerosos ejemplos exitosos de control biológico clásico (introducción de agentes para el control de una plaga nativa o foránea) con parasitoides para distintas especies de minadores de hojas, tanto a campo abierto (Dharmadhikari *et al.* 1977; Johnson *et al.* 2003; García-Marí *et al.* 2004) como en invernadero (Van Lenteren y Woets, 1988; Heinz y Parrella, 1990; Abd- Rabou, 2006). La liberación por inundación de esta avispa también puede reducir las poblaciones altas de *L. trifolii* que infestan invernaderos a niveles cercanos a cero. A pesar de que *Diglyphus* exhibe la capacidad de reducir en gran medida las infestaciones de *Liriomyza* en muchos cultivos diferentes, sólo unos pocos estudios han examinado la biología de esta avispa (Heinz y Parella, 1990).

Por otro lado, Cure y Cantor (2003) investigaron la actividad parasítica y depredadora de *D. begini* en larvas de *Liriomyza huidobrensis* mantenidas en *Gypsophila paniculata* L. Los efectos de la alimentación en el hospedero se observaron antes que los efectos de parasitismo. Al final del ciclo vegetativo del cultivo, ambos factores de mortalidad tuvieron un efecto combinado de 70% de control del minador de la hoja. Después de la floración, este control alcanzó el 90% sin la necesidad de insecticidas. Asimismo se señala que el efecto de la depredación es generalmente descuidado en las evaluaciones de seguimiento y que las acciones parasitoide es frecuentemente subestimado.

2.2 Generalidades

2.2.1 Aspectos generales de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* hospedero de *Diglyphus websteri*

2.2.1.1 Importancia

Liriomyza huidobrensis, citada como *Liriomyza langei* Frick por Korytkowski (1982), es la especie polífaga más difundida e importante de toda la región neotropical. *L.*

huidobrensis es una especie nativa de Sudamérica y posteriormente distribuida a Centro América (Scheffer, 2000; Scheffer y Lewis, 2001). A partir de los noventa se difundió a través del comercio de flores en muchos países de Europa y actualmente puede encontrarse en todas las regiones tropicales y subtropicales de Europa, Asia y África, donde se cultivan hospederos alternantes de esta plaga (CABI, 2006; EPPO, 1997). En nuestro país representa la especie más dañina de mosca minadora a la agricultura y está ampliamente distribuida en toda la costa y valles abrigados de la sierra.

2.2.1.2 Plantas hospederas

Liriomyza huidobrensis es un insecto altamente polífago, atacando a numerosos cultivos hortícolas, ornamentales y malezas (Steck, 1996). Para el Perú, Korytkowski (1982) señala como hospederos a especies de las familias botánicas Quenopodiaceae, Compositae, Cruciferae, Cucurbitaceae, Leguminosaceae, Malvaceae, Solanaceae, Umbeliferae y Liliaceae. La planta hospedera puede ser de gran influencia en el crecimiento de la población de la mosca minadora, así como en la de sus parasitoides. Mujica y Kroschel (2011) identificaron 23 especies cultivadas en la costa peruana como hospederos de *L. huidobrensis*, con la más alta incidencia en haba, frijol, arveja y tomate.

2.2.1.3 Clasificación taxonómica (Spencer, 1981)

Orden	: Diptera
División	: Cyclorrhapha
Serie	: Schizophora
Sección	: Acalyptratae
Superfamilia	: Phytomyzinae
Género	: <i>Liriomyza</i>
Especie	: <i>huidobrensis</i> (Blanchard)

2.2.1.4 Descripción

a. Adulto. De los estudios de Salas *et al.*, (1988); Lizárraga (1990), Cabello y Suárez (1992), Echevarría *et al.*, (1994) y Barranco (2003), se recoge la siguiente descripción de la especie: los adultos son de color negro con el escutelo, frente, genas y patas de color amarillo. Tercer segmento antenal amarillo a veces anaranjado y oscurecido en el borde apical, sobre todo en las hembras. Mesopleura con una mancha negra que ocupa al menos las 3/4 partes inferiores. Fémures de color amarillo con estriaciones oscuras y tibias y tarsos oscuros. Genitalia del macho: los dos lóbulos del distifalo separados por una excrecencia y surstyli con una única espina curvada hacia el ángulo interno. Espiráculos posteriores, tanto de larvas como de pupas con una elipse regular que posee 9 poros. Las hembras son un poco más grandes y robustas (2,3 mm) que los machos (1,8 mm), y presentan un ovipositor prominente de color negro al final del abdomen de forma troncocónica. Los machos usualmente emergen un par de días antes que la hembra, dependiendo de la temperatura. La relación de sexos es de 1.25:1.0 para hembras/machos. La cópula se realiza a partir de las primeras 24 horas después de la emergencia.

b. Huevo. El huevo es de forma arriñonada, de color blanco opaco que cambia con el desarrollo del embrión a un color muy claro llegando a ser transparente, con la superficie lisa y brillante. Mide en promedio 0.25 mm de longitud y 0.1 mm de ancho.

c. Larva.- La larva es de color blanquecino amarillento y de forma cilíndrica, alargada, ápoda y acéfala, sin segmentación visible. Alcanza una longitud que varía desde los 0,5 mm (que poseen las larvas neonatas) hasta 3,25 mm (Spencer, 1981; Lizárraga, 1990). Las piezas bucales están formadas por ganchos fuertemente aserrados, que conforman el gancho bucal y asimismo están unidos al esclerito tentorofaringeal, toda esta estructura es llamada esqueleto cefalofaringeo (Berl, 1983; Barranco, 2003). A través de éstas es que construyen "minas" o galerías serpenteantes en el interior de la hoja consumiendo el mesófilo de ésta. Mediante el estudio del crecimiento alométrico de las larvas de *L. huidobrensis* (Burgos *et al.*, 2009) se conoció que existe una diferencia marcada de los 3 instares larvales a través de la comparación de las partes esclerotizadas. El esclerito tentorofaringeal fue la característica morfológica más importante para la diferenciación entre estadios larvales. La relación del tamaño de los ganchos bucales con el

ancho de las minas estableció valores que facilitan al observador el poder identificar en qué fase inmadura se encuentra la plaga.

d. Pupa. La pupa es coartada, transversalmente segmentada y en el extremo posterior sobresalen los espiráculos. La coloración de ésta varía de amarillo a café oscuro. La pupa es de tipo coartada, transversalmente segmentada (Larraín, 2004) y tiene forma de tonel. Su coloración va de amarillento a marrón rojizo. La longitud varía de 1,5-2,3mm de largo por 0,5-0,8mm de ancho.

2.2.1.5 Ciclo biológico

L. huidobrensis posee una metamorfosis completa, pasando por los estados de huevo, larva, pupa y adulto. Los huevos son insertados dentro del tejido de la hoja por la hembra justo por debajo de la superficie por un orificio producido por el ovipositor (Sánchez, 1994; Barranco, 2003). El desarrollo del estado larval se produce en el interior de la hoja, donde la larva pasa por tres estadíos. La pupa se forma en la hoja antes de caer al suelo (Barranco, 2003).

El ciclo de desarrollo bajo condiciones de temperatura y humedad relativa promedio de 27,38°C y 74,28%, es como sigue: huevo, 3,05 días; larva, 6,00 días; prepupa, 5,13 horas y pupa, 8,15 días (Salas *et al.*, 1988). Según Lizárraga (1990), en el invierno (14.6 ± 0.8 °C y 88.4 ± 2.9 %HR), el huevo incuba en seis días, la larva desarrolla en 13, la pupa en 21, completando el ciclo biológico en 40 días. Durante la primavera (17.3 ± 0.7 °C y 88 ± 3.3 %HR), el ciclo biológico disminuye sustancialmente, incubando el huevo en 2.9 días, la larva desarrolla en 11 aproximadamente, igual que la pupa completando el ciclo biológico en 25 días. A principios del verano (20.4 ± 0.9 °C y 82.1 ± 4 %HR) se aprecia un ciclo biológico de menor duración, equivalente a 19 días, con una incubación del huevo de 3 días, desarrollo larval en 9 días y la pupa en 7 días.

Asimismo, Zevallos *et al.*, (2003) evaluaron el efecto de cinco temperaturas constantes (15°, 18°, 20°, 22° y 26°C) en la oviposición, alimentación y longevidad de la *L. huidobrensis* sobre haba (*Vicia faba* L.), como planta hospedera. Se observó una correlación negativa significativa entre la longevidad de la hembra y las temperaturas estudiadas. El número total de huevos/hembra fue similar a 20° (112.2) y 22°C (111.2), y significativamente menor a 15° (72.7) y 26°C (88.6). La mayor oviposición (169.2

huevos/hembra) y alimentación (3081.4 picaduras/hembra) ocurrió a 18°C, registrándose esta temperatura como la mejor opción para mantener una crianza masiva de la mosca minadora en laboratorio.

2.2.1.6 Daños e importancia económica

Tanto las galerías causadas por las larvas de la mosca minadora al alimentarse en el mesófilo de las hojas, como las numerosas picaduras que la hembra realiza con su ovipositor en las hojas como sitios de alimentación y ovipostura, afectan al follaje de las plantas hospederas. Sin embargo, el daño más importante es el que causan las larvas por sus hábitos minadores. La larva se alimenta del interior de las hojas formando “minas” o túneles, cuyo diámetro aumenta con el desarrollo de la larva. Las hojas pierden su capacidad de producir y transportar alimento para la formación de la cosecha y finalmente se secan (Johnson *et al.*, 1983, Parrella, 1987).

La mosca minadora puede causar grandes pérdidas en cultivos. Se ha reportado alrededor de 50% de cultivo dañado en tomate, lechuga y apio (Spencer, 1981; Shepard y Barrion, 1998). En papa la situación es más crítica aún, pues las pérdidas han alcanzado el 100% en Indonesia (Shepard y Barrion, 1998), Argentina y Chile (López, 2003; Larraín, 2004). En el Perú, Mujica y Cisneros (1997) reportaron daños en papa de hasta 62% y calificaron a la mosca minadora como la plaga más perjudicial de los valles costeros.

En muchas regiones, la mosca minadora ha desarrollado niveles significativos de resistencia a la mayoría de los insecticidas carbamatos, organofosforados y piretroides, comúnmente usados para el control de larvas y adultos (Parrella *et al.*, 1984; Macdonald, 1991). El efecto negativo de los insecticidas sobre los enemigos naturales de la mosca minadora ha forzado a desarrollar medios de control alternativos para reemplazar los químicos tóxicos y manejar las plagas a través de una estrategia de Manejo Integrado de Plagas (MIP). La investigación ha sido conducida a mejorar la comprensión de los factores bióticos y abióticos que influyen en la dinámica poblacional de la mosca minadora y a probar medidas de control alternativa, constituyendo el control biológico de plagas una de los componentes más importantes (Mujica y Cisneros, 1995; Mujica y Kroschel, 2011).

2.2.1.7 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 (Cisneros, 1995). La implementación de estrategias de control para plagas como la mosca minadora requiere de la utilización de diversos métodos: cultural, biológico, etológico, químico. En el control cultural (prácticas agronómicas), cultivos saludables y vigorosos pueden contrarrestar el efecto de la infestación de la mosca, mientras que condiciones agronómicas inadecuadas pueden propiciar daños y ocasionar pérdidas. El uso de trampas amarillas disminuye los minadores en campo, sin embargo se ha observado que también puede disminuir la población de sus parasitoides (Goncalves y Almeida, 2005), debiendo hacerse un análisis de la fluctuación poblacional en el tiempo. El control etológico incluye las trampas amarillas, empleadas comúnmente para atraer y atrapar a las moscas y así mantener un control de la población. El control químico es el método más empleado a través del uso de adulticidas y larvicidas. El problema de este tipo de control es que, además de ser tolerantes a varios compuestos, las moscas desarrollan rápidamente resistencia a ellos, y además eliminan no sólo a la plaga, sino también a sus enemigos naturales (Mujica y Cisneros, 1995). El control biológico incluye a predadores, parasitoides y patógenos de las plagas.

2.2.2 Aspectos generales del parasitoide *Diglyphus websteri*

2.2.2.1 Origen y Distribución

Diglyphus websteri es una especie distribuida en las regiones Neártica y del Neotrópico. En el Neotrópico ha sido registrada en Argentina, Honduras, México y Perú (Salvo y Valladares, 2007, Acosta y Cave 1994, De Santis 1979, Arellano y Redolfi 1988). En la región Neártica ha sido identificada en los estados de Arizona, California, Kansas, Maine, Massachusetts, Nevada, New York y Utah de los Estados Unidos de Norteamérica (La Salle y Parrella, 1991).

2.2.2.2 Sinonimia

Diaulinus websteri Crawford, 1912

Diglyphus websteri (Crawford, 1912)

Solenotus websteri (Crawford, 1912)

2.2.2.3 Taxonomia Crawford, 1912

Phyllum : Artropoda

Subphyllum : Atelocerata

Clase : Insecta

Orden : Hymenoptera

Suborden : Apocrita

Serie : Parasitica

Superfamilia : Chalcidoidea

Familia : Eulophidae

Subfamilia : Eulophinae

Género : *Diglyphus*

Especie : *websteri* (Crawford)

2.2.2.4 Importancia

Diglyphus es un género casi cosmopolita de parasitoides primarios de agromícidos y unas pocas familias de lepidópteros. En general su desarrollo completo ocurre en las larvas del hospedador (Gordh y Hendrickson, 1979). *D. websteri* fue registrada por primera vez en Perú por Gordh y Hendrickson (1979); Raven (1988) lo señala como un importante parásito de varias especies de moscas minadoras, destacando las especies *L. huidobrensis* y *L. quadrata*. La lista a las plagas que ataca es extensa, como: *Agromyza parvicornis* Loew, *A. frontella* (Rondani), *Cerodontha dorsalis* (Loew), *Liriomyza* spp., *L. trifoliarum* Spencer, *Phytobia* sp. y *Phytomyza obscurella* (Zetterstedt) (Gordh y Hedrickson, 1979). *D. websteri* fue recuperado de moscas agromícidos en toda la costa peruana, la cual se caracteriza por un clima semi-cálido y muy seco (desierto árido subtropical) con una temperatura media de 19°C en el extremo sur y un clima muy cálido (desierto o tropical

árido) con una temperatura promedio de 24°C en el extremo Norte (Mujica y Kroschel, 2011).

2.2.2.5 Alcances sobre su biología y comportamiento

En la literatura existen muy escasas referencias sobre la biología y comportamiento de esta especie. Según Raven (1988) las hembras localizan sus hospederos y ovipositan un huevo sobre la larva del hospedero, la cual muere cuando el parásito que vive como ectoparásito. Generalmente cada larva de díptero hospeda una sola larva del parásito el cual requiere aproximadamente 7 días para completar su desarrollo larval. El parásito empupa dentro de la galería pero en un lugar más apartado, y permanece en este estado por 7 u 8 días.

Con respecto al comportamiento usual de las especies del género *Diglyphus*, se tomará como referencia a *Diglyphus isaea* Walker, que es una de las especies más estudiada. La hembra, que posee una elevada capacidad de búsqueda, explora la hoja con sus antenas hasta encontrar una larva adecuada para ser parasitada. Una vez localizada, la inmoviliza (la larva de minador paralizada deja de alimentarse por completo, de modo que el ectoparasitoide detiene el daño en la hoja de forma inmediata), y realiza la puesta (rara vez más de un huevo) junto a ella, en el interior de la galería. Cuando los huevos se activan, las larvas de *D. isaea* que nacen se alimentan del minador, consumiéndolas totalmente (Belda *et al.*, 1999).

Una característica muy importante de *D. isaea* y de las especies del género *Diglyphus*, en general, es que aumenta su valor como parasitoide al considerarse también depredador (Li y Dakshina, 2010). Éste produce mortandad sobre las larvas de minador para alimentarse (*Host Feeding*), ya que la hembra "pica" reiteradamente dichas larvas absorbiendo sus jugos hasta producirles la muerte. Como fuente de alimento *D. isaea* tiene preferencia sobre los estadios larvarios primero y segundo. Este comportamiento también se ha investigado con más detalle en *Diglyphus begini*, donde Cure y Cantor (2003) determinaron que las liberaciones de *D. begini* serían más efectivas si la infestación de *L. huidobrensis* se encuentra en sus primeros estadios sobre las hojas jóvenes de *Gypsophila paniculata* L.

En la actualidad no existen estudios basados en la actividad paralizadora de *D. websteri* que abarca un comportamiento de predación y otro sólo de paralización de su hospedero. Sólo se conoce que para cada tipo de comportamiento *D. websteri* paraliza primero a su hospedero matándolo bajo el efecto de una toxina (Salvo y Valladares, 2007), sin embargo no existe información de la cantidad de muertes de su hospedero causadas por su actividad paralizadora.

2.2.3 Efecto de la temperatura en la biología de insectos

El comportamiento y desarrollo de las poblaciones de insectos, tanto de hospederos como parasitoides, están influenciados por varios factores abióticos y bióticos. En el primer grupo encontramos a la temperatura, humedad y luz. En el segundo, por ejemplo para los herbívoros, la calidad y las características de las plantas hospederas (Minkenberg y Helderman, 1990). Entre los factores abióticos, uno de los más importantes es la temperatura. Ésta es la que determina los límites de las actividades biológicas de los insectos, de tal manera que las temperaturas óptimas y los umbrales máximos y mínimos pueden ser estimados para todos los procesos principales de la vida de los insectos. Sin embargo, los requerimientos térmicos pueden ser diferentes según las especies, etapas de desarrollo, etc. (Minkenberg, 1990; Gilbert y Raworth, 1996; Roy *et al.*, 2002). La temperatura tiene un gran efecto sobre la tasa de desarrollo de los insectos, la mortalidad de los estados inmaduros, la fecundidad y longevidad de los adultos. La tasa de desarrollo usualmente decrece conforme aumenta la temperatura (Minkenberg, 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).

Diversos estudios han sido realizados para evaluar el efecto de la temperatura en el ciclo de vida de muchos insectos. Minkenberg (1990) presenta el ejemplo del endoparásitoide *Dacnusa sibirica* Telenga (Hym.: Braconidae), evaluando el efecto de tres temperaturas (15, 20 y 25° C) sobre su fecundidad, longevidad y tasa de oviposición. Estos datos sirvieron para estimar el potencial de reproducción de la especie y proponer su uso como controlador biológico de *Liriomyza bryoniae* Kalténbach y *L. trifolii* Burgess en Europa. Por otro lado, en Japón ha sido estudiada la influencia de la temperatura en el

desarrollo y longevidad de los adultos del endoparásitoide de moscas minadoras *Gronotoma micromorpha* Perkins (Hym.: Eucolidae).

Actualmente, ya se han descrito los ciclos biológicos de algunos endoparásitoides de *L. huidobrensis* como: *Halticoptera arduine* (Pteromalidae), *Phaedrotoma scabriventris* (Braconidae) y *Chrysocharis flacilla* (Eulophidae). Habiéndose hecho experimentos sobre el efecto de la variación de temperatura sobre estos endoparásitoides, teniendo como resultado que para *H. arduine* la temperatura a 20°C hace posible un buen control del hospedero. Para *Ch. flacilla* la temperatura óptima de desarrollo y reproducción ha sido de 25°C; y para *P. scabriventris* las temperaturas óptimas fluctúan entre los 15°C y 20°C; es así, que se puede estimar el resultado en el control de *L. huidobrensis* a estas temperaturas. Estas investigaciones facilitarían comprender la relación de parásitoide-plaga para conocer cómo se regula la población de la plaga y a qué temperaturas el control es más efectivo (Ramírez, 2008; Valencia, 2008; Prudencio, 2011).

2.2.4 Tablas de vida y modelo fenológico de un insecto

La construcción de tablas de vida es uno de los componentes principales en la comprensión de la dinámica poblacional de una especie (Southwood 1978). La capacidad de crecimiento para diversos ambientes o condiciones se determina en base a estas tablas (López 2006). Muchos insectos tienen generaciones discretas y sus poblaciones no son estacionarias, es por ello que las tablas de vida “específicas por edad” (también llamadas “horizontales”) se aplican mejor a ellos. Este tipo de tabla se basa en la mortalidad real de una cohorte, en la que los individuos pertenecen a la misma generación. La población puede ser estacionaria o fluctuante (Southwood 1978).

Los parámetros biológicos y los principales estadísticos vitales de una población de insectos plaga, estimados a partir de tablas de vida desarrolladas en laboratorio, son una herramienta básica para elaborar estrategias de control. Estas estimaciones han sido utilizadas para evaluar resistencia en plantas y como patrón para seleccionar enemigos naturales (Vasicek *et al.* 2003). Para establecer una tabla de vida se selecciona un grupo de insectos de la misma edad y se determina diariamente su desarrollo y mortalidad. También es necesario determinar la oviposición de las hembras a partir del estado adulto (López 2006). Estos datos se emplean para hallar los siguientes parámetros:

- a) Tasa de reproducción neta (R_0): es el número de progenie hembra producida por una hembra durante su periodo de oviposición.
- b) Tasa intrínseca de crecimiento natural (r_m): es la velocidad instantánea de cambio (por individuo por intervalo de tiempo).
- c) Tasa finita de crecimiento (λ): es el número de individuos que se agrega a la población por individuo y por unidad de tiempo.
- d) Tiempo de generación (T): es el tiempo en días entre el nacimiento de una generación y el 50% de la generación siguiente.
- e) Tiempo doble (Dt): es el tiempo estimado en días que requiere la población para duplicar su número.

Estos parámetros pueden ayudar a determinar si es que un parasitoide es un buen candidato como controlador biológico de una determinada plaga. Tal es el ejemplo presentado por Minkenberg (1990), en el cual basándose en la tasa intrínseca de crecimiento (r_m) y reproducción neta (R_0) de *Diglyphus isaea* Walker se determinó que esta especie era una candidata promisorio para el control biológico estacional de *Liriomyza* en cultivos de tomate en el oeste de Europa.

Las tablas de vida (de plagas o controladores) a diferentes temperaturas han sido aplicadas para construir modelos fenológicos de los insectos y predecir su potencial de establecimiento de forma exitosa en un determinado lugar. (López, 2006; Spolerder *et al*, 2008). Los modelos fenológicos constituyen una herramienta para conocer el comportamiento de una población, observándose el tiempo de desarrollo, mortandad, fertilidad de un ser vivo y las proporciones sexuales (Cardona y Oatman, 1975), siendo una herramienta básica para elaborar estrategias de control.

En el Perú se han realizado estudios sobre los parámetros de la tabla de vida de la polilla de la papa, mencionada anteriormente, logrando construir modelos de desarrollo a partir de estudios de tablas de vida, así como de uno de sus principales parasitoides *Copidosoma koehleri* Blanchard. Según los resultados arrojados por estas investigaciones, la tasa de reproducción neta (R_0) para el parasitoide es mayor en comparación con la polilla debido a que la avispa es poliembriónica. Sin embargo, el rango de temperaturas en el cual

P. operculella alcanza su desarrollo óptimo es más amplio y esto se debe a su gran adaptabilidad frente a su parasitoide, cuya temperatura óptima de desarrollo es próxima a 25°C. Estos resultados permiten determinar en qué zonas es posible emplear a *C. koehleri* como un efectivo controlador de esta polilla (Sporleder *et al.* 2004; López, 2006).

2.2.5 Modelos fenológicos a través del programa ILCYM

El programa de Modelamiento del Ciclo de Vida de Insectos (ILCYM por sus siglas en inglés, Versión 3.0) (Tonnang, *et al.*, 2012), permite desarrollar modelos fenológicos de insectos y proporciona herramientas de análisis para el estudio de la ecología de poblaciones. Los insectos requieren una cierta cantidad de calor para pasar de una etapa de desarrollo a otra en su ciclo de vida. Su tasa de desarrollo, que es un valor recíproco del tiempo de desarrollo, se determina por la tasa metabólica, que refleja la velocidad de la bioquímica de suministro de energía los procesos en el organismo. Además del desarrollo, otros procesos que determinan la historia de vida de una especie de insectos, como la supervivencia y la reproducción, son también fuertemente influenciadas por temperatura. Por lo tanto, el marco conceptual de ILCYM se basa en la aplicación de relaciones no lineales de dependientes de la temperatura para representar todos los procesos del ciclo de vida de los insectos.

ILCYM consta de dos módulos principales, uno de ellos, el "constructor del modelo" (model builder), que facilita el desarrollo de modelos de fenología del insecto sobre la base de los datos de temperatura experimentales de una plaga específica. Este módulo también proporciona herramientas para el análisis de tablas de vida de insectos y para validar los modelos desarrollados. En el segundo módulo se implementa el modelo de fenología en un entorno al Sistema de Información Geográfica (GIS) y permite una simulación espacial, global o regional de las actividades de la plaga ("mapeo de riesgo de plagas"). El objetivo del programa ILCYM es proporcionar una herramienta de código abierto asistido por un ordenador que facilite el desarrollo de modelos de fenología utilizando técnicas avanzadas de modelamiento.

Actualmente se conocen investigaciones relacionadas a modelos fenológicos de insectos obtenidos con el programa ILCYM. Coronado (2012) realizó un estudio para ver la distribución de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) en el Valle del Mantaro, Perú, revelando que las altas elevaciones y bajas temperaturas limitarían el

desarrollo de los estadios inmaduros, por lo que estarían restringidos a cinco de las 21 zonas estudiadas, en tanto que los adultos podrían sobrevivir en 14 zonas gracias a su mayor tolerancia a la disminución de la temperatura. El modelo geográfico mostró que las superficies climáticas lograron captar la variabilidad espacial, altitudinal y temporal de las temperaturas mínimas y máximas en el valle del Mantaro, lo que se evidenció en los valores de los índices de la plaga previstos por el modelo fenológico.

Según los resultados obtenidos de la influencia de la temperatura sobre el ciclo biológico de *Apanteles subandinus* Blanchard, parasitoide de *P. operculella*, se establece que el modelo fenológico establecido para *A. subandinus* actúa de forma lógica a lo esperado según la simulación obtenida en el programa ILCYM a temperaturas anual fluctuante. Las simulaciones geográficas muestran que *A. subandinus* posee potencial para introducirlo a diferentes condiciones climáticas del mundo para el control de *P. operculella*, especialmente a las zonas tropicales y templadas sur del planeta (Dávila, 2011).

III MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los experimentos se llevaron a cabo durante el periodo de Junio del 2010 a Diciembre 2011 en las instalaciones del área de Entomología del Centro Internacional de la Papá (CIP) con sede en el distrito de La Molina, Lima-Perú (L.S. 12 05', L.O. 76 57', 240 m.s.n.m).

3.1 Materiales

Material de vidrio: Frascos medianos (5L), tubos de 10 x 50 mm, tubos folines, porta y cubre objetos; jaulas de parasitación con puerta de malla, placas cóncavas.

Material de plástico: Envases de plástico con tapa (1L), aspiradores, bandejas de plástico (45 x 25 cm), frascos de plástico.

Material de madera: Jaulas de infestación de moscas minadoras.

Material biológico: Estados adultos e inmaduros de: *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) y *Diglyphus websteri* (Hymenoptera: Eulophidae). Plantas de *Phaseolus vulgaris* (frijol)

Equipo: Microscopio y Estereoscopio Olympus, ocular micrométrico, regla micrométrica de 1mm, lámparas fluorescentes, Incubadoras, cámara fotográfica digital Olympus, cámaras de refrigeración, termo-higrómetro marca HOB0®, estufa.

Otros: Hidróxido de Sodio al 5% (NaOH), Carboxileno, Lactofenol (Fenol, ácido láctico), Ácido acético, Eugenol, Bálsamo de Canadá, Xilol, Fucsina ácida, Alcohol 70% y 96%, miel de abeja, agua, pinzas, bandas de goma, estiletes, Parafilm®, Papel Whatman® (N°1), telas de tul y organza, papel toalla, alcohol 96%, algodón, plumones indelebles, cuaderno de apuntes

3.2 Métodos

3.2.1 Establecimiento de las crías de insectos

En la presente investigación se seleccionaron plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), debido a que esta especie facilita la observación de los ectoparasitoides dentro de la mina ocasionada por la mosca minadora y tiene un periodo corto de desarrollo

3.2.1.1 Propagación de plantas

Las plantas de frijol fueron utilizadas como cultivo hospedero para los diferentes ensayos. La siembra se realizó en macetas de plástico de 4 pulgadas de diámetro, conteniendo como sustrato una mezcla de arena tierra y musgo en proporción 1:1:1 respectivamente, y esterilizado a vapor de agua a 75-85°C por dos horas. En cada maceta se colocó 5 semillas de frijol de la variedad “Canario” previamente tratadas con pentacloronitrobenzeno (fungicida). Las plantas fueron fertilizadas con una solución de Nitrógeno-Potasio-Fósforo en la proporción 12-12-12 a una concentración de 2 gramos/litro de agua. Luego de la siembra las macetas permanecieron en el invernadero entre 12 y 15 días hasta alcanzar un tamaño promedio para ser usado en los ensayos, aproximadamente 20 cm. La siembra se realizó tres veces por semanas, con un total de 200 plantas semanales.

3.2.1.2 Crianza del hospedero *Liriomyza huidobrensis*

La mosca minadora de hojas utilizada en este estudio se obtuvieron a partir de una población en laboratorio de *L. huidobrensis* mantenida en el Centro Internacional de la Papa (CIP) sobre plantas de frijol a 22°C de temperatura. (Fig. 1). Seis macetas, conteniendo cinco plantas de frijol cada una y con hojas cotiledonales desarrolladas fueron colocadas por 24 horas en jaulas de crianza y expuestas a 100 adultos de *L. huidobrensis* de 3 días de edad. Transcurrido este tiempo, las plantas de frijol fueron retiradas de las jaulas de crianza y llevadas al invernadero a temperatura ambiente 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 proceso se mantuvo a lo largo de varios meses hasta el término de las pruebas con los ectoparasitoides. Cada jaula de crianza fue suministrada periódicamente con tiras de parafilm empapados con agua y miel como nutriente para los insectos. Para el reconocimiento de los diferentes estadios larvales de la mosca minadora se utilizó como parámetro el ancho de la mina (Tabla 1).

