

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**APTITUD BIOLÓGICA DE *GONIZUS LEGNERI* A DIFERENTES
TEMPERATURAS**

POR

MARÍA JOSÉ PAREDES HENRÍQUEZ

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2023**

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**APTITUD BIOLÓGICA DE *GONIZUS LEGNERI* A DIFERENTES
TEMPERATURAS**

POR

MARÍA JOSÉ PAREDES HENRÍQUEZ

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2023**

Aprobada por:

Profesor Asociado. Gonzalo Silva A.
Ing. Agrónomo. Mg. Sc. Dr. Cs

Guía

Profesor Asociado. Inés Figueroa C.
Ing. Agrónomo. Mg. Sc. Dr. Cs

Asesor

Profesor Esteban Rodríguez L.
Ing. Agrónomo. Mg. Sc. Ph. D.
Colegio de Postgraduados. México.

Asesor Externo

Profesor Asociado. Guillermo Wells M.
Ing. Agrónomo. M.Sc.

Decano

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen	1
Summary.....	1
Introducción	2
Materiales y Métodos	4
Resultados y Discusión	7
Conclusiones	16
Referencias	17

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

		Página
Figura 1	Arena de selección modificada de Thuler <i>et al.</i> , 2007.....	7
Figura 2	Preferencia de <i>G. legneri</i> por diferentes estadios de <i>G. mellonella</i> a diferentes temperaturas.*Letras minusculas distintas indican diferencias significativas en las diferentes temperaturas. (Prueba Chi cuadrado de pearson (X^2) $p \geq 0,05$). E= estadio.....	15
Tabla 1	Larvas paralizadas (%) por <i>G. legneri</i> en diferentes temperaturas.....	8
Tabla 2	Ovipostura (%) de <i>G. legneri</i> en diferentes temperaturas...	9
Tabla 3	Eclosión de huevos (%) de <i>G. legneri</i> a diferentes temperaturas.....	10
Tabla 4	Pupación (%) de <i>G. legneri</i> en diferentes temperaturas.....	11
Tabla 5	Pupación (%) de <i>G. mellonella</i> a diferentes temperaturas..	12
Tabla 6	Emergencia (%) de <i>G. legneri</i> adultos sometidos a diferentes temperaturas.....	12
Tabla 7	Emergencia (%) de <i>G. legneri</i> como respuesta numérica en las diferentes temperaturas.....	13
Tabla 8	Porcentaje de proporción de sexo del total de los ejemplares emergidos de <i>G. legneri</i> en las distintas temperaturas.....	14
Tabla 9	Mortalidad (%) de <i>G. legneri</i> en diferentes temperaturas...	14

APTITUD BIOLÓGICA DE *GONIZUS LEGNERI* A DIFERENTES TEMPERATURAS

BIOLOGICAL FITNESS OF *GONIZUS LEGNERI* AT DIFFERENT TEMPERATURES

Palabras índice adicionales: control biológico, parasitoide.

RESUMEN

Goniozus legneri es un insecto parasitoide con potencial para el control de plagas del orden Lepidóptera. Se realizaron dos bioensayos en condiciones de laboratorio con el objetivo de evaluar el efecto de la temperatura en *G. legneri*. El primer bioensayo evaluó el porcentaje de larvas paralizadas, ovipostura, pupación, emergencia y mortalidad del parasitoide, cuyos resultados indicaron que las temperaturas ideales son 26 y 30 °C debido a que, registraron un 72 y 58% de larvas paralizadas respectivamente. Adicionalmente se obtuvo 50 y 40% de emergencia de *G. legneri* adultos. Además, los resultados en los tratamientos de 11 y 18 °C con 0 y 36% de ovipostura y 0 y 20% de emergencia de adultos, permiten inferir que *G. legneri* se puede utilizar en climas con temperaturas menores, ya que a 11°C y 18°C se obtuvieron 42 y 52% de larvas paralizadas. El segundo bioensayo evaluó la preferencia de *G. legneri* por cinco estadios larvales de *G. mellonella* en diferentes temperaturas, obteniéndose que *G. legneri* presenta preferencia por el sexto y séptimo estadio larval de *G. mellonella* a 11, 26 y 30°C. Se concluye que la temperatura influencia la actividad biológica y preferencia de *G. legneri* por un estadio larval de *G. mellonella*.

SUMMARY

Goniozus legneri is a parasitoid insect with potential for controlling pests of Lepidoptera order. Two bioassays were carried out under laboratory conditions with the objective of assessing the effect of temperature on *G. legneri*. The first bioassay evaluated the percentage of paralyzed larvae, oviposition, pupation, emergence and mortality of the parasitoid. Results indicated that the ideal temperatures are 26 and 30 °C because 72 and 58% respectively of paralyzed larvae were recorded.

Additionally, at the end of the bioassay, 50 and 40% of *G. legneri* adult emergence was obtained. Furthermore, results in treatments of 11 and 18 °C with 0 and 36% oviposition and 0 and 20% of adult emergence, allow us to infer that *G. legneri* can be used in climates with lower temperatures, since at 11 °C and 18°C, 42 and 52% of paralyzed larvae were obtained. The second bioassay assessed the preference of *G. legneri* for five larval stages of *G. mellonella* at different temperatures, obtaining that *G. legneri* exhibits preference for the sixth and seventh *G. mellonella* larval stages at 11, 26 and 30°C. We conclude that temperature influences the *G. legneri*'s biological activity and *G. mellonella* larval stages preference.

