

Sección Básica / Basic

Artículos de investigación / Research paper

Efecto de diferentes temperaturas y tiempos de conservación sobre pupas de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae)

Effect of different temperatures and cold storage on pupae of *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae)JESSICA ANDREA MORALES-PERDOMO¹, DANIEL RODRÍGUEZ-CAICEDO² y FERNANDO CANTOR-RINCÓN³

Resumen: *Apanteles gelechiidivoris* parasitoide de larvas de tercer estadio de *Tuta absoluta*, puede generar hasta 80 % de mortalidad de larvas en campo. Para producir masivamente el parasitoide es necesario tener almacenamiento en frío de pupas, para conservarlas en cantidades sin perder características biológicas. Se evaluaron diferentes temperaturas y tiempos de conservación en frío sobre parámetros biológicos en los estados de pupa y adulto. Las pupas se sometieron a 4, 8 y 12 °C por 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento. A 4 y 8 °C se retrasó el tiempo de emergencia después del almacenamiento frío, siendo más corto a siete días en cada temperatura. La emergencia de adultos fue más baja a 4 °C al disminuir significativamente conforme aumentaron los días de almacenamiento. En 8 y 12 °C se presentaron porcentajes de emergencia de 90 y 100, respectivamente, a los siete días de almacenamiento. No hubo efecto entre las temperaturas y días de almacenamiento, o su interacción, en la cantidad de hembras producidas ($P > 0,05$). La longevidad de adultos disminuyó al aumentar el tiempo de conservación. En 8 °C se presentó la mayor longevidad de adultos (9 días) a 7 y 14 días de almacenamiento. A 4 °C se afectó el parasitismo de las hembras que emergieron de pupas en los días de almacenamiento evaluados; en 8 °C, se obtuvo el porcentaje de parasitismo más alto (80 %) a siete días de almacenamiento. Los resultados sugieren que las pupas pueden ser almacenadas hasta 14 días a 8 °C, sin afectar efectividad del parasitoide.

Palabras clave: Control biológico, cría masiva, control de calidad, almacenamiento.

Abstract: *Apanteles gelechiidivoris*, a parasitoid of the third stage of *Tuta absoluta* larvae, can generate up to 80 % larval mortality in the field. In order to mass-produce this parasitoid, it is necessary to have cold storage of pupae in order to conserve significant quantities without losing biological characteristics. Different temperatures and cold storage times were evaluated using biological parameters in pupal and adult stages. The pupae were exposed to 4, 8 and 12 °C for 7, 14, 21 and 28 days of storage. At 4 and 8 °C, the emergence time was delayed after cold storage, being shorter by seven days at each temperature. Adult emergence was lower, at 4 °C, and decreased significantly as storage days increased. At 8 and 12 °C, emergence percentages of 90 and 100 percent were reported, respectively, after seven days of storage. Temperature and days of storage had no effect on the number of females produced ($P > 0.05$). Adult lifespan decreased with increasing days of cold storage. At 8 °C, the longest adult lifespan (9 days) was observed at 7 and 14 days of storage. At 4 °C, the parasitism of females that emerged from pupae on the storage days evaluated was affected; at 8 °C, the highest parasitism percentage (80 %) was obtained at seven days of storage. The results suggest that pupae can be stored up to 14 days at 8 °C, without affecting the effectiveness of the parasitoid.

Key words: Biological control, massive rearing, quality control, cold storage.

Introducción

Tuta absoluta (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) es una de las plagas principales a nivel suramericano y la principal plaga en varios países de Europa (De Vis *et al.* 2001; Desneux *et al.* 2010). Las larvas de *T. absoluta* son consideradas minadores de las hojas, barrenadores del tallo, perforadores de flores y frutos (Caffarini *et al.* 1999). El daño en la planta es iniciado desde el semillero y se extiende durante todo su desarrollo (López-Ávila 2002). Ataca cultivos de solanáceas y el daño más importante ocurre en cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tanto bajo invernadero como al aire libre causando pérdidas en producción de hasta un 90 % (Desneux *et al.* 2010).

El principal método de control para *T. absoluta* es el químico, que a pesar de su rápido efecto presenta desventajas para la salud humana y el ambiente (Vargas 1996). Por esta razón el estudio de enemigos naturales ha cobrado importancia como método de control biológico. En Colombia se ha registrado la existencia de enemigos naturales como *Apanteles gelechiidivoris* (Marsh, 1975) (Hymenoptera: Braconidae) parasitoide de larvas de tercer estadio y responsable de más del 70 % de mortalidad de larvas en laboratorio (Agudelo y Kaimowitz 1997) y 80 % en campo, cuando es usado en combinación con el control etológico (Morales *et al.* 2014). El combinar estos dos métodos ha permitido mantener la plaga como secundaria y a niveles no económicos de daño, aumentando la productividad de los cultivos (López-Ávila 2002).