Tabla 1: Medidas referenciales de ancho de mina (mm) y su relación con los estadios larvales de *L. huidobrensis*

Estadio Larval	Días después de la Oviposición (Inicio del estadio)	Promedio de ancho de la mina (mm)
Primer estadio (I)	5 días	0.3 – 0.4
Segundo estadio (II)	10 días	0.5 – 0.8
Tercer estadio (III)	12 días	1.0 – 1.2

**Fuente: Burgos et al., 2009*

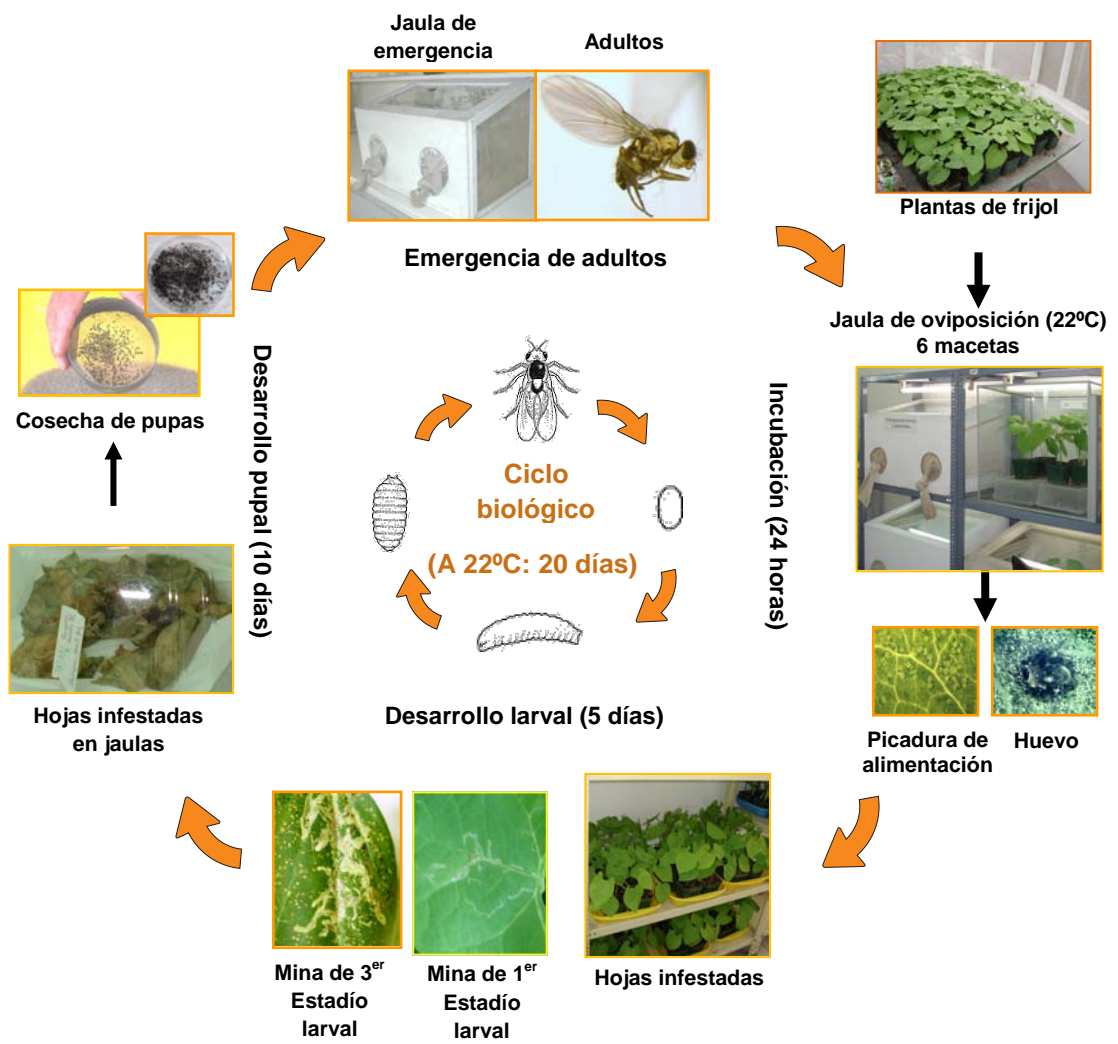


Figura 1: Esquema que representa la crianza de *Liriomyza huidobrensis* en condiciones de laboratorio.

3.2.1.3 Crianza del parasitoide *Diglyphus websteri*

La primera población de ectoparasitoides se obtuvo a partir de hojas minadas de plantaciones de *Zea mays* (maíz) colectadas en la zona de Cañete. Se seleccionó este cultivo debido a que entre los meses de Marzo y Mayo fueron los más abundantes de la zona, con abundantes hojas minadas y mediante experiencias previas en campo se comprobó que *D. websteri* emergía de este cultivo. Las hojas fueron colocadas en jaulas de crianza a la espera de la emergencia de la especie *D. websteri*. Posteriormente, se obtuvo la primera población de *D. websteri* para ser multiplicada sobre plantas de frijol en condiciones de laboratorio, seleccionando este cultivo por poseer un área foliar amplia, donde las minas son fáciles de observar a través del estereoscopio. En una jaula de vidrio se colocaron seis macetas con plantas de frijol infestadas con larvas de mosca minadora de segundo y tercer estadio. Una población de aproximadamente 80 individuos de *D. websteri* fueron liberados al interior de la jaula. Las plantas fueron retiradas después de 48 horas de exposición a los parasitoides y reemplazadas por plantas de frijol infestadas con larvas de mosca minadora. Las hojas de frijol fueron cortadas al observarse la pupa de *Diglyphus* (fácilmente reconocible a trasluz), y colocadas en una jaula para la emergencia del adulto. Esta operación fue realizada hasta el término de todos los experimentos. La crianza se llevó a cabo a una temperatura de 22 ° C, > 70% de humedad relativa y un fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (Fig. 2). Cada jaula de crianza fue suministrada periódicamente con tiras de parafilm empapados de agua con miel como nutriente para los insectos. El estatus taxonómico del parasitoide fue determinado por comparación con material referencial de la colección del Museo de Entomología del CIP-Lima y por claves taxonómicas

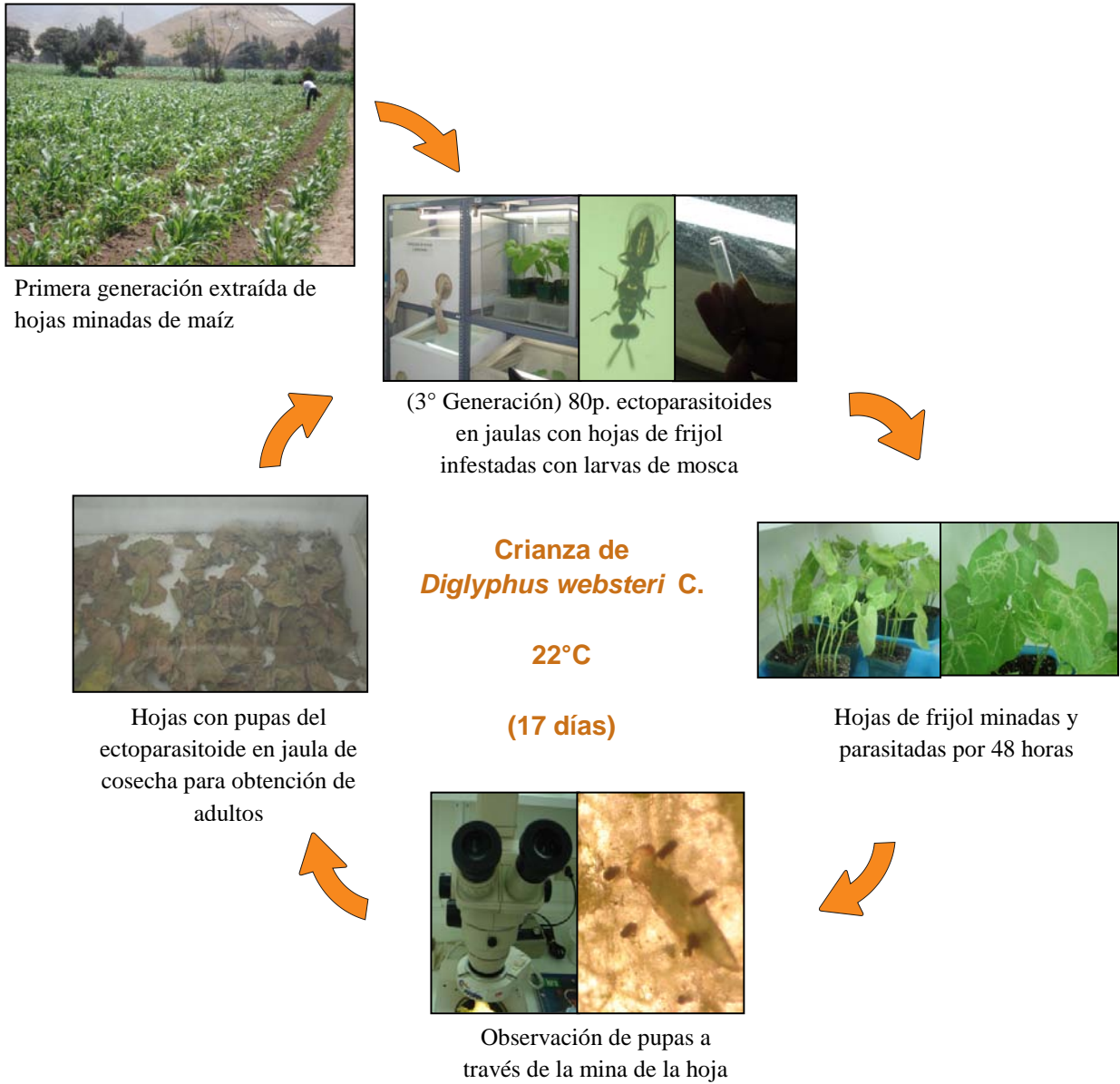


Figura 2. Esquema de la crianza de *Diglyphus websteri* en condiciones de laboratorio e invernadero

3.2.2 Bioensayos

3.2.2.1 Análisis de la morfología de los estados de desarrollo de *D. websteri*

Para la descripción de los estados inmaduros de *D. websteri* se utilizó un lote de 12 plantas de una misma parasitación. Diariamente se colectaron hojas de frijol provenientes de las jaulas de parasitación de una misma fecha de parasitación, donde se observaba paralización de larvas de mosca minadora, y se procedían a abrir las hojas cuidadosamente para colectar los diferentes estados y estadios de desarrollo (Fig. 3). La colecta fue de 20 individuos por día desde el segundo día de parasitación hasta el día en que se divisó la pupa dentro de la mina de la hoja. Las muestras fueron colocadas en alcohol al 70% para su conservación y posterior análisis. Se logró medir un aproximado de 30 muestras por estado de desarrollo, incluyendo los estadios larvales.

a. Procesamiento y montaje de los estados de desarrollo de *D. websteri*

Los huevos de *D. websteri* se extrajeron cuidadosamente de las minas de las hojas, fueron difíciles de observar por su pequeño tamaño y se evitó realizar todo el proceso de limpieza debido a que en el momento de manipularlos muchos se extraviaban. Sólo se limpiaron sutilmente con NaOH por unos minutos y se agregaron unas gotitas de ácido glacial acético para luego ser teñidos con Fucsina. Posteriormente fueron colocados en láminas para ser observados en el microscopio.

El procesamiento para larvas y pupas consistió en colocar diferentes muestras en tubos con 3ml. de NaOH, los cuales se calentaron en baño maría (80°C) por aproximadamente 15 minutos. Luego se procedió a pinchar el individuo con un par de minúteles para eliminar el contenido interno, este procedimiento fue realizado usando un estereoscopio. Las muestras fueron colocadas en las placas escarbadas con agua destilada, se colocaron gotas de ácido glacial acético y una gota de fucsina ácida para el teñido. Para limpiar la grasa de larvas y pupas se echaron gotas de Carboxileno y para parar la reacción se volvió a colocar en ácido glacial acético y unas gotas de Eugenol para hacer más traslucida la muestra. Posteriormente, se montaron las larvas en porta objetos con Bálsamo de Canadá, colocándose cubreobjetos para ser observados al microscopio (Fig. 4).

En el caso de los adultos, estos fueron colocados en alcohol al 80% y algunos se seleccionaron para la disección de antenas, patas y alas. Los adultos que no fueron disectados fueron colocados en láminas para ser observados directamente al estereoscopio. Finalmente, se tomaron registros fotográficos de las muestras montadas de los diferentes estados y estadios que se encontraban en las mejores condiciones.

Haciendo uso del software Image Tool®, se tomaron las medidas del ancho anterior del cuerpo (tórax), del largo del cuerpo; y del ancho y largo de los ganchos bucales. El análisis del crecimiento alométrico de las partes esclerotizadas de un insecto hace posible diferenciar los estadios larvales de los insectos (Iannacone y Alvaríño, 2007). Estas medidas ayudaron a establecer diferencias entre los estados inmaduros de *D. websteri* y a través de las mediciones realizadas, con ayuda del microscopio estereoscópico se diferenció y describió morfológicamente cada estado.

Asimismo, se realizaron esquemas de los estados de *D. websteri*, siendo dibujados a mano alzada y posteriormente digitalizados con el programa Adobe Photoshop CS3®, detallando las medidas promedio de huevo, larva, pupa y adulto.

3.2.2.2 Observaciones sobre el comportamiento de los adultos

Durante el desarrollo de los experimentos anteriores se realizaron observaciones sobre las características de los siguientes comportamientos: a) emergencia de los adultos parasitoides del pupario de su hospedero, b) apareo c) oviposición de la hembra. Adicionalmente se realizaron experimentos complementarios para determinar las características del comportamiento partenogenético de la hembra.

De forma similar al experimento de capacidad de reproducción, se expusieron plantas infestadas con larvas de mosca minadora en los últimos estadios larvales a hembras recién emergidas y no apareadas de *D. websteri*. Las hojas infestadas fueron cambiadas por hojas nuevas cada 24 horas por un periodo de 4 días. Se esperó la emergencia de los adultos para determinar su sexo.



Figura 3: Imagen del tercer estadio de *Diglyphus websteri* dentro de mina y en la imagen derecha sobre una placa petri.



Figura 4: Imagen del proceso para la descripción y medidas de los estados de *D. websteri*

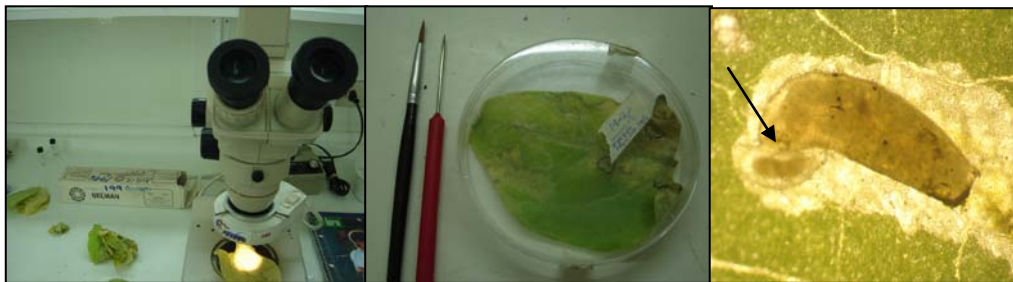


Figura 5: Imágenes de hojas de frijol colocadas en placas luego de ser analizadas para ver el tipo de paralización

3.2.2.3 Efecto de la temperatura en la biología de *D. websteri*

Todos los siguientes experimentos fueron conducidos en laboratorio dentro de incubadoras (Thermo ®) a temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35° C y a temperatura ambiente, con un fotoperíodo de 12 L: 12N. El registro de la temperatura se realizó por medio de Hobos (H8, Onset, MA) al interior de cada una de las incubadoras. La humedad relativa del ambiente se mantuvo en aproximadamente 70% en cada cámara.

3.2.2.3.1 Ciclo de desarrollo

En una jaula de vidrio se colocaron 6 macetas con plantas de frijol infestadas con larvas de mosca minadora entre el final del segundo estadio e inicio del tercer estadio larval, aproximadamente entre 6 y 8 larvas por foliolo; luego se liberaron 60 parejas del parasitoide. Las plantas permanecieron en las jaulas por 24 horas para permitir a lo parasitoides colocar sus huevos en las larvas del minador. Transcurrido este tiempo, las plantas fueron removidas de la jaula de parasitación y las hojas acondicionadas en viales de vidrio con agua hasta pasados unos días, para luego ser colocadas en placas petri, suministradas con 2 a 3 gotas de agua para conservar la humedad.

Para el seguimiento del ciclo de desarrollo del parasitoide se identificaron entre 150 a 200 larvas de mosca minadora paralizadas en las hojas de frijol por cada temperatura. Estas larvas fueron señaladas con un plumón de tinta indeleble y luego codificadas para hacer más fácil su ubicación y seguimiento. El número total de hojas de frijol utilizadas para el seguimiento del ciclo de desarrollo del parasitoide varió según el número de larvas paralizadas encontradas y en promedio se observaron 5 larvas paralizadas por hoja de frijol. Cada hoja de frijol fue colocada dentro de una placa petri debidamente rotulada (Fig. 5). Las larvas del minador fueron minuciosamente revisadas en los primeros días para registrar la presencia del huevo o larva de primer estadio de *D. websteri*. Una vez ubicado el estado inmaduro del parasitoide, se contabilizaron también las larvas del minador que solo habían sido paralizadas por parasitación. Las observaciones se realizaron diariamente con ayuda de un estereoscopio desde el estado de huevo hasta la emergencia del adulto del parasitoide.

Debido a la dificultad para encontrar el huevo del parasitoide y hacer el seguimiento del periodo de incubación (sobre todo a temperaturas altas como 25, 30 y 35°C), la evaluación de los estados de huevo y larva se codificaron como estado huevo-larval.

3.2.2.3.2 Reproducción y Proporción sexual

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 (Fig. 7 y 8). En el techo de la cámara se perforó un orificio de 8 cm de diámetro, el cual fue cubierto con un tul para facilitar la aireación de la cámara. En el piso de la cámara se perforó un segundo orificio, éste de 2 cm de diámetro, dónde se introdujo un frasquito de vidrio de 50 ml de capacidad. En la pared de la cámara se perforó un tercer orificio de 0.5 cm de diámetro para facilitar la introducción de los adultos del parasitoide (Fig. 7). En el frasquito de 50 ml se colocaron hojas de 2 a 3 hojas de frijol que contenían en promedio 40 larvas de mosca minadora (entre el final del segundo estadio e inicio del tercer estadio larval), el cual fue fijado en el piso de la cámara. Una pareja de parasitoides adultos recién emergidos fue liberada al interior de la cámara. Las parejas de parasitoides provinieron de crías y se evaluaron 30 parejas por cada temperatura. Una solución de miel y agua (1:3) fue provista para la alimentación de los adultos. Para medir la reproducción de las hembras, las hojas expuestas fueron removidas cada 24 horas y reemplazadas por nuevas hojas infestadas con la misma cantidad de larvas del minador. Este procedimiento se repitió hasta la muerte de la hembra. Los parasitoides emergidos fueron sexados bajo microscopio estereoscópico. Se registró diariamente el número de parasitoides emergidos y su sexo.

Adicionalmente, se evaluó la proporción sexual de poblaciones de *D. websteri* provenientes del valle de Cañete para realizar una comparación con poblaciones a temperaturas constantes.



Figura 6: Imagen de plantas de frijol infestadas con larvas de moscas minadoras

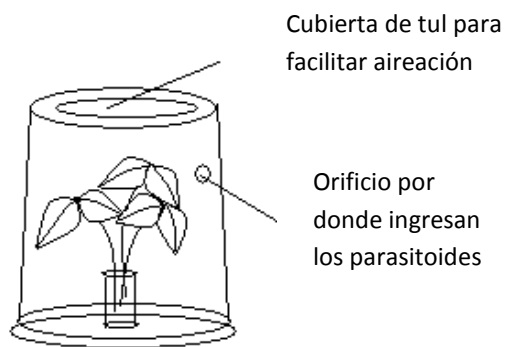


Figura 7: Esquema de unidad de ensayo: Frasco de 1L con vial y hojas de frijol minada



Figura 8: Imagen de frascos con plantas de frijol que contienen larvas entre el 2° y 3° estadio larval de mosca minadora

3.2.2.3.3 Longevidad de adultos

La longevidad de los adultos fue determinada contabilizando el número de días de vida de machos y hembras del ensayo de reproducción a todas las temperaturas estudiadas. Cada individuo fue colocado en tubos de ensayos codificados, con suministro de miel y agua como alimento.

3.2.3 Desarrollo del modelo fenológico para *D. websteri*

Los datos del tiempo de desarrollo, tasa de desarrollo, mortalidad, fecundidad y longevidad de adultos de las cohortes obtenidos a temperaturas constantes fueron usados para desarrollar un modelo fenológico basado en la temperatura de *D. websteri*. Este análisis se realizó con la ayuda del programa Insect Life Cycle Modeling (ILCYM), software desarrollado por el Centro Internacional de la Papa (CIP) Versión 3.0 (disponible en <http://www.cipotato.org>) (Kroschel *et al*, 2013). El desarrollo de un modelo fenológico por medio del programa ILCYM comprende cuatro etapas: 1) Recopilación de datos a través de la realización de experimentos a temperaturas constantes y fluctuantes, 2) Definición de las funciones no lineales que describen los procesos dependientes de la temperatura por medio de la interfase “construcción de modelos” y la posterior compilación de todos los sub-modelos obtenidos 3) Establecimiento del modelo fenológico del insectos que permitirá la determinación de los parámetros de la población a temperaturas constantes y 4) Validación del modelo utilizando datos que proceden de experimentos llevados a cabo bajo temperaturas fluctuantes.

3.2.3.1 Construcción de modelos

3.2.3.1.1 Tiempo de desarrollo y su distribución

En la evaluación del tiempo de desarrollo y su variación, ILCYM vincula tres modelos de distribución a los datos: Modelo de respuesta binario logístico, que es la probabilidad que un insecto cuyo estado fenológico dure hasta el cambio al siguiente estado dada la *i*-ésima temperatura en un día fijo; el Modelo Probit y el modelo Cloglog que establecen una similar definición al primer modelo.

Se selecciona el modelo (más de 50) que mejor se ajusta mediante los siguientes criterios: el menor valor de Suma de Cuadrados del Error (SCE), llamado Deviance; el menor valor del criterio de selección de Akaike (AIC), que depende del número de parámetros del modelo estadístico, y del valor máximo del “Criterio de selección del modelo” (MSC). Luego, sobre la base del modelo seleccionado, calcula los "tiempos medios de desarrollo" con límites de confianza del 95% y un parámetro para describir la variación de desarrollo.

3.2.3.1.2 Tasa de desarrollo

Esta evaluación complementa la evaluación del tiempo de desarrollo en el que se ajusta un modelo que describe la dependencia de la temperatura con respecto a la tasa de desarrollo para cada etapa de vida (huevo-larva y pupa). En el caso de los adultos (machos/hembras) las funciones describen la tasa de senescencia dependiente de la temperatura. Mediante el modelo se busca explicar la influencia de la temperatura en la tasa de desarrollo, utilizando modelos no lineales, donde los puntos observados en su gran mayoría tienen una forma asintótica hacia la derecha. Para la estimación de los parámetros de los modelos se utilizan métodos numéricos usando el algoritmo Marquardt, que para la convergencia de dichos parámetros se necesitan valores iniciales adecuados, de lo contrario dicho resultado diverge; se provee de un gráfico de los puntos con la curva del modelo, tabulando sus parámetros buscando ajustar la curva a los puntos lo máximo que se pueda, y después de encontrado un buen ajuste se toman esos valores tabulados como los valores iniciales.

El modelo Sharpe De Michele, en esta oportunidad fue usado para la estimación de parámetros en la tasa de desarrollo. Sharpe y DeMichele (1977) desarrollaron un modelo termodinámico del desarrollo de un organismo poiquiloterma sobre la base de tres supuestos básicos: a) El desarrollo está regulado por una sola enzima controladora y su velocidad de reacción determina la tasa de desarrollo del organismo. b) El tipo de desarrollo es proporcional al producto de la concentración de las enzimas activas y su constante de velocidad (que depende de la temperatura). c) La enzima controladora puede existir en dos estados de inactivación dependiente de la temperatura (baja y alta), así como un estado activo.

Estos supuestos estarían relacionados con la actividad metabólica de las hormonas ecdisteroides, que corresponden a compuestos terpenoides vinculados con la muda en los artrópodos que se sintetizan en la glándula protorácica, desarrollada durante la embriogénesis de células ectodérmicas en la cabeza. Los ecdisteroides se difunden en las células receptoras y afectan directamente su expresión génica, lo que provoca la activación o inactivación de ciertos genes y la síntesis o la inhibición resultante de enzimas y otros péptidos reguladores (Klowden, 2007; Hickman, *et al.*, 2001).

La senescencia de los adultos fue descrita por el modelo Stinner-4. Siendo parte de los modelos no lineales más adecuados para temperaturas extremas más allá del rango lineal intermedio, que proporciona una mejor descripción, incluyendo una predicción más precisa de la temperatura óptima (Stinner *et al.* 1974).

3.2.3.1.3 Mortalidad de los estados inmaduros

La mortalidad es un proceso importante en el ciclo de vida de los insectos que es afectado por la temperatura y el programa ILCYM cuantifica este efecto sobre la mortalidad de los estados inmaduros (huevo-larva y pupa). Existen varios modelos no lineales que describen una mortalidad baja cerca a una temperatura óptima y el incremento de la mortalidad con la variación de la temperatura óptima. Para esta investigación se desarrolló un modelo no lineal basado en un algoritmo llamado Marquardt, previendo una solución numérica al problema de minimizar una función.

3.2.3.1.4 Reproducción

La oviposición o la reproducción de los insectos es descrito por dos componentes dependientes de la temperatura: la oviposición total y la frecuencia de oviposición relativa. La oviposición total representa el número total esperado de huevos puestos por una hembra del insecto durante toda su vida como una función de la temperatura. Esta relación se modela con una función no lineal. La frecuencia de oviposición relativa es la proporción de la capacidad de reproducción en el tiempo de vida total que transcurre durante cada período de tiempo. Esta frecuencia de oviposición acumulada de las hembras se evalúa en relación a la edad normalizada de las hembras (tiempo/tiempo medio) a una temperatura determinada.

Todos los submodelos anteriormente desarrollados para cada etapa de la vida del parasitoide fueron recopilados por ILCYM y ejecutados en un modelo fenológico global.

3.2.3.2 Establecimiento de la fenología de *D. websteri* y sus parámetros poblacionales

Los parámetros poblacionales tales como: la tasa de reproductiva neta (R_0), tasa intrínseca de crecimiento (r_m), tasa finita de crecimiento (λ), el tiempo medio de generación (T) y el tiempo de duplicación (TD) fueron estimados por el programa ILCYM en base a los modelos no lineales previamente obtenidos. Se aplicó el modelo fenológico obtenido para simular el desarrollo, la mortalidad y la reproducción de 100 individuos por especie. La simulación de la tabla de vida en ILCYM se llevó a cabo a seis temperaturas constantes (10, 15, 20, 25, 30 y 35° C) y una muestra de 80 individuos para un período de un año usando la función de simulación determinística con 5 repeticiones por temperatura.

3.2.3.3 Validación de la fenología de *D. websteri*

La herramienta de validación en ILCYM permite la evaluación del modelo de fenología desarrollado para reproducir el comportamiento de *D. websteri* bajo condiciones de temperatura fluctuante. Esto se logra mediante la comparación de los datos de tabla de vida experimentales obtenidos a partir de estudios de temperatura fluctuante con resultados de los modelos producidos mediante el uso de los mismos registros de temperatura como datos de entrada. La validación del modelo establecido se realizó mediante simulación determinística.

3.2.4 Efecto de la temperatura en la actividad de paralización y parasitismo de *D. websteri*

El ensayo de reproducción de *D. websteri* fue utilizado para la evaluación de la actividad de paralización (*stinging*) de las larvas de mosca minadora por parte de la hembra del parasitoide. En cada una de las hojas infestadas con larvas de mosca minadora y expuesta al parasitoide por 24 horas se contó el número de larvas paralizadas sin presencia del parasitoide, el número de larvas paralizadas con presencia de larva de *D. websteri* y el número de larvas sanas (reconocibles por los movimientos violentos del gancho cefálico).

Luego de la extracción diaria de hojas, se procedía a realizar un círculo con plumón indeleble alrededor de la larva de mosca minadora paralizada, registrando el día para luego

corroborar si se trataba de la paralización por oviposición del ectoparasitoide o sólo por paralización para ocasionar la muerte de la plaga. Las hojitas de frijol en las placas eran suministradas con gotas de agua para no perder la humedad del ambiente dependiendo en qué temperatura se encontraba. Continuamente las hojitas eran observadas en el estereoscopio y las larvas de mosca parasitadas se diferenciaban de las larvas sólo paralizadas al pasar de los días, debido a que era común ver a las larvas de mosca parasitadas con una larva pequeña del ectoparasitoide encima o debajo de ésta.

La evaluación se llevó a cabo en cada una de las temperaturas utilizadas en el ensayo de reproducción desde el primer día de vida de la hembra hasta su muerte.

3.2.5 Análisis estadístico

Los datos sobre el tiempo de desarrollo de las diferentes etapas de vida, la longevidad y fecundidad de las hembras adultas se compararon entre temperaturas usando análisis unidireccional de la varianza (ANOVA). Cuando se detectaron diferencias significativas, las comparaciones múltiples se hicieron utilizando la prueba de rangos múltiples de Tukey ($P > 0.5$). Todo el análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico R (R statistics, versión 2.6.). Para estimar la relación lineal entre la temperatura y la tasa de desarrollo de *D. websteri* se utilizó el modelo lineal grados/día (modelo de suma térmica) (Campbell *et al.* 1974). La relación lineal es $Y (= 1 / D) = a + bT$, donde Y es la tasa de desarrollo ($1 / d$), T es la temperatura ambiente ($^{\circ} C$), y los parámetros de regresión es la ordenada al origen (a) y la pendiente (b). La constante K térmica ($= 1 / b$) es el número de grados/día por encima del umbral sumado sobre el período de desarrollo. Cuanto más bajo sea el desarrollo del $T_{min} (= -a / b)$ es la temperatura mínima a la que el ritmo de desarrollo es cero o donde no ocurre un desarrollo medible.

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 MORFOLOGIA Y COMPORTAMIENTO DE *Diglyphus websteri*

4.1.1 Descripción morfológica de los estados de desarrollo de *Diglyphus websteri*

El ectoparasitoide *D. websteri* es un insecto holometábolo, el cual pasa por cuatro estados de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto (Fig. 9). La descripción morfológica de cada uno de los estados de desarrollo se presenta a continuación.

4.1.1.1 Huevo

El huevo de *D. websteri* es de tipo himenopteriforme alargado, en forma de bate corto y redondeado en ambos extremos, translúcido y en algunas oportunidades blanquecino, pudiendo ser observado sólo a través del microscopio (Fig. 10A). Luego del proceso de limpieza y tinción se puede observar el corión translúcido diferenciándose del embrión (Fig 10B). La superficie del huevo presenta un área ligeramente rugosa con pequeñas espinas que ayudan a su fijación en la superficie interna de la mina (Fig 10C). Posee una longitud promedio de 0.30 ± 0.09 mm y el ancho de 0.12 ± 0.23 mm (Fig. 10A). El huevo usualmente es observado cerca a una larva de mosca minadora en la mina de la hoja

4.1.1.2 Larva

La larva de *D. websteri* es de tipo himenopteriforme con 13 segmentos, cada segmento contiene espiráculos y a su vez diminutas espinas en su superficie. Se establecieron tres instares larvales para *D. websteri* que se diferencian entre sí por el tamaño de los ganchos bucales. Todo el desarrollo larval ocurre dentro de la mina construida por la larva del minador. A continuación se describe cada uno de los estadios.