INTRODUCCIÓN

Varias especies de lepidópteros son insectos de importancia agrícola ya que muchas causan daños a los cultivos. En este Orden las dos fases móviles que corresponden a la larva y el adulto cumplen roles diferentes. Los adultos son polinizadores, mientras que las larvas, salvo excepciones, son fitófagas con un aparato bucal masticador lo que convierte a este orden como de importancia agrícola (Romo, 2015). A raíz de lo anterior los agricultores, como medida de control, utilizan insecticidas sintéticos de contacto que tienen un rol importante en la agricultura moderna, pero que al mismo tiempo producen un impacto negativo en el ambiente. El objetivo del control químico es eliminar insectos plaga, pero estos pueden presentar un impacto negativo en organismos no blanco como recicladores de nutrientes del suelo, polinizadores y enemigos naturales, así como también reducir o contaminar productos alimenticios, pudiendo incluso intoxicar personas. Además, el uso prolongado de insecticidas sintéticos provoca que el insecto desarrolle resistencia los cuales se vuelven difíciles de eliminar. Igualmente, estos compuestos afectan al desarrollo de la planta, tanto en su crecimiento como tamaño y dañan la salud humana en forma directa, ya que dejan residuos en frutos que, si no se respetan los intervalos de seguridad, pudieran ser ingeridos, aunque sea en bajas concentraciones (Devine, 2008). El control de plagas con insecticidas sintéticos es un tema cada vez más complicado, debido a que las exigencias de los consumidores por la reducción en el uso de estos compuestos son cada vez más

común y además los agroquímicos no siempre dan buenos resultados, por lo que, hoy en día se exige o busca una agricultura más ecológica.

Una alternativa para disminuir el uso del control químico de plagas, como una de las herramientas importantes del manejo integrado, es la inclusión del control biológico. Este consiste en la regulación o supresión del potencial reproductor de organismos plaga a través de la acción de enemigos naturales que pueden ser depredadores, patógenos o parasitoides. Los depredadores atacan varios tipos de insectos y consumen diversas presas en el transcurso de su ciclo de vida, pero estos no son específicos en su ataque. Por otra parte, los insectos también sufren enfermedades provocadas por microorganismos entomopatógenos como bacterias, hongos, virus y nematodos. Por último, los parasitoides que generalmente son himenópteros o dípteros depositan sus huevos sobre o en el interior de otros artrópodos. Este huevo eclosiona y el parasitoide inmaduro se alimenta de su presa, y eventualmente lo mata. A la vez se caracterizan por tener un menor tamaño, parasitando en su fase de huevo a larva, los adultos son de vida libre y generalmente específicos en su hospedero (Smith, 2019).

Los betílidos (Hymenoptera: Bethyridae) pertenecen al grupo de parasitoides que se desarrollan de manera externa en el hospedero, es decir ectoparasitoides primarios que atacan larvas y adultos del orden Coleoptera y Lepidoptera. Uno de los géneros más importantes es *Goniozus*, debido a que es utilizado como agente de control biológico de plagas de importancia agrícola. Todas las especies de este género son ectoparasitoides, prefiriendo como hospedadores larvas de microlepidopteros, especialmente minadores y enrolladores de hojas. Los adultos de *G. legneri* tienen un cuerpo alargado y aplanado dorsoventralmente, de color castaño oscuro a negro brillante con patas y antenas castañas. Las hembras miden $3,3\pm 0,4$ mm de largo y son más grandes que los machos ($2,0\pm 0,2$ mm). Los huevos miden 0,5 mm de largo, son translúcidos cuando están recién puestos, tornándose gradualmente amarillos y a medida que la hembra coloca uno lo adhiere firmemente al tagumento del huésped. El número de huevos es variable según el tamaño de la larva huésped. Las larvas L1 del parasitoide son amarillo claro translúcidas y las L2

y L3 amarillo crema con pequeños puntos blancos, sin patas y piriformes. La cabeza se inserta en el huésped donde destacan unas delgadas mandíbulas quitinizadas.

Las pupas presentan sus apéndices libres, en principio de color amarillo claro tornándose pardo negruzco al finalizar su desarrollo. Se encuentran al interior de un capullo de seda blanca de $4,5\pm 0,8$ mm (Cisterna, 2020). De acuerdo con sus hábitos y características biológicas las especies de *Goniozus* son candidatos potenciales para el control de larvas de lepidópteros plaga de importancia agrícola (Laumann y Ferrero, 2000). En cuanto al comportamiento de *G. legneri* la hembra es localizada por el macho y luego de su reconocimiento se produce el apareamiento y si no hay encuentro sexual la reproducción es por partenogénesis (Cisternas y Osman 2020). Un factor importante para que este parasitoide logre controlar plagas de manera efectiva es la temperatura ya que estudios en condiciones de laboratorio han comprobado que este insecto requiere un fotoperiodo de 14 h luz seguido por 10 h de oscuridad (fotoperiodo de día largo) y una temperatura de 25°C para parasitar (Zaviezo, 2007). Según Murthy (2005), en régimen de temperatura sobre 35-40 ° C, *Goniozus* exhibió alta longevidad, fecundidad y sesgo femenino en la progenie, mientras que a régimen de temperatura más baja la fecundidad se ve afectada. Por todo lo antes expuesto el objetivo de la presente investigación fue evaluar en condiciones de laboratorio el efecto de la temperatura en el parasitismo de *G. legneri* en larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).