¹ Bióloga, M. Sc. Directora Escuela de Ciencias Naturales Aplicadas, Corporación Universitaria Minuto de Dios, Bogotá, D. C., Colombia, jessica.morales@uniminuto.edu. ² Ing. Agrónomo, Ph. D. Docente-Investigador, Programa de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D. C., Colombia, control.biologico@unimilitar.edu.co. ³ Biólogo, Ph. D. Docente-Investigador, Programa de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D. C., Colombia, control.biologico@unimilitar.edu.co. Autor para correspondencia: Jessica Andrea Morales-Perdomo. Bióloga, M. Sc. Directora Escuela de Ciencias Naturales Aplicadas, Corporación Universitaria Minuto de Dios, Bogotá, D. C., Colombia, jessica.morales@uniminuto.edu.

Uno de los procesos importantes para la producción masiva de *A. gelechiidivoris* es contar con la opción de almacenamiento en frío de pupas. De esta manera se obtiene una cantidad suficiente, constante (van Lenteren 2000) y en un mismo estado de desarrollo para ser liberado en campo (López y Botto 2005). La baja temperatura de almacenamiento es un método que permite aumentar la vida de los enemigos naturales reduciendo el desarrollo o la tasa metabólica del insecto. Cada parasitoide tiene diferente capacidad de tolerar las bajas temperaturas dependiendo de su historia evolutiva y adaptación (Colinet y Boivin 2011). Sin embargo, algunos reportes indican que las bajas temperaturas afectan la calidad de los insectos almacenados al disminuir el porcentaje de emergencia, los días de emergencia de los adultos, la longevidad y su capacidad reproductiva en campo, perjudicando su eficiencia al momento de ser liberados (Leopold 1998; Chen *et al.* 2008).

Según Rodrigues y Sampaio (2011) las bajas temperaturas, por prolongados periodos de tiempo, afectan parámetros biológicos de los insectos como longevidad, emergencia y fecundidad. Los estudios de Bajonero *et al.* (2008) revelan que la tasa de producción de huevos y la fecundidad en *A. gelechiidivoris* varía con la temperatura. La reducción en la fecundidad por efecto de la temperatura puede determinar un bajo parasitismo. Igualmente, la longevidad también puede aumentar por efecto de las bajas temperaturas (Jervis y Kidd 1996). Este factor afecta la duración del ciclo de vida de los individuos ya que para completar una fase de desarrollo se requiere cierta cantidad de unidades térmicas (grados día) (Orozco *et al.* 1990).

Actualmente no se conocen estudios relacionados con el efecto de diferentes temperaturas y días de almacenamiento en frío para *A. gelechiidivoris*. En este trabajo se evaluó el efecto de diferentes temperaturas y tiempos de conservación en frío sobre la emergencia, longevidad del estado de pupa y proporción sexual y porcentaje de parasitismo de adultos de *A. gelechiidivoris*.

Materiales y métodos

Área de estudio. Esta investigación se llevó a cabo durante 2011, en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Militar Nueva Granada (UMNG) en el Campus Nueva Granada, localizado en Cajicá, Cundinamarca, bajo condiciones de laboratorio, con temperaturas de 18 ± 2 °C y 65 % de humedad relativa.

Fase de laboratorio. Se evaluó el efecto de temperaturas (4, 8 y 12 °C) y tiempos de almacenamiento [7, 14, 21 y 27 días de conservación en frío (DCF)] sobre emergencia, longevidad, proporción sexual y porcentaje de parasitismo de adultos de *A. gelechiidivoris*. Las temperaturas se eligieron teniendo en cuenta el umbral mínimo de desarrollo (4 °C) para el estado de pupa de *A. gelechiidivoris* definido por Bajonero *et al.* (2008). Se utilizaron neveras horizontales (Ultra-lab, Colombia) calibradas a 4 y 8 °C, y para la de 12 °C se utilizó una incubadora vertical (Thermo Scientific™, Precision™, Waltham, Estados Unidos). Los tiempos de almacenamiento se eligieron de acuerdo a estudios realizados en *Apanteles galleriae* (Wilkinson, 1932) (Hymenoptera: Braconidae) por Uçkan y Gülel (2001) donde a 6 °C, el parasitoide sobrevive por un período máximo de 15 días.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con estructura de tratamientos factorial (3x4) para los factores de temperatura y tiempo de almacenamiento. Se empleó como unidad experimental una caja de petri con una pupa de *A. gelechiidivoris* por caja. Se realizaron diez repeticiones por tratamiento.

Las pupas fueron tomadas de un pie de cría realizado en cajas plásticas de 0,30 x 0,11 x 0,20 m donde se colocaron hojas de tomate con larvas en tercer estadio y se liberaron adultos del parasitoide. Luego de, aproximadamente, un mes las pupas se individualizaban y se esperaba a que se tornaran de un color oscuro (próximas a emerger), lo que permitía que todas las pupas que iban a ser sometidas a los diferentes tratamientos tuvieran la misma edad.

Recolección de datos. Una vez cumplido el tiempo de almacenamiento definido en cada tratamiento, las cajas eran retiradas de su contenedor y trasladadas de inmediato a las condiciones climáticas del laboratorio. Se realizaron evaluaciones diarias de emergencia (número de adultos emergidos de la avispa/pupa), días de emergencia, donde se sumaron los días desde que el individuo fue introducido en la caja hasta su emergencia, longevidad (número de días que permanecen vivos los adultos del parasitoide una vez han emergido) y proporción sexual (adultos hembra/individuos totales).