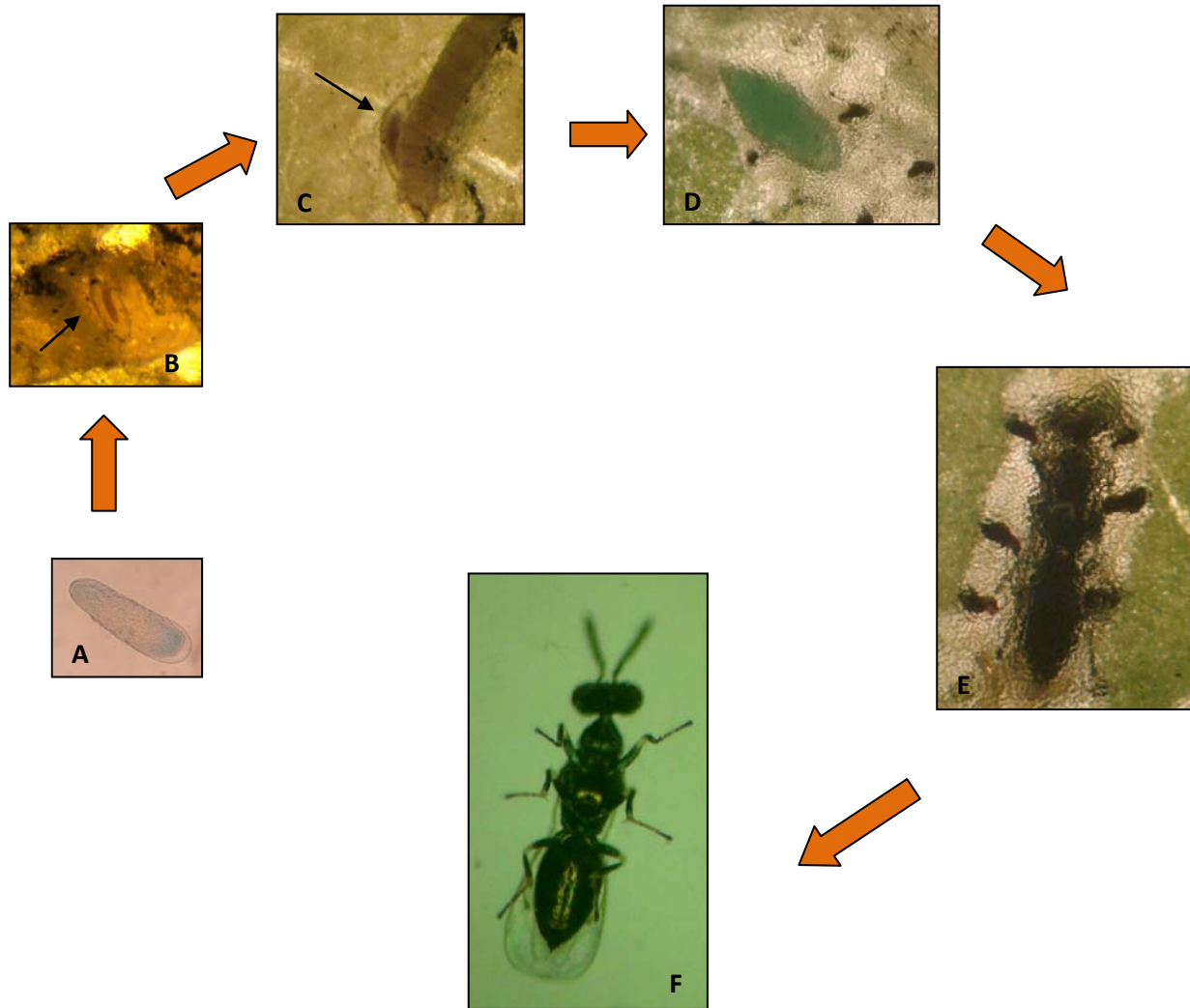


Figura 9: Secuencia de los estados inmaduros hasta la emergencia del adulto: A.- Huevo. B.- 1° Estadío larval. C.- 2° Estadío larval. D.- 3° Estadío larval. E.- Pupa exarate. F.- Adulto macho de *D. websteri*

4.1.1.2.1 Primer estadio larval

El primer estadio larval es transparente y mide en promedio 0.96 ± 0.09 mm de longitud y 0.42 ± 0.05 mm de ancho (Fig. 11 A). La larva es transparente y no se observa una cápsula cefálica definida (Fig. 11B).

Sin embargo, se observa claramente un par de ganchos bucales que sirven para la fijación de su presa (Fig. 11C y Fig. 11D) Este estadio es móvil y migra desde el lugar como se encontraba como huevo hasta el lugar donde se ubica la larva de mosca minadora, fijando su aparato bucal al cuerpo de su hospedero a través de la introducción de sus ganchos bucales. Los ganchos tienen un promedio de 0.011 ± 0.02 mm largo y 0.005 ± 0.01 mm de ancho (Fig. 11D) .La funcionalidad de estos aparatos esclerotizados es que la larva debe de fijarse sobre la superficie del minador para poder succionarla y desarrollarse hacia los demás estadios.

4.4.4.1.1 Segundo estadio larval

El segundo estadio larval posee una coloración verde clara y continúa manteniendo los 13 segmentos y espiráculos en la superficie del cuerpo (Fig. 12A). El tamaño promedio este estadio es de 1.33 ± 0.09 mm de largo y 0.56 ± 0.04 mm de ancho. Al inicio del segundo estadio larval se observa que gran parte del cuerpo de la larva es de color marrón debido al contenido del alimento ingerido y conforme se desarrolla va adquiriendo un color verdoso. Asimismo, a través del microscopio se pueden apreciar pequeñas espinas en la superficie del cuerpo que ayudan a su fijación en el cuerpo del minador (Fig. 12B). La longitud promedio de sus ganchos es de 0.016 ± 0.01 mm de largo y 0.007 ± 0.02 mm de ancho (Fig. 12 C y D).

4.4.4.1.2 Tercer estadio larval

Al pasar al tercer estadio, la larva se torna de color verde turquesa, el aspecto es similar al estadio anterior pero de mayor tamaño, con un promedio de 1.48 mm de largo y 0.68 mm de ancho (Fig. 13A). La medida de sus ganchos bucales corresponde a 0.025 ± 0.04 mm de largo y 0.010 ± 0.03 mm de ancho (Fig 13B y Fig. 13C).



Figura 10: Imágenes del estado de huevo. A.- Tres huevos teñidos (4x) B.- Fotografías del estado huevo de *Diglyphus websteri*, se aprecia el corión separado del embrión (10x). C.- Huevo donde se distinguen las espinas (20x).

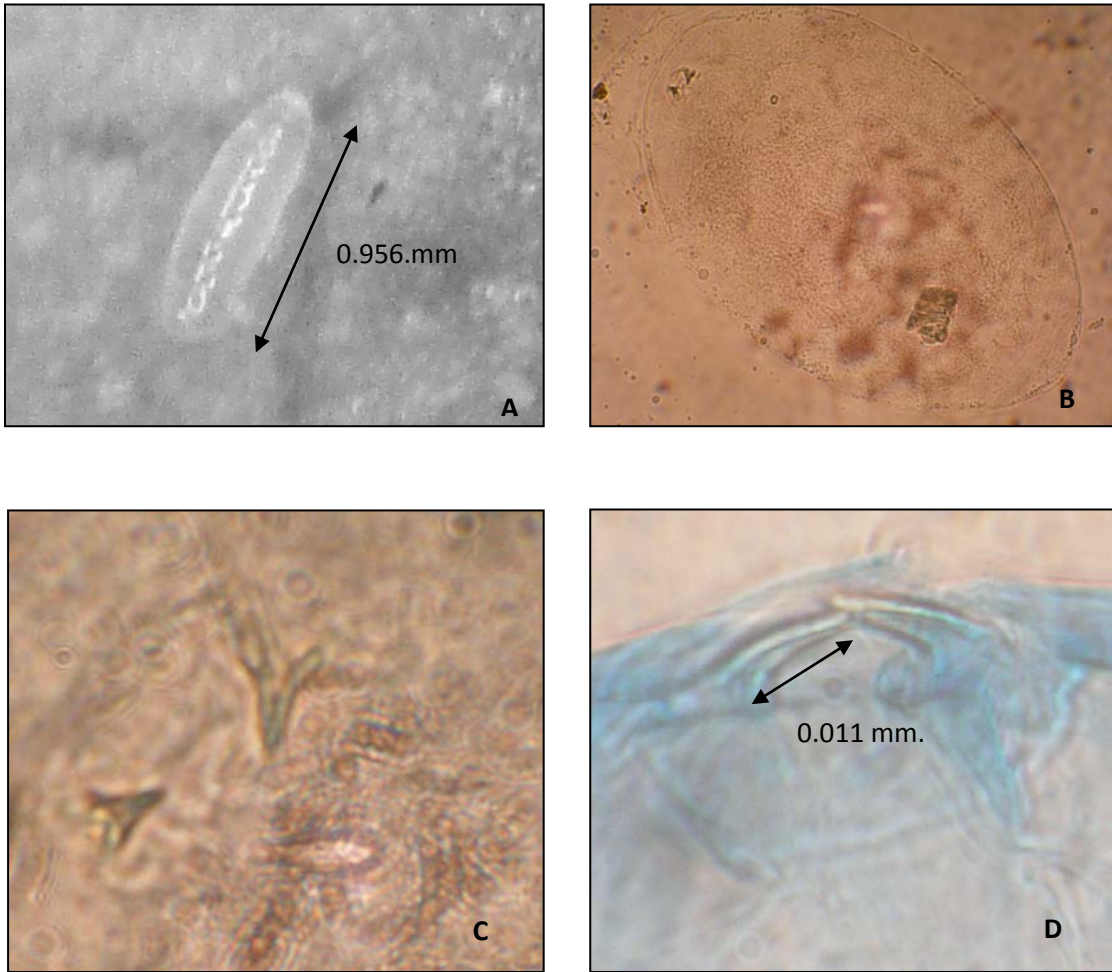


Figura 11: Imágenes del primer estadio larval de *D. websteri*, donde se aprecia el primer estadio larval extraído de la mina de la hoja de frijol (A), la larva procesada (B) (20x) y dos vistas de los ganchos bucales (C y D) (60x).

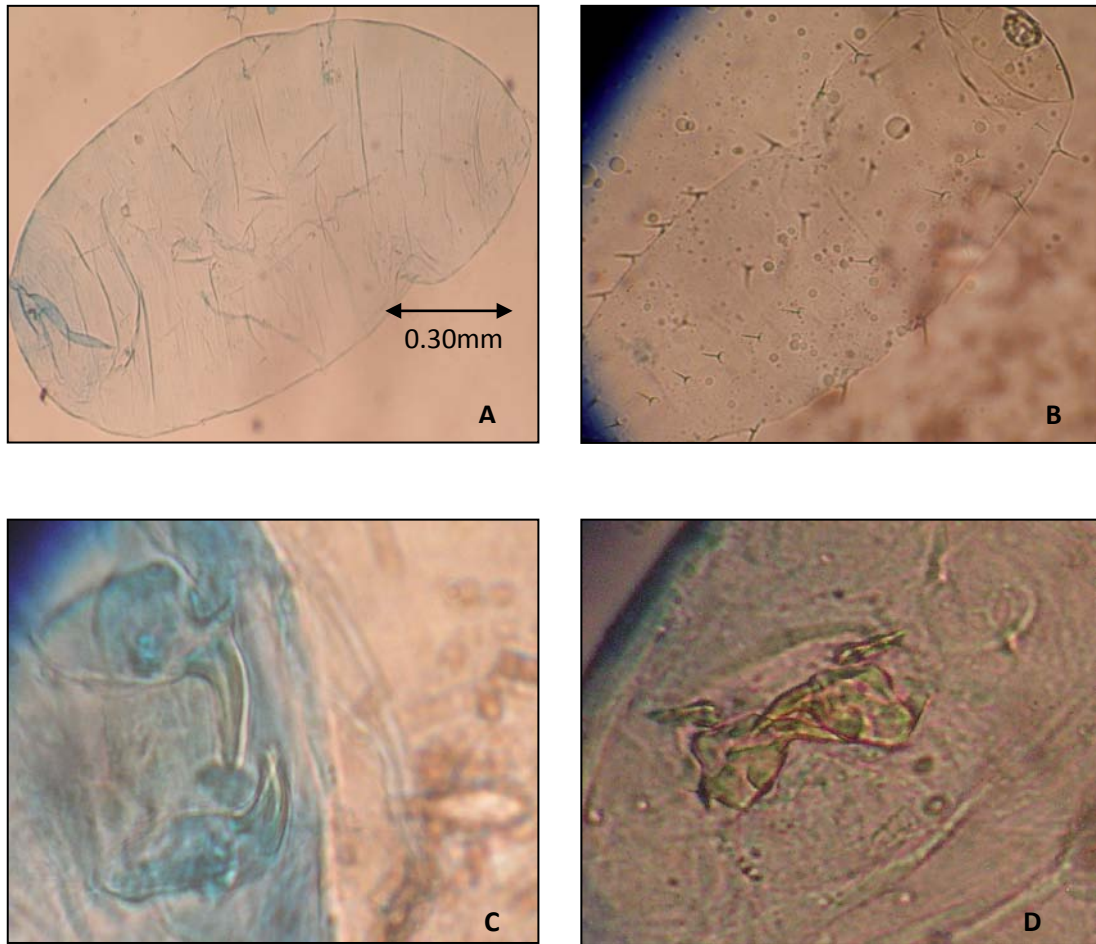


Figura 12: Imágenes del segundo estadio larval de *D. websteri*, donde se aprecia en la primera imagen los segmentos abdominales (A) (10x), las espinas en la superficie (B) (10x) y dos imágenes de los ganchos bucales (C y D) (60x).

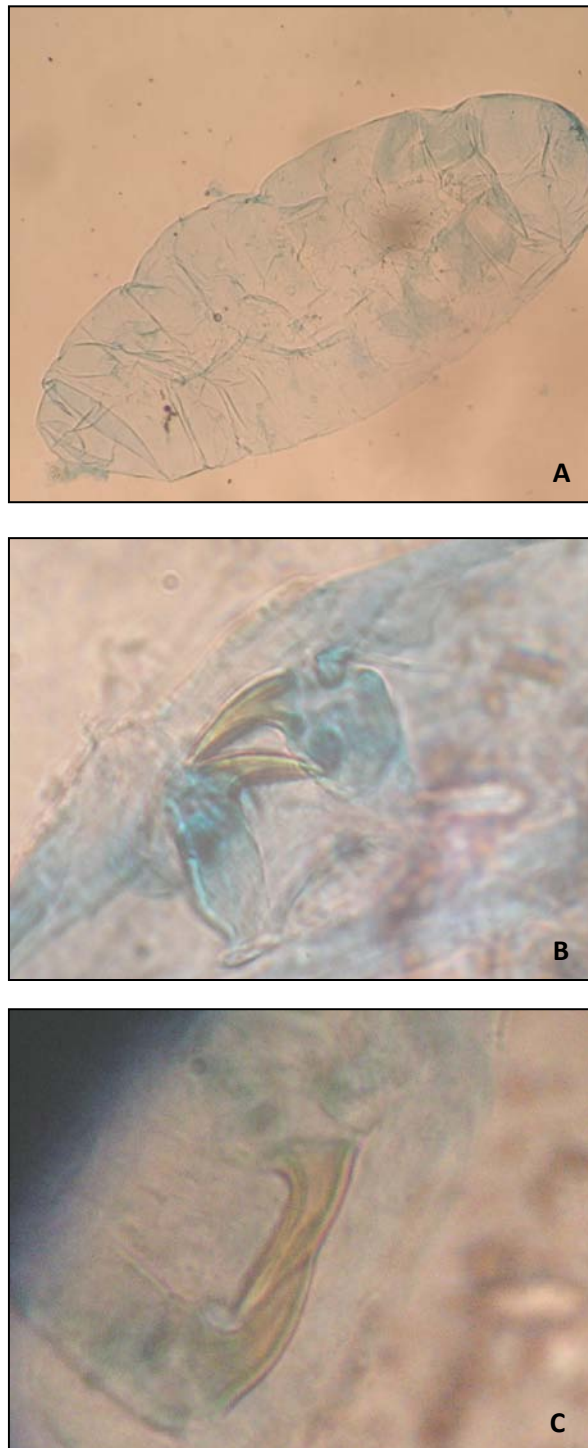


Figura 13: Imágenes del tercer estadio larval de *D. websteri*, donde se aprecia la larva procesada (A) (20x), y ganchos bucales desarrollados (B y C) (60x).

4.4.4.2 Pupa

La pupa del parasitoide es de tipo exarate y mide en promedio 1.839 ± 1.40 mm de largo y 0.411 ± 0.62 mm de ancho. En el estado pupal ocurren tanto los procesos de esclerotización como de melanización del parasitoide (Fig. 14A y Fig 14B). Inicialmente se forma una prepupa de color amarillo muy claro para luego tornarse de color verde donde se distinguen claramente la cabeza, el tórax y el abdomen (Fig. 14C). En la cabeza se puede distinguir las antenas, los ojos compuestos rojizos y en el tórax las alas y las patas.

En la etapa final de la formación de la pupa se llega a distinguir en el lado ventral del abdomen, los aparatos reproductivos tanto de machos como de hembras (Fig 15A y Fig 15B). Conforme pasan los días y poco antes de la emergencia del adulto, la cutícula de la pupa se va oscureciendo hasta tornarse de color marrón oscuro metálico. El proceso de esclerotización también es paulatino, tornándose la cutícula más dura y sólida con el tiempo. La pupa cuando madura adquiere una coloración metálica oscura y los ojos son de color rojo.

4.4.4.3 Adulto

El adulto de *Diglyphus websteri* mide entre 2 y 3 mm es de color marrón metálico (Fig 16A y 16B). Las hembras presentan un surco en la parte del abdomen, pudiendo ser solamente reconocido mediante el uso de estereoscopio, con un aparato reproductor que cubre más del 50% del abdomen a diferencia de los machos (Fig. 15). *D. websteri* se diferencia a simple vista de otras especies de *Diglyphus* por presentar esta coloración en las $\frac{3}{4}$ partes del fémur y la tibia (Fig 16D). Presenta cuatro tarsómeros en patas y una espuela (Fig. 16D). Los ojos compuestos son de color rojo oscuro y los ocelos también presentan un color rojizo. La antena es de tipo geniculada con seis flagelómeros y con la base del escapo antenal claro (Fig. 16F). En las alas anteriores la vena marginal y submarginal se presentan de manera continua (Fig 16C y Fig 16E). La vena submarginal con seis setas dorsales. La vena postmarginal claramente más larga que la vena estigmal.

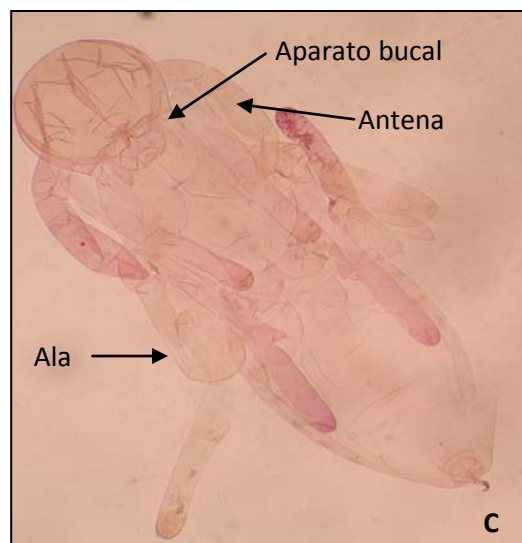
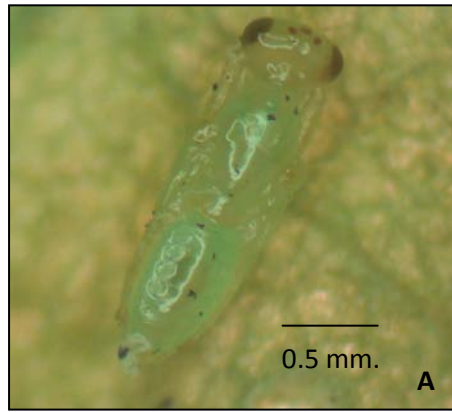


Figura 14: Imágenes de la vista dorsal de la pupa de *D. websteri*. A.- Pupa verde extraída de la mina de hoja de frijol. B.- Pupa en su última etapa de melanización. C.- Pupa limpiada y teñida (4x) donde se aprecian claramente partes en proceso de esclerotización.

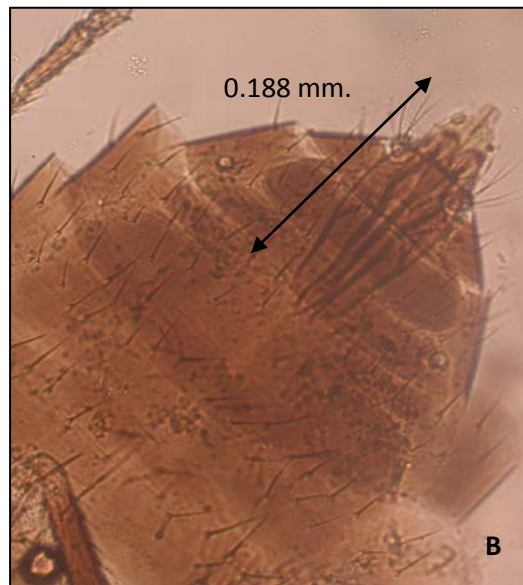
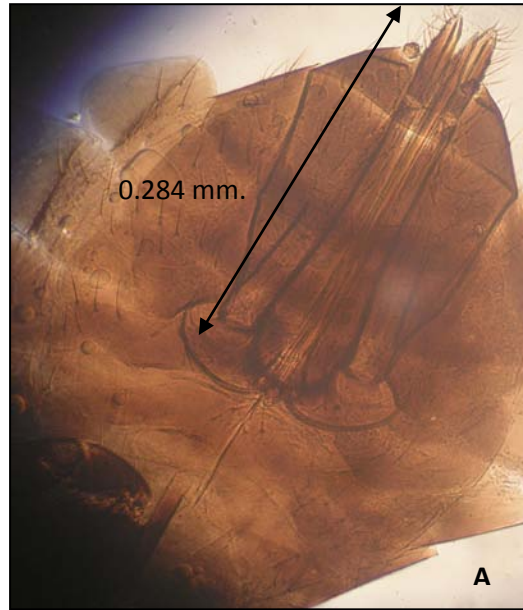


Figura 15: Imágenes de la vista ventral de los aparatos reproductores de *D. websteri*. A.- Abdomen de una pupa que se convertirá en un adulto hembra. Se aprecia que el ovipositor abarca más de la mitad de los segmentos abdominales (10x) B.- Abdomen de una pupa que se convertirá en un adulto macho. Se aprecia un órgano reproductor que abarca la tercera parte del abdomen (10x).

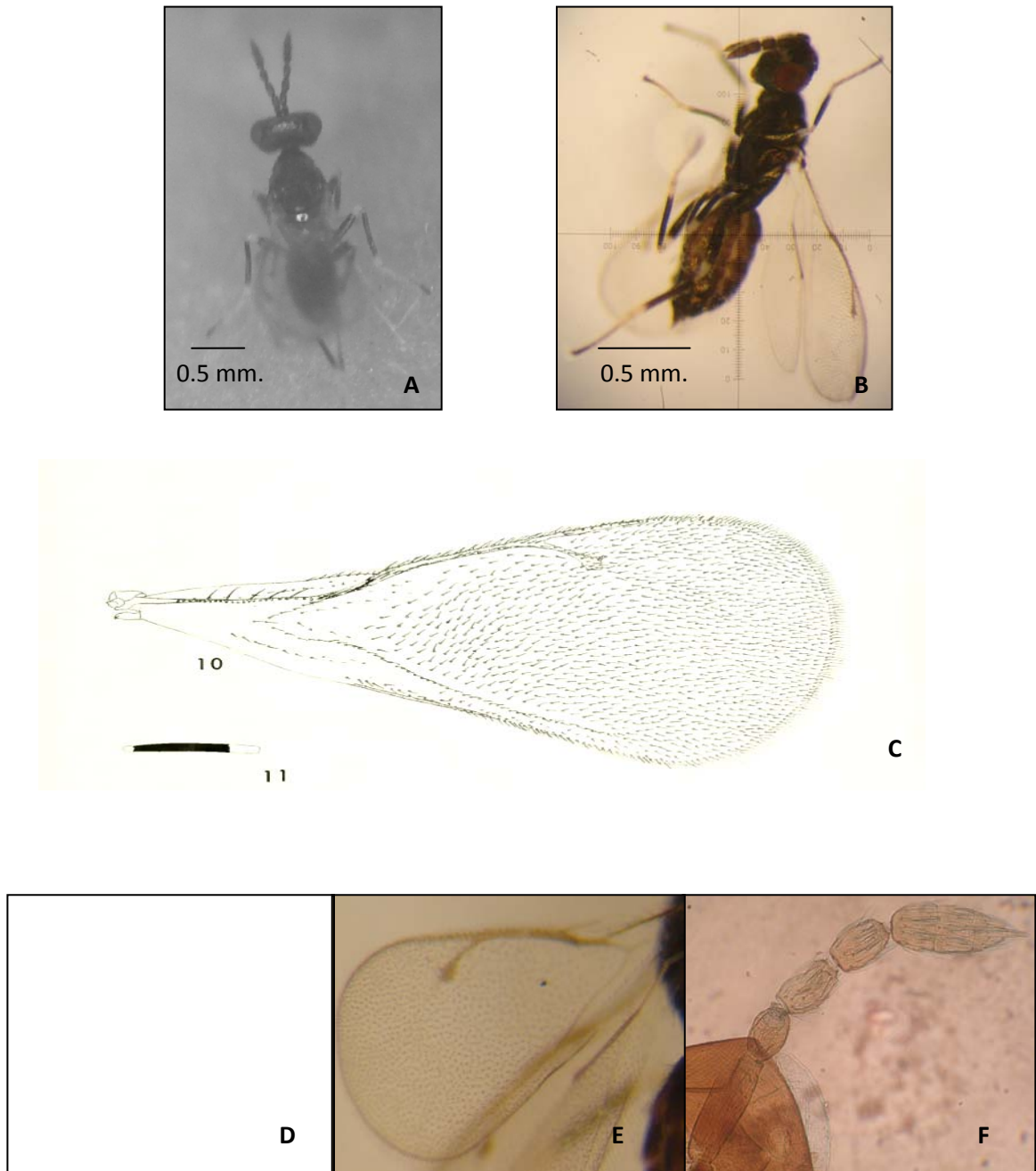


Figura 16: Imágenes del adulto de *D. websteri* y apéndices. A.- Adulto en el haz de la hoja de frijol. B.- Adulto de 2.1mm.; se distinguen los ojos rojos, la coloración distintiva en patas y el color marrón metálico característico de esta especie. C.- Esquema del ala de *D. websteri*. D.- Pata donde se distinguen los 4 tarsómeros y espuela (10x). E.- Ala anterior con vena marginal (10x). F.- Antena con 6 artejos (10x).

En la literatura consultada no se han encontrado descripciones morfológicas para los estados inmaduros de *D. websteri*, sin embargo, se tienen descripciones del género *Diglyphus* que pueden ser comparadas con las observadas en la presente investigación. Asimismo, los estudios morfológicos realizados en *D. isaea* (Chulde 2002; Peña 1993) y *D. begini* (Doutt, 1957) coinciden en términos generales con las características morfológicas de inmaduros encontradas en *D. websteri*.

Se establecieron tres instares larvales tal y como ocurre con otros parasitoides del mismo género. Se consideraron las medidas de los ganchos bucales de las larvas para ver la diferencia en el crecimiento alométrico que explica cómo se desarrollan las estructuras corporales en estados inmaduros de una especie (Iannacone y Alvariño, 2007). Sin embargo, al medir las partes esclerotizadas de las larvas no se distinguió una cápsula cefálica, como ha sido descrita para la especie *D. isaea* (Peña, 1993). La larva del primer estadio es transparente y la del segundo estadio se torna de color amarillenta igual a la descripción hecha por Li y Dakshina (2010), ubicándose en el interior de la mina cerca del hospedero. El tercer estadio larval elimina entre 6 y 8 pilares de excrementos alrededor de su cuerpo, al igual que estudios realizados por Doutt (1957), donde describe que la especie *D. begini* elimina pilares de meconio alrededor de la zona a empupar; esto permitiría conservar un espacio dentro de la mina de la hoja sin que llegue a colapsar y a su vez mantener húmedo este ambiente, tal y como se describe para la especie *D. isaea* (Chulde, 2002).

4.1.2 Características del comportamiento de *D. websteri*

4.1.2.1 Comportamiento de los estados de *D. websteri*

El huevo del parasitoide eclosiona en aproximadamente 24 horas en el ambiente húmedo de la mina. Bajo condiciones más secas la eclosión se puede retrasar e incluso puede ser impedida. La larva de primer estadio es muy móvil y en su movimiento progresivo migra a través de la mina hacia el hospedero donde es ayudado por las numerosas setas dispuestas a lo largo del cuerpo. La larva del parasitoide fija su aparato bucal al cuerpo de su presa a través de la introducción de sus ganchos bucales. La alimentación se inicia inmediatamente al entrar en contacto con el hospedero (Fig. 19A y Fig. 19B). Cuando se ha completado la alimentación, la larva del parasitoide deja al hospedero y se mueve uno o dos centímetros de distancia para buscar un sitio a lo largo de la mina para empupar. Antes de quedarse en un solo lugar para continuar su proceso de metamorfosis, la larva elimina entre 6 y 8 pilares de excrementos alrededor de su cuerpo (Fig. 19 C). Así se pasa 1 día como una prepupa (Fig. 20A) antes de entrar en la fase de pupa, que dura 6 días (Fig. 20B). Así en un total de 17 días (1 como un huevo, 9 como larva, 1 como prepupa y 6 como pupa) (22°C). se completa el período de desarrollo de este parasitoide hasta formarse el adulto.

Los adultos al interior de la mina empiezan a moverse y quitar la cutícula que los recubre con pequeños movimientos que duran algunos minutos y con la ayuda de su aparato bucal termina por realizar un agujero redondo a través la superficie de la mina para poder emerger (Fig. 20C). El tiempo de emergencia del adulto desde que comienza a realizar los primeros movimientos hasta emerger puede durar entre 30 a 60 minutos.