MATERIALES Y MÉTODOS

Insectos

Los ejemplares de *G. legneri* y huevos para iniciar una colonia de *G. mellonella* se obtuvieron de la empresa Biobichos ubicada en la Ciudad de Chillán, Región de Ñuble, Chile. Las larvas de *G. mellonella* se criaron con la dieta artificial de Singh y Moore (1985) y al obtener los huevos de *G. mellonella* estos se almacenaron a $16^{\circ}\text{C}\pm 1$ durante un máximo de 5 días, ya que durante este periodo se produce una mínima reducción del porcentaje de eclosión. Estos se mantuvieron en recipientes con la parte superior perforada y cubierta por una malla para permitir el intercambio gaseoso, además se proporcionó humedad colocando una toalla de papel húmeda

en el interior del recipiente (Singh y Moore, 1985). Una vez preparada la dieta se depositó en cajas de plástico de 34x21x11cm (largo, ancho, alto), para posteriormente depositar los huevos de *G. mellonella* y cubrirlos con papel aluminio para conservar la temperatura. Este proceso se realizó en una sala con temperatura controlada de $28\pm 5^{\circ}\text{C}$. Una vez emergidas las larvas de *G. mellonella*, se reemplazó el papel aluminio por una tapa con malla para que ingresara oxígeno y asegurar la supervivencia del huésped.

Bioensayos

Se realizaron dos bioensayos, ambos en el Laboratorio de Entomología y Acarología Agropecuaria de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán.

Bioensayo de parasitismo

Una vez inoculados los huevos en la dieta y observándose la presencia de larvas de quinto estadio de *G. mellonella* estas se extrajeron de forma individual y se depositó una larva en una placa petri de plástico (6 cm de diámetro y 1,5 cm de alto) junto a un parasitoide hembra de seis días de edad de *G. legneri*, con el objetivo de que ejercieran su acción parasitaria y obtener más ejemplares del parasitoide. El bioensayo constó de cuatro tratamientos, consistentes en diferentes temperaturas (11, 18, 26 y 30°C) a las cuales se sometieron el parasitoide y su huésped, haciendo evaluaciones cada 24 horas. El tiempo requerido para el bioensayo fue de 34 días.

Evaluaciones

Larva paralizada: se evaluó, en cada repetición de las diferentes temperaturas, el porcentaje de larvas de *G. mellonella* paralizadas por *G. legneri*. La parálisis consiste en que *G. legneri* inyecta con su aguijón el veneno para paralizar al huésped sin matarlo.

Ovipostura: se contabilizó el número de huevos de *G. legneri* en cada larva de *G. mellonella*.

Eclosión y pupación de *G. legneri*: se evaluó el porcentaje de larvas de *G. legneri* en cada tratamiento y posteriormente cuantas de estas alcanzaron el estado de pupa.

Pupación *G. mellonella*: se contabilizó el número de huéspedes que alcanzaron el estado pupa lo cual indicaba una falta de parasitación por parte de *G. legneri*.

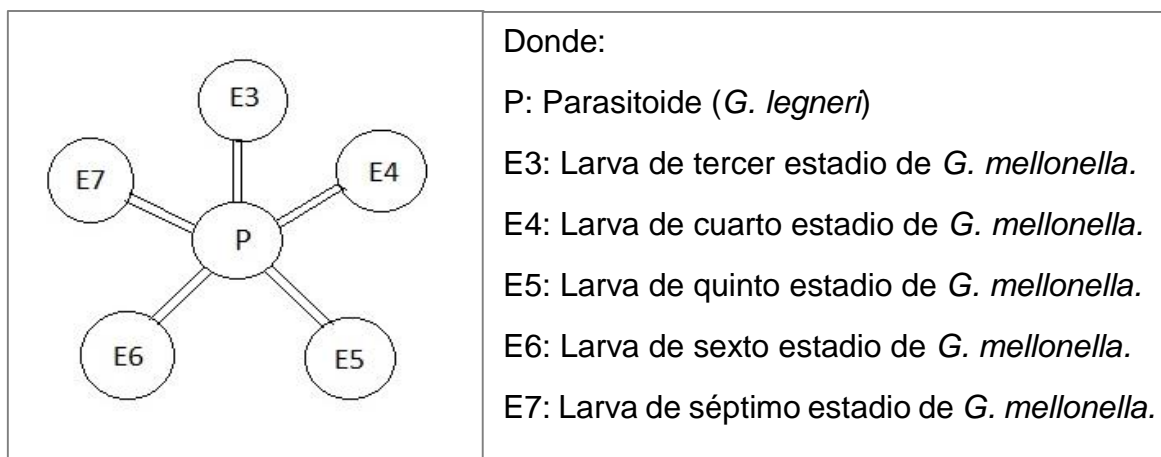
Emergencia de *G. legneri*: una vez finalizado el bioensayo se evaluó el porcentaje de *G. legneri* emergidos de cada larva de *G. mellonella* parasitada en los diferentes tratamientos.

Proporción de sexos: también se evaluó, al concluir el bioensayo, el porcentaje total de hembras emergidas del parasitoide en cada uno de los tratamientos, debido a que las hembras ejercen la acción de control biológico parasitando a su huésped.

Mortalidad de *G. legneri*: Una vez finalizado el bioensayo se registró el porcentaje de mortalidad natural del parasitoide en los diferentes tratamientos.