Las avispas hembras que emergían de los diferentes tratamientos fueron llevadas a cajas plásticas, donde se le colocaba diariamente una hoja de tomate con 20 larvas de tercer estadio de *T. absoluta* hasta el momento de la muerte. Finalmente, se registraba el número de larvas parasitadas (porcentaje de parasitismo) y los adultos producidos en cada uno de los diferentes tratamientos. Para identificar las larvas parasitadas, se observó el color rosa presente en el abdomen y su comportamiento (movimiento lento).

Análisis estadístico. Se realizó un análisis de modelo lineal generalizado para todas las variables. Para la proporción sexual la sobrevivencia se asumió distribución binomial, mientras que para las otras variables se asumió distribución normal. Se tuvo en cuenta el efecto separado de las variables temperatura y días de almacenamiento, y el efecto de la interacción para conocer cómo se comporta la variable de respuesta en función de la combinación de factores.

Resultados y discusión

Temperatura vs días de emergencia. Aunque la posibilidad de lograr el almacenamiento de los parasitoides representa un avance importante para una unidad de producción, también es necesario determinar el tiempo de emergencia del adulto parasitoide después de retirar las pupas de los diferentes tratamientos de almacenamiento en frío, con el fin de programar adecuadamente los tiempos de liberación en campo del parasitoide. La temperatura no afectó el tiempo de emergencia, aunque la interacción entre tiempos de almacenamiento y temperaturas fue altamente significativa ($p \leq 0,001$). A medida que aumentaron los días de almacenamiento en frío 4 °C se presentó un aumento significativo ($p \leq 0,001$) en el tiempo de emergencia de los adultos. Esto debido al retraso de las actividades metabólicas después del tiempo de almacenamiento, siendo siete días de conservación en frío el tratamiento en el que menos tiempo transcurrió para que se diera la primera emergencia (Fig. 1).

A 4 y 8 °C, la emergencia más rápida se dio a los siete días de conservación en frío y disminuyó a medida que aumentaron los días de almacenamiento. Por el contrario, a temperatura de 12 °C las pupas emergieron más rápido cuando aumentó el tiempo de exposición al frío (28 DCF) (Fig. 1).

A 4 y 8 °C se detuvo el desarrollo embrionario de la pupa de *A. gelechiidivoris*, retrasando el tiempo de emergencia (Fig. 1). Esto también fue observado por Zúñiga y Gerding (2002) para *Trichogramma nerudai* (Pintureau y Gerding, 1999) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ellos encontraron que las bajas temperaturas de almacenamiento afectaron el desarrollo de la pupa. En 12 °C, los adultos emergieron a los 4 días aproximadamente (Fig. 1). Esto se podría explicar porque, cuando la temperatura aumenta, en un rango favorable para el insecto, se acelera el metabolismo y, consecuentemente, incrementa la tasa de desarrollo (López y Botto 2005) lo que es desfavorable si se va a tomar esta temperatura como opción de almacenamiento, dado que no permitirá conservar los individuos por el tiempo mínimo (7 días).

Emergencia. La emergencia de los adultos del parasitoides varió significativamente por efecto de los días de almacenamiento y las temperaturas evaluadas ($P < 0,05$). La temperatura que presentó mayor emergencia de *A. gelechiidivoris* (100 %) fue la de 12 °C, sin embargo, no se considera apta para un programa de almacenamiento en frío porque, como se mencionó, emergen antes de ser retiradas del tratamiento (Fig. 2). Esto implica, que a esa temperatura no se logra reducir el metabolismo en forma suficiente para que el tiempo de almacenamiento pueda prolongarse por al menos siete días, que desde el punto de vista práctico, sería el tiempo mínimo que se esperaría ganar para un proceso de acopio del enemigo natural.

A 4 °C se presentó 50 % de emergencia menor al observado en el tratamiento de 8 °C, en todos los días de almacenamiento (Fig. 2). Algunas especies de parasitoides almacenados a 4 °C, no tienen los recursos y la energía suficiente para completar su desarrollo y emerger (Colinet y Boivin 2011).

Un ejemplo de esto fue registrado por Ayvaz *et al.* (2008) en los Trichogrammatidae *Trichogramma cacoeciae* (Marchal, 1927) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Tr. brassicae* (Bezdenko, 1968) y *Tr. evanescens* (Westwood, 1833) donde la emergencia disminuyó después de haber