4.1.2.2 Comportamiento de apareo

El apareo puede iniciarse inmediatamente después de la emergencia y no se observa un comportamiento complejo de cortejo. Estos ectoparasitoides actúan de manera gregaria, es decir en grupo, es por ello que es común ver varios ectoparasitoides machos detrás de una hembra. Al identificar a la hembra realiza una persecución para poder colocarse encima de ésta (Fig. 17). Una vez que se juntan, el macho se monta en la hembra moviendo las antenas y arqueando su abdomen en forma de “C”, de manera que el edeagus quede introducido en el aparato reproductor femenino, donde se encuentra el

orificio ventral de la hembra, ocurriendo de ésta forma la cópula. Todo el proceso dura entre 5 y 10 minutos. La hembra puede ser fertilizada sólo con un primer apareamiento.

4.1.2.3 Comportamiento de oviposición

La hembra responde rápidamente a la presencia de la mina del hospedero ni bien emerge. La mina en la hoja es visualizada independientemente de la presencia de un hospedero susceptible a ser atacado. Cuando la hembra encuentra la mina avanza a lo largo de ésta, y continuamente balancea su cuerpo de lado a lado con el fin de que sus antenas sensibles puede trazar los márgenes de la mina. Una vez que la hembra alcanza el extremo de la mina (donde se encuentra la larva del minador alimentándose) normalmente desenvaina su ovipositor y pincha al hospedero inyectándole una sustancia paralizante.

La paralización del hospedero puede ser ocasionada por tres procesos distintos e independientes. El primero es relacionado a la oviposición, donde pasados unos minutos los movimientos del huésped se detienen, en algunas ocasiones esto sucede instantáneamente y en ese momento se produce la muerte del hospedero (Fig. 18), la hembra adulta coloca un huevo dentro de la mina a unos pocos milímetros de distancia del hospedero paralizado.

La actividad paralizadora de *D. websteri* paralelamente a la oviposición se basa en su actividad predatora “Host feeding” y a su actividad sólo paralizante “Host stinging”, estas son difíciles de distinguir, sin embargo son las que ocasionan la muerte del hospedero de forma inmediata.

4.1.2.4 Partenogénesis

En experimentos complementarios se determinó si la especie *D. websteri* era partenogenética, luego de exponer larvas de *L. huidobrensis* a hembras vírgenes, el resultado fue el mismo, toda la progenie estuvo conformada solo por machos. Por lo tanto, *D. websteri* presenta una partenogénesis de tipo arrenotokia.



Figura 17: Imagen del macho de *D. websteri* buscando copular con hembra

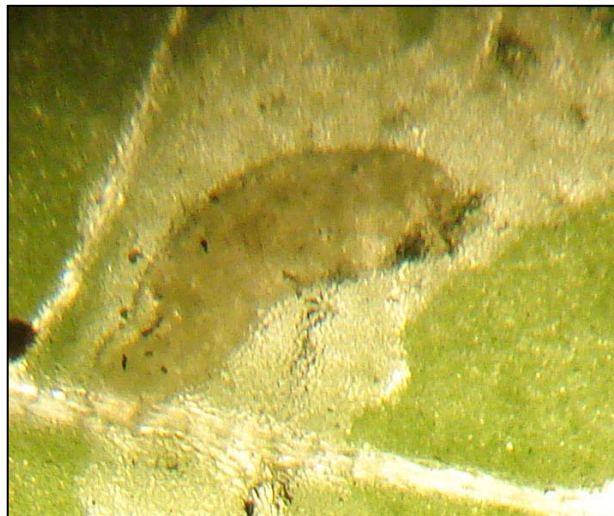


Figura 18: Imagen de la larva de *L. huidobrensis* paralizada

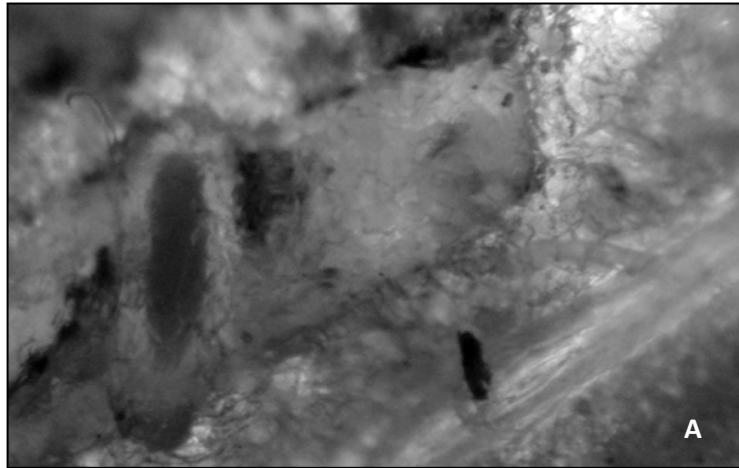


Figura 19: Imágenes de larvas del II y III estadio de *D. websteri*
 A.- Larva del segundo estadio alimentándose de su hospedero. B.-
 Larva III a punto de separarse de su presa. C.- Se observa el último
 estadio larval formando los pilares de excremento alrededor de su
 cuerpo y a unos milímetros se encuentra la larva de mosca de la que
 obtuvo su alimento.

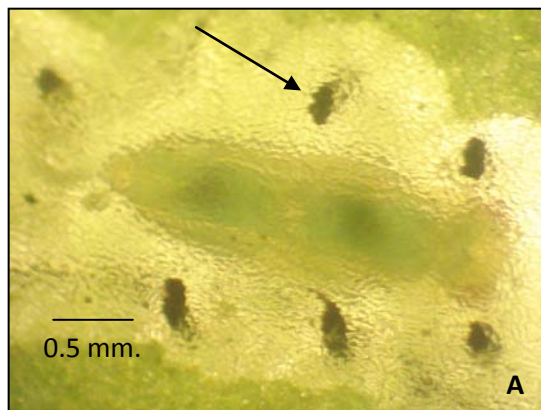


Figura 20: Imágenes vista dorsal de una pupa y dos adultos de *D. websteri* en el interior de la hoja de frijol. A.- Pupa exarate de color verde claro dentro de mina, donde se aprecian claramente los pilares de excremento protegiéndola. B.- Desarrollo completo de la etapa de adulto. C.- Adulto tratando de emerger de la mina.

Las características del comportamiento de *D. websteri* coinciden con las observaciones realizadas en la biología de *D. begini* hecha por Doult (1957) tanto para los estados inmaduros como para el adulto. *D. websteri* es considerado un ectoparasitoide solitario en el momento de oviponer sobre las larvas de su hospedero (Redolfi y Ascencios, 1998). El tiempo estimado de oviposición varía desde segundos hasta llegar en algunos casos a 10 minutos. Este tipo de comportamiento se aprecia en distintos ectoparasitoides, tal es el caso de *D. isaea* y *D. intermedius* (Patel *et al*, 2003).

Con respecto a su actividad de paralización del hospedero, encontramos que *D. websteri* introduce un veneno sobre su hospedero, este mecanismo causa un efecto inmunosupresor ocasionado por la toxina inyectada y permite al ectoparasitoide consumir al hospedero sin ninguna interferencia (Strand & Pech, 1995), considerándolo un insecto idiobionte. Asimismo, en *D. websteri* se observó una actividad paralizadora sobre su hospedero, ocasionándole la muerte sin necesidad de ser usadas para colocación de huevos ni para alimentación, esta actividad es mencionada en estudios hechos por Casas (1989). Este comportamiento, interpretado como una forma de disminuir el número de larvas minadoras en la planta asegura la supervivencia de aquellas parasitadas, variando con el tamaño de los hospedadores disponibles, la densidad, la temperatura y el tamaño de las jaulas en que se crían los parasitoides (Heinz and Parrella, 1989; Patel and Schuster, 1991; Patel *et al.*, 2003).

4.2 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL CICLO DE VIDA DE DIGLYPHUS WEBSTERI

4.2.1 Ciclo de desarrollo

En la Tabla 2 se presenta la duración del ciclo de desarrollo en días de *D. websteri* a las seis temperaturas estudiadas. Sólo se recuperaron individuos de parasitoides entre 15 y 35°C. A 10°C no se llegó a completar el ciclo biológico y a 35°C sólo se recuperaron seis individuos. Las diferencias en la duración promedio del ciclo de desarrollo de *D. websteri* entre las temperaturas evaluadas fueron estadísticamente significativas ($P < 0.001$) tanto para hembras como para machos, sin embargo, no se observaron diferencias en el ciclo total del desarrollo a una misma temperatura (Fig. 21).

Se puede apreciar que existe una relación inversamente proporcional entre la temperatura y la duración del ciclo de desarrollo de estados inmaduros. El tiempo de duración del estado huevo-larval fue mayor al estado pupal, a excepción de las temperaturas de 30 y 35°C (Tabla 5). A temperaturas de 15°C y 30°C, la duración promedio del ciclo de desarrollo estuvo entre 11 ± 0.09 y 34 ± 1.30 días para los estados emergidos como hembras y para los que emergieron machos entre 11 ± 0.27 y 32 ± 0.95 días. Se observó que tanto machos como hembras emergían casi en el mismo tiempo.

La tasa total de desarrollo desde huevo hasta adulto para hembras y machos de *D. websteri* se incrementó de manera lineal dentro del rango de temperaturas estudiadas (15 - 35°C) (Fig. 22). La relación entre temperatura y desarrollo fue descrita apropiadamente mediante la regresión lineal ($P < 0.001$), siendo su trayectoria es lineal en este rango. El umbral mínimo de temperatura para el periodo total de desarrollo del parasitoide fue de 8.9 y 9.0 °C, para hembras y machos respectivamente. Este modelo estima el umbral bajo al que puede desarrollarse el parasitoide con una constante termal de 238.1 DD. para ambos sexos (Tabla 3).

Tabla 2: Duración promedio en días del ciclo de desarrollo de *D. websteri* en larvas de *L. huidobrensis* a temperaturas constantes (promedio \pm error estándar). Se considera desde huevo hasta la emergencia del adulto macho o hembra

Temperatura (°C)	N ^a	N ^b (♀,♂)	Huevo- larval (días \pm EE)	Pupal (días \pm EE)	Machos (días \pm EE)	Hembras (días \pm EE)
15	86	(16,57)	17.97 \pm 4.24 a ^c	15.08 \pm 1.14 a	32.10 \pm 0.95 a (0.0311) ^d	34.25 \pm 1.30 a (0.0292)
20	100	(13,67)	14.20 \pm 3.77 b	10.90 \pm 0.73 b	24.80 \pm 0.56 b (0.0403)	23.80 \pm 0.45 b (0.0420)
25	105	(19,63)	8.47 \pm 2.91 c	5.95 \pm 0.54 c	14.40 \pm 0.11 c (0.0694)	14.40 \pm 0.07 c (0.0694)
30	90	(10,50)	5.38 \pm 2.32 d	6.08 \pm 0.57 c	11.50 \pm 0.27 d (0.0870)	11.20 \pm 0.09 d (0.0892)
35	29	(1,5)	3.60 \pm 1.90 e	4.80 \pm 0.45 c	8.80 \pm 0.58 e (0.1136)	9.00 \pm 0.00 e (0.1111)

(a) Número total de huevos

(b) Número total de población emergida

(c) Promedios seguidos de la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Prueba de Kruskal-Wallis, P<0.001).

(d) Tasa de desarrollo (1/días de desarrollo)

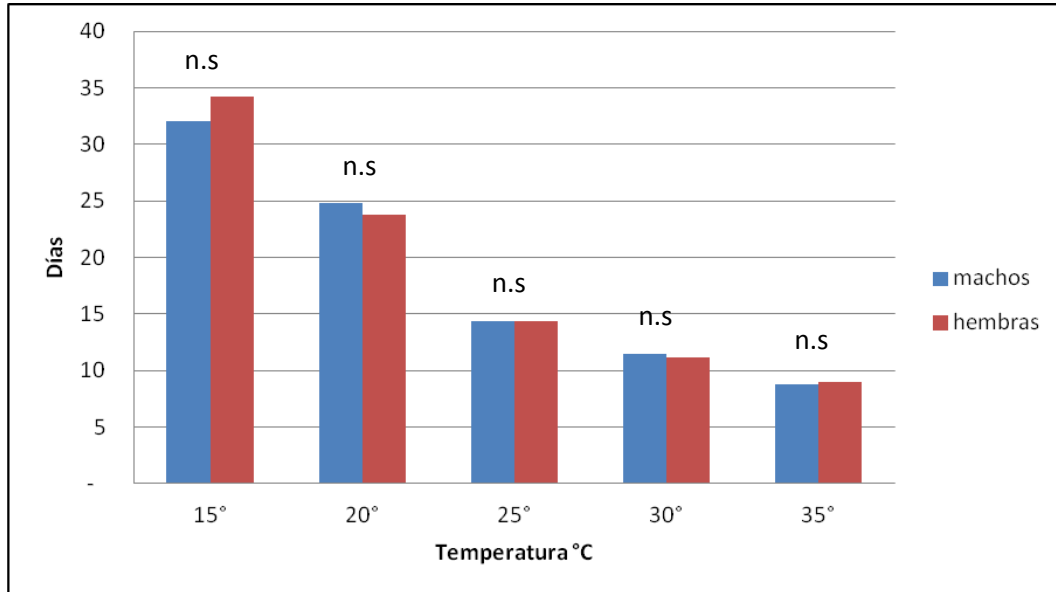


Figura 21: Comparación de la duración promedio del ciclo de desarrollo entre hembras y machos de *D. websteri* a cinco temperaturas constantes.

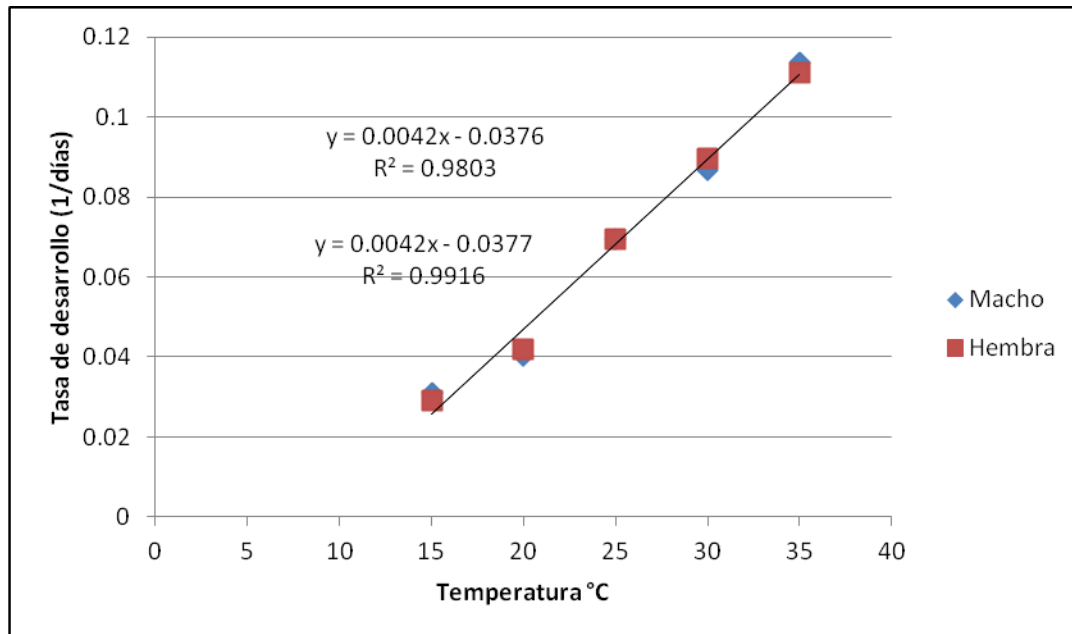


Figura 22: Regresión lineal de la tasa de desarrollo para hembras y machos de *D. websteri* entre los 15°C y 35°C. (Puntos = datos observados; líneas = líneas de tendencia)

Tabla 3: Umbral mínimo de temperatura (°C) estimada por regresión lineal para el desarrollo de hembras y machos de *D. websteri* (huevo – adulto)

Sexo	Ecuación de regresión (°C)	Pendiente	P	R2	Umbral mín. (°C)	Constante térmica (DD)
H	$y = 0.0042 T - 0.0377$	0.378	<0.0001	0.992	8.98	238.1
M	$y = 0.0042 T - 0.0376$	0.377	<0.0001	0.980	9.00	238.1

4.2.1.1 Mortalidad de los estados inmaduros de *D. websteri*

Las diferentes temperaturas evaluadas afectaron la supervivencia de los estados inmaduros del parasitoide. A 10°C la mortalidad de inmaduros fue total debido a que no se obtuvo ningún individuo adulto. Entre los 15°C y 30°C la mortalidad fluctuó entre el 14% y 33% de la población total, y a 35°C existió un 93% de mortalidad respecto al estado pupal, es decir existió una pequeña emergencia de adultos (Fig. 23). La tasa de mortalidad para el estado huevo-larval tuvo un $R^2 = 0.88$ y para el estado pupal $R^2 = 0.94$ (Fig. 24).

La mortalidad del estado pupal fue mayor que el estado huevo-larval en todas las temperaturas. A 35°C se observó que solo seis individuos llegaron a desarrollarse, mostrando que esta temperatura está muy cerca del umbral de supervivencia para *D. websteri*. La mortalidad de estados inmaduros fue menor a 25°C

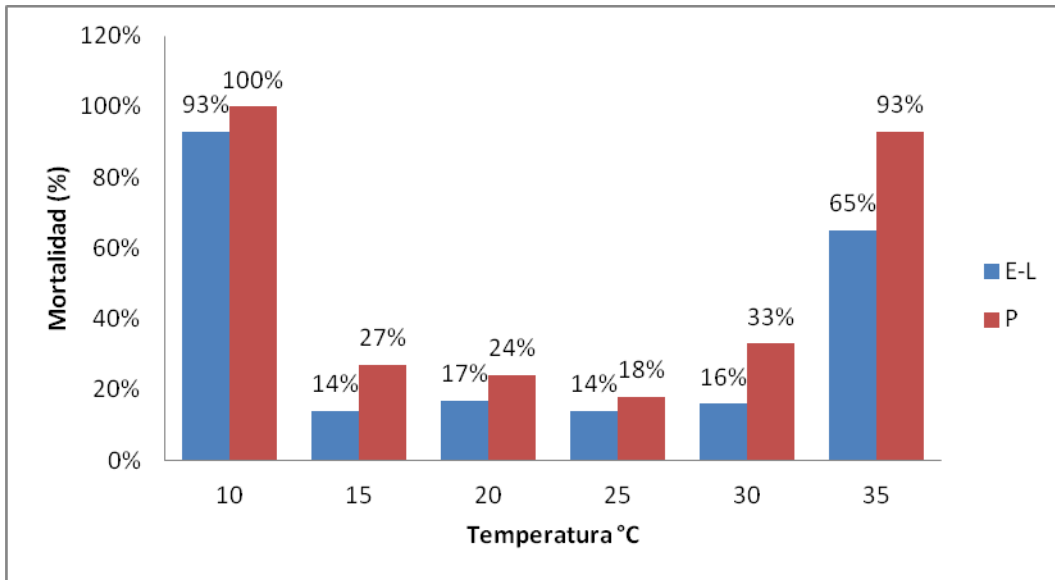


Figura 23: Comparación de porcentajes de mortalidad entre los estados huevo-larval y pupal

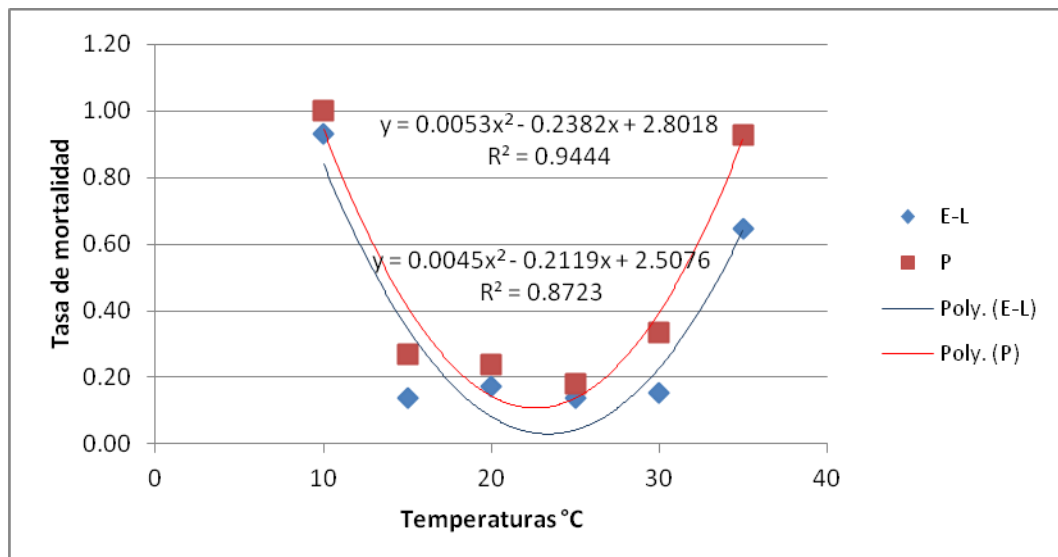


Figura 24: Regresión polinomial de la mortalidad de los estados inmaduros de *D. websteri*. (Puntos = datos observados; líneas = líneas de tendencia)

4.2.1.2 Longevidad de adultos

Los adultos de *D. websteri* tuvieron una supervivencia inversamente proporcional a la temperatura, registrándose un menor tiempo de vida a mayor temperatura. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.001$) en la duración del tiempo de vida de los adultos de *D. websteri* entre algunas temperaturas estudiadas, tanto para hembras como para machos.

La duración de la longevidad de adultos machos estuvo entre 42 y 45 días en promedio para temperaturas de 20°C y 15°C (Fig. 25), respectivamente; cuando la temperatura se incrementaba a 25°C y 30°C fluctuaban entre 21 y 22 días de longevidad (Tabla 4).

Las hembras vivían un promedio 32 y 40 días, a temperaturas de 20°C y 15°C, respectivamente; por el contrario, a 25°C y 30°C vivían entre 17 y 16 días. La temperatura afectó directamente a la longevidad de ambos sexos (Tabla 4).

Se comprobó que no existen diferencias significativas entre la longevidad de machos con las hembras, sin embargo experimentalmente se observó que los machos vivían más días que las hembras. A temperaturas más elevadas los machos y hembras vivían menos que a temperaturas bajas.

A 35°C tanto los individuos machos como la única hembra que llegó a emerger murieron a las horas de vida (Fig. 26).

Tabla 4: Tiempo de vida promedio (días \pm Error Estándar) de adultos hembra y machos de *Diglyphus websteri* a diferentes temperaturas constantes

Temperatura °C	N		Longevidad (días)	
	(H)	(M)	H \pm SE	M \pm SE
15	16	57	39.9 \pm 1.23a	45.3 \pm 2.73a
20	13	67	32.1 \pm 1.86a	42.6 \pm 3.68a
25	19	63	16.3 \pm 1.77b	21.2 \pm 2.08b
30	10	50	17.3 \pm 1.70b	22.3 \pm 2.11b
35	1	5	1 \pm 0c	1 \pm 0c

Promedios seguidos de la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Prueba de Kruskal-Wallis, $P < 0.05$).

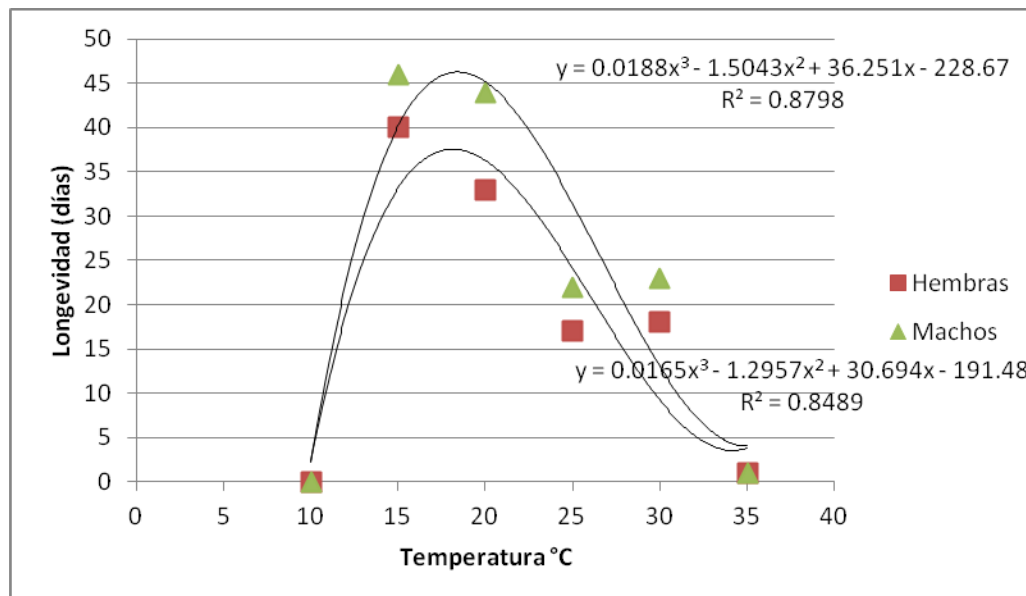


Figura 25: Regresión polinomial de la longevidad en días de machos y hembras de de *D. websteri*. (Puntos = datos observados; líneas = líneas de tendencia)

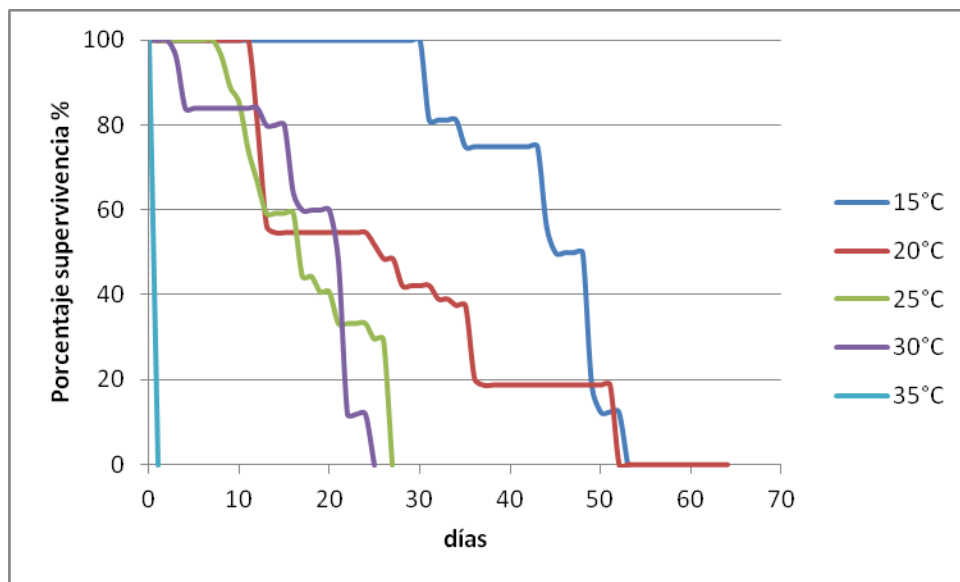


Figura 26: Supervivencia de ectoparasitoides hembras a cinco temperaturas constantes

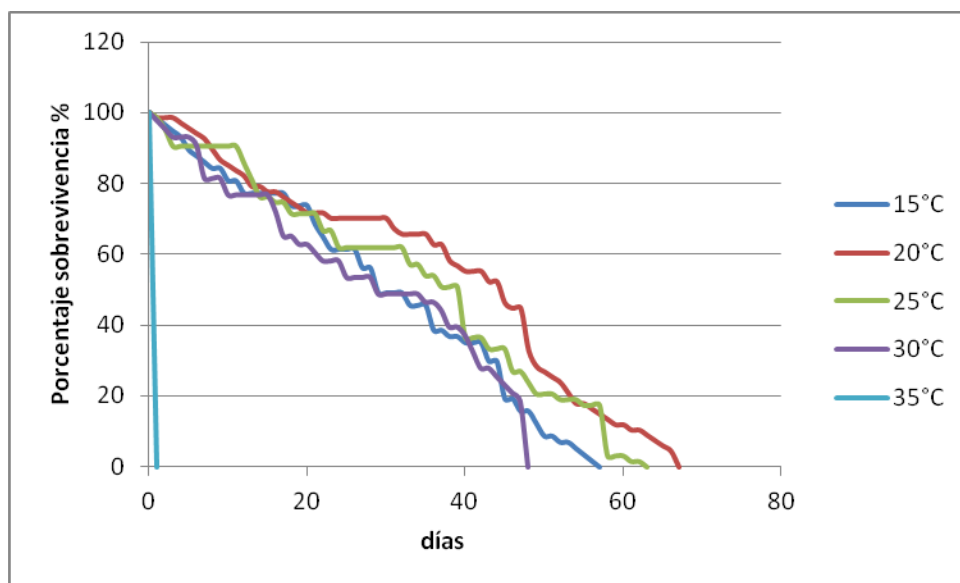


Figura 27: Supervivencia de ectoparasitoides machos a cinco temperaturas constantes

4.2.2 Reproducción

En la Tabla 5 se registra la oviposición promedio de las hembras de *D. websteri* en cada una de las temperaturas estudiadas. Se observa que la mayor tasa de fecundidad de *D. websteri* se obtiene a 25°C, donde el 30% equivale a la progenie hembra, sin presentar diferencias significativas ($P < 0.05$) con la fecundidad registrada a las demás temperaturas, a excepción de la de 30°C ($P=0.65$). La menor oviposición se dio a 35°C, presentando una descendencia de sólo seis individuos (1 hembra y 5 machos) de un total de 32 huevos, la mayoría de ellos no llegó a la etapa adulta.

Tasa de oviposición.- Representa el número promedio de huevos colocados por hembra por día. Se puede apreciar que existe una gran diferencia en cuanto a la cantidad de huevos colocados por día a 25°C (Fig. 28), comparado con las demás temperaturas (Tabla 5).

Tasa de fecundidad.- Representa el número promedio de individuos producidos por hembra por día. Este valor ha sido semejante entre todas las temperaturas a excepción de 10°C y 35°C. La temperatura en la cual la tasa de fecundidad alcanza el mayor valor fue de 25°C. Por medio de las curvas de oviposición acumulada (Fig. 28) se puede observar que en todas las temperaturas, las hembras alcanzan su mayor capacidad de parasitación durante la primera mitad de su vida adulta, reduciéndose la cantidad de progenie a medida que envejecen (Tabla 5).