Bioensayo de preferencia: se evaluó la preferencia de *G. legneri* por los cinco estadios larvales de *G. mellonella* en diferentes rangos de temperatura, con el objetivo de determinar si esta última influye en la elección del parasitoide por algún estadio específico del huésped. Se evaluaron cuatro tratamientos correspondientes a 11, 18, 26 y 30°C con cinco repeticiones cada uno. En la evaluación se utilizó una arena de selección modificada de Thuler *et al.* (2007) y cada repetición consistió en una arena de selección la cual estaba conformada por seis cápsulas de plástico transparentes, de 45 mL de volumen. Estas se encontraron dispuestas con una de ellas en el centro rodeada por las cinco restantes y conectadas por tubos plásticos de 2cm de largo y 8 mm de diámetro (Figura 1). En la cápsula central se ubicó un ejemplar hembra de *G. legneri* y en cada una de las cápsulas que rodeaban al parasitoide se colocó un estadio diferente de *G. mellonella*, las cuales se ubicaron de forma aleatoria en cada repetición. Posteriormente las arenas se almacenaron en cámaras bioclimáticas adaptadas a la temperatura de cada tratamiento, para una vez transcurrido el tiempo registrar la selección de *G. legneri*. El tiempo del bioensayo fue determinado por *G. legneri* al parasitar la larva la cual prefirió, tardando 4 días para 11°C, en 18°C 24 horas, 1 hora para 26°C y 30 minutos a 30°C.

Figura 1: Arena de selección modificada de Thuler *et al.*, 2007.



Diseño experimental y análisis de datos

El diseño experimental fue completamente al azar. En el bioensayo de parasitismo se realizó un análisis de varianza no paramétrico utilizando la prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$), debido a que los datos obtenidos no cumplieron con los supuestos de homogeneidad y normalidad según las pruebas de Levene y Shapiro Wilks. En el bioensayo de preferencia se realizó un análisis estadístico correspondiente a una tabla de contingencia, las cuales según Agresti (1990) son útiles para el análisis simultaneo de dos o más variables categorizadas, con la prueba de Chi-cuadrado (χ^2) y mediante el valor obtenido se pudo analizar si la temperatura tiene un efecto en la preferencia del estadio del hospedero. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico Infostat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parálisis de larvas

A las 24 horas de comenzado el bioensayo los dos tratamientos con temperatura más alta (26 y 30°C) obtuvieron un 56 y 54 % de larvas de *G. mellonella* paralizadas por *G. legneri* (Tabla 1). Los otros dos tratamientos de 11 y 18 °C mostraron un 0 % de larvas paralizadas. A las 72 horas, el tratamiento de 18°C presentó un 42% de larvas paralizadas, sin mostrar diferencias significativas con las temperaturas más altas, que registraron 72 y 58 % respectivamente. En esta evaluación el tratamiento con la menor temperatura (11 °C) mantuvo el 0 % de larvas de *G. mellonella* paralizadas. A las 120 horas de iniciado el bioensayo los tratamientos de 26 y 30 °C

mantuvieron su porcentaje de parálisis, mientras que en los tratamientos de 11 y 18 °C registraron 42 y 52 %, no registrándose diferencia significativa entre todos los tratamientos. Sin embargo, se observa la tendencia de que a mayor temperatura hay un mayor porcentaje de parálisis y en un menor tiempo. Estos resultados concuerdan con Burgos (2013) quien evaluó el efecto de la temperatura en el parasitoide *Diglyphus websteri*, un agente de control biológico del mismo orden de *G. legneri*, reportando que las paralizaciones que realizaban los adultos sobre las larvas hospederas eran continuas y directamente proporcionales con el incremento de la temperatura. En dicho estudio a 25 y 27 °C se registró el mayor número de huéspedes paralizados, lo que significa que a esta temperatura el parasitoide tiene un control más efectivo sobre la larva coincidiendo con la presente investigación.

Tabla 1. Larvas paralizadas (%) por *G. legneri* en diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Larvas Paralizadas (%) *		
	Tiempo (horas)		
	24	72	120
11	0,0 a	0,0 a	42,0 ns**
18	0,0 a	42,0 ab	52,0 ns
26	56,0 b	72,0 b	72,0 ns
30	54,0 b	58,0 b	58,0 ns

*Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre temperaturas. (Prueba Kruskal-Wallis $\alpha < 0,05$) **ns (no significativa)

Ovipostura

A las 72 horas de iniciado el bioensayo, solo se registró postura de huevos de *G. legneri* en el tratamiento con la temperatura más alta (30°C) con un 28% de ovipostura (Tabla 2), presentando diferencias significativas con los restantes tratamientos. Al sexto día, *G. legneri* comenzó a oviponer sobre *G. mellonella* en las dos temperaturas más altas 26 y 30°C con 28 y 42% respectivamente, mostrando diferencias significativas con los tratamientos de 11 y 18°C que registraron 0%. Esta tendencia se mantuvo en las evaluaciones a los 9 y 12 días mientras que a los 15 días en el tratamiento de 26°C se obtuvo un 46% de ovipostura, sin diferencias significativas con el tratamiento de 30°C que presentó un 44 % de ovipostura. Por el contrario, los tratamientos de 11°C y 18°C con 0 y 14% de ovipostura fueron

estadísticamente menores que el tratamiento de 26°C. Al día 18 no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos de 18, 26 y 30°C con 36, 46 y 44% de oviposición de *G. legneri* sobre *G. mellonella* respectivamente, siendo todos significativamente mayores que el tratamiento 11°C que presentó 0%. Por tanto, se observa la tendencia de que a mayor temperatura existe mayor ovipostura de *G. legneri* sobre larvas de *G. mellonella*, junto con que 26 y 30 °C presentan una oviposición temprana. Por tanto, los resultados señalan que la temperatura es un factor crítico que afecta el tiempo de desarrollo y fecundidad de este parasitoide. Al respecto Ramirez (2008), evaluó la capacidad de reproducción de *Chrysocharis flacilla*, un parasitoide del mismo orden de *G. legneri*, observando que la cantidad total de huevos puestos por hembra disminuye a medida que desciende la temperatura.