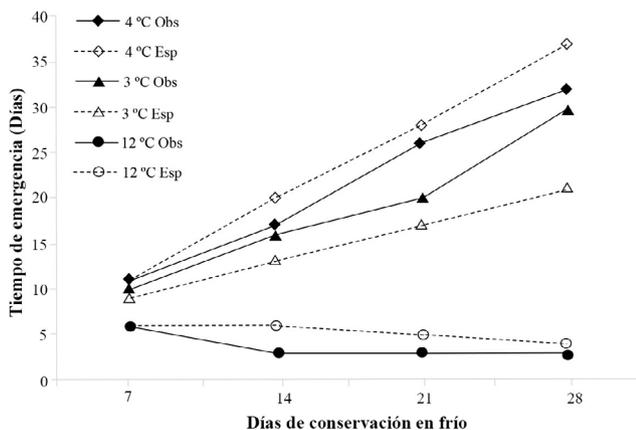


Figura 1. Datos esperados (Esp) y observados (Obs) del tiempo que transcurre para presentarse la primera emergencia de adultos de *Apanteles gelechiidivoris*, a partir de pupas del parasitoides sometidas a diferentes temperaturas (en °C) y días de conservación en frío.

sido almacenados a 4 °C por tres semanas. Al igual que para *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880) (Hymenoptera: Braconidae) y *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852) (Hemiptera: Aphididae) los cuales al ser almacenados a 4 y 5 °C disminuyen su emergencia a medida que aumenta el período de almacenamiento de 4 a 45 días (Rodríguez *et al.* 2003; 2004). Rundle *et al.* (2004) también reportaron que temperaturas menores a 10 °C para *Tr. carverae* (Oatman y Pinto, 1987), tienen efectos negativos en el porcentaje de emergencia, al igual que para *Telenomus podisi* (Ashmead, 1893) (Hymenoptera: Scelionidae) donde bajas temperaturas afectan el desarrollo del individuo negativamente, disminuyendo su porcentaje de emergencia (Bayram *et al.* 2005).

En la temperatura de 8 °C se pudieron conservar los individuos de *A. gelechiidivoris* por más tiempo (hasta 21 días) con 50 % de emergencia (Fig. 2).

Para los días de almacenamiento se encontró un efecto altamente significativo ($P < 0,01$). Se observó que a medida que aumentan, disminuye el porcentaje de emergencia en un 60 %, siendo siete días el tratamiento que presentó la mayor emergencia en todas las temperaturas evaluadas (Fig. 2). En parasitoides solitarios como *A. gelechiidivoris* se presenta una mortalidad más alta cuando se incrementa la duración y disminuye la temperatura de almacenamiento. Lo que sugiere que el retraso y el daño son procesos acumulativos, pues no solo se retrasa el tiempo de emergencia, sino que aumenta la mortalidad. Esto también se encontró para *A. galleriae*, donde adultos sometidos a 6 °C por más de siete días mueren, al disminuir su actividad metabólica hasta detenerla por completo (Uçkan y Gülel 2001) y para *Aphidius colemani* (Viereck, 1912) (Hymenoptera: Braconidae) donde la falta de reservas de energía baja la sobrevivencia de las avispas después de 21 días de exposición al frío (Colinet *et al.* 2006). En esta variable no se observó un efecto significativo en la interacción entre las variables de temperatura y días de almacenamiento.

Proporción sexual. La proporción de hembras a los siete días de almacenamiento a 4 °C, fue de $0,87 \pm 0,12$ (promedio \pm error estándar) y para 8 °C y 12 °C fue de $0,7 \pm 0,14$, a los 14 días de almacenamiento. En 4 °C se obtuvo una proporción de hembras de $0,5 \pm 0,25$, en 8 °C fue de 1 ± 0 y en la de 12 °C fue de $0,7 \pm 0,19$. Para los 21 días de almacenamiento a 4 °C se obtuvo una proporción de hembras de $0,3 \pm 0,27$,

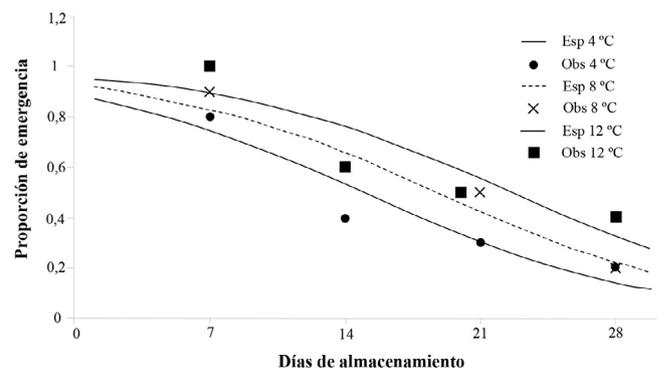


Figura 2. Datos esperados (Esp) y observados (Obs) de la proporción de emergencia de adultos de *Apanteles gelechiidivoris* sometidos a diferentes temperaturas y días de conservación en frío.

