

## Efecto de temperaturas constantes en el desarrollo de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae)

C. MARGAIX y A. GARRIDO

Se ha estudiado el efecto de temperaturas constantes sobre el desarrollo del insecto. Se ha analizado la duración y supervivencia del ciclo de las distintas fases evolutivas de *Phyllocnistis citrella* Stainton.

Según los resultados la duración de todas las fases evolutivas del insecto disminuyó a medida que la temperatura aumentó. El mayor valor obtenido fue de  $50.15 \pm 2.34$  días a  $15.3 \pm 0.1^\circ\text{C}$  mientras que el ciclo se completó en tan sólo  $11.5 \pm 0.56$  días a  $32.6 \pm 0.6^\circ\text{C}$ . La supervivencia se mantuvo en porcentajes elevados entre un rango de temperaturas comprendido entre 23 y  $30^\circ\text{C}$ , sin embargo en los extremos de este intervalo los valores disminuyeron.

C. MARGAIX y A. GARRIDO: Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Crta. Moncada - Náquera. Km 5. 46113 Moncada. Valencia.

**Palabra clave:** *Phyllocnistis citrella* Stainton.

### INTRODUCCIÓN

La temperatura es el principal factor abiótico que influye en la reproducción y desarrollo de los insectos, aunque en algunos casos sus efectos pueden ser modificados por otros factores abióticos tales como la intensidad luminosa, la planta huésped, la alimentación, etc. (DENT y WALTON, 1997).

Una vez completado el desarrollo embrionario y formada la larva, ésta rompe el corión del huevo por la zona de contacto con la cutícula, la larva neonata comienza un recorrido que, en general, es casi invariable. Al iniciar la galería se orienta hacia el nervio central labrando una galería paralela y pegada al mismo hasta alcanzar la parte basal de la hoja. A continuación, se orienta hacia la zona apical con galerías más o menos sinuosas, llegando incluso a ocupar todo el limbo

foliar. Alcanzado su máximo tamaño, la larva se dirige al borde de la hoja o bien se queda en el limbo para pasar al estado de precrisálida. Allí construirá la cámara ninfal donde se desarrollará la crisálida, produciéndose posteriormente la emergencia del adulto (GARRIDO, 1995a; GARRIDO *et al.*, 1998).

En condiciones de laboratorio ha sido demostrado por varios autores el efecto de la temperatura sobre el desarrollo del insecto. Respecto a la duración de las distintas fases evolutivas, a  $15^\circ\text{C}$  el desarrollo embrionario pudo completarse entre 10 y 11 días, a  $20^\circ\text{C}$  el valor descendió a 4 días aproximadamente y a temperaturas más elevadas fue de 2.5 y 2 días ( $25^\circ\text{C}$  y  $30^\circ\text{C}$ , respectivamente). A partir de este valor mínimo un aumento de la temperatura no produjo descenso en la duración, de tal manera que a  $34^\circ\text{C}$  el desarrollo embrionario duró 3.3 días. La duración del

estado larvario fue de 34, 10 y 6.8 días, a 15°C, 18.7°C y 30°C, respectivamente. La duración del estado de precrisálida fue de un día entre 25.1°C y 31.2°C y ascendió a 2 días a una temperatura de 16.2°C. El estado de crisálida fue el de mayor duración, 22 días a 15°C, varió entre 10 y 14 días a 20°C, entre 6 y 9 días a 25°C, y alcanzó su valor mínimo de 5 días a 30°C, suspendiéndose el desarrollo a 38°C (YAMAMOTO, 1971; TAN y HUANG, 1996; MISHENG *et al.*, 1995).

Los resultados obtenidos por BA-ANGOOD (1978) difirieron de los anteriores, con una duración del desarrollo embrionario de 9.5, 7.5 y 5.2 días, a 20, 25, 30°C, respectivamen-

te, aunque a 35°C obtuvo un valor de 3.5 días, similar al de otros autores. Sus valores para el estado larvario fueron de 18.5 y 10.4 días, a 20°C y 30°C, respectivamente, y la crisálida tuvo una duración de 19.5 y 9.2 días a las mismas temperaturas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio de la duración y supervivencia del ciclo biológico del insecto se utilizaron plantas de naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.) de 5-6 meses puestas en macetas de 9 cm de diámetro y 7 cm de altura,



Fig. 1. - Plantas de naranjo amargo de 5-6 meses de edad utilizadas para el estudio del desarrollo del minador.

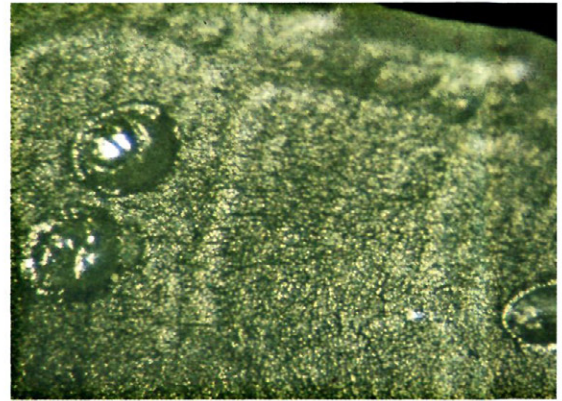


Fig. 2. - Huevos de *P. citrella*.



Fig. 3. - Larvas de *P. citrella*.



Fig. 4. - Crisálida de *P. citrella*.

ra que contenían turba y arena al 50%, con una o dos hojas receptoras a la puesta, es decir, con una longitud comprendida entre 5 y 35 mm (GARRIDO y GASCÓN, 1995). (Ver figura 1).

Las plantas se introdujeron en un compartimento de cría continua bajo luz artificial antes del encendido de las luces. Transcurridas tres horas se sacaron las plantas y se observaron las hojas receptoras en un binocular estereoscópico contabilizando la puesta en el haz y en el envés.

En cada hoja se dejó desarrollar hasta un máximo de cuatro huevos (dos en el haz y dos en el envés). Una vez identificada la posición concreta del huevo en la hoja, las plantas se introdujeron en la cámara a la temperatura constante correspondiente según el ensayo. En cada ensayo realizado se tomaron plantas como testigo que se introdujeron en una cámara a unas condiciones controladas de 25°C, HR 70-80%, fotoperíodo 16:8.

El rango de temperaturas estudiado estuvo comprendido entre:  $15.3 \pm 0.1$  y  $34.1 \pm 0.1$ °C. Se dispuso de seis cámaras diferentes en las que se controló mediante termohidrógrafos y/o dispositivo automático la temperatura constante deseada y la humedad relativa existente, todas ellas con un fotoperíodo de 16:8 (luz:oscuridad).

De cada una de las temperaturas se realizaron tres repeticiones con un total de al menos 10-30 individuos por repetición en estado de huevo.

Se revisó diariamente la evolución de los diferentes individuos y se anotó el estado evolutivo del insecto, distinguiendo huevo, larva (incluida precrisálida) y crisálida. (Ver figuras 2, 3 y 4)

Para determinar el día exacto de emergencia del adulto y su sexo, cada una de las crisálidas dispuestas en el interior de sus cámaras pupales se pusieron en una placa Petri conteniendo agar al 2%. El día de emergencia del adulto se sumergió en xileno y se comprobó su sexo, basado en la observación de unas escamas negras que las hembras poseen a ambos lados de la parte posterior del abdomen (GARRIDO, 1995b).

## Análisis estadístico de datos

Para el tratamiento estadístico de los datos de duración del ciclo biológico a temperaturas constantes se utilizó el paquete STATGRAPHICS Plus versión 2.1. En primer lugar, en los datos de duración de cada fase evolutiva para cada temperatura estudiada, se realizó un diagrama BOX-WHISKER, eliminando los puntos aislados por considerarlos como datos anómalos.

Con el conjunto de datos restantes con el fin de determinar diferencias estadísticamente significativas entre las distintas temperaturas dentro de cada fase evolutiva se realizó el test del ANOVA, con una probabilidad del 95% e intervalo LSD. Se realizaron las transformaciones oportunas (logaritmos y raíz cuadrada) para conseguir la normalidad de los datos. Para determinar la normalidad de los datos se realizó un gráfico en papel probabilístico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A) Duración del ciclo biológico y supervivencia de *P. citrella*

La duración del ciclo biológico de *P. citrella* a diferentes temperaturas constantes se presenta en el cuadro 1. Los resultados indican que al aumentar la temperatura la duración del ciclo disminuye hasta alcanzar un valor mínimo de  $11.5 \pm 0.58$  días a  $32.6 \pm 0.6$ °C, a partir de esta temperatura un aumento de la misma no supuso una reducción del ciclo evolutivo del insecto, sino un incremento, pasando a tomar un valor de  $12.42 \pm 0.48$  días a  $34.1 \pm 0.4$ °C con diferencias estadísticamente significativas. Resultados similares obtuvieron MINSHENG *et al.*, (1995), completándose el ciclo en 14.41 días a 30°C y ascendiendo a 20.56 días a 34°C.

La mayor duración del ciclo en nuestros resultados fue de  $50.15 \pm 2.34$  días a  $15.3 \pm 0.1$ °C, sin embargo según YAMAMOTO (1968) y MINSHENG *et al.*, (1995), a la misma tempe-

Cuadro 1. - Duración del ciclo y de los estados de huevo larvario y crisálida de *P. citrella* a diferentes temperaturas constantes

T* (°C)	N	Huevo*	Estado larvario*	Crisálida*	Ciclo total*	S (%)
15.3 ± 0.1	45	8.81 ± 0.20 g (6.50, 11.08)	18.58 ± 1.97 e (12.81, 25.25)	24.12 ± 0.93 g (20.54, 27.46)	50.15 ± 2.34 f (43.33, 56.56)	33.30
20.0 ± 0.1	66	3.34 ± 0.08 f (2.46, 3.54)	9.33 ± 0.39 d (7.31, 11.89)	13.94 ± 0.39 f (11.90, 15.88)	26.93 ± 0.60 e (24.81, 29.44)	40.00
23.0 ± 0.1	96	2.83 ± 0.06 e (2.50, 3.38)	6.60 ± 0.42 c (5.00, 9.19)	8.86 ± 0.40 e (7.13, 11.06)	17.85 ± 0.45 d (14.71, 20.08)	68.70
25.0 ± 0.1	65	2.39 ± 0.07 d (2.30, 2.98)	5.86 ± 0.52 b (3.96, 9.04)	8.24 ± 0.39 d (7.50, 11.77)	15.83 ± 0.56 c (14.76, 19.13)	86.16
26.1 ± 0.3	34	2.02 ± 0.12 c (1.54, 2.50)	5.17 ± 0.24 ab (4.56, 5.98)	7.03 ± 0.60 c (5.98, 9.00)	15.15 ± 0.71 c (12.56, 17.63)	70.58
28.1 ± 0.1	40	1.61 ± 0.04 b (1.52, 2.50)	5.07 ± 0.27 a (3.92, 7.10)	6.08 ± 0.11 b (5.92, 6.94)	12.75 ± 0.30 b (11.59, 14.65)	72.48
30.5 ± 0.4	63	1.56 ± 0.00 b (1.56, 1.56)	4.81 ± 0.30 a (4.04, 5.18)	5.80 ± 0.42 ab (4.85, 6.90)	11.83 ± 0.34 b (9.44, 13.38)	74.60
32.6 ± 0.6	59	1.52 ± 0.03 b (1.33, 1.56)	4.48 ± 0.31 a (3.81, 4.75)	5.65 ± 0.26 a (5.00, 6.38)	11.50 ± 0.58 a (9.83, 13.46)	45.76
34.1 ± 0.4	54	1.38 ± 0.00 a (1.38, 1.38)	4.78 ± 0.18 a (3.81, 5.81)	5.53 ± 0.29 ab (5.00, 7.00)	12.42 ± 0.48 b (10.19, 14.26)	29.63

N: Número de individuos ensayados.

\* Duración media (días ± intervalo de variación al 95 %)(Rango de variación). En una misma columna las medias seguidas por la misma letra no muestran diferencias significativas.  
(LSD-Multiple Range Test, ANOVA,  $\alpha=0.05$ ).

S: % supervivencia.

ratura, el ciclo se prolongó hasta 67.8 días y 59.9 días, respectivamente.

En algunas temperaturas, nuestros datos no presentaron diferencias relevantes con los restantes autores, a 25°C YAMAMOTO (1968) obtuvo un valor de 17.3 días y nuestro resultado fue de 15.83 ± 0.56 días. Según GASCÓN (1995) a 26 ± 2°C el ciclo duró 16.57 días siendo nuestro resultado de 15.15 ± 0.71 días a una temperatura de 26.1 ± 0.3°C. A 20°C MINS-HENG *et al.*, (1995) obtuvieron un valor de 27.64 días y el nuestro fue de 26.93 ± 0.6 días.

Las diferencias en los resultados podrían ser debidas a la distinta metodología utilizada.

La relación de sexos obtenida en todas las temperaturas ensayadas fue en torno a 1:1.

En la figura 5 podemos observar la relación entre la duración del ciclo y la supervivencia a las temperaturas constantes estudiadas, destacando que la supervivencia tomó unos valores próximos al 80% en un rango de temperatura comprendido entre 25.0 ± 0.1°C y 30.5 ± 0.4°C, disminuyendo a ambos extremos de este intervalo.

## B) Duración del desarrollo embrionario