Tabla 2: Ovipostura (%) de *G. legneri* en diferentes temperaturas.

Temperatura(°C)	Ovipostura (%) *					
	Tiempo (días)					
	3	6	9	12	15	18
11	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
18	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	14,0 ab	36,0 b
26	4,0 a	28,0 b	42,0 b	46,0 b	46,0 c	66,0 b
30	28,0 b	42,0 b	44,0 b	44,0 b	44,0 bc	44,0 b

*Letras minúsculas distintas en la columna indican diferencias significativas entre temperaturas. (Prueba Kruskal-Wallis $\alpha < 0,05$)

Cabe destacar que como consecuencia de los resultados del tratamiento de 11 °C en donde *G. legneri* registró un 0 % de oviposición, para descartar una posible infertilidad de las hembras, estas se sometieron a un nuevo bioensayo, que consistió en seleccionar ocho repeticiones con hembras sobrevivientes del parasitoide, las que se ubicaron en una cámara bioclimática a una temperatura de 30 °C a la espera de la ovoposición. Al segundo día del bioensayo un 100 % de las muestras presentaron huevos de *G. legneri* sobre larvas de *G. mellonella*, lo que descartó la infertilidad de las hembras del parasitoide y comprobándose que la temperatura es el factor determinante para la oviposición.

Eclosión

Al cuarto día del bioensayo el tratamiento de 30 °C reportó la presencia de un 32 % de larvas de *G. legneri* (Tabla 3), mostrando diferencias significativas con los demás tratamientos que registraron 0% de eclosión. Al octavo y doceavo día los dos tratamientos con temperaturas más altas (26 y 30 °C) registraron un 58 y 42 % de larvas de *G. legneri*, presentando diferencias significativas con 11 y 18 °C que mantuvieron el 0 %. En las evaluaciones a los 16, 20 y 24 días el tratamiento de 26 °C obtuvo un 62 % de eclosión, no presentando diferencias significativas con el tratamiento de 30 °C que registró 42 %. A su vez los tratamientos de 11 °C y 18 °C presentaron 0 % y 34 % de larvas, registrando diferencias significativas con el tratamiento de 26 °C. Finalizado el bioensayo, la temperatura de 26 °C, obtuvo el mayor porcentaje de larvas de *G. legneri*, lo cual implica que a mayor temperatura la actividad y metabolismo aumentan. Al respecto Bartra (2009) evaluó el tiempo de desarrollo larval de un parasitoide en diferentes rangos de temperatura, determinando que la duración del desarrollo larval es afectada por la temperatura, ya que a 11 °C a pesar de que los huevos eclosionaron no se obtuvo, en ninguna de las repeticiones, ejemplares que completaran el desarrollo larval, y determinó además que la duración total del estado larval decreció con el aumento de la temperatura.

Tabla 3: Eclosión de huevos (%) de *G. legneri* a diferentes temperaturas.

Temperatura(°C)	Eclosión (%) *					
	Tiempo (días)					
	4	8	12	16	20	24
11	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
18	0,0 a	0,0 a	0,0 a	12,0 ab	32,0 ab	34,0 ab
26	4,0 a	30,0 b	58,0 b	62,0 c	62,0 c	62,0 c
30	32,0 b	34,0 b	42,0 b	42,0 bc	42,0 bc	42,0 bc

*Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en las diferentes temperaturas (Prueba de Kruskal-Wallis $\alpha < 0,05$).

Pupación de *G. legneri*

Al sexto día de evaluación el tratamiento de 30°C mostró un 10% pupación de *G. legneri* (Tabla 4), valor significativamente mayor que el resto de las temperaturas, todas con 0% de pupas del parasitoide. Al noveno día 26°C y 30°C registraron 12 y

38% respectivamente de presencia de pupas de *G. legneri*, no presentando diferencias significativas entre ellos, pero si con 11°C y 18°C que mantuvieron un 0%. En las evaluaciones en los días 12, 15, 18 y 21 los tratamientos de 26 y 30°C obtuvieron 60 y 44% de pupas de *G. legneri* no mostrando diferencias significativas entre estos, mientras que, 11°C y 18°C continuaron con 0%. En los días 24, 27 y 30 los tratamientos de 26°C y 30° mantuvieron el 60% y 44% de pupación de *G. legneri* sin presentar diferencias significativas entre tratamientos, pero si con 18°C el cual mostró 28% de pupación de *G. legneri* que a su vez registró diferencias significativas con el tratamiento de 26°C. Lo anterior concuerda con Morales (2018) quien realizó un estudio del parasitoide *Apanteles gelechiidivoris* cuyos resultados indicaron que en bajas temperaturas aumenta el tiempo de desarrollo en estado pupa, ya que con menores temperaturas se ve afectado el tiempo de desarrollo y metabolismo del insecto al no tener recursos y energía suficientes para completar su desarrollo.

Tabla 4: Pupación (%) de *G. legneri* en diferentes temperaturas.

Temperatura (C°)	Pupación (%) *								
	Tiempo (días)								
	6	9	12	15	18	21	24	27	30
11	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
18	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	14,0ab	22,0ab	28,0ab
26	0,0 a	12,0ab	40,0b	60,0b	60,0b	60,0b	60,0c	60,0 c	60,0c
30	10,0 b	38,0 b	38,0b	44,0b	44,0b	44,0b	44,0bc	44,0 bc	44,0bc

*Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en las diferentes temperaturas (Prueba Kruskal-Wallis $\alpha < 0,05$).