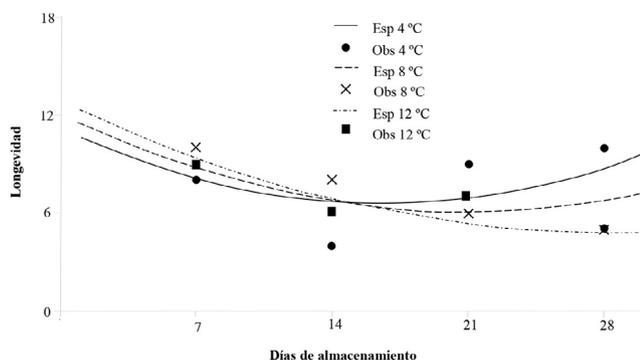


Figura 3. Datos esperados (Esp) y observados (Obs) de la longevidad de hembras de *Apanteles gelechiidivoris* cuando las pupas fueron sometidas a diferentes temperaturas y días de conservación en frío.

a 8 °C, $0,6 \pm 0,22$ y a 12 °C de $0,8 \pm 0,18$. A los 28 días de almacenamiento la proporción de hembras expuestas a 4 °C, 8 °C y 12 °C fue de $0,5 \pm 0,35$. Estos resultados sugieren que no existe un efecto significativo de las temperaturas y los días de almacenamiento o su interacción en la cantidad de hembras producidas ($P > 0,05$), lo que implica que no hay mortalidad de pupas dependiendo del sexo debido al almacenamiento en frío.

Lo anterior coincide con lo registrado por Weiser *et al.* (2004) quienes no encontraron diferencias en la proporción sexual de *Habrobracon hebetor* (Say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae) cuando las pupas fueron sometidas a diferentes periodos de almacenamiento. Foerster y Doetzer (2006) no encontraron relación entre la duración del almacenamiento y la proporción sexual en *Telenomus remus* (Nixon, 1937) (Hymenoptera: Platygasteridae). En el caso de parasitoides Hymenoptera donde la hembra es capaz de escoger el sexo de su progenie controlando la fertilización (determinación haplodiploide), las bajas temperaturas pueden modificar la proporción de sexos en los insectos producidos (Colinet y Boivin 2011). Este fenómeno pudo presentarse causando la disminución en la cantidad de hembras producidas en las diferentes temperaturas, sin importar el tiempo de exposición.

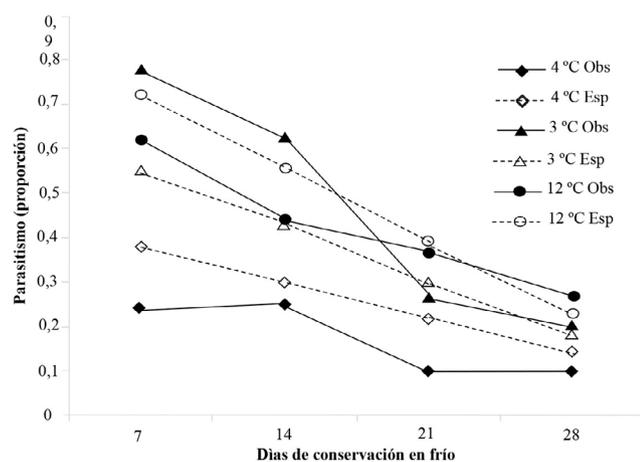


Figura 4. Datos esperados (Esp) y observados (Obs) de la proporción de parasitismo alcanzado por hembras de *Apanteles gelechiidivoris* después que en estado de pupa fueron sometidas a diferentes temperaturas y días de conservación en frío.

Longevidad. Se observaron efectos significativos al considerar el efecto lineal y cuadrático de los días de almacenamiento ($P < 0,05$) y la interacción entre la temperatura y efecto cuadrático de los días de almacenamiento ($P < 0,05$). A medida que aumentaban los días de almacenamiento en las temperaturas de 8 y 12 °C, disminuye la longevidad de las pupas, siendo siete días de almacenamiento cuando se presentó la mayor longevidad (Fig. 3). Foerster *et al.* (2004) encontraron disminución en la longevidad de *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae) y *T. podisi* cuando las pupas son sometidas a bajas temperaturas durante el almacenamiento. Esta disminución se debe a que los individuos tienen recursos limitados los cuales gastan para el crecimiento, reproducción y mantenimiento (Chen *et al.* 2011).

Esto no coincide con lo observado en el tratamiento a 4 °C, donde aumentó la longevidad en los adultos que estuvieron expuestos a 21 y 28 días. Esto se puede explicar debido a que la baja emergencia a estas temperaturas (Fig. 3) generó alta mortalidad, reduciendo drásticamente el número de adultos evaluados. En relación a los otros días de almacenamiento (7 y 14 días) se observó disminución que puede ser explicada porque después de estar sometidas a prolongados tiempos de exposición al frío, pueden sufrir de inanición, pérdida de agua y acumulación de metabolitos tóxicos que pueden causar la muerte o reducir la capacidad física de adaptarse al medio ambiente (Chen *et al.* 2011).

A 8 °C se presentó la mayor longevidad (9 días) a 7 y 14 días de almacenamiento (Fig. 3), lo que concuerda con Bajonero *et al.* (2008) donde la longevidad en condiciones adecuadas para el parasitoide fue de 8 días en promedio.

Parasitismo. No solo es importante conocer a que temperatura y por cuántos días almacenar las pupas del parasitoide, sino cómo se afecta la capacidad parasítica de los individuos que van a ser liberados en campo. Se encontró que hay efecto significativo de las temperaturas y días de almacenamiento sobre el porcentaje de parasitismo, al igual que los días de almacenamiento ($P < 0,05$).