4.2.3 Proporción sexual

Se determinó que existe una diferencia altamente significativa entre el número de adultos hembras y machos producidos en cada temperatura ($P < 0.05$), siendo la descendencia de *D. websteri* predominantemente conformada por machos (Fig. 29). Esto puede estar relacionado al fenómeno de haplodiploidia. Asimismo, se observa que la relación en promedio fue de 80% machos y 20% hembras, esta proporción no se vio influenciada por la temperatura. Por otro lado, en la tabla 6 se puede observar que las

poblaciones colectadas de campo presentaron una proporción muy similar entre hembras y machos.

Tabla 5: Parámetros de oviposición de *D. websteri* a diferentes temperaturas constantes

T (°C)	N	Oviposición			Tasa de oviposición (huevos x día)	Pico de oviposición		Tasa de fecundidad (descendencia x día)	Proporción sexual (M/H)
		Máx	Mín	Promedio total de huevos		Huevos	Día		
15	30	11	0	2.6 ± 0.42	0.8	7	12	0.83	1:0.28
20	30	27	0	7.8 ± 0.49	2.0	24	20	0.91	1:0.19
25	30	99	4	35.0 ± 0.69	10.6	85	3	0.95	1:0.30
30	30	21	0	3.0 ± 0.46	0.9	14	5	0.86	1:0.20
35	30	7	0	1.1 ± 0.28	0.3	13	2	0.20	1:0.20

De acuerdo a la Tabla 6 se puede observar la proporción sexual de las poblaciones de *D. websteri*, encontradas en campo y en condiciones controladas.

Tabla 6: Proporción sexual de poblaciones de *D. websteri* obtenidas en campos de Cañete.

Localidad Cañete	T°C ambiente (80 - 90% Hr*)	Tipo **	Proporción sexual (H/M)	N
Campo 1		A	(0.70/0.30)	10
		B	(0.50/0.50)	2
Campo 2		A	(0.50/0.50)	121
		B	(0.50/0.50)	166
Campo 3		A	(0.64/0.36)	56
		B	(0.45/0.55)	22
Campo 4		A	(0.83/0.17)	6
		B	(0.53/0.47)	15

* Hr: Humedad relativa

** Campo A: MIP

** Campo B: uso intensivo de insecticidas

Temperatura ambiente-Estación Otoño

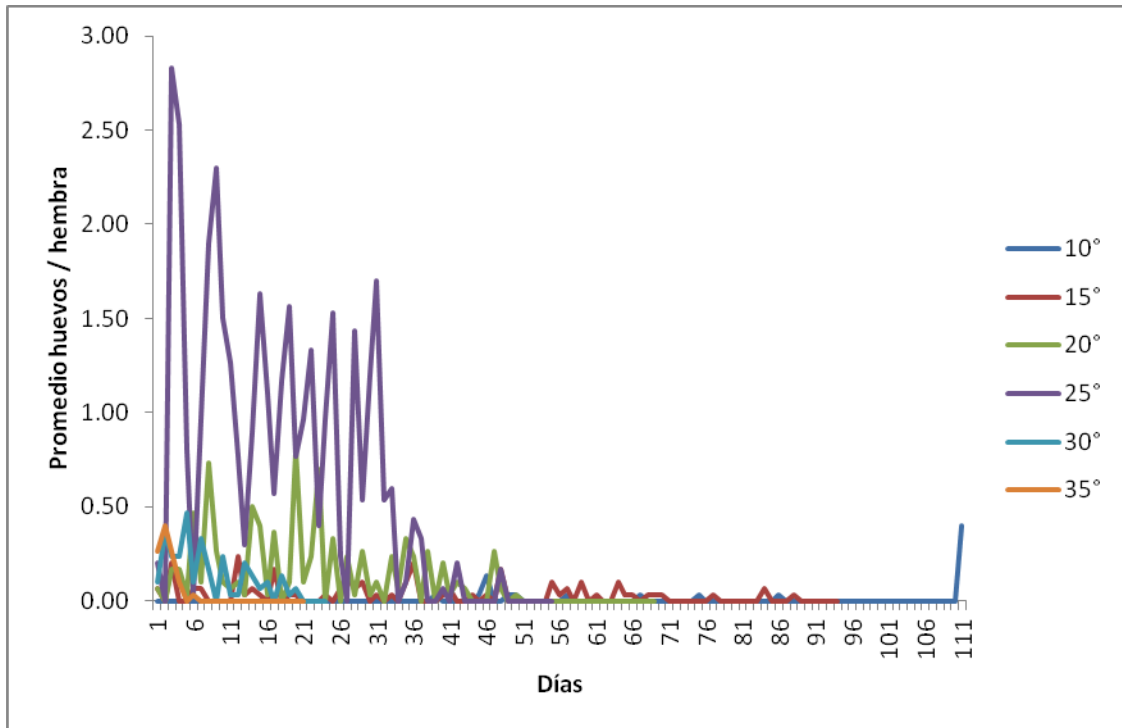


Figura 28: Ritmo de oviposición diaria de *D. websteri* a cinco temperaturas constantes

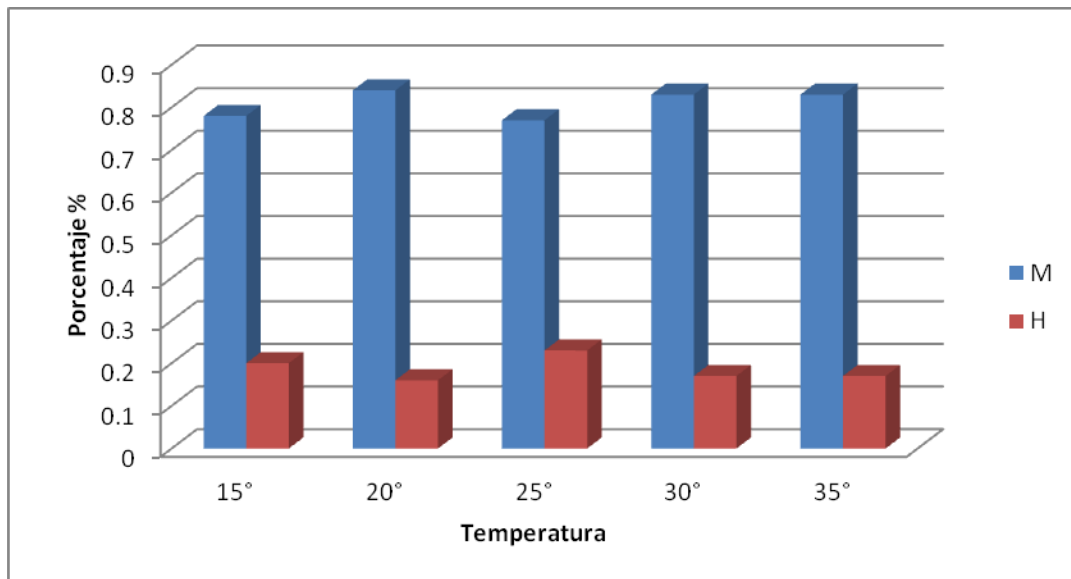


Figura 29: Porcentaje de hembras y machos de *D. websteri* emergidos a diferentes temperaturas constantes.

La temperatura es una variable que afecta el ciclo de desarrollo de los estados inmaduros y en el adulto su reproducción, longevidad y proporción sexual. A pesar que los insectos no estén sujetos a temperaturas constantes de manera natural, un estudio en condiciones controladas puede mostrar un valor en la dinámica poblacional de ciertas especies (Summers *et al*, 1984). Se comprueba que en todos los casos de estudios relacionados al efecto de la temperatura para el ciclo de desarrollo del género *Diglyphus*, la relación es inversamente proporcional, es decir a mayor temperatura se acorta el tiempo de desarrollo de los estados inmaduros del insecto (Prudencio, 2011; Valencia, 2008; Ramírez, 2008; Haghani, *et al*, 2007; Goncalves y Almeida, 2005; Bazzocchi *et al*, 2003). Esta respuesta puede ser atribuida a un incremento en la actividad metabólica de los parasitoides a medida que la temperatura de crianza aumenta (Smith y Hoy, 1995).

El tiempo de desarrollo de estados inmaduros para ambos sexos de *D. websteri* fluctuó entre 24 y 32 días para temperaturas de 20 y 15°C, respectivamente, lo cual demuestra un mayor tiempo de desarrollo comparado con estudios realizados en *D. isaea* que se desarrollan entre 16 y 26 días a las mismas temperaturas (Sánchez, 1994). Comparado con otros resultados, en el ciclo de desarrollo de *D. begini* a cuatro temperaturas (15, 20, 25 y 30°C) se encontró que los machos de esta especie se desarrollan en menor tiempo que las hembras a todas las temperaturas exceptuando la de 15°C (Bazzocchi *et al*, 2002), sin embargo en el presente estudio el tiempo desarrollo de ambos sexos fue casi el mismo para todas las temperaturas excepto a 15°C donde el desarrollo hasta la eclosión de hembras fue mayor. Asimismo, se observa que el desarrollo del estado huevo-larval siempre fue más largo que el desarrollo del estado pupal a todas las temperaturas, que concuerda con otros estudios observados para *D. isaea*, donde se presenta la misma tendencia en el tiempo de desarrollo huevo-larval, siendo mayor al desarrollo pupal (Mikenberg, 1989; Bazzocchi *et al*, 2002); sin embargo en investigaciones hechas a *D. poppoea* ocurre lo contrario (Goncalves y Almeida, 2005).

La estimación de los umbrales de temperatura mínima teórica para el desarrollo de las hembras y machos fueron similares a los que se mencionan en el estudio de *D. isaea* con un umbral que va de 9.0 a 9.8°C para todos los estados (Bazzocchi *et al*, 2003). El umbral

estimado puede diferir del umbral observado, debido a la forma sigmoidea de la curva y al modelo de predicción que se use (Minkenber, 1990). El valor de la constante térmica (DD) para que *D. websteri* complete su desarrollo fue mucho mayor que el encontrado en la especie *D. isaea* con 152.4 (Bazzocchi *et al*, 2003) y 154,6 DD (Cheah, 1987).

En el análisis de longevidad de adultos, a 15 °C se observó la mayor longevidad para ambos sexos, a diferencia de la especie *D. isaea* donde esto se refleja a 20°C (Mikenber, 1989). Para el caso de *D. websteri* se observa que la longevidad de machos siempre fue mayor que la de las hembras a todas las temperaturas a excepción de la de 35°C donde sólo duró un día para ambos sexos. Por el contrario, en otros estudios se observa que las hembras de *D. isaea* duplican el tiempo de longevidad de los machos a una temperatura de 23°C (Goncalves, 2005). Sin embargo, Haghani *et al* (2007), encontró una similar longevidad para hembras y machos de *D. isaea* a 15°C, que es la temperatura donde más demoraron en crecer los ectoparasitoides.

La oviposición se vio afectada por la temperatura, registrándose una temperatura óptima a 25°C. El pico más alto de oviposición se dio el tercer día a 25°C, existiendo una gran diferencia con las demás temperaturas, asimismo fue la única temperatura en la que todos los días existió oviposición. La tasa de oviposición fue de 10.6 por día y tasa de fecundidad de 0.95/día. Estos resultados son similares a los encontrados en la especie *D. isaea* y distintos a los encontrados en *D. poppoea* a 23°C en el estudio hecho por Goncalves y Almeida (2005) en Portugal.

Proporción Sexual. La descendencia de *D. websteri* fue predominantemente de machos en todos los ensayos a temperaturas constantes, siendo la temperatura una variable que no afectó la proporción sexual en condiciones controladas. Asimismo en el ensayo de temperatura fluctuante se observó el mismo comportamiento. Entre las posibles explicaciones se tiene el hecho que *D. websteri* puede estar teniendo un sistema de reproducción de tipo haplodiploide, donde las hembras disponen que sus crías sean de un determinado sexo, y se da en ciertos insectos donde las características del hospedero influyen en su descendencia. Algunos autores (Van Wilwenburg *et al*, 2006; Packer, 1989; Eickwort, 1996) mencionan que después del apareamiento, la hembra fértil almacena

esperma en un saco interno llamado espermateca; la hembra controla la liberación del esperma almacenado cuando los huevos pasan por el oviducto, así puede controlar la proporción de machos y hembras que produce.

Está bien documentado en varios parasitoides solitarios que la oviposición en hospederos pequeños da lugar a los machos y en hospederos de gran tamaño a hembras (Godfray, 1994). Este es el caso de *D. begini*, donde la hembra elige el sexo de su descendencia mediante la evaluación del tamaño del hospedero (Heinz y Parella, 1990). La relación sexual sesgada hacia los machos parece ser un fenómeno común en especies de *Diglyphus*, como se demuestra por los diferentes experimentos en invernadero y crianzas masivas en laboratorio de *D. begini*, así como de las colectas en campo de *D. isaea* y *D. intermedius* donde se encontró una relación sexual fuertemente sesgada hacia los machos (Parrella *et al.*, 1984; Heinz y Parella, 1989).

Asimismo, en estudios realizados en *D. begini* (Heinz y Parrella, 1990) y *D. isaea* (Ode y Heinz, 2002) se comprobó que el colocar larvas más desarrolladas combinadas con otras no tan desarrolladas, es decir de tamaño variable del hospedero, se obtenía una mayor descendencia de ectoparasitoides hembras. Esto se respalda por las observaciones en campo donde generalmente se encuentran diversidad de estadíos larvales sobre hojas de frijol y los ectoparasitoides hembras ovipositan donde al parecer es más provechoso para su población. Asimismo, según la teoría de Charnov *et al.* (1981), el tamaño del hospedero está correlacionado fuertemente con los recursos que éste pueda brindar a su depredador. Por lo antes expuesto, la mayor proporción de machos en nuestro estudio pudo deberse a que las hembras de *D. websteri* estuvieron expuestas a una población homogénea de larvas del minador proveniente de la crianza masiva de *L. huidobrensis*,

Es importante mencionar que las plantas utilizadas en los experimentos fueron cambiadas cada 24 horas, lo que conlleva a pensar que las hembras adultas no tuvieron el tiempo suficiente de poder alimentarse de las larvas hospederas, evitando la actividad de predación que usualmente se da en esta especie y lo que permitiría que las hembras tengan un buen fitness (Urrutia *et al.*, 2007).

4.3 DESARROLLO DE UN MODELO FENOLÓGICO DEPENDIENTE DE LA TEMPERATURA PARA *D. WEBSTERI*

4.3.1 Construcción de los modelos

4.3.1.1 Tiempo de desarrollo

Los modelos binarios logit para el caso del estado huevo-larval y cloglog para el estado pupal produjeron los mejores ajustes para describir las frecuencias de tiempo de desarrollo en función de la temperatura. Para la selección de estos modelos se tomó en cuenta el valor del coeficiente de determinación ajustado, que registró su máximo valor en el modelo logit para el estado huevo-larval ($R^2_{\text{ajustado}}=0.987$) y en el modelo cloglog para el estado pupal ($R^2_{\text{ajustado}}=0.961$) (Tabla 7). La Tabla 7 resume los parámetros estimados, el error estándar y la respectiva significancia para cada parámetro del modelo. Las pendientes determinadas en cada modelo para cada etapa de desarrollo de *D. websteri* fueron altamente significativas ($P < 0,001$) y adecuadas para describir la variabilidad global en el desarrollo dentro de cada etapa de la vida inmadura del insecto.

En la Figura 30 se grafica la frecuencia acumulada de *D. websteri* cuyo estado fenológico duró hasta el cambio del siguiente estado bajo cierto día y la curva recorre todas las probabilidades acumuladas (de 0 a 100%) según el modelo binario escogido. En la figura de frecuencias acumuladas para el estado huevo-larval según el modelo binario logit (Fig. 30A), se observa que las curvas muestran una clara separación en orden de mayor a menor temperatura, indicando que a mayor temperatura se acortan los tiempos de desarrollo. La curva de 35°C se muestra más cercana a cero en el eje del tiempo de desarrollo, lo que significa que el tiempo que necesita para desarrollarse es mucho menor y las siguientes curvas aparecen de forma decreciente hasta llegar a 10°C. La misma tendencia se observa en el caso del tiempo de desarrollo para el estado pupal (Fig. 30B) a excepción de las temperaturas a 25°C y 30°C cuyas frecuencias acumuladas indican una similitud en el tiempo de desarrollo.

Tabla 7: Parámetros estimados (\pm Error Estándar) de los modelos binarios ajustados a las frecuencias normalizadas de tiempo de desarrollo para los estados inmaduros de *D. websteri*

Estado de desarrollo	Modelo	Parámetros estimados					Pendiente común	R ² ajustado
		*a ₁	a ₂	a ₃	a ₄	a ₅		
Huevo-Larva	Logit	-22.799	-20.542	-16.421	-12.366	-8.94	8.012	0.987
		(\pm 0.665)	(\pm 0.605)	(\pm 0.486)	(\pm 0.388)	(\pm 0.314)	(\pm 0.229)	
Pupa	Cloglog	-12.399	-10.709	-7.903	-8.048	-6.798	4.444	0.961
		(\pm 0.347)	(\pm 0.301)	(\pm 0.230)	(\pm 0.235)	(\pm 0.206)	(\pm 0.122)	

* Equivalente a las temperaturas: a₁: 15°C, a₂:20°C, a₃:25°C, a₄:30°C, a₅:35°C

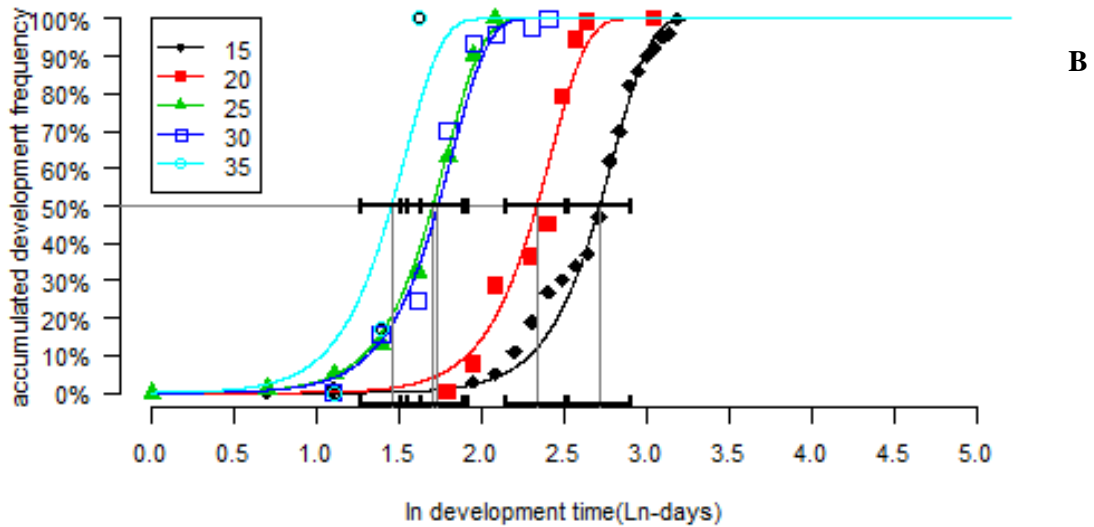
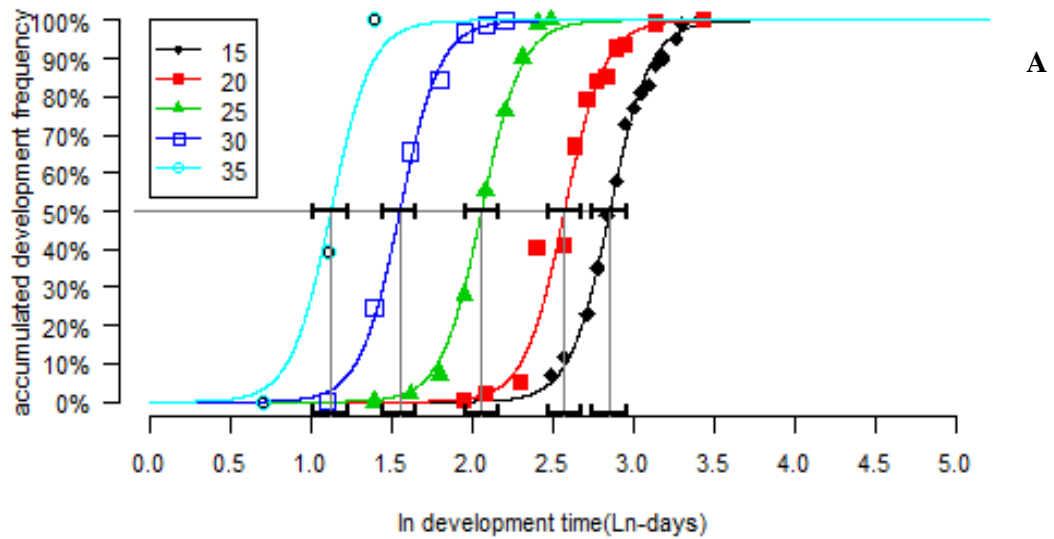


Figura 30: Frecuencia acumulada (%) del tiempo de desarrollo de los estados inmaduros de *Diglyphus websteri* (A: huevo-larval, B: pupal). Las curvas indican el ajuste de cada modelo. La línea horizontal negra en el 50% del eje “Y” indica la línea en que el 50% de la población pasa al estado de pupa, las líneas verticales que se desprenden de éstas indican el tiempo en que esto sucede.

4.3.1.2 Tasa de desarrollo

La tasa de desarrollo (1/día) según el modelo de Sharpe & DeMichele 1 para el estado huevo-larval aumenta de forma directa con la temperatura y decrece con una pendiente pronunciada a partir de los 37°C, como se muestra en la Figura 31A. En este modelo se pudo establecer la temperatura mínima de 15°C. El T_0 fue de 18°C, indicando que a partir de esta temperatura existe las enzimas en los ectoparasitoides se mantienen activas. (Fig. 31A).

La tasa de desarrollo según el modelo de Sharpe & DeMichele 2 para el estado pupal aumenta de forma paulatina con la temperatura hasta pasar los 35°C, luego decrece con una pendiente suave (Fig. 31B), estableciéndose la temperatura mínima de 15°C y una temperatura óptima T_0 a 25°C.

4.3.1.3 Mortalidad de inmaduros

Mediante un modelo de regresión no lineal se describió el efecto de la temperatura en la mortalidad de estados inmaduros de *D. websteri* (Tabla 9). La mortalidad del estado huevo-larval fue mayor a 35°C (Fig. 32), sin embargo para la mayoría de temperaturas se mantuvo por debajo del 20%. Todos los estados inmaduros de *D. websteri* murieron a 10°C. El modelo establecido para la mortalidad pupal explica el 90% de la variación por temperatura y la probabilidad de la función resultó significativa ($P < 0.05$). La mortalidad fluctuó entre el 20 y 40%, correspondiente a temperaturas entre los 15 y 35°C.

4.3.1.4 Tasa de senescencia de adultos

La tasa de senescencia del estado adulto fue descrita por el modelo de Stinner-4. La función usada en la senescencia de adultos fue significativa ($P < 0.05$) y explica el 97% de la variación de la temperatura. Las hembras poseen una tasa de senescencia mayor (Fig. 33) a la de los machos, llegando a más de 0.4 (1/días) (hembras: $F= 51.64$; $df=10.46$; <0.05 ; machos: $F= 56.05$; $df=15.09$; <0.05) (Tab. 10, Fig. 32).

Tabla 8: Parámetros estimados (\pm EE) de los modelos de regresión no lineal para la tasa de desarrollo de los estados inmaduros de *D. websteri*

	Parámetros estimados	Parámetros estimados
	Huevo-larva	Pupa
P	0.068	0.154
To	291.256	-
Tl	276.470 ($\pm 2e-04$)	2754087.379 (± 3806.332)
Th	313.304 (± 0.0003)	314.376 ($\pm 1.e-05$)
Ha	16166.016 (± 1.111)	493.18585 ($\pm 1. e-05$)
Hl	-213520.756 ($\pm 2e.-04$)	39636.156 (± 23.553)
Hh	159887.310 (± 3.403)	11607.875 (± 5.222)
R² ajustado	0.962	0.693

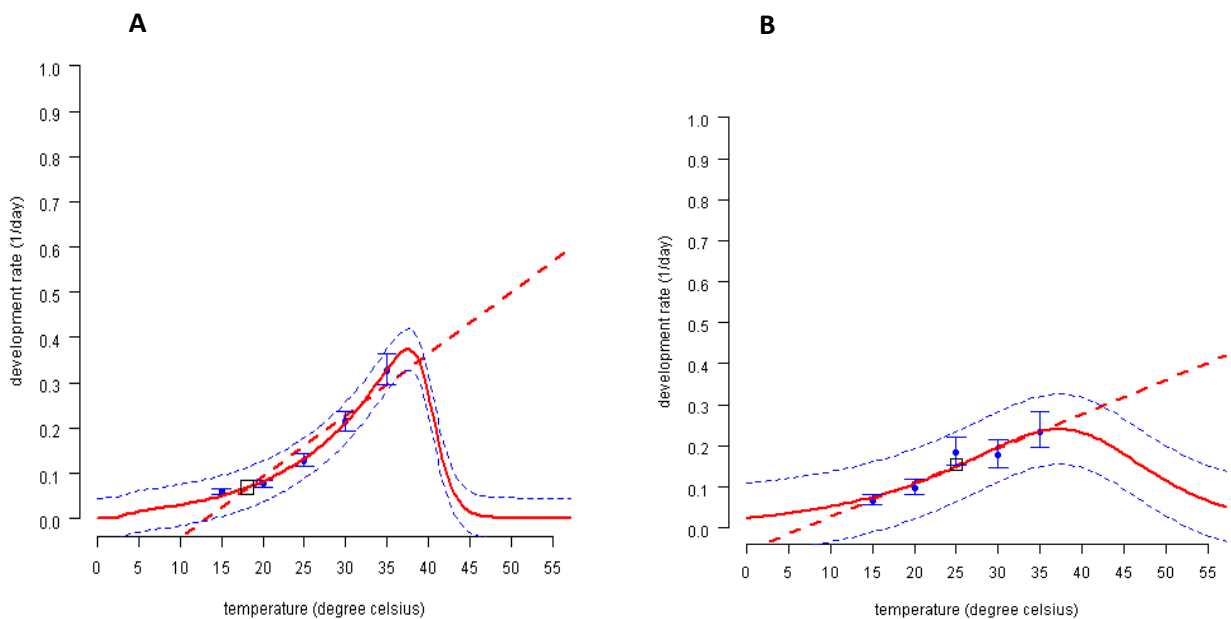


Figura 31: A.-Tasa de desarrollo del estado huevo-larval para cada temperatura según el modelo Sharpe & DeMichele 1. B.- Tasa de desarrollo del estado pupal para cada temperatura según el modelo Sharpe & DeMichele 12. Los puntos azules son los datos observados, la línea roja es la línea predictiva del modelo, las líneas punteadas azules son los límites de confianza y el cuadrado indica la T_o . La línea punteada roja hace referencia la modelo lineal.

Tabla 9: Parámetros estimados del modelo de regresión no lineal que describen la tasa de mortalidad de los estados huevo-larval y estado pupal de *D.websteri*

Estado de desarrollo	Modelo	Parámetros estimados					R ² ajustado
		a ₁	b ₁	a ₂	b ₂	c ₁	
Huevo-Larval	Regresión no lineal	0	0.6074	995.8064	-0.7055	0.1392	0.998
			(± 0.09416)	(± 0.02061)	(± 0.00198)	1e-05	
Pupal	Regresión no lineal		Topt 21.7981 (± 1.026)	B 3.2722 (± 0.63258)	H 0.0357 (± 0.01461)		0.905

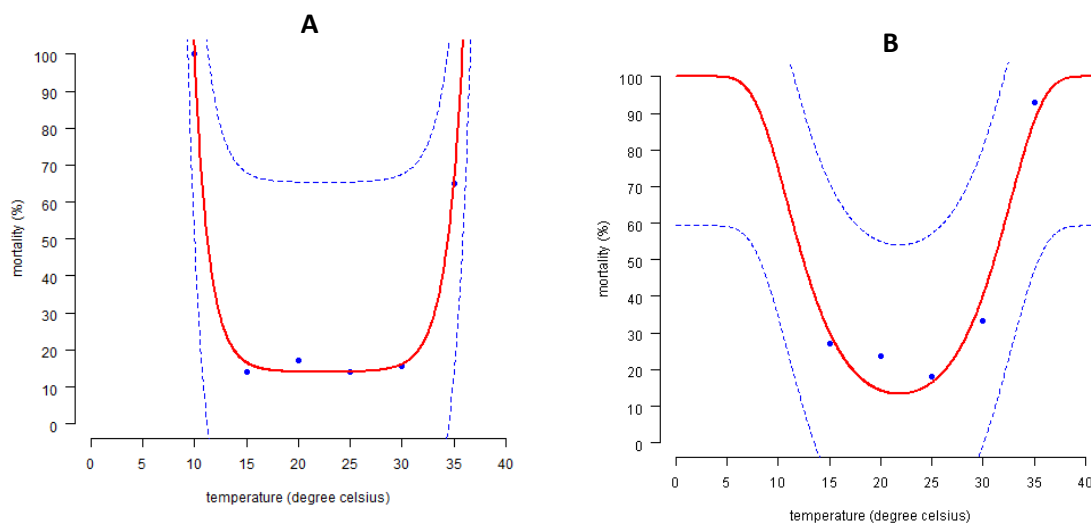


Figura 32: Tasa de mortalidad dependiente de la temperatura en los estados inmaduros de *D. websteri*. Curvas en base al modelo de regresión no lineal. A: huevo-larval, B: pupal

Tabla 10: Parámetros estimados en la tasa de senescencia del estado adulto de *D. websteri*

Estado	Modelo	Parámetros estimados					R^2 ajustado
		c_1	c_2	k_1	k_2	T_0	
Hembra	Stinner-4	13.450	28.404	-2.056	0.531	21.261	0.970
		(±7.289)	(± 2.159)	(± 30.939)	(± 133.531)	(±46.831)	
Macho	Stinner-4	6.452	24.260	-3.407	0.589	21.688	0.979
		(±4.121)	(±8.108)	(±60.424)	(±119.588)	(±27.663)	

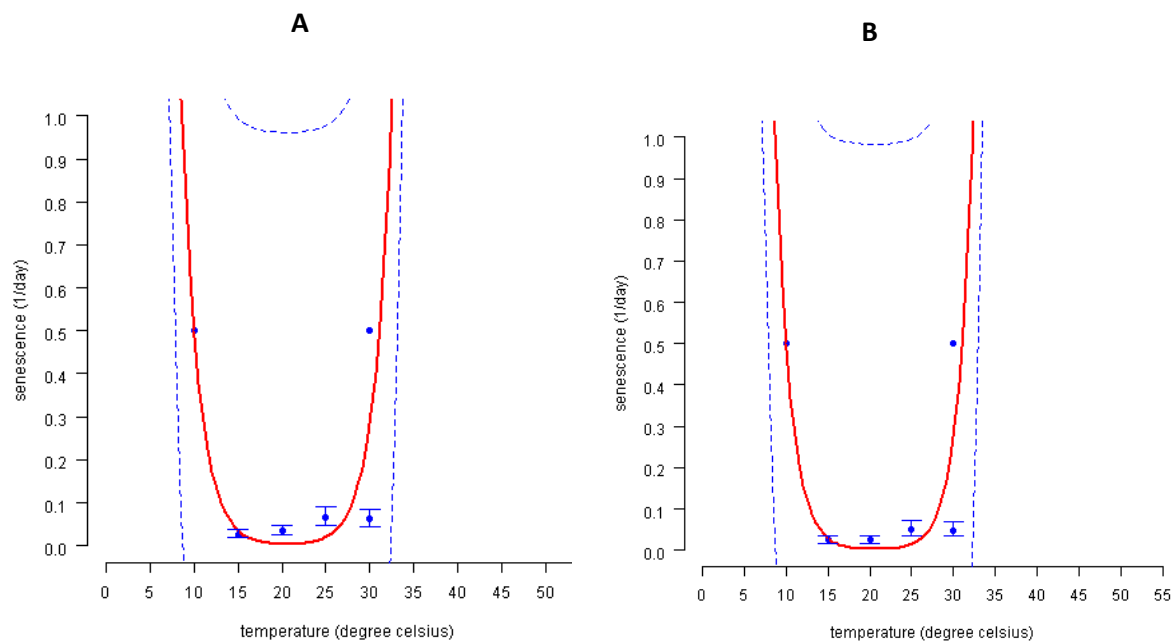


Figura 33: Tasa de senescencia de los hembras y machos vs la temperatura, según el modelo de Stinner – 4. Los puntos azules son los datos observados, la línea roja es la línea predictiva del modelo. Las líneas punteadas azules son los límites de confianza y la línea roja punteada es el modelo lineal **A:** Machos. **B:** Hembras

4.3.1.5 Reproducción

El efecto de la temperatura en la fecundidad fue descrita por un modelo de regresión no lineal. No se observaron diferencias significativas entre el promedio de los porcentajes de machos y hembras, por lo que la temperatura no es una variable que afecte directamente a la tasa sexual de *D. websteri*, aunque podría darse para algunos casos. Se observa que el porcentaje de machos tiende a ser siempre mayor al número de hembras. El tiempo estimado para la tasa de oviposición acumulada para todas las temperaturas constantes fue el día 27 (Fig. 34) con un R^2 ajustado de 0.860 (Tabla 11). El mayor porcentaje de la reproducción total fue a 25°C y el menor a 35°C (Fig. 35) con un R^2 ajustado de 0.909 (Tabla 11).