Pupación de *G. mellonella*

Se evaluó la presencia de pupas de *G. mellonella*, ya que este es un factor que incide en el parasitismo de *G. legneri* debido a que al pupar el huésped se impide que el parasitoide deposite sus huevos o en el caso de que hayan sido depositados estos no emergen, por lo que *G. mellonella* continúa su ciclo para seguir causando daño como plaga. Una vez finalizado el bioensayo, los resultados indicaron que el tratamiento de 11 °C obtuvo 30 %, 18 °C un 28 %, 26 °C un 26 % y 30 °C un 24 % (Tabla 5); no encontrándose diferencias significativas entre tratamientos. Por tanto, se infiere que la temperatura no es un factor que incida en la pupación de *G.*

mellonella. Sin embargo, un estudio realizado por Marquina (2017) consistente en estudiar el efecto de la temperatura en el ciclo del desarrollo de *G. mellonella*, menciona que en adultos de este insecto su actividad comienza en primavera y continúa en gran parte del verano. Además, el estado fisiológico de pre-pupa y pupa a medida que aumenta la temperatura disminuye la duración de estos estados. Es decir, la temperatura también es un factor en la duración del ciclo de desarrollo de *G. mellonella*.

Tabla 5: Pupación (%) de *G. mellonella* a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Pupación (%)
11	30,0 ns*
18	28,0 ns
26	26,0 ns
30	24,0 ns

*No significativa (Prueba Kruskal-Wallis $\alpha < 0,05$)

Emergencia de *G. legneri* adultos

En los días 13, 16 y 19 de iniciado el bioensayo el tratamiento de 30 °C obtuvo un 40 % de *G. legneri* adultos emergidos (Tabla 6), presentando diferencia significativa con el resto de las temperaturas evaluadas que exhibieron 0 %. En los días 22, 25, 28 y 31 los tratamientos de 26 °C y 30 °C presentaron 50 y 40 % de emergencia no registrándose diferencia significativa entre ellos, pero si con 11 y 18 °C que nuevamente obtuvieron 0% de emergencia. Al día 34, en las temperaturas 26 y 30 °C mantuvieron su porcentaje de emergencia, y los tratamientos de 11 °C y 18 °C presentaron 0 % y 20 % de *G. legneri* emergidos siendo significativamente menores que 26 °C y 30 °C.

Tabla 6: Emergencia (%) de *G. legneri* adultos sometidos a diferentes temperaturas.

Temperatura (C°)	Emergencia (%) *							
	Tiempo (días)							
	13	16	19	22	25	28	31	34

11	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
18	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	20 ab
26	0,0 a	0,0 a	0,0 a	24,0 b	50,0 b	50,0 b	50,0 b	50,0 c
30	28,0 b	40,0 b	40,0 b	40,0 b	40,0 b	40,0 b	40,0 b	40,0 bc

*Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en las diferentes temperaturas (Prueba Kruskal-Wallis $\alpha < 0,05$)

En cuanto a los resultados de *G. legneri* adultos emergidos totales, se consideró el número de adultos del parasitoide como 100% del número total de huevos ovipuestos por *G. legneri* en cada larva una vez finalizado el bioensayo. Los tratamientos de 26 y 30°C obtuvieron 68 y 70% de emergencia sin diferencia significativa, entre ambos. Por el contrario, el tratamiento de 18°C presentó diferencia estadística con los tratamientos mencionados al registrar un 28% de *G. legneri* emergidos. El tratamiento con la temperatura más baja (11°C) no fue utilizado en el análisis ya que *G. legneri* solo paralizó a la larva, sin oviponer sobre *G. mellonella*.

Tabla 7: Emergencia (%) de *G. legneri* como respuesta numérica en las diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Emergencia (%) *
18	28,0 a
26	68,0 b
30	70,0 b

*Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en las diferentes temperaturas (Prueba Kruskal-Wallis $\alpha < 0,05$).

Los resultados muestran la tendencia de que, a menor temperatura, menor es el porcentaje de emergencia de *G. legneri*. Esto concuerda con Morales (2018) quien estudió el efecto de diferentes temperaturas del parasitoide *Apanteles gelechiidivoris*, determinado que las bajas temperaturas reducen el desarrollo y tasa metabólica del insecto. A la vez señala que algunos reportes indican que las bajas temperaturas afectan a los insectos, disminuyendo el porcentaje y tiempo de emergencia, longevidad y capacidad reproductiva de los adultos.

Proporción de sexos

La proporción sexual de la descendencia es uno de los factores de éxito o fracaso de la introducción de parasitoides en un determinado ecosistema, el cual es

influenciado por la temperatura (Bartra, 2009). Una vez finalizado el bioensayo se evaluó la proporción de sexos del total de *G. legneri* emergidos. En el tratamiento de 18°C y 30°C la proporción hembras: machos fue de 3:1. Al respecto Laumann (2000) evaluó a *G. legneri* como enemigo natural de *Cydia pomonella* y la descendencia mostró una diferencia estadística correspondiente a un mayor número de hembras. Sin embargo, los resultados del presente bioensayo indicaron que a 26°C no hay mayor diferencia entre el porcentaje de hembras y machos emergidos obteniendo una proporción de 1:1. Un factor que puede haber sido determinante en el resultado a esta temperatura es el tipo de reproducción del parasitoide, ya que, si la hembra no se aparea con el macho, esta se reproduce por partenogénesis facultativa de tipo arrenotóquica que produce un mayor número de machos (Jiménez, 2009). Aunque las hembras que se utilizaron en el bioensayo fueron dispuestas anteriormente con machos durante 72 horas para su apareamiento, siempre existe un porcentaje en donde la hembra no es localizada por el macho, no existiendo encuentro sexual. Ramirez (2008) evaluó el efecto de la temperatura sobre el desarrollo, longevidad y fecundidad del parasitoide *Chrysocharis flacilla*, concluyendo que la temperatura afecta en la fecundidad y proporción sexual.