La temperatura que registró el menor parasitismo en todos los días de almacenamiento fue 4 °C, con un porcentaje máximo de 25 % (Fig. 4). Estos resultados coinciden con Colinet y Boivin (2011), quienes indican que una baja temperatura afecta el sistema reproductivo, causando retardo de la maduración del huevo o malformación en los órganos reproductivos de ambos sexos, disminuyendo la habilidad para parasitar y, por lo tanto, los porcentajes de parasitismo de *Euchalcidia caryobori* (Hanna, 1934) (Hymenoptera: Chalcididae). Foerster y Nakama (2002) encontraron que hay una disminución en la fecundidad de las hembras de *T. basalis* y *T. podisi* cuando son sometidas a bajas temperaturas. A 8 y 12 °C, se encontró que el porcentaje de parasitismo fue mayor que el registrado a 4 °C.

Los días de almacenamiento presentaron un efecto negativo significativo ($P < 0,05$) disminuyendo el porcentaje de parasitismo a medida que aumenta el tiempo de conservación en frío. Yilmaz *et al.* (2007) observaron una reducción en la tasa de parasitismo de *T. evanescens* sobre huevos de *Ephesia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) cuando fue almacenada a 9 y 12 °C, y cuando se incrementa la duración del almacenamiento. Para el parasitoide *H. hebetor* se ha encontrado que el parasitismo sobre larvas de *Plodia interpunctella* (Hubner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae) disminuye con el incremento en los días de almacenamiento, regis-

trando porcentajes de 44 % a 72 horas y de 90 % a 24 horas. Luczynski y Shi (2007) y Leopold (1998) sugieren que esto se debe a que el almacenamiento en frío, induce estrés oxidativo en las células, reduciendo las actividades metabólicas, lo que induce deshidratación y anoxia (falta o disminución de oxígeno en las células).

Lo anterior también fue encontrado por Khosa y Bar (2000), Pitcher *et al.* (2002) y Ozder (2004) quienes reportaron que el porcentaje de parasitación disminuyó con el incremento en el periodo de almacenamiento. Para *Trichogramma chilonis* (Ishii, 1941) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) disminuyó a 53 % en 60 días, en el caso de *Tri. ostrinia* (Pang y Chen, 1974) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), disminuyó con más de 4 semanas de almacenamiento, y para *T. cacoeciae* el porcentaje de parasitismo fue menor a 8 °C a medida que aumentan los días de almacenamiento.

El porcentaje de parasitismo más alto (80 %) fue encontrado en 8 °C, al emplear un almacenamiento de siete días, seguido por el 60 % alcanzado a los 14 días (Fig. 4) bajo la misma temperatura. Lo anterior permite establecer que las pupas cumplen con los parámetros de calidad de agentes de control biológico producidos masivamente (van Lenteren 2009) si son almacenadas a 8 °C, por máximo 14 días.

A pesar de la efectividad de *A. gelechiivoris* como enemigo natural de *T. absoluta*, la viabilidad de su uso depende de la posibilidad de producirlo masivamente y asegurar un suministro suficiente y oportuno al agricultor, con individuos de un nivel adecuado de calidad. Las condiciones de almacenamiento juegan un papel fundamental en la producción comercial de enemigos naturales, ya que muchos de ellos presentan una demanda marcadamente estacional dependiendo de las épocas de siembra de los cultivos en los que se utilizan.

En caso de no disponerse de técnicas de almacenamiento por periodos convenientes de tiempo, las instalaciones de cría deben adecuarse para efectuar incrementos de producción durante las épocas de alta demanda, con los problemas que eso puede conllevar, como aumento de los costos variables de producción y, posiblemente, reducción de la calidad. De modo similar, en periodos de baja demanda de los enemigos naturales, las unidades de cría son subutilizadas, lo que de nuevo es inconveniente desde el punto de vista económico, dado que hay que incurrir en costos fijos para mantener operando la unidad de producción (Van Driesche y Bellows 2001).

En Colombia la siembra del tomate se realiza durante todo el año, aunque tiene un comportamiento periódico semestral: durante el primer semestre el área sembrada va de un 6 % aproximadamente en enero hasta alcanzar su máximo en marzo (aproximadamente 12 % del área sembrada anualmente), mientras que en el segundo semestre se incrementa desde julio (aproximadamente 7 %) hasta su máximo en septiembre (nuevamente 12 % del área sembrada anual) y de nuevo decae hasta finalizar el año (Agronet 2016). Al tomar en cuenta que a una temperatura promedio de 20 °C el tiempo de desarrollo de *A. gelechiivoris* está en torno a 34 días (Bajonero *et al.* 2008), una unidad de cría del parasitoide debe empezar a incrementar el número de cohortes en producción desde los inicios de diciembre de cada año, hasta alcanzar aproximadamente el doble en torno a la mitad de enero, con el fin de lograr un volumen de producción adecuado hacia la segunda semana de febrero y así contar con la producción requerida durante marzo, teniendo un margen de tiempo de almacenamiento de dos semanas a 8 °C.