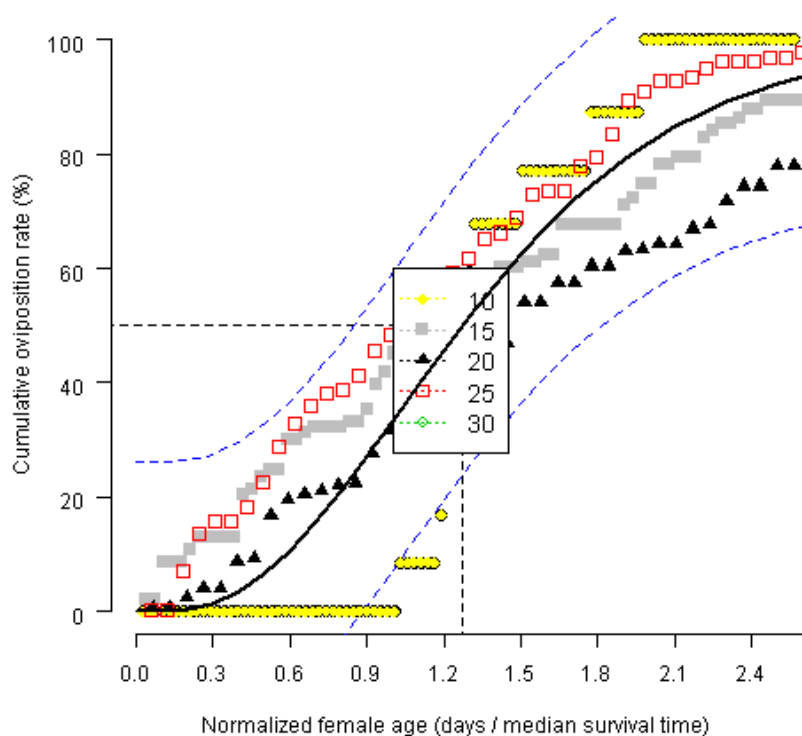


Figura 34: Tasa acumulada de oviposición (%) vs la edad normalizada de las hembras, (días de supervivencia de una hembra entre el tiempo de supervivencia promedio de las hembras en un tratamiento (xts), para cada temperatura). La línea de color negro es la tendencia del modelo, las líneas punteadas azules, son los intervalos de confianza. Cada punto de color indica una temperatura.

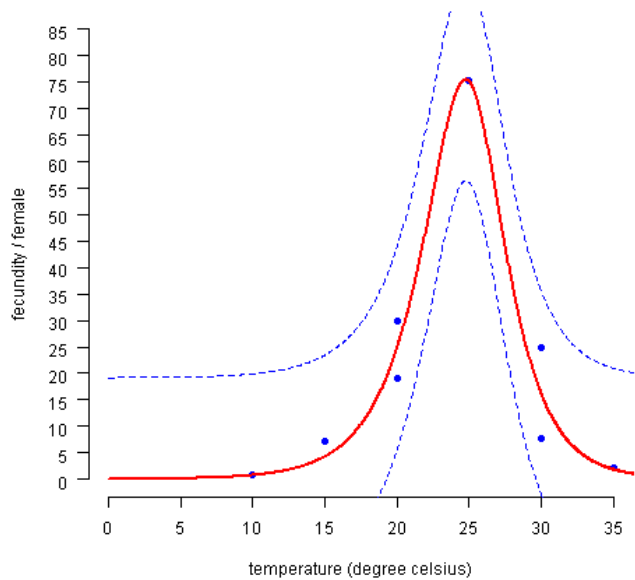


Figura 35: Fecundidad de *D. websteri* dependiente de la temperatura y la edad de las hembras. Los puntos indican las medias observadas.

Tabla 11: Modelo de regresión no lineal para establecer la relación existente entre la oviposición total de *D. websteri* con la temperatura. Se indica también la proporción de la fecundidad.

Variable respuesta	Modelo	Parámetros				R ² ajustado
		Dmin	K	Tp	lamb	
Huevos totales/hembra	Regresión no lineal	0.013 (±0.003)	-0.353 (±0.003)	25.056 (±4.126)	-0.445 (±0.329)	0.909
Proporción de la producción de la progenie	Regresión no lineal		a 3.778 (±0.330)	b 2.715 (±0.245)		0.860

4.3.2 Simulación de los parámetros de crecimiento poblacional de *D. websteri*

Los parámetros establecidos a temperaturas constantes para poblaciones de *D. websteri* se desarrollan entre rangos de temperatura que va desde 15°C a 35°C. La tasa intrínseca de crecimiento natural (r_m) fue negativa para el valor simulado, sin embargo es importante resaltar que la temperatura fluctuante se basó en la temperatura del medio ambiente en laboratorio, considerando la misma metodología para el análisis del ciclo de vida del insecto.

Según la tasa finita de crecimiento ($\lambda = 0.968$) definida como el número de individuos que se agregan a una población por día, indica que el porcentaje de crecimiento aproximado diario sería de 10%. La tasa neta de reproducción (R_0) definida como el número de hembras por cada hembra en una generación fue de 0.46, que indica su baja reproductividad en condiciones de laboratorio a temperatura ambiente.

Todos los resultados para los datos simulados son estadísticamente significativos a excepción del tiempo medio de generación (T). Se observa que existe una diferencia notoria entre los datos simulados y los observados para los parámetros de tablas de vida (Tab. 12), sin embargo la tasa finita de crecimiento indica que la población de *D. websteri* crecería de manera similar en condiciones de laboratorio a temperatura ambiente.

El modelo simulado indica que el tiempo de desarrollo de los estados inmaduros tardaría 2 días más comparado con el valor observado. Por el contrario, el modelo establece que existe 50% de mortalidad para los estados inmaduros a diferencia del 43% en los datos observados (Tab. 12).

4.3.3 Validación de la fenología para *Diglyphus websteri*

Las simulaciones son bien establecidas cuando se comparan con los datos colectados de temperaturas fluctuantes. Para una verificación visual, en la Figura 36 se reflejan los valores simulados y los observados, estos últimos obtenidos de los resultados del seguimiento de 80 ectoparasitoides a temperatura ambiente bajo la misma metodología usada para el análisis del ciclo de vida de *D. websteri* a temperaturas constantes. Los meses en que se desarrolló este experimento fueron entre Julio y Agosto, siendo una época con temperaturas bajas donde *D. websteri* tiene un desarrollo más lento, con una reproductividad menor que en épocas cálidas. Se estima que la población de ectoparasitoides decrecería en épocas frías del año.

En la Figura 36 se observa que los valores observados para el desarrollo de los estados huevo-larval y pupal son semejantes a los simulados. Sin embargo, se observa una menor población de individuos machos con una longevidad menor a los valores observados. En el caso de las hembras, también se expresan en menor proporción pero con una longevidad mayor de sus individuos.

Tabla 12: Resumen estadístico de la tabla de vida de *D. websteri* con valores simulados y observados para: tiempo de desarrollo, mortalidad y parámetros poblacionales

	Simulado	*Observado	R ² ajustado
Parámetros de tabla de vida			
Tasa intrínseca de crecimiento (r_m)	-0.033 (± 0.024)	0.054	0.798
Tasa neta de reproducción (Ro)	0.46 (± 0.219)	3.973	0.357
Tasa bruta de reproducción (GRR)	1.212 (± 0.878)	19.033	0.308
Tiempo medio de generación (T)	25.865 (± 5.923)	25.429	0.485
Tasa finita de crecimiento (λ)	0.968 (± 0.023)	1.056	0.798
Tiempo de duplicación (Dt)	-26.636 (± 26.116)	12.778	0.209
Tiempo de desarrollo (días)			
Huevo-larval	7.588 (± 0.323)	7.027	
Pupal	8.953 (± 0.471)	7.188	
Estados inmaduros	16.54	14.22	
Mortalidad (%)			
Huevo – larval	0.019 (± 0.011)	0.075	
Pupal	0.480 (± 0.093)	0.351	
Estados inmaduros	50	43	

*Temperatura ambiente en laboratorio

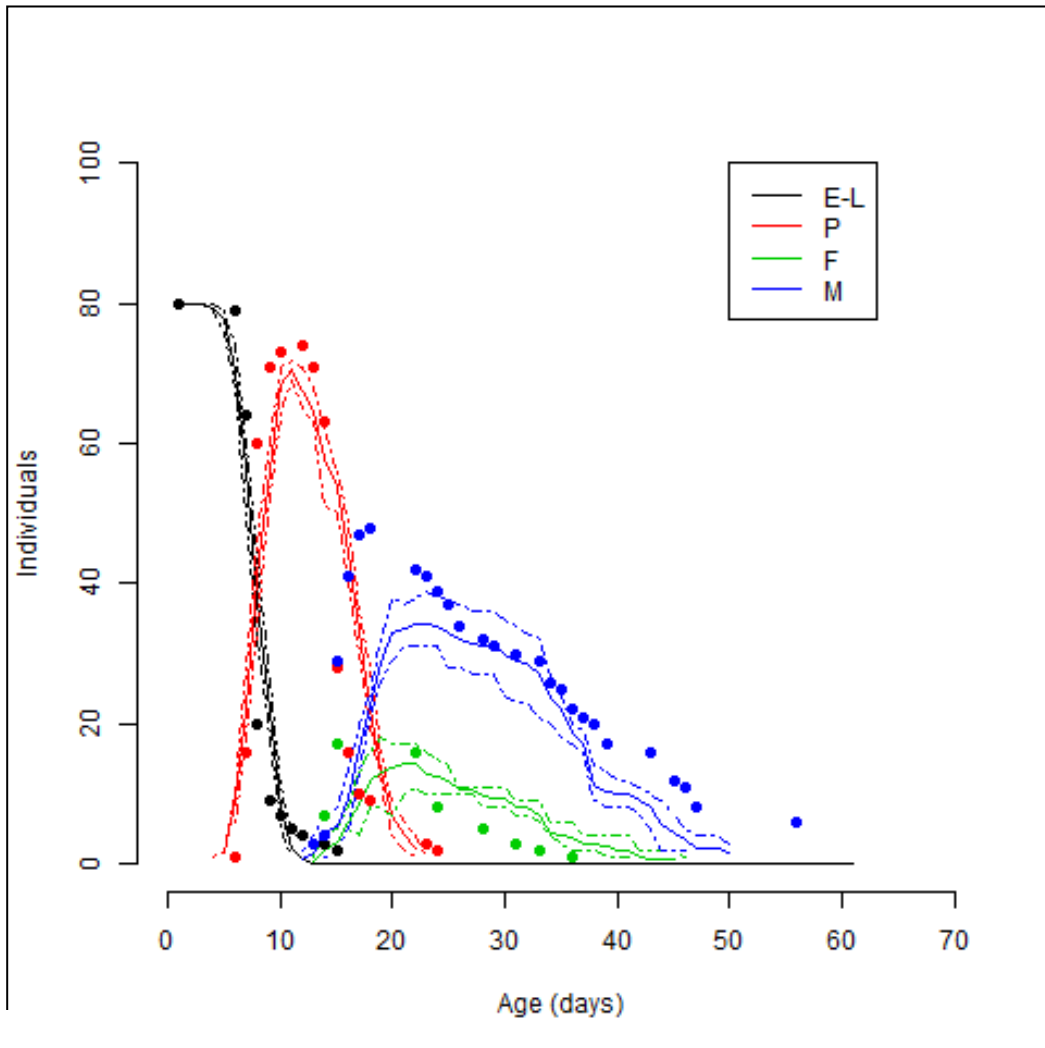


Figura 36: Comparación de resultados simulados (líneas) con los datos observados en las tablas de vidas estudiadas para temperatura ambiente. Las líneas continuas son los porcentajes de datos simulados, las líneas punteadas indican el valor máximo y mínimo obtenido de las simulaciones. Los puntos son de los datos observados para una tabla de vida. E-L (estado huevo-larval), P (estado pupal), F (Hembras) y M (Machos).

Las funciones establecidas del desarrollo dependiente de la temperatura en el desarrollo de *D. websteri* permitieron el desarrollo de un modelo fenológico de *D. websteri*. Los parámetros poblacionales simulados a temperaturas constantes indican que las poblaciones de *D. websteri* se desarrollan entre temperaturas de 22 y 26°C con una temperatura óptima entre 24 y 25°C. Estos estimados difieren con estudios realizados en la especie *D. isaea*, donde el rango fluctúa entre 15°C y 30°C (Bazzocchi *et al*, 2003) y entre 15°C y 35°C (Haghani *et al*, 2007).

El desarrollo de tablas de vida a temperatura ambiente permitió validar el modelo fenológico con una alta aproximación, lo cual indica que el modelo puede ser utilizado para la estimación de poblaciones de *D. websteri* en estaciones frías, sin embargo, es importante resaltar que el tipo de reproducción que este insecto presenta está directamente relacionado con el tipo de alimento que reciben los adultos, en este caso, sólo el suministro de miel en condiciones de laboratorio fue su única fuente de alimento, por consiguiente, pudo ser una limitante en la tasa reproductiva del ectoparasioide, considerando que la metodología para evaluar el ciclo de desarrollo de *D. websteri* fue la misma a temperatura ambiente.

4.4 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN EL POTENCIAL DE *D. WEBSTERI* COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE *L. HUIDOBRENSIS*

Se observó la actividad paralizadora de *D. websteri* sobre larvas del segundo y tercer estadio de *L. huidobrensis*, siendo este último el más afectado. Conociendo el efecto de paralización que realizan este tipo de ectoparasitoides antes de oviponer o de preñar a su hospedero para reducir su población, fue necesario diferenciar ambas actividades para ver cuál de ellas es más efectiva en el control de *L. huidobrensis*. La mayor cantidad de paralizaciones se dieron a 25°C (209.73 ± 53.78). La paralización por oviposición fue mínima en la mayoría de temperaturas (Tabla 13 y Fig. 37).

En la Figura 38 se puede apreciar las comparaciones de la actividad paralizadora de *D. websteri* a temperaturas constantes, siendo predominante el control por paralizaciones “host stinging”. Se observa que este tipo de paralizaciones a temperaturas elevadas tienen picos de control entre antes de los 20 días. A temperaturas de 20 y 25°C las paralizaciones se extienden por más de 50 días a diferencia de las demás temperaturas.

La muerte de larvas sólo por paralización se da en el mismo momento que los parasitoides empiezan con su actividad reproductora y termina casi al mismo tiempo cuando dejan de oviponer en larvas de su hospedero. Las hembras del ectoparasitoide exhiben la más alta mortalidad por paralización aproximadamente seis días luego de su emergencia, matando un promedio de tres a seis larvas por día. El número de muertes sólo por paralizaciones equivale a un promedio de 24 individuos por hembra. La mortalidad de larvas de moscas minadora por *D. websteri* representa entre el 10 y 40% del control biológico.

Tabla 13. Número promedio (\pm EE) de larvas de mosca minadora paralizadas y parasitadas por el adulto de *Diglyphus websteri* durante su ciclo de vida a diferentes temperaturas constantes.

T°C	(n)	Paralización $\mu \pm$ SE	Parasitación $\mu \pm$ SE	Control (Paral. + Par.) $\mu \pm$ SE
10	30	2.8 \pm 0.7 c	0.4 \pm 0.1 c	3.2 \pm 0.8 d
15	30	103.5 \pm 26.5 b	2.8 \pm 0.7 c	106.3 \pm 27.3 c
20	30	170.4 \pm 43.7 a	8.4 \pm 2.2 b	178.9 \pm 45.9 b
25	30	209.7 \pm 53.8 a	35.8 \pm 9.2 a	245.6 \pm 63.0 a
30	30	93.0 \pm 23.8 b	3.2 \pm 0.8 b	96.3 \pm 24.7 c
35	30	28.5 \pm 7.3 c	1.1 \pm 0.3 c	29.6 \pm 7.6 d

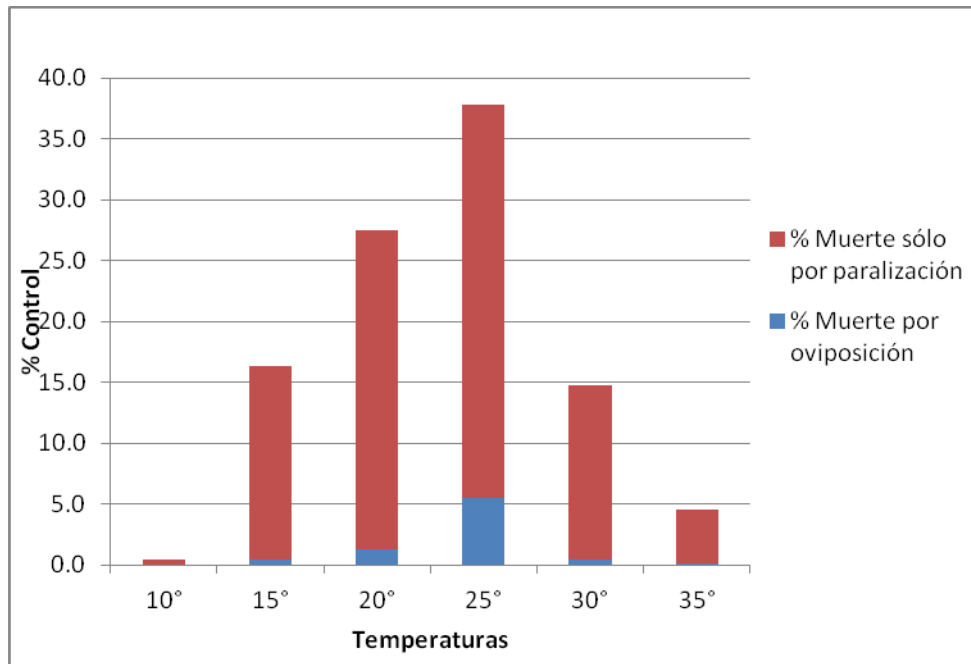
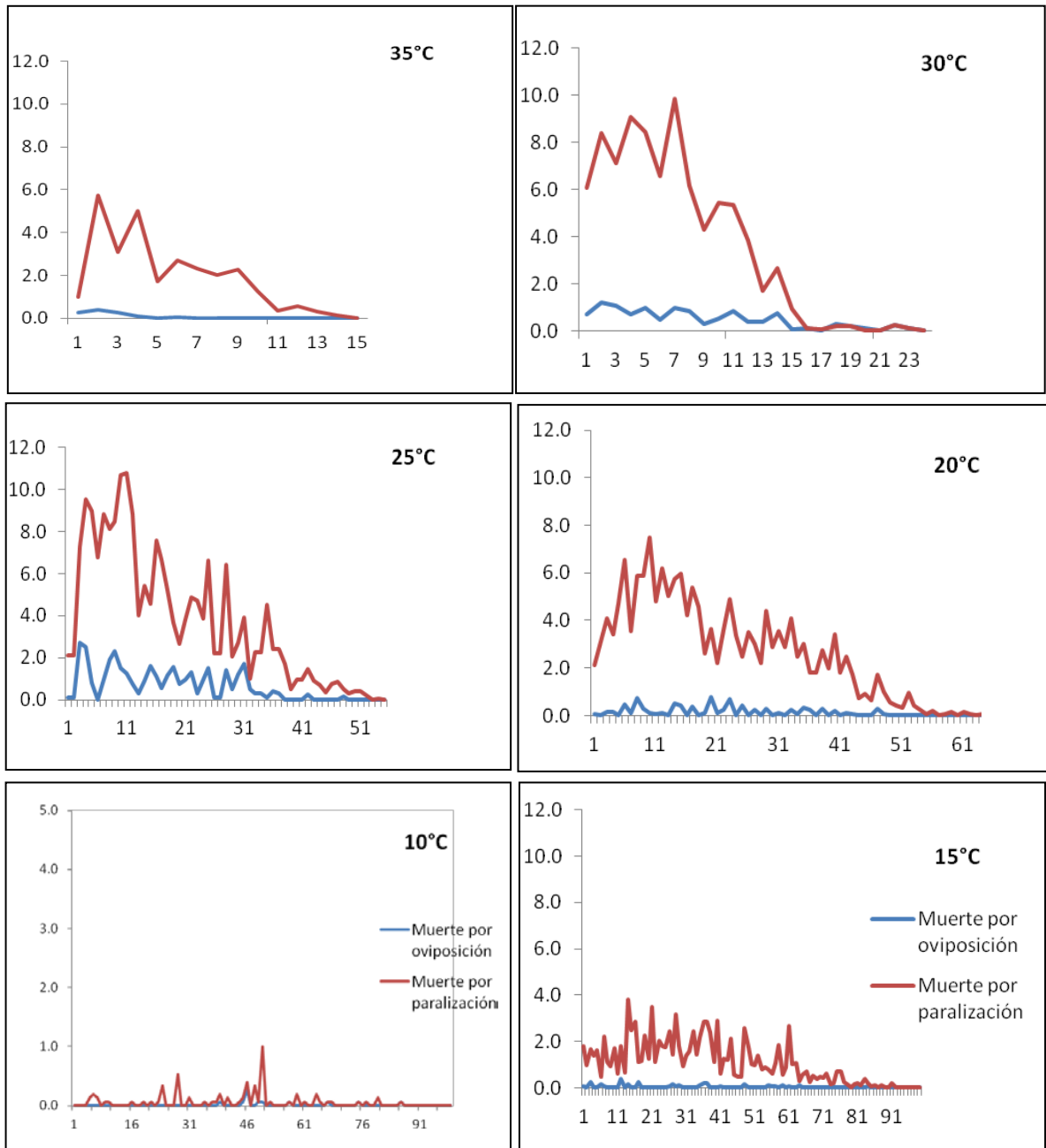


Figura 37: Porcentaje de control por paralización del hospedero

Número de larvas muertas por paralización u oviposición



Días →

Como se puede apreciar en el presente estudio, la mortalidad del hospedero *L. huidobrensis* por paralizaciones fue muy alta en comparación con la mortalidad por oviposición de larvas del hospedero, estos resultados confirman estudios hechos en ectoparasitoides como *D. intermedius* donde también predominó la muerte por

paralizaciones (Patel & Shuster, 1991). Se observó que las paralizaciones que realizaban los adultos de *D. websteri* sobre larvas del segundo y tercer estadio larval de *L. huidobrensis* eran continuas y eran directamente proporcionales con el incremento de temperatura, a excepción de los 35°C que fue donde la población adulta descendía por llegar al umbral de supervivencia.

De acuerdo a modelos matemáticos realizados en las interacciones parasitoide-hospedero, se han comprobado algunas estrategias que usan los insectos para seleccionara sus hospederos como alimento y hospederos para oviposición, y se llegó a la conclusión que muchos parasitoides tratan de escoger hospederos de menor tamaño para alimentación y así asegurar que los hospederos de mayor tamaño sean sólo para oviposición asegurando su descendencia y evitando consumir hospederos de calidad, de este modo es probable que hospederos de los primeros estadios estén siendo utilizados como suministro de alimento para los parasitoides adultos (Kidd y Jervis, 1991); esta actividad no pudo ser del todo comprobada con la presente investigación, debido a que diariamente las hojas con larvas paralizadas del hospedero eran retiradas de los ensayos para realizar el seguimiento de manera individual, es decir, no se pudo comprobar si pasado los días la especie *D. websteri* utilizaría las larvas paralizadas para consumo (predación). Cabe resaltar, que la disponibilidad de alimentos que tienen los insectos en campo es amplia, a diferencia de lo encontrado en condiciones controladas, y que todos estos ensayos fueron realizados bajo una misma metodología para que los resultados entre temperaturas puedan ser comparados estadísticamente.

En el caso de *D. websteri*, a 25°C se registró el mayor número de minadores muertos tanto en paralización como en oviposición, esto significa que a esta temperatura las fluctuaciones de mosca minadora pueden estar mejor controladas, es decir un control más efectivo en épocas cálidas. Este resultado fue similar al obtenido en la especie *D. intermedius* con experimentos realizados entre 25 y 27°C (Patel & Shuster, 1991); de igual manera, estudios realizados en *D. isaea* corroboran que en época de primavera y verano es más efectivo el control de plagas (Van der Blom, J. 2002).

Si bien es cierto que el control que ejerce *D. websteri* por parasitación es mínimo sobre la mosca minadora *L. huidobrensis*, es importante destacar que en la presente investigación se comprobó que este ectoparasitoide puede ser efectivo en el control de la plaga a través del mecanismo de paralización que ejercen las hembras en larvas hospederas, reduciendo grandes poblaciones de moscas minadoras. Este control se dio a todas las temperaturas constantes en condiciones controladas, sin embargo cabe resaltar que en condiciones de temperatura fluctuante puede obtenerse un mayor número de hembras como se corroboró en el experimento realizado en campo. Es decir, podría obtenerse un mayor control que el observado debido a que las hembras son las que inyectan el veneno en las larvas hospederas.

Estudios previos realizados sobre liberaciones de *D. begini* sobre *L. huidobrensis* para control en campo, llegaron a la conclusión que es conveniente hacer liberaciones de ectoparasitoides ni bien empiece la infestación de la plaga sobre el cultivo, cuando la larva del hospedero se encuentre en el primer instar (Cure & Cantor, 2003). Actualmente se comercializan diferentes especies de *Diglyphus*, como *D. isaea* que se utiliza para el control de minadores de hoja en cultivos como tomate, berenjena, judía, melón, sandía, pepino y pimiento (Belda, 2002).

Finalmente, se considera a *D. websteri* un potencial controlador biológico de *L. huidobrensis*, que puede ser usado en el manejo integrado de plagas, basándonos principalmente en su actividad paralizadora sobre larvas de su hospedero. Siendo este el primer estudio realizado sobre esta actividad, podría considerarse a futuro dentro del análisis de modelos predictivos y ver así la eficiencia de control en condiciones naturales y en diversas zonas geográficas. De igual manera *D. websteri* puede ser analizada como una especie clave luego de comprobarse su actividad paralizadora que conlleva a una predación de la especie sobre su hospedero, es decir cumple dos roles en campo, uno de oviposición y otro de paralización y en ambos mata a su hospedero, no obstante, es necesario realizar experimentos en campo a temperatura ambiente para ver si la tasa de reproducción aumenta y analizar la mortalidad del hospedero.

V.- CONCLUSIONES

- Se evidenció que el ectoparásitoide *D. websteri* pasa por tres estadios larvales y en todos se distinguen ganchos bucales, existiendo una correlación positiva en las medidas de éstos respecto a cada estadio larval. No se observó una cápsula cefálica definida.
- La temperatura afecta directamente el desarrollo del ciclo de vida de *D. websteri*. La temperatura no afectó la proporción sexual de adultos de *D. websteri*, sin embargo predominó en todas las temperaturas una alta descendencia de machos.
- Los modelos fenológicos revelaron con mayor precisión las temperaturas más favorables para el desarrollo de *D. websteri*, siendo una herramienta muy útil para estimar escenarios futuros en el desarrollo del ciclo de vida de los insectos.
- *D. websteri* posee un gran potencial para el control biológico de larvas de *L. huidobrensis* debido a su alta actividad paralizadora que reduce considerablemente las poblaciones de mosca minadora.

VI.- RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar ensayos en invernadero y campo para ver el comportamiento de *D. websteri* y su capacidad paralizadora, tratando que los ectoparasitoides adultos sean expuestos durante más de 24 horas a hojas minadas.
- Es necesario efectuar pruebas de liberaciones junto con otros parasitoides para evaluar el grado de control y competencia de esta especie.
- Debe realizarse experimentos similares en otras variedades de cultivos a los que atacan las moscas minadoras.
- Se debe potenciar el modelo fenológico obtenido por ILCYM con la adición de otros parámetros abióticos como humedad y luminosidad, así como parámetros bióticos, como la actividad paralizadora del insecto.

VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd-Rabou S. 2006. Biological control of the leafminer, *Liriomyza trifolii* by introduction, releasing, evaluation of the parasitoids *Diglyphus isaea* and *Dacnusa sibirica* on vegetables crops in greenhouses in Egypt. Archives of Phytopathology and Plant Protection 39:439-443.
- Acosta N.; Cave, R. 1994. Survey of parasitoids attacking *Liriomyza* spp. (Diptera, Agromyzidae) in southern Honduras. Revista de Biología Tropical 42 (1-2): 203-218.
- Arellano, G.; Redolfi de Huiza, I. 1988. Biología de *Halticoptera arduine* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae), parasitoide de *Liriomyza huidobrensis* Blanchard. Resúmenes de la XXXI Convención Nacional de Entomología. 58p.
- Barranco, P. 2003. Dípteros de interés agronómico. Agromicidos plaga de cultivos hortícolas intensivos. Boletín S.E.A. 33: 293-307.
- Bazzocchi, G.; Lanzoni, A.; Burgio, G.; Fiacconi, M. 2003. Effects of temperature and host on the pre-imaginal development of the parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). Biological Control 26: 74-82.
- Belda, J.; Rodríguez, M.; Manzanares, C.; García, M.; Urrutia, T.; Sánchez, A.; Rapallo, S.; Alcázar, M. 1999. Estudio del parasitismo de minadores de hoja, *Liriomyza* sp. (Diptera: Agromyzidae), en cultivos de melón y sandía en invernaderos de Almería. Congreso Nacional de Entomología Aplicada. VII Jornadas Científicas de la S.E.E.A. 207 p.
- Belda, J. 2002. El Control Integrado de lepidópteros y minadores de hoja en cultivos hortícolas protegidos. Phytoma España, Num.135: 77-81.
- Beri, S. 1983. Comparative morphological studies on the cephalopharyngeal skeleton of larval leaf mining flies (Agromyzidae: Diptera). Indian J. For. 6: 301-308

- Boucek, Z.; Askew, R. 1968. Palearctic Eulophidae (excl. Tetrastichinac). (Hym. Chalcidoidea). Index of Entomophagous Insects. La François, Paris. 260 p.
- Burgos, A.; García, G.; Mujica, N.; Kroschel, J. 2009. Crecimiento alométrico de las larvas de *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae). Resúmenes de la Convención Nacional de Entomología. Tacna. 1p.
- Cabello, T.; Suárez, B. 1992. *Liriomyza huidobrensis* (BLANCHARD, 1926) (Diptera: Agromyzidae) nueva especie plaga en cultivos hortícolas en invernaderos de España. Phytoma España, N° 42: 37-43.
- CABI. 2006. Not-for-profit international organization that improves people's lives by providing information and applying scientific expertise to solve problems in agriculture and the environment. Disponible: <http://www.cabi.org/default.aspx>
- Campbell, A.; Frazer, B.; Gilbert, N.; Gutiérrez, A.; Mackauer, M. 1974. Temperature requirements of some aphids and their parasites. J. Appl. Ecol. 11, 431- 438.
- Cardona, C.; Oatman, E. 1975. Biology and physical ecology of *Apanteles subandinus* Blanchard (Hymenoptera: Braconidae), with notes on temperature responses of *Apanteles scutellaris* Musebeck and its host, the potato tuberworm. Hilgardia 43: 1-51.
- Casas, J. 1989. Foraging behaviour of a leafminer parasitoid in the field. Ecol. Entomol. 14:257-265.
- Charnov, E.; Los-den Hartogh, R.; Jones, W.; Van den Assem. J. 1981. Sex ratio evolution in a variable environment. Nature 289: 27-33.
- Cheah, C. 1987. Temperature requirement of the chrysanthemum leaf miner, *Chromatomyia syngenesiae* (Dipt.: Agromyzidae), and its ectoparasitoid, *Diglyphis isaea* (Hym.: Eulophidae). Entomophaga 32, 357-365

- Chulde La Fuente, R. Isabel. 2002. Control biológico de mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* en papa *Solanum tuberosum* mediante el uso de dos parasitoides *Diglyphus* sp. y *Chrysocharis* sp. Carchi. Tesis de grado previa a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma. Universidad Central del Ecuador. Quito. 15-18p.
- Cisneros, F. 1995. Control de Plagas Agrícolas. Segunda Edición. Auspiciado por AGCIS Electronics. Lima-Perú. 313p.
- Cisneros, F.; Mujica, N. 1998. The leafminer fly in potato plant reactions and natural enemies as natural mortality factors. CIP (Peru) Program report 1997-98: 129-140.
- Coronado, C. 2012. Aplicación de un modelo fenológico y geográfico para la distribución de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller), en el valle del Mantaro. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en Ciencias Ambientales. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 126p.
- Cure, J.; Cantor, F. 2003. Predacious and parasitic activity of *Diglyphus begini* (Ashm.) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Liriomyza huidobrensis* (Blanch.) (Diptera: Agromyzidae), in *Gypsophila paniculata* L. (Monocotiledonea: Caryophyllaceae) plants. Neotrop. Entomol. Vol.32, n.1: 85-89.
- Dávila, W. 2011. Influencia de la temperatura sobre el ciclo biológico de *Apanteles subandinus* Blanchard (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de *Phthorimaea operculella* Zeller. Tesis para optar el título de Licenciado en Biología. Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). 153p.
- De Santis, L. 1979. Catálogo de los Himenópteros Calcidoideos de América al sur de los Estados Unidos. Com. Invest. Cient. Prov. Buenos Aires, Gob. 488p.

- Dharmadhikari, P.; Perera, P.; Hassen, T. 1977. The introduction of *Ammalio insulata* for the control of *Eupatorium odoratum* in Sri Lanka. Commonw. Inst. Biol. Control Tech. Bull. 18: 129-135.
- Doult, R. 1957. Biology of *Solenotus begini* (Ashmead). Department of Biological Control. University of California. Vol 50. Num 3. 373-374
- Echevarria A.; Gimeno, C.; Jiménez, R. 1994. *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926) (Diptera, Agromyzidae) una nueva plaga en cultivos valencianos. Bol. San. Veg. Plagas, 20: 103-109.
- Eickwort, G. 1996. Solitary behavior in a high-altitude population of the social sweat bee *Halictus rubicundus*. Behav. Ecol. Sociobiol.. 38: 227-233.
- EPPO. 1997. Quarantine Pests for Europe. 2nd edition. Edited by Smith IM, McNamara DG, Scott PR, Holderness M. CABI International, Wallingford, UK, 1425 pp. En: EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests: *Liriomyza huidobrensis*. EPPO: An intergovernmental organization responsible for European cooperation in plant protection in the European and Mediterranean region. Under the International Plant Protection Convention (IPPC), EPPO is the regional plant protection organization (RPPO) for Europe. Disponible: <http://www.eppo.org/QUARANTINE/listA2.htm> - 25/01/2008
- Fathipour, Y.; Haghani, M.; Talebi, A.; Baniameri, V.; Zamani, A. 2006. Natural parasitism of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on cucumber in field and greenhouse conditions. IOBC/WPRS Bulletin 29:55-160.
- García-Mari, F.; Vercher, R.; Costa-Comelles, J.; Marzal, C.; Villalba, M. 2004. Establishment of *Citrostichus phyllocnistoides* (Hymenoptera: Eulophidae) as a biological control agent for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Spain. Biol. Control 29:215-226.

- Gauthier, N.; La Salle, J.; Quicke, D.; Godfray, H. 2000. Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. *Systematic Entomology*. 25, 521-539.
- Gilbert, N.; Raworth, D. 1996. Insect and temperature, a general theory. *Can Entomol* 128:1–13
- Godfray, H. 1994. *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press. 488p.
- Goncalves, M. 2006. Utilizacao de armadilhas cromotropicas na monitorizacao de *Liriomyza* spp. (Díptera: Agromyzidae) e dos seus parasitoides, no feijao verde. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*. 32:169-174
- Goncalves, M.; Almeida, L. 2005. Biology of two parasitoids of leafminers *Liriomyza* spp., *Diglyphus isaea* and *D. poppoea*, in southern Portugal. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol. 3 (2): 154-156
- Gordh, G.; Hedrickson, R. 1979. New species of *Diglyphus*, a world list of the species, taxonomic notes and a key to new world species of *Diglyphus* and *Diaulinopsis* (Hymenoptera: Eulophidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 81(4). 666-684.
- Haghani, M.; Fathipour, Y.; Talebi, A.; Baniameri, V. 2007. Temperature-dependent development of *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on cucumber. *J Pest Sci* 80:71-77p.
- Heinz, K.; Parrella, M. 1990. The influence of host size on sex ratios in the parasitoid *Diglyphus begini* (Hymenoptera: Eulophidae). *Ecological Entomology* 14, 4. 391-399.
- Heinz, K.; Parrella, M. 1989. Attack behavior and host size selection by *Diglyphus begini* on *Liriomyza trifolii* in chrysanthemum. *Entomol. Exp. Appl.* 53:147-156.

- Hickman, C.; Roberts, L.; Larson, A. 2001. Integrated Principles of Zoology. McGraw Hill Higher Education. Eleventh edition. 918p.
- Honek, A. 1999. Constraints on thermal requirements for insect development. Entomol. Sci. 2: 615-621.
- Huffaker, C.; Berryman, A.; Turchin, P. 1999. Dynamics and regulation of insect populations. In C. B. Huffaker and A. P. Gutierrez. Ecological entomology, Wiley, New York. USA. 2nd ed. 269p.
- Iannacone, J., Alvariño, L. 2007. Crecimiento alométrico de larvas de *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae). Laboratorio de ecofisiología animal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. UNFV. Biologist, Vol. 5. N°2. 52-59.
- Johnson, S.; Henne, C.; Bourgeois, W. 2003. Biological control of the citrus leafminer with *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Louisiana. Proc. Fla. State Hort. Soc. 116:224-226
- Johnson, M.; Welter, S.; Toscano, N.; Ting, I.; Trumble, J. 1983. Reduction of tomato leaflet photosynthesis rates by mining activity of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). J. Econ. Entomol. 76: 1061-1063.
- Kidd, N.; Jervis, M. 1991. Host-feeding and oviposition strategies of parasitoids in relation to host stage. Res. Popul. Ecol (1991) 33, 13-28.
- Klowden, M. 2007. Physiological Systems in Insects. Massachusetts: Elsevier Inc. 688p.
- Korytkowski, H. 1982. Diptera Disponible: <http://diptera.myspecies.info/content/hydrellia-wirthi-korytkowski-1982>
- Larraín, P. 2004. Situación de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) en cultivos de papa del cono sur de América y sus perspectivas de Manejo Integrado. Suplemento Revista Latinoamericana de la Papa. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, La Serena, Chile. Disponible:

<http://www.uach.cl/alap2004/Charlas%20Magistrales/07PLarrain%20In%20extens%20Situacion%20Mosca%20Minadora.pdf> - 24/01/2008

- Lasalle J.; Parrella, M. 1991. The chalcidoid parasites (Hymenoptera, Chalcidoidea) of economically important *Liriomyza* species (Diptera, Agromyzidae) in North America. Proceedings of the Entomological Society of Washington 93: 571-591.
- Li, J.; Dakshina, S. 2010. Parasitoids of Dipteran leafminers, *Diglyphus* spp. (Insecta: Hymenoptera: Eulophidae. Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Lizárraga, A. 1990. Biología de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanchard en papa (Diptera: Agromyzidae). Revista Latinoamericana de la Papa 3: 30-39
- López, P. 2003. Manejo integrado de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) asociado al cultivo de tomate en Chile, Seminario, Ing. Ejec. Agrícola, Departamento de Agricultura del Desierto. Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile. 77p.
- López, E. 2006. Influencia de la temperatura en el ciclo biológico de *Copidosoma koehleri* Blanchard parasitoide de *Phthorimaea operculella* (Zeller). Tesis para optar el Título de licenciado en biología. Universidad Nacional Federico Villarreal. 80p.
- MacDonald, O. 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.
- Minkenberg, O. 1990. On Seasonal inoculative Biological Control. Grafisch Bedrijf Ponsen & Looijen B.V. Wageningen. 25-59.

- Minkenberg, O.; Helderman, C. 1990. Effect of temperature on the life history of *Liriomyza bryoniae* (Diptera: Agromyzidae) on tomato. *Journal of Economic Entomology* 83: 117-125.
- Mujica, N.; Kroschel, J. 2011. Leafminer fly (Diptera: Agromyzidae) occurrence, distribution, and parasitoid associations in field and vegetable crops along the Peruvian coast. *Environmental Entomology* 40 (2), 217-230
- Mujica, N.; Kroschel, J.; Weintraub, P. 2007. Occurrence and distribution of leaf mining flies (Diptera: Agromyzidae) and associated parasitoids in vegetables production systems at the Peruvian Coast. Working Paper N°4. CIP. Lima, Perú. 26p.
- Mujica, N.; Cisneros, F. 1995. Developing IPM components for Leafminer Fly in the Cañete Valley of Peru. En: International Potato Center Program Report 1995-96. CIP, Lima, Perú, 177-184.
- Murphy, S. ; La Salle, J. 1999. Balancing biological control strategies in IPM of New World invasive *Liriomyza* in field vegetable crops. *Biocontrol News INF* 20 (3): 91-104.
- Neder de Roman, L.; Arce de Hamity, M. 1984. Review of and new contributions to knowledge of the bioecology of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Acta Zoologica Lilloana* 37 (2): 295-301.
- Noyes, J. 2004. Encyrtidae of Costa Rica (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Metaphycus* and related genera, parasitoids of scale insects (Coccoidea) and whiteflies (Aleyrodidae). *Memoirs of the American Entomological Institute*, 73: 1-459.
- Ode, P.; Heinz, K. 2002. Host size dependent sex ratio theory and improving mass-reared parasitoid sex ratios. *Biological Control*. Department of Entomology, Texas A & M University. 31-41p.

- Ozawa, A.; Saito, T.; Ola, M.. 2001. Biological control of american serpentine leafminer, *Liriomyza trifolii*, on tomato in greenhouses by parasitoids. ii. evaluation of biological control by *Diglyphus isaea* (walker) and *D. siberica* in commercial greenhouses. Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology. 61:74
- Packer. 1989. The phenology and social biology of four sweat bees in a marginal environment: Cape Breton island. Canadian J. Zoology. 67: 2871-2877.
- Parrella, M. 1987. Biology of *Liriomyza*. Ann. Rev. Entomol. 32: 20-24.
- Parrella, M.; Keil, P.; Morse, J. 1984: Insecticide resistance in *Liriomyza trifolii*. California Agriculture 38 (1-2): 22-23.
- Patel, K; Schuster, D. 1991. Temperature-dependent fecundity, longevity and host-killing activity of *Diglyphus intermedius* (Hymenoptera: Eulophidae) a parasite of *Liriomyza* spp. leafminers (Diptera: Agromyzidae). Environ. Entomol. 12: 885-887.
- Patel, K; Schuster, D.; Smerage, G. 2003. Density dependent parasitism and host-killing of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) by *Diglyphus intermedius* (Hymenoptera: Eulophidae). 8-14.
- Peña, M. 1983. *Diglyphus isaea* (Walker), una nueva especie de Eulophidae para las islas Canarias, con interés en el control biológico de *Liriomyza* spp. Dpto. de Fitopatología. Servicio Agrícola de la Caja Insu arde Ahorros. Vol4. Num1. 31-34.
- Prudencio, M. 2011. Efecto de la temperatura en la biología de *Halticoptera arduine* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae), parasitoide de *Liriomyza huidobrensis* (BLANCHARD) (DIP.:AGROMYZIDAE) y estimación de parámetros de crianza.
- Ramirez, L. 2008. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo, longevidad y fecundidad de *Chrysocharis flacilla* Walker (HYM.: EULOPHIDAE) parasitoide de *Liriomyza huidobrensis* (BLANCHARD) (DIP.: AGROMYZIDAE). Tesis para optar el Título de Biólogo en la Universidad Nacional Agraria La Molina. 111p.

- Raven, K. 1988. Orden Hymenoptera III. Superfamilia Chalcidoidea. Unidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Agronomía. Impreso en Departamento de Entomología. Perú 1era Edición. 7:15.
- 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.
- Roy, M.; Brodeur, J.; Cloutier, C. 2002. Relationship between temperature and development rate of *Stethorus punctillum* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey *Tetranychus mcDanieli* (Acarina: Tetranychidae). Environ Entomol 31:177–187
- Salas, J., Álvarez, C.; Parra, A; Mendoza, O. 1988. Biología y hábitos de vida de *Liriomyza huidobrensis* Blanchard el pasador de la hoja de la papa (*Solanum tuberosum*). Agronomía Tropical 38 (4-6): 57-68.
- Salvo A.; Valladares, G. 2007. Leafminer parasitoids and pest management. Parasitoides de minadores de hojas y manejo de plagas. Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba. Cien. Inv. Agr. 34(3): 167-185.
- Salvo, A.; Valladares, G. 1998. Taxonomic composition of hymenopteran parasitoid assemblages from Agromyzidae leaf-miners sampled in central Argentina. Stud. Neotrop. Fauna. Environ. 33: 116-123.
- Salvo, A.; Fenoglio, M.; Videla, M. 2005. Parasitism of a leafminer in managed versus natural habitats. Agriculture, Ecosystems and Environment 109: 213-220.
- Sánchez, J. 1994. Agromícidos minadores en hojas. EN: Barranco, P. 2003. Dípteros de interés agronómico. Agromícidos plaga de cultivos hortícolas intensivos. Universidad de Almería. España. [On Line]: ARACNET 11 - Bol. S.E.A., 33 (2003): 293-307. Disponible:
http://www.seaentomologia.org/PDF/BOLETIN_33/B33-054-293.pdf - 28/01/2008

- Sánchez, G.; Redolfi de Huiza, I. 1985. Parasitoides de *Liriomyza huidobrensis* y *Scrobipalpa absoluta* en papa cultivada en Lima, 1984. Rev. per. Ent. 28 (1): 81-83.
- Sharpe, P.; De Michele, D. 1977. Reaction kinetics of poikilotherm development. J. Theor. Biol. 64:649-670.
- Shepard, B.; Barrion, A. 1998. Parasitoids of insects associated with soybean and vegetable crops in Indonesia. Journal of Agricultural Entomology. Vol. 15 No. 3. 239-272.
- Scheffer, S. 2000. Molecular evidence of cryptic species within *the Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). J. Econ. Entomol. 93: 1146-1151.
- Scheffer, S.; Lewis, M. 2001. Two nuclear genes confirm mitochondrial evidence of cryptic species within *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 94: 648-653
- Smith, J.; Hoy, M. 1995. Rearing methods for *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera: Eulophidae) released in a classical biological control program for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Fla. Entomol. 78:600-608.
- Southwood, T. 1978. Ecological Methods. Segunda Edición. Ed. Chapman and Hall. Londres y Nueva York. 356-387.
- Southwood T.; Henderson, P. 2000: Ecological Methods (3rd Edition). Blackwell Science, Oxford. 575p..
- Spencer, K. 1981. A Revisionary Study of the Leaf-Mining Flies (Agromyzidae) of California. University Of California. Special Publication N° 3273. 489p.

- Sporleder, M.; Kroschel, J.; Gutierrez, M.; Lagnaou, A. 2004. A Temperature-Based Simulation Model for the Potato Tuberworm, *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera; Gelechiidae). *Environ. Entomol.* 33(3): 477-486
- Sporleder, M.; Reinhard, S.; Juarez, H.; Kroschel, J. 2008. Regional and seasonal forecasting of the potato tuber moth using a temperature-driven phenology model linked with geographic information systems. In: Kroschel J and L Lacey (eds) Integrated Pest Management for Potato Tuber Moth, *Phthorimaea operculella* Zeller- a Potato Pest of Global Importance. *Tropical Agriculture* 20, Advances in Crop Research 10. Margraf Publishers, Weikersheim, Germany. 15-30.
- Stegmaier C. 1972. Parasitic Hymenoptera bred from the family Agromyzidae (Diptera) with special reference to south Florida. *Florida Entomologist* 55: 273-282.
- Steck, G. 1996. Pea leafminer, *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Entomology Circular No. 378, 1996. Disponible: <http://doacs.state.fl.us/~pi/enpp/ento/peamin4.htm>
- Stinner R.; Gutierrez, A.; Butler, G. 1974. An algorithm for temperature-dependent growth rate simulation. *The Canadian Entomologist* 106: 519-524.
- Strand M.; Pech, L. 1995. Immunological compatibility in parasitoid-host relationships. *Annu. Rev. Entomol.* 40:31–56
- Summers, C.; Coviello, R.; Gutierrez, A. 1984. Influence of constant temperatures on the development and reproduction of *Acyrtosiphon kondoi* (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology* 13: 236-242.
- Tonnang, H.; Juarez, H.; Carhuapoma, P.; Gonzales, J.; Mendoza, D.; Sporleder, M.; Simon, R.; Kroschel, J. 2012. Insect Life Cycle Modeling (ILCYM, Version 3.0). A software package for developing temperature-based insect phenology models with applications for regional and global analysis of insect population and mapping. *Centro Internacional de la Papa*. 160p.

- Urrutia, A.; Wade, R.; Phillips, B.; Wratten, D. 2007. Influence of host diet on parasitoid fitness: unravelling the complexity of a temperate pastoral agroecosystem. *Entomol. Exp. Appl.* 123:63–71.
- Valencia, C. 2008. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo, longevidad y fecundidad de *Phaedorotoma scabriventris* (NIXON) (HYM.: BRACONIDAE) parasitoide de *Liriomyza huidobrensis* (BLANCHARD) (DIP.: AGROMYZIDAE). Tesis para optar el Título de Biólogo en la Universidad Nacional Agraria La Molina. 109pp.
- Van der Blom, J. 2002. La introducción de la fauna auxiliar en cultivos agrícolas. *Bol. San. Veg. Plagas.* 28: 251-261.
- Van Lenteren J.; Woets, J. 1988. Biological and integrated control in greenhouses. *Annual Review of Entomology.* 33, 239-269.
- Van Wilgenburg, E.; Driessen, G.; Beukeboom, L. 2006. Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: an "unintelligent" design? *Frontiers in Zoology.* 3:1
- Vasicek, A.; Rossa, F.; Paglioni, A.; Mendy, P. 2003. Biological and populational functionality of *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) (Homoptera: Aphididae) on vegetable hosts under laboratory conditions. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 29: 9–15.
- Waterhouse, D.; Norris, K. 1987. *Biological Control Pacific Prospects.* – Melbourne (Inkata Press): VIII. 454.130.
- Zevallos, R.; Mujica, N.; Wintraub, P. 2003. Efecto de la temperatura en la oviposición, alimentación y longevidad de *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). SEP. Universidad Nacional San Cristobal de Huamanga. 159p.

1.- RESULTADOS DEL PROGRAMA ILCYM

Tasa de Desarrollo

Estado Huevo-Larval

NONLINEAR REGRESSION MODEL

Model name: Sharpe & DeMichele 1

Method: Marquardt

Formula: $r(T) = (p(T/T_0)\exp((H_a/1.987)(1/T_0 - 1/T)))/(1 + \exp((H_l/1.987)(1/T_l - 1/T)) + \exp((H_h/1.987)(1/T_h - 1/T)))$

Parameters

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t)
p	0.0681			
To	291.256			
Ha	16166.02	2e-04	8.265e+07	0
Tl	276.4704	0.00027	1.025e+06	0
Hl	-213520.8	1.11146	-1.921e+05	3.59457397994107e-49
Hh	159887.3	2e-04	7.846e+08	0
Th	313.304	3.40334	92.06	6.66133814775094e-16

Analysis of variance

	DF	SS	MS	Fc	p
Model	4	0.1484	0.0371	89.7655	0
Error	10	0.0041	0.0004		
Total	14	0.1525			

Selection criteria

R2	0.9730
R2_Adj	0.9620
SSR	0.0041
AIC	-9.3030
MSC	-0.6810

Tasa de Desarrollo

Estado Pupal

NONLINEAR REGRESSION MODEL

Model name: Sharpe & DeMichele 12

Method: Marquardt

Formula: $r(T) = (p \cdot (T/298.16) \cdot \exp((H_a/1.987) \cdot ((1/298.16) - (1/T))))/(1 + \exp((H_l/1.987) \cdot ((1/T_l) - (1/T))) + \exp((H_h/1.987) \cdot ((1/T_h) - (1/T))))$

Parameters

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t)
--	----------	-----------	---------	----------

p	0.1539				
Ha	11607.8754	3806.3315	3.05	0.0122595998403412	
Hl	2754087.3787	0	Inf		0
Tl	493.1859	0	Inf		0
Hh	39636.1559	23.55338	1683		0
Th	314.3764	5.22171	60.21	3.88578058618805e-14	

Analysis of variance

	DF	SS	MS	Fc	p
Model	4	0.0524	0.0131	8.903	0.0025
Error	10	0.0147	0.0015		
Total	14	0.0671			

Selection criteria

R2	0.7810
R2_Adj	0.6930
SSR	0.0147
AIC	-2.9530
MSC	-0.9490

Tiempo de Desarrollo

Estado Huevo-Larval

ESTIMATION OF PARAMETERS

Family: binomial
Link function: logit

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Temperature15	-22.799	0.665	-34.269	1e-04
Temperature20	-20.542	0.605	-33.951	1e-04
Temperature25	-16.421	0.486	-33.782	1e-04
Temperature30	-12.366	0.388	-31.834	1e-04
Temperature35	-8.940	0.314	-28.480	1e-04
Slope	8.012	0.229	35.054	1e-04

SELECTION CRITERIA

	Deviance	AIC	MSC	R_Squared	Adj_R_squared
probit	114.0565	287.194	-0.268	0.987	0.986
logit	107.7585	280.896	-0.253	0.988	0.987
cloglog	165.4017	338.539	-0.308	0.978	0.977

ESTIMATED

	Temperature	Log_median	Log_lower	Log_upper	Days	Lower	Upper	SD
1	15	2.846	2.743	2.948	17.215	15.535	19.077	3.411
0.360								
2	20	2.564	2.461	2.667	12.989	11.721	14.393	2.764
0.287								
3	25	2.050	1.947	2.152	7.765	7.007	8.605	1.496
0.156								

4	30	1.544	1.441	1.646	4.681	4.224	5.188	0.960
0.099								
5	35	1.116	1.013	1.219	3.052	2.754	3.382	0.503
0.054								

OBSERVED

	Temperature	Days_obs	SD_obs	SE_obs
1	15	18	4.301	0.430
2	20	14	3.700	0.361
3	25	8	1.472	0.147
4	30	5	1.106	0.117
5	35	4	0.492	0.053

TABLE OF FREQUENCY

	T	Day's	Ln(Day's)	Sample	Dev_Sen	fr_Dev	Fr_Dev (%)
1	15	7	1.9459101	100	0	0.00000000	0
2	15	8	2.0794415	100	2	0.02000000	2
3	15	10	2.3025851	100	3	0.03000000	5
4	15	12	2.4849066	100	2	0.02000000	7
5	15	13	2.5649494	100	5	0.05000000	12
6	15	15	2.7080502	100	11	0.11000000	23
7	15	16	2.7725887	100	12	0.12000000	35
8	15	17	2.8332133	100	14	0.14000000	49
9	15	18	2.8903718	100	9	0.09000000	58
10	15	19	2.9444390	100	15	0.15000000	73
11	15	20	2.9957323	100	4	0.04000000	77
12	15	21	3.0445224	100	4	0.04000000	81
13	15	22	3.0910425	100	2	0.02000000	83
14	15	23	3.1354942	100	5	0.05000000	88
15	15	24	3.1780538	100	2	0.02000000	90
16	15	26	3.2580965	100	5	0.05000000	95
17	15	27	3.2958369	100	4	0.04000000	99
18	15	30	3.4011974	100	1	0.01000000	100
19	20	7	1.9459101	105	0	0.00000000	0
20	20	8	2.0794415	105	2	0.01904762	2
21	20	10	2.3025851	105	3	0.02857143	5
22	20	11	2.3978953	105	37	0.35238095	42
23	20	13	2.5649494	105	1	0.00952381	43
24	20	14	2.6390573	105	27	0.25714286	70
25	20	15	2.7080502	105	13	0.12380952	83
26	20	16	2.7725887	105	5	0.04761905	88
27	20	17	2.8332133	105	1	0.00952381	89
28	20	18	2.8903718	105	8	0.07619048	97
29	20	19	2.9444390	105	1	0.00952381	98
30	20	23	3.1354942	105	6	0.05714286	104
31	20	31	3.4339872	105	1	0.00952381	105
32	25	4	1.3862944	100	0	0.00000000	0
33	25	5	1.6094379	100	2	0.02000000	2
34	25	6	1.7917595	100	5	0.05000000	7
35	25	7	1.9459101	100	21	0.21000000	28
36	25	8	2.0794415	100	27	0.27000000	55
37	25	9	2.1972246	100	21	0.21000000	76
38	25	10	2.3025851	100	14	0.14000000	90
39	25	11	2.3978953	100	9	0.09000000	99
40	25	12	2.4849066	100	1	0.01000000	100

41	30	3	1.0986123	90	0	0.00000000	0
42	30	4	1.3862944	90	22	0.24444444	22
43	30	5	1.6094379	90	37	0.41111111	59
44	30	6	1.7917595	90	17	0.18888889	76
45	30	7	1.9459101	90	11	0.12222222	87
46	30	8	2.0794415	90	2	0.02222222	89
47	30	9	2.1972246	90	1	0.01111111	90
48	35	2	0.6931472	86	0	0.00000000	0
49	35	3	1.0986123	86	34	0.39534884	34
50	35	4	1.3862944	86	52	0.60465116	86

Tiempo de Desarrollo

Estado Pupal

ESTIMATION OF PARAMETERS

Family: binomial

Link function: cloglog

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Temperature15	-12.399	0.347	-35.727	1e-04
Temperature20	-10.709	0.301	-35.556	1e-04
Temperature25	-7.903	0.230	-34.333	1e-04
Temperature30	-8.048	0.235	-34.289	1e-04
Temperature35	-6.798	0.206	-33.055	1e-04
Slope	4.444	0.122	36.377	1e-04

SELECTION CRITERIA

	Deviance	AIC	MSC	R_Squared	Adj_R_squared
probit	288.2877	455.814	-0.336	0.951	0.948
logit	258.5274	426.054	-0.310	0.955	0.952
cloglog	228.3936	395.920	-0.325	0.963	0.961

ESTIMATED

Temperature	Log_median	Log_lower	Log_upper	Days	Lower	Upper	SD	
1	15	2.708	2.522	2.893	14.995	12.458	18.050	3.516
0.369								
2	20	2.327	2.142	2.513	10.251	8.517	12.340	3.131
0.330								
3	25	1.696	1.511	1.881	5.452	4.529	6.562	1.270
0.132								
4	30	1.729	1.543	1.914	5.632	4.679	6.779	1.362
0.142								
5	35	1.447	1.262	1.633	4.252	3.532	5.118	0.501
0.064								