Tabla 8: Porcentaje de proporción de sexo del total de los ejemplares emergidos de *G. legneri* en las distintas temperaturas.

Temperatura(°C)	Hembras Emergidas (%)	Machos Emergidos (%)
11	0,0	0,0
18	78,0	22,0
26	57,0	43,0
30	74,0	26,0

Mortalidad de *G. legneri*

Una vez finalizado el bioensayo no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos debido que 11 °C registró 18 % de mortalidad de *G. legneri*, 18 °C un 28 % y 26 y 30 °C un 24 %. Estos resultados indican que la temperatura no es un factor significativo en la mortalidad de *G. legneri*. Sin embargo, Burgos (2013) demostró que la temperatura afecta la mortalidad, señalando que el porcentaje de

mortalidad de un parasitoide baja si este está cerca de la temperatura óptima del insecto y, por el contrario, aumenta si se aleja de esta.

Tabla 9: Mortalidad (%) de *G. legneri* en diferentes temperaturas.

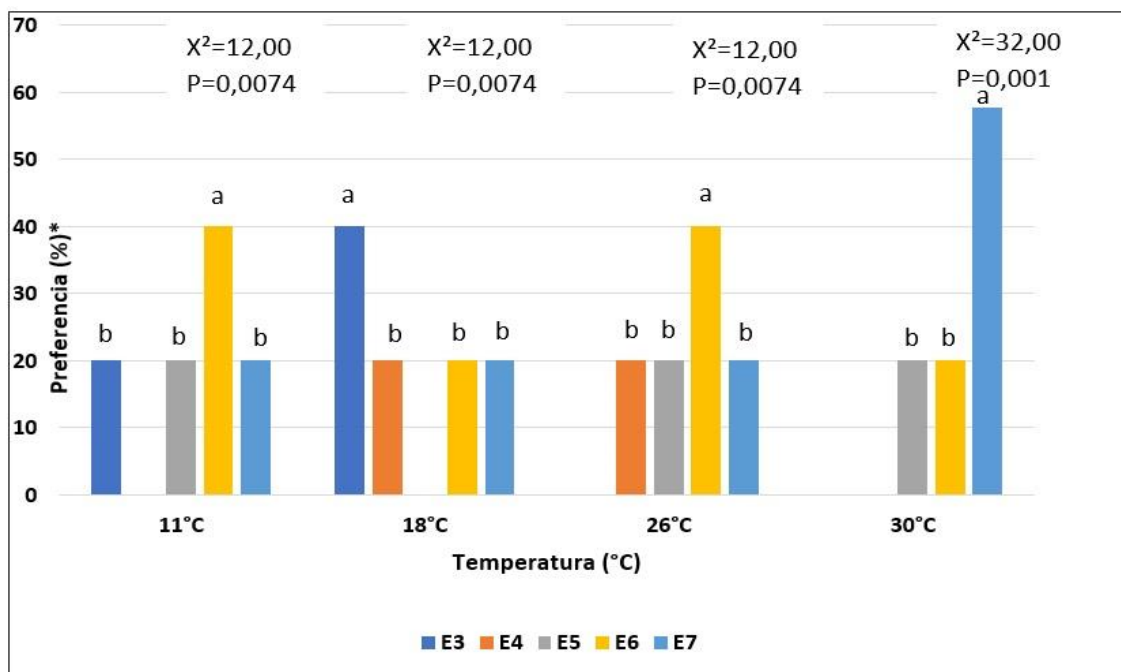
Temperatura (°C)	Mortalidad (%)
11	18,0 ns*
18	28,0 ns
26	24,0 ns
30	24,0 ns

*Sin diferencias estadísticamente significativas (Prueba de Kruskal-Wallis $\alpha < 0,05$)

Preferencia

En cuanto a la preferencia de *G. legneri* por los cinco estadios larvales de *G. mellonella* a 11 °C y 26 °C el parasitoide tuvo una preferencia de 40 % por el sexto estadio larval de *G. mellonella* (figura 2) mostrando diferencias significativas con el resto de los estadios larvales. A los 18 °C *G. legneri* tuvo una elección también de 40 % pero por el tercer estadio registrando diferencias significativas con respecto a los restantes estadios. Finalmente, a 30 °C *G. legneri* tuvo una preferencia de 60% por el séptimo estadio larval de *G. mellonella* también mostrando diferencias significativas con el resto de los estadios. Los resultados obtenidos indican que *G. legneri* presenta preferencia por un estadio en particular en las diferentes temperaturas, aunque con una tendencia por los de mayor desarrollo. Cabe destacar que el tiempo en que el parasitoide tardó para escoger la larva a la cual parasitó también fue diferente, ya que para el tratamiento de 30 °C tardó 30 minutos en que *G. legneri* seleccionara una larva de *G. mellonella* para parasitarla, en 26 °C demoró 60 minutos, en el tratamiento de 18°C tardó 24 horas y en el de 11 °C 72 horas. Por ende, se puede inferir que la temperatura es un factor determinante en el tiempo que demora un parasitoide es escoger su huésped para parasitar. Estos resultados concuerdan con Bajonero (2008) quien señala que la temperatura influye en la velocidad del desarrollo, comportamiento, alimentación y fecundidad coincidiendo con lo obtenido en la presente investigación.