A partir de la tercera semana de enero el número de cohortes en producción puede disminuir de nuevo gradualmente hasta la mitad en mayo, para suplir bajos volúmenes del parasitoide en junio, momento en el cual la proyección descrita en el primer semestre se deberá repetir en forma similar, para suplir la demanda máxima del parasitoide en agosto. Los volúmenes de demanda por parte de los clientes en cuanto a cantidades y momentos requeridos para la entrega son difíciles de pronosticar, y los periodos de almacenamiento en el caso de los parasitoides y depredadores no son tan amplios como en el caso de agentes de control biológico microbianos como virus y bacterias que pueden almacenarse en estado latente por meses e incluso años (van Lenteren 2003).

Pese a lo anterior, contar con un periodo de almacenamiento permite tener un margen de maniobra entre el proceso de producción y la comercialización, que también es de utilidad cuando los tiempos de entrega son prolongados debido a las distancias entre las unidades de producción de enemigos naturales y las zonas de cultivo, caso en el cual deben garantizarse las características de calidad biológica de los individuos después del transporte.

Conclusión

La temperatura de 4 °C a largos periodos de almacenamiento de 21 y 28 días, afecta negativamente el porcentaje de emergencia de adultos y de parasitismo. Para conservar en condiciones ideales para su uso en campo, las pupas de *Apanteles gelechiivoris* deberían ser almacenadas a 8 °C por un periodo de 14 días, condiciones que no afectan parámetros claves como porcentaje de emergencia y de parasitismo.

Literatura citada

- AGRONET. 2016. Tomate: evaluaciones agropecuarias municipales. Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/Documents/Tomate.pdf>. [Fecha revisión: 19 abril 2018].
- AGUDELO L., L.; KAIMOWITZ D., D. 1997. Tecnología agrícola sostenible: Restos institucionales y metodológicos. Dos estudios de Caso en Colombia. Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura IICA, San José, Costa Rica. 37 p.
- AYVAZ, A.; KARASU, E.; KARABORKLU, S.; TUNCBILEK, A. S. 2008. Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biological Control* 58 (2): 83-95.
- BAJONERO, J. G.; CORDOBA, N.; CANTOR, F.; RODRÍGUEZ, D.; CURE, J. R. 2008. Biología y ciclo reproductivo de *Apanteles gelechiivoris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agronomía Colombiana* 26: 417-426.
- BAYRAM, A.; OZCAN, H.; KORNOSOR, S. 2005. Effect of cold storage on the performance of *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control* 35: 68-77.
- CAFFARINI, F.; FOLCIA, M.; PANZARDI, S.; PÉREZ, A. 1999. Incidencia de bajos niveles de daño foliar de *Tuta absoluta* (Meyrick) en tomate. *Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas* 25: 75-78.
- CHEN, H.; OPIT, G.; SHENG, P.; ZHANG, H. 2011. Maternal and progeny quality of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) after cold storage. *Biological Control* 58 (3): 255-261.
- CHEN, W. L.; LEOPOLD, R. A.; HARRIS, M. O. 2008. Cold storage effects on maternal and progeny quality of *Gonatocerus*