OBSERVED

Temperature	Days_obs	SD_obs	SE_obs	
1	15	16	4.364	0.436

2	20	12	2.356	0.230
3	25	6	1.310	0.131
4	30	6	1.400	0.148
5	35	5	0.382	0.041

TABLE OF FREQUENCY

	T	Day's	Ln(Day's)	Sample	Dev_Sen	fr_Dev	Fr_Dev (%)
1	15	2	0.6931472	100	0	0.00000000	0
2	15	3	1.0986123	100	1	0.01000000	1
3	15	7	1.9459101	100	2	0.02000000	3
4	15	8	2.0794415	100	2	0.02000000	5
5	15	9	2.1972246	100	6	0.06000000	11
6	15	10	2.3025851	100	8	0.08000000	19
7	15	11	2.3978953	100	8	0.08000000	27
8	15	12	2.4849066	100	3	0.03000000	30
9	15	13	2.5649494	100	4	0.04000000	34
10	15	14	2.6390573	100	3	0.03000000	37
11	15	15	2.7080502	100	10	0.10000000	47
12	15	16	2.7725887	100	15	0.15000000	62
13	15	17	2.8332133	100	8	0.08000000	70
14	15	18	2.8903718	100	12	0.12000000	82
15	15	19	2.9444390	100	4	0.04000000	86
16	15	20	2.9957323	100	4	0.04000000	90
17	15	21	3.0445224	100	2	0.02000000	92
18	15	22	3.0910425	100	3	0.03000000	95
19	15	23	3.1354942	100	1	0.01000000	96
20	15	24	3.1780538	100	4	0.04000000	100
21	20	6	1.7917595	105	0	0.00000000	0
22	20	7	1.9459101	105	8	0.07619048	8
23	20	8	2.0794415	105	22	0.20952381	30
24	20	10	2.3025851	105	8	0.07619048	38
25	20	11	2.3978953	105	9	0.08571429	47
26	20	12	2.4849066	105	36	0.34285714	83
27	20	13	2.5649494	105	16	0.15238095	99
28	20	14	2.6390573	105	5	0.04761905	104
29	20	21	3.0445224	105	1	0.00952381	105
30	25	1	0.0000000	100	0	0.00000000	0
31	25	2	0.6931472	100	1	0.01000000	1
32	25	3	1.0986123	100	4	0.04000000	5
33	25	4	1.3862944	100	8	0.08000000	13
34	25	5	1.6094379	100	19	0.19000000	32
35	25	6	1.7917595	100	31	0.31000000	63
36	25	7	1.9459101	100	27	0.27000000	90
37	25	8	2.0794415	100	10	0.10000000	100
38	30	3	1.0986123	90	0	0.00000000	0
39	30	4	1.3862944	90	14	0.15555556	14
40	30	5	1.6094379	90	8	0.08888889	22
41	30	6	1.7917595	90	41	0.45555556	63
42	30	7	1.9459101	90	21	0.23333333	84
43	30	8	2.0794415	90	2	0.02222222	86
44	30	10	2.3025851	90	2	0.02222222	88
45	30	11	2.3978953	90	2	0.02222222	90
46	35	3	1.0986123	86	0	0.00000000	0
47	35	4	1.3862944	86	15	0.17441860	15
48	35	5	1.6094379	86	71	0.82558140	86

Tiempo de Desarrollo

Hembras

ESTIMATION OF PARAMETERS

Family: binomial

Link function: cloglog

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Temperature15	-9.790	0.308	-31.757	0.0001000
Temperature20	-9.091	0.289	-31.480	0.0001000
Temperature25	-7.427	0.243	-30.596	0.0001000
Temperature30	-7.589	0.251	-30.292	0.0001000
Temperature35	2.936	44.491	0.066	0.9473932
Slope	2.594	0.082	31.491	0.0001000

SELECTION CRITERIA

	Deviance	AIC	MSC	R_Squared	Adj_R_squared
probit	471.2050	642.495	-0.494	0.872	0.862
logit	430.3569	601.646	-0.437	0.881	0.872
cloglog	380.2060	551.495	-0.406	0.887	0.878

ESTIMATED

	Temperature	Log_median	Log_lower	Log_upper	Days	Lower	Upper	SD
1	15	3.632	3.313	3.951	37.797	27.478	51.990	7.240
1.056								
2	20	3.363	3.044	3.682	28.872	20.990	39.713	12.859
1.363								
3	25	2.721	2.403	3.040	15.203	11.052	20.912	5.010
0.553								
4	30	2.784	2.465	3.103	16.182	11.764	22.258	4.431
0.484								
5	35	-1.273	-1.592	-0.954	0.280	0.204	0.385	NA
NA								

OBSERVED

	Temperature	Days_obs	SD_obs	SE_obs
1	15	37	7.589	0.759
2	20	31	13.371	1.305
3	25	16	7.005	0.701
4	30	18	6.762	0.713
5	35	0	0.000	0.000

TABLE OF FREQUENCY

	T	Day's	Ln(Day's)	Sample	Dev_Sen	fr_Dev	Fr_Dev (%)
1	15	30	3.4011974	100	0	0.0000000	0
2	15	31	3.4339872	100	12	0.1200000	12
3	15	34	3.5263605	100	7	0.0700000	19
4	15	35	3.5553481	100	31	0.3100000	50

5	15	39	3.6635616	100	6	0.06000000	56
6	15	40	3.6888795	100	19	0.19000000	75
7	15	49	3.8918203	100	6	0.06000000	81
8	15	53	3.9702919	100	19	0.19000000	100
9	20	11	2.3978953	105	0	0.00000000	0
10	20	12	2.4849066	105	8	0.07619048	8
11	20	13	2.5649494	105	8	0.07619048	16
12	20	24	3.1780538	105	8	0.07619048	24
13	20	25	3.2188758	105	9	0.08571429	33
14	20	27	3.2958369	105	7	0.06666667	40
15	20	31	3.4339872	105	17	0.16190476	57
16	20	33	3.4965076	105	8	0.07619048	65
17	20	35	3.5553481	105	16	0.15238095	81
18	20	36	3.5835189	105	8	0.07619048	89
19	20	51	3.9318256	105	8	0.07619048	97
20	20	64	4.1588831	105	8	0.07619048	105
21	25	7	1.9459101	100	0	0.00000000	0
22	25	8	2.0794415	100	16	0.16000000	16
23	25	9	2.1972246	100	5	0.05000000	21
24	25	10	2.3025851	100	16	0.16000000	37
25	25	11	2.3978953	100	5	0.05000000	42
26	25	12	2.4849066	100	5	0.05000000	47
27	25	16	2.7725887	100	6	0.06000000	53
28	25	18	2.8903718	100	5	0.05000000	58
29	25	20	2.9957323	100	10	0.10000000	68
30	25	23	3.1354942	100	6	0.06000000	74
31	25	24	3.1780538	100	10	0.10000000	84
32	25	26	3.2580965	100	11	0.11000000	95
33	25	27	3.2958369	100	5	0.05000000	100
34	30	2	0.6931472	90	0	0.00000000	0
35	30	3	1.0986123	90	9	0.10000000	9
36	30	12	2.4849066	90	18	0.20000000	27
37	30	15	2.7080502	90	9	0.10000000	36
38	30	16	2.7725887	90	9	0.10000000	45
39	30	20	2.9957323	90	9	0.10000000	54
40	30	21	3.0445224	90	9	0.10000000	63
41	30	24	3.1780538	90	9	0.10000000	72
42	30	25	3.2188758	90	18	0.20000000	90
43	35	1	0.0000000	86	86	1.00000000	86

Tiempo de Desarrollo

Machos

ESTIMATION OF PARAMETERS

Family: binomial

Link function: cloglog

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Temperature15	-8.744	0.150	-58.105	0.0001000
Temperature20	-8.633	0.151	-57.230	0.0001000
Temperature25	-7.050	0.127	-55.460	0.0001000
Temperature30	-7.183	0.130	-55.291	0.0001000
Temperature35	2.936	44.491	0.066	0.9473932

Slope 2.247 0.039 58.168 0.0001000

SELECTION CRITERIA

	Deviance	AIC	MSC	R_Squared	Adj_R_squared
probit	482.0393	1006.480	-0.183	0.953	0.952
logit	439.3947	963.836	-0.156	0.959	0.958
cloglog	422.6314	947.072	-0.188	0.955	0.954

ESTIMATED

	Temperature	Log_median	Log_lower	Log_upper	Days	Lower	Upper	SD
1	15	3.728	3.368	4.087	41.588	29.024	59.591	21.369
2	20	3.679	3.319	4.038	39.590	27.630	56.728	18.446
3	25	2.974	2.614	3.334	19.574	13.660	28.046	9.205
4	30	3.033	2.673	3.393	20.762	14.490	29.749	8.115
5	35	-1.469	-1.829	-1.110	0.230	0.161	0.330	NA

OBSERVED

	Temperature	Days_obs	SD_obs	SE_obs
1	15	41	18.584	1.858
2	20	38	23.106	2.255
3	25	21	9.495	0.950
4	30	22	9.920	1.046
5	35	0	0.000	0.000

TABLE OF FREQUENCY

	T	Day's	Ln(Day's)	Sample	Dev_Sen	fr_Dev	Fr_Dev (%)
1	15	15	2.708050	100	0	0.0000000	0
2	15	16	2.772589	100	2	0.0200000	2
3	15	21	3.044522	100	2	0.0200000	4
4	15	28	3.332205	100	1	0.0100000	5
5	15	29	3.367296	100	2	0.0200000	7
6	15	31	3.433987	100	2	0.0200000	9
7	15	32	3.465736	100	2	0.0200000	11
8	15	33	3.496508	100	3	0.0300000	14
9	15	34	3.526361	100	4	0.0400000	18
10	15	35	3.555348	100	10	0.1000000	28
11	15	36	3.583519	100	5	0.0500000	33
12	15	37	3.610918	100	2	0.0200000	35
13	15	38	3.637586	100	2	0.0200000	37
14	15	39	3.663562	100	7	0.0700000	44
15	15	40	3.688879	100	3	0.0300000	47
16	15	41	3.713572	100	7	0.0700000	54
17	15	42	3.737670	100	6	0.0600000	60
18	15	43	3.761200	100	3	0.0300000	63
19	15	44	3.784190	100	4	0.0400000	67
20	15	45	3.806662	100	5	0.0500000	72
21	15	47	3.850148	100	3	0.0300000	75

22	15	49	3.891820	100	4	0.04000000	79
23	15	50	3.912023	100	3	0.03000000	82
24	15	54	3.988984	100	2	0.02000000	84
25	15	62	4.127134	100	2	0.02000000	86
26	15	63	4.143135	100	2	0.02000000	88
27	15	65	4.174387	100	3	0.03000000	91
28	15	67	4.204693	100	2	0.02000000	93
29	15	78	4.356709	100	2	0.02000000	95
30	15	93	4.532599	100	1	0.01000000	96
31	15	108	4.682131	100	2	0.02000000	98
32	15	118	4.770685	100	2	0.02000000	100
33	20	6	1.791759	105	0	0.00000000	0
34	20	7	1.945910	105	4	0.03809524	4
35	20	11	2.397895	105	3	0.02857143	7
36	20	12	2.484907	105	2	0.01904762	9
37	20	13	2.564949	105	1	0.00952381	10
38	20	15	2.708050	105	3	0.02857143	13
39	20	16	2.772589	105	1	0.00952381	14
40	20	18	2.890372	105	2	0.01904762	16
41	20	21	3.044522	105	1	0.00952381	17
42	20	22	3.091042	105	2	0.01904762	19
43	20	25	3.218876	105	1	0.00952381	20
44	20	26	3.258097	105	2	0.01904762	22
45	20	27	3.295837	105	3	0.02857143	25
46	20	29	3.367296	105	3	0.02857143	28
47	20	30	3.401197	105	1	0.00952381	29
48	20	31	3.433987	105	3	0.02857143	32
49	20	32	3.465736	105	1	0.00952381	33
50	20	34	3.526361	105	5	0.04761905	38
51	20	35	3.555348	105	12	0.11428571	50
52	20	36	3.583519	105	1	0.00952381	51
53	20	38	3.637586	105	7	0.06666667	58
54	20	40	3.688879	105	3	0.02857143	61
55	20	41	3.713572	105	2	0.01904762	63
56	20	42	3.737670	105	1	0.00952381	64
57	20	43	3.761200	105	5	0.04761905	69
58	20	44	3.784190	105	3	0.02857143	72
59	20	47	3.850148	105	2	0.01904762	74
60	20	50	3.912023	105	3	0.02857143	77
61	20	51	3.931826	105	2	0.01904762	79
62	20	53	3.970292	105	1	0.00952381	80
63	20	56	4.025352	105	2	0.01904762	82
64	20	60	4.094345	105	1	0.00952381	83
65	20	61	4.110874	105	2	0.01904762	85
66	20	64	4.158883	105	1	0.00952381	86
67	20	65	4.174387	105	2	0.01904762	88
68	20	69	4.234107	105	1	0.00952381	89
69	20	71	4.262680	105	3	0.02857143	92
70	20	73	4.290459	105	4	0.03809524	96
71	20	80	4.382027	105	2	0.01904762	98
72	20	86	4.454347	105	1	0.00952381	99
73	20	89	4.488636	105	2	0.01904762	101
74	20	91	4.510860	105	1	0.00952381	102
75	20	96	4.564348	105	2	0.01904762	104
76	20	132	4.882802	105	1	0.00952381	105
77	25	6	1.791759	100	0	0.00000000	0

78	25	7	1.945910	100	2	0.02000000	2
79	25	8	2.079442	100	14	0.14000000	16
80	25	9	2.197225	100	1	0.01000000	17
81	25	10	2.302585	100	2	0.02000000	19
82	25	11	2.397895	100	3	0.03000000	22
83	25	12	2.484907	100	3	0.03000000	25
84	25	14	2.639057	100	7	0.07000000	32
85	25	18	2.890372	100	3	0.03000000	35
86	25	20	2.995732	100	14	0.14000000	49
87	25	21	3.044522	100	3	0.03000000	52
88	25	22	3.091042	100	4	0.04000000	56
89	25	23	3.135494	100	4	0.04000000	60
90	25	24	3.178054	100	5	0.05000000	65
91	25	25	3.218876	100	5	0.05000000	70
92	25	27	3.295837	100	3	0.03000000	73
93	25	28	3.332205	100	2	0.02000000	75
94	25	29	3.367296	100	4	0.04000000	79
95	25	30	3.401197	100	5	0.05000000	84
96	25	31	3.433987	100	5	0.05000000	89
97	25	34	3.526361	100	5	0.05000000	94
98	25	36	3.583519	100	3	0.03000000	97
99	25	45	3.806662	100	1	0.01000000	98
100	25	46	3.828641	100	2	0.02000000	100
101	30	7	1.945910	90	0	0.00000000	0
102	30	8	2.079442	90	2	0.02222222	2
103	30	9	2.197225	90	3	0.03333333	5
104	30	10	2.302585	90	6	0.06666667	11
105	30	11	2.397895	90	2	0.02222222	13
106	30	12	2.484907	90	5	0.05555556	18
107	30	14	2.639057	90	11	0.12222222	29
108	30	16	2.772589	90	2	0.02222222	31
109	30	17	2.833213	90	3	0.03333333	34
110	30	19	2.944439	90	4	0.04444444	38
111	30	20	2.995732	90	2	0.02222222	40
112	30	21	3.044522	90	5	0.05555556	45
113	30	23	3.135494	90	7	0.07777778	52
114	30	25	3.218876	90	11	0.12222222	63
115	30	26	3.258097	90	4	0.04444444	67
116	30	27	3.295837	90	1	0.01111111	68
117	30	28	3.332205	90	4	0.04444444	72
118	30	31	3.433987	90	2	0.02222222	74
119	30	33	3.496508	90	2	0.02222222	76
120	30	35	3.555348	90	3	0.03333333	79
121	30	39	3.663562	90	2	0.02222222	81
122	30	40	3.688879	90	2	0.02222222	83
123	30	41	3.713572	90	2	0.02222222	85
124	30	42	3.737670	90	1	0.01111111	86
125	30	43	3.761200	90	4	0.04444444	90
126	35	1	0.000000	86	86	1.00000000	86

Mortalidad
Estado Huevo-Larval

MORTALITY FOR TEMPERATURE

T Mortality		
1	10	1.000
2	35	0.650
3	15	0.140
4	20	0.171
5	25	0.140
6	30	0.156
7	35	0.651

NONLINEAR REGRESSION MODEL

Method: Marquardt

Formula: $m(T) = a1.exp(b1.x) + a2.exp(b2.x) + c1$

Parameters

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t)
a1	0	0.00187	0	0.5000
b1	0.6074	0.09416	6.451	0.0116
a2	995.8064	0.02061	4.831e+04	0.0000
b2	-0.7055	0.00198	-356.5	1.0000
c1	0.1392	0.00001	2.165e+04	0.0000

Analysis of Variance

	DF	SS	MS	Fc	p
Model	4	0.7294	0.1823	223.3006	0.0045
Error	2	0.0016	0.0008		
Total	6	0.7310			

Selection criteria

R2	0.9978
R2_Adj	0.9933
SSR	0.0016
AIC	-26.6768
MSC	-1.4349

Mortalidad
Estado Pupal

MORTALITY FOR TEMPERATURE

T Mortality		
1	15	0.270
2	20	0.238
3	25	0.180
4	30	0.333
5	35	0.930

NONLINEAR REGRESSION MODEL

Method: Marquardtr

Formula: $m(T) = 1 - 1/(\exp((1+\exp(-(x-\text{Topt})/B)).(1+\exp(-(Topt-x)/B)).H))$

Parameters

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t)
Topt	21.7981	1.02582	21.25	0.00110
B	3.2722	0.63258	5.173	0.01770
H	0.0357	0.01461	2.441	0.06738

Analysis of Variance

	DF	SS	MS	Fc	p
Model	2	0.3586	0.1793	20.0287	0.0476
Error	2	0.0179	0.0090		
Total	4	0.3765			

Selection criteria

R2	0.9524
R2_Adj	0.9049
SSR	0.0179
AIC	-5.9721
MSC	-1.2578

Oviposición Relativa – Hembras

NONLINEAR REGRESSION MODEL

Method: Marquardtr

Formula: $O(E) = \text{pgamma}(x,a,b)$

Parameters

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t)
a	3.7782	0.33011	11.45	0
b	2.7147	0.24763	10.96	0

Analysis of Variance

	DF	SS	MS	Fc	p
Model	1	52.4681	52.4681	2976.207	0
Error	483	8.5149	0.0176		
Total	484	60.9830			

Selection criteria

R2	0.8604
R2_Adj	0.8601
SSR	8.5149
AIC	-578.1604
MSC	-0.0303

Senescencia – Hembras

NONLINEAR REGRESSION MODEL

Model name: Stinner-4
 Method: Marquardtr
 Formula: $r(T) = c1/(1+\exp(k1+k2.x)) + c2/(1+\exp(k1+k2.(2.To-x)))$

Parameters

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t)
c1	13.4504	7.28895	1.845	0.206284949
c2	28.404	2.15926	13.15	0.005729376
k1	-2.0555	30.93892	-0.06644	0.953073081
k2	0.5311	133.53140	0.00398	0.997187470
To	21.261	46.83117	0.454	0.694342079

Analysis of variance

	DF	SS	MS	Fc	p
Model	4	9.9250	2.4812	50.0569	0.0197
Error	2	0.0991	0.0496		
Total	6	10.0241			

Selection criteria

R2	0.9900
R2_Adj	0.9700
SSR	0.0991
AIC	2.0650
MSC	-1.4310

Senescencia – Machos

NONLINEAR REGRESSION MODEL

Model name: Stinner-4
 Method: Marquardtr
 Formula: $r(T) = c1/(1+\exp(k1+k2.x)) + c2/(1+\exp(k1+k2.(2.To-x)))$

Parameters

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t)
c1	6.4519	4.12095	1.566	0.25791810
c2	24.2604	8.10833	2.992	0.09590391
k1	-3.4071	60.42404	-0.05639	0.96015992
k2	0.5885	119.58778	0.00492	0.99652030
To	21.6883	27.66362	0.784	0.51514834

Analysis of variance

	DF	SS	MS	Fc	p
Model	4	14.9807	3.7452	72.0557	0.0137
Error	2	0.1040	0.0520		
Total	6	15.0847			

Selection criteria

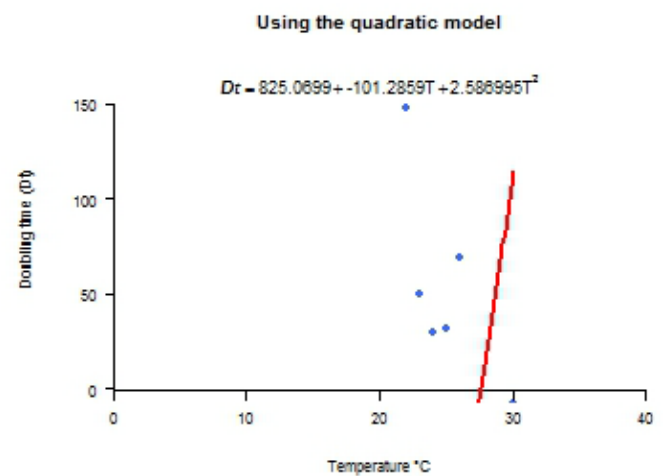
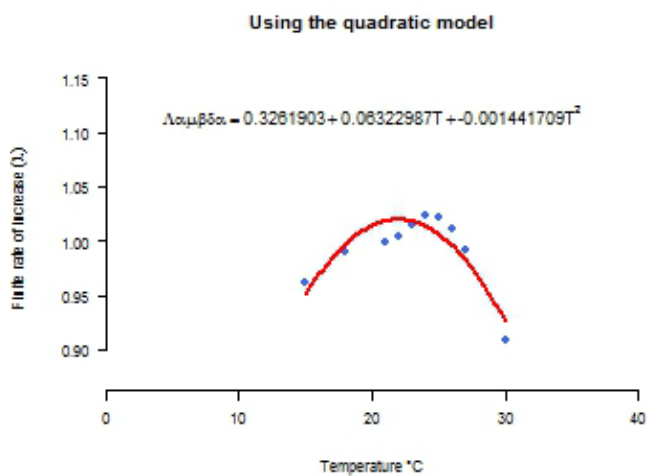
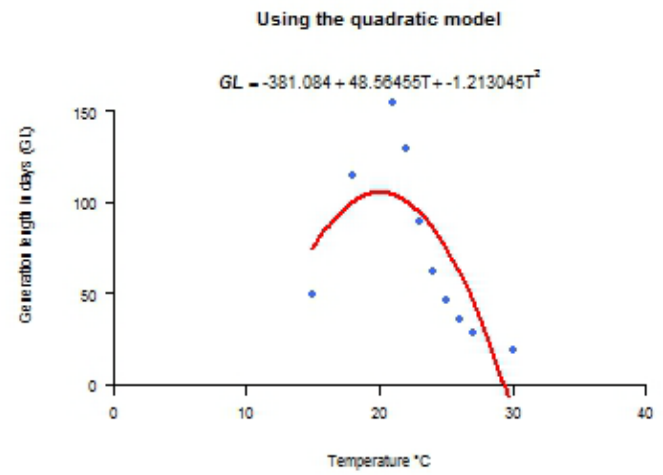
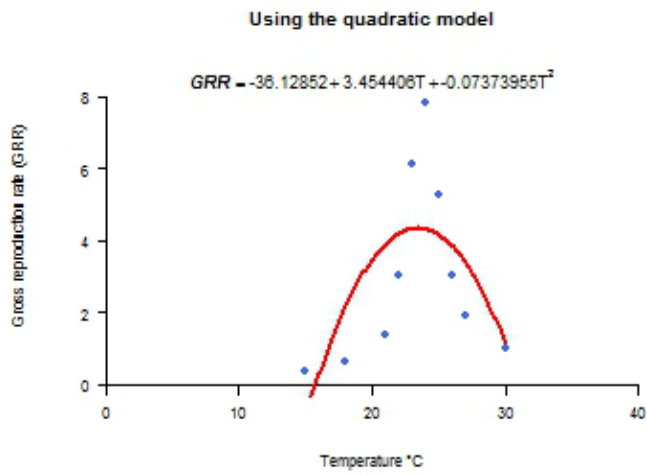
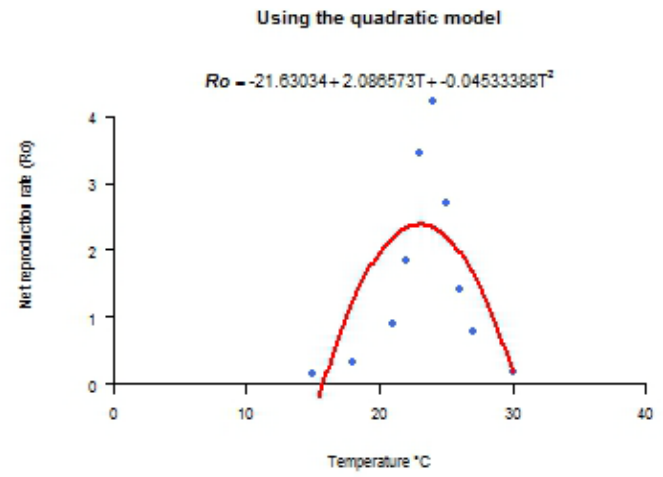
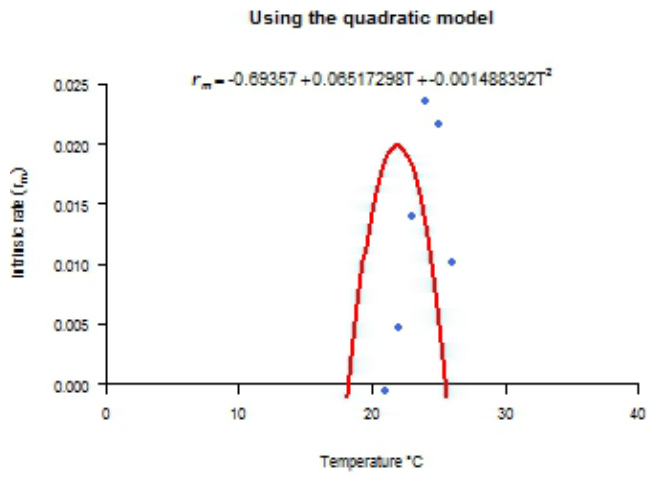
R2	0.993
R2_Adj	0.979
SSR	0.104
AIC	2.397
MSC	-1.431

Simulación Determinística

Parámetros poblacionales

Intrinsic rate (r_m)	$r_m = -0.69357 + 0.06517298T + -0.001488392T^2$ $R^2 = 0.843 \quad R^2 \text{ Adj} = 0.798 \quad AIC = -49.805 \quad Deviance = 0.002$
Net reproduction rate (R_0)	$R_0 = -21.63034 + 2.086573T + -0.04533388T^2$ $R^2 = 0.5 \quad R^2 \text{ Adj} = 0.357 \quad AIC = 35.623 \quad Deviance = 9.273$
Gross reproduction rate (GRR)	$GRR = -36.12852 + 3.454406T + -0.07373955T^2$ $R^2 = 0.462 \quad R^2 \text{ Adj} = 0.308 \quad AIC = 47.894 \quad Deviance = 31.63$
Generation length in days (GL)	$GL = -381.084 + 48.56455T + -1.213045T^2$ $R^2 = 0.599 \quad R^2 \text{ Adj} = 0.485 \quad AIC = 103.096 \quad Deviance = 7897.601$
Finite rate of increase (λ)	$\Lambda\alpha\mu\beta\delta\alpha = 0.3261903 + 0.06322987T + -0.001441709T^2$ $R^2 = 0.843 \quad R^2 \text{ Adj} = 0.798 \quad AIC = -50.479 \quad Deviance = 0.002$
Doubling time (Dt)	$Dt = 825.0699 + -101.2859T + 2.586995T^2$ $R^2 = 0.06 \quad R^2 \text{ Adj} = -0.209 \quad AIC = 151.568 \quad Deviance = 1006046$

Gráficos Parámetros Poblacionales



Validación del Modelo

Datos Parámetros: Simulados y Observados

Life-table parameters

	Simulated	Observed	P
r	-0.033 (± 0.024)	0.054	0.0000
Ro	0.46 (± 0.219)	3.973	0.0000
GRR	1.212 (± 0.878)	19.033	0.0000
T	25.865 (± 5.923)	25.429	0.7196
lambda	0.968 (± 0.023)	1.056	0.0000
Dt	-26.636 (± 26.116)	12.778	0.0000

Development time (days)

	Simulated	Observed	P
E-L	7.588 (± 0.323)	7.027	0
P	8.953 (± 0.471)	7.188	0

Mortality (%)

	Simulated	Percent	P
E-L	0.019 (± 0.011)	0.075	0e+00
P	0.48 (± 0.093)	0.351	1e-04

Fitting indicator for each state

	Euclidian.Dist
E-L	28.55805
P	57.39447
F	20.52438
M	61.01229

2.- FÓRMULAS USADAS EN ILCYM

Logit: $F_i(X_1) = P(Y = 1 / X_1, X_{2i}) = \frac{1}{1 + e^{-(B_1 X_1 + B_{2i} X_{2i})}}$

Cloglog:

$$F_i(X_1) = P(Y = 1 / X_1, X_2) = 1 - e^{-e^{(B_1 X_1 + B_{2i} X_{2i})}}$$

$$\ln(-\ln(P(Y = 1))) = B_1 X_1 + B_{2i} X_{2i}$$

Sharpe & DeMichele 1

$$r(T) = \frac{p' \cdot \frac{T}{T_0'} \cdot e^{\left[\frac{\Delta H_A}{R} \left(\frac{1}{T_0'} - \frac{1}{T} \right) \right]}}{1 + e^{\left[\frac{\Delta H_L}{R} \left(\frac{1}{T_L} - \frac{1}{T} \right) \right]} + e^{\left[\frac{\Delta H_H}{R} \left(\frac{1}{T_H} - \frac{1}{T} \right) \right]}} \quad p' = a + b * T_0'$$

$$T_0' = \frac{\Delta H_L - \Delta H_H}{R * \log \left(-\frac{\Delta H_L}{\Delta H_H} \right) + \left(\frac{\Delta H_L}{T_L} \right) - \left(\frac{\Delta H_H}{T_L} \right)}$$

Sharpe & DeMichele 12

$$r(T) = \frac{P' * \frac{T}{T_0} * e^{\left[\frac{\Delta H_A}{R} \left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T} \right) \right]}}{1 + e^{\left[\frac{\Delta H_L}{R} \left(\frac{1}{T_L} - \frac{1}{T} \right) \right]} + e^{\left[\frac{\Delta H_H}{R} \left(\frac{1}{T_H} - \frac{1}{T} \right) \right]}} \quad P' = a + b * T_0$$

Modelo No Lineal basado en algoritmo Marquardt

$$m(T) = c + b * T + a * T^2$$

Stinner - 4

$$r(T) = \frac{c_1}{1 + e^{(k_1 + k_2 * T)}} + \frac{c_2}{1 + e^{(k_1 + k_2 * (2 * T_0 - T))}}$$