Figura 2. Preferencia de *G. legneri* por diferentes estadios de *G. mellonella* a diferentes temperaturas.*Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en las diferentes temperaturas. (Prueba Chi cuadrado de pearson (X^2) $p \geq 0,05$). E= estadio.



Por último, se puede indicar que el presente bioensayo evaluó la aptitud biológica de *G. legneri* en diferentes temperaturas, encontrándose que temperaturas más altas como 26 y 30 °C son las ideales, ya que, obtuvieron mayores porcentajes de larvas paralizadas, ovipostura, eclosión y emergencia de *G. legneri*. Aunque, esto no indica que el parasitoide no pueda utilizarse en temperaturas más bajas, ya que en los otros tratamientos (11 y 18 °C) se obtuvo una cifra significativa de larvas paralizadas por el parasitoide, pero en un mayor periodo de tiempo, lo que no descarta su uso como controlador biológico en otras estaciones del año como otoño o en la zona sur del país. Finalmente, cabe recalcar que, por ser un bioensayo en laboratorio en condiciones controladas, es necesario validar la investigación a nivel de campo.

CONCLUSIONES

1. La temperatura influencia la actividad biológica de *G. legneri*.
2. La temperatura de 26°C es la más apropiada para *G. legneri*
3. La temperatura influye en la preferencia de *G. legneri* por un estadio larval específico de *G. mellonella* y en el tiempo de elección.

REFERENCIAS

1. Agresti, A. 1990. Exact inference for contingency tables with ordered categories. *Am. Stat.* 85(410): 453-458.
2. Bajonero, J., N. Córdoba, F. Cantor, D. Rodríguez y J.R. Cure. 2008. Biología y ciclo reproductivo de *Apanteles gelechiidivoris*. (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agron. Colomb.* 26(3): 417-426.
3. Bartra, C. 2009. Estudios biológicos y efecto de la temperatura sobre *Orgilus lepidus* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). Tesis, Licenciado en Biología. Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Escuela Profesional de Biología. Lima, Perú.
4. Burgos, A. 2013. Efecto de la temperatura en la biología y comportamiento de *Diglyphus websteri* (Crawford) (Hymenoptera: Eulophidae). Tesis, Magister Scientiae en Ecología Aplicada. Universidad Nacional Agraria La Molina, Escuela de Maestría en Ecología Aplicada. Lima, Perú.
5. Cisternas, E., A. Osman y A. Morales. 2020. *Goniozus legneri*: control Biológico de polillas para nacedales orgánicos. Ficha Técnica 60. INIA La Cruz, La Cruz, Chile.
6. Cloyd, R. 2020. Alimentación a base del huésped por parasitoides. *GrowerTalk*. Kansas State. Estados Unidos.
7. Devine, G. 2008. Uso de Insecticidas: Contexto y consecuencias ecológicas. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública.* 25(1): 74-100.
8. Garcia, E. 2015. Orden Lepidoptera. *Rev. Idea.* (65): 1-21
9. Laumann, R., A. Ferrero y T. Stadler. 2000. Evaluación en laboratorio de *Goniozus legneri* Gordh (hymenoptera: Bethyridae) enemigo natural de *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) en cultivos de nogal de la provincia de Catamarca, Republica de Argentina. *Bol. San. Veg. Plagas* 26: 537-550.
10. Marquina, R. 2016. Efecto de la temperatura en el ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* L. Tesis Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas. Trujillo, Perú.
11. Marquina-Bazan, R. 2017. Efecto de la temperatura en el ciclo de desarrollo de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Rev. Cienc. Fac. Cienc. Biol.* 37(2): 63–69.

12. Morales, J. y D. Rodriguez. 2018. Efecto de diferentes temperaturas y tiempos de conservación sobre pupas de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae). Rev. Colomb. Entomol. 44(2): 217-222.
13. Murthy, K. 2005. Performance of *Goniozus nephantidis* (Bethylidae: Hymenoptera) multiplied on artificial diet reared *Opisina arenosella* at variable high temperature. Ind. Jour. Of. Agric. Scienc. 75 (8): 529-533.
14. Ramírez, M. 2008. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo, longevidad y fecundidad de *Chrysocharis flacilla* Walker (Hym.: Eulophidae) parasitoide de *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Dip.: Agromyzidae), Mosca minadora de la papa. Tesis Biólogo. Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. Lima, Perú.
15. Rodriguez, D. y J Olivares. 2009. Evaluación de los parásitos: Consideraciones Generales. Rev. Salud Anim. 3(1): 13-17.
16. Singh, P. and R. Moore. 1985. Handbook of insect rearing. Elsevier. Amsterdam. The Netherlands.
17. Smith, H., and J. Capinera. 2000. Natural enemies and biological control. ASK Ifas. ENY-822: 1-6 [en línea]. <http://www.edis.ifas.ufl.edu/publication/IN120>. (Consulta: 24/10/23)
18. Thuler, R. y H. Volpe. 2007. Metodología para evaluar al preferencia del huesped de los parasitoides del género *Trichogramma* Westwood. Pp:333-340. Boletín de Sanidad Vegetal N°3. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias. São Paulo. Brasil.
19. Zaviezo, T. y A. Romero. 2007. Primer Registro de *Goniozus legneri* (Hymenoptera: Bethylidae) para Chile. Cienc. Investig. Agrar. 34(1): 57-61.