- ashmeadi* Girault (Hymenoptera: Mymaridae). *Biological Control* 46 (2):122-132.
- COLINET, H.; BOIVIN, G. 2011. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biological Control* 58 (2): 83-95.
- COLINET, H.; HANCE, T.; VERNON, P. 2006. Water relations, fat reserves, survival, and longevity of a cold-exposed parasitic wasp *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). *Environmental Entomology* 35: 228-236.
- DESNEUX, N.; WAJNBERG, E.; WYCKHUYS, K. A. G.; BURGIO, G.; ARPAIA, S.; NARVAEZ-VASQUEZ, C. A.; GONZALEZ-CABRERA, J.; CATALAN RUESCAS, D.; TABONE, E.; FRANDON, J.; PIZZOL, J.; PONCET, C.; CABELLO, T.; URBANEJA, A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science* 83: 197-215.
- DE VIS, R.; FUENTES, L.; ESCOBAR, H.; LEE, R. 2001. Manejo integrado de plagas y enfermedades. pp. 85-114. En: Escobar, H.; Lee, R. (Eds.). *Manual de producción de tomate bajo invernadero*. Cuadernos del Centro de Investigaciones y Asesorías Agroindustriales (CIAA). Bogotá. Colombia. 164 p.
- FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K. 2006. Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basalidis* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Biological Control* 36 (2): 232-237.
- FOERSTER, L. A.; NAKAMA, P. A. 2002. Effect of cold storage on the reproductive capacity and longevity of *Trissolcus basalidis* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Neotropical Entomology* 31 (1): 115-120.
- FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K.; FERREIRA DE CASTRO, L. 2004. Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basalidis* and *Telenomus podisi* after cold storage in the pupal stage. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39 (9): 841-845.
- JERVIS, M.; KIDD, N. 1996. *Insect natural enemies*. Chapman and Hall. Londres. 108 p.
- KHOSA, S. S.; BRAR, K. S. 2000. Effect of storage on the emergence and parasitization efficiency of laboratory reared and field collected populations of *Trichogramma chilonis* Ishii. *Journal of Biological Control* 14: 71-74.
- LEOPOLD, R. A. 1998. Cold storage of insects for integrated pest management. pp. 235-267. En: Hallman, G. J.; Denlinger, D. L. (Eds.). *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management*. Westview Press. Colorado, EE. UU. 311 p.
- LÓPEZ-ÁVILA, A. 2002. Control biológico componente fundamental del manejo integrado de plagas en una agricultura sostenible. *Corpoica*, Bogotá. 340 p.
- LÓPEZ, S.; BOTTO, E. 2005. Effect of cold storage on some biological parameters of *Eretmocerus corni* and *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biological Control* 33: 123-130.
- LUCZYNSKI, A.; SHI, J. 2007. Influence in cold storage on pupal development and mortality during storage and on post-storage performance of *Encarsia formosa* and *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biological Control* 4: 107-117.
- MORALES, J. A.; MUÑOZ, L. Y.; RODRIGUEZ, D.; CANTOR, F. 2014. Acción combinada de feromona sexual y avispas de *Apanteles gelechiidivoris* en cultivos de tomate bajo invernadero. *Acta Biológica Colombiana* 19 (2): 175-184.
- OROZCO, H.; DÚQUE, E.; MESA, S. 1990. Efecto de la temperatura sobre la tabla de vida de *Oligonychus yothersi* en *Coffea arabica*. *Cenicafé* 41 (1): 5-18.
- OZDER, N. 2004. Effect of different cold storage periods on parasitization performance of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Biocontrol Science and Technology* 14 (5): 441-447.
- PITCHER, S. A.; HOFFMANN, M. P.; GARDNER, J.; WRIGHT, M. G.; KUCHAR, T. P. 2002. Cold storage of *Trichogramma os-trinae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. *BioControl* 47: 525-535.
- RODRIGUES, S. M. M.; SAMPAIO, M. V. 2011. Armazenamento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em baixas temperaturas. *Arquivos do Instituto Biológico São Paulo* 78 (1): 45-51.
- RODRIGUES, S. M. M.; BUENO, V. H. P.; SAMPAIO, M. V. 2003. Armazenamento de múmias de *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) parasitadas por *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Aphidiidae) em baixa temperatura. *Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas* 29: 367-374.
- RODRIGUES, S. M. M.; BUENO, V. H. P.; SAMPAIO, M. V.; DE M. SOGLIA, M. De M. 2004. Influência da temperatura no desenvolvimento e parasitismo de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) em *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Neotropical Entomology* 33 (3): 341-346.
- RUNDLE, B. J.; THOMSON, L. J.; HOFFMANN, A. A. 2004. Effects of cold storage on field and laboratory performance of *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and the response of three *Trichogramma* spp. (*T. carverae*, *T. nr. brassicae*, and *T. funiculatum*) to cold. *Journal of Economic Entomology* 97 (2): 213-221.
- UÇKAN, F.; GÜLEL, A. 2001. The effects of cold storage on the adult longevity, fecundity and sex ratio of *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hym.: Braconidae). *Journal of Zoology* 25: 187-191.
- VAN DRIESCHE, R. G.; BELLOW, T. S. 2001. *Biological control*. Kluwer Academic Publishers. EE. UU. 522 p.
- VAN LENTEREN, J. C. 2000. Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. pp. 77-103. En: Gurr, G.; Wratten, S. (Eds.). *Biological Control: measures of success*. Kluwer Academic Publishers. Londres. 429 p.
- VAN LENTEREN, J. C. 2003. *Quality control and production of biological control agents*. CABI Publishing, Londres. 352 p.
- VAN LENTEREN, J. C. 2009. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente. pp. 21-41. En: Bueno, V. H. P. (Ed). *Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade*. Universidade Federal de Lavras. Lavras. Brasil. 429 p.
- VARGAS R. 1996. Resistencia en el control de plagas, un impacto económico no valorado en los costos de producción. *Empresa y Avance Agrícola* 42: 9-11.
- WEISER, L.; ANTOLIN, M. F.; WU, Z.; HEIMPEL, G. E. 2004. Does temperature affect diploid male production in *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Hymenoptera Research* 13 (2): 309-315.
- YILMAZ, S.; KARABÖRKLÜ, S.; AYVAZ, A. 2007. Effect of cold temperature durations on the performance of the adult *Trichogramma evanescens* (Westwood, 1833) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Türkiye Entomoloji Dergisi 31 (4): 269-278.
- ZÚNIGA, K.; GERDING, M. 2002. Efecto de la temperatura en la longevidad, reproducción, y desarrollo de *Trichogramma nerudai* y *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) *Agricultura Técnica* 62 (3): 463-468.

Recibido: 19-ene-2017 • Aceptado: 22-ago-2018

Citación sugerida:

MORALES-PERDOMO, J. A.; RODRÍGUEZ-CAICEDO, D.; CANTOR-RINCÓN, F. 2018. Efecto de diferentes temperaturas y tiempos de conservación sobre pupas de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae). *Revista Colombiana de Entomología* 44 (2): 217-222. Julio-Diciembre 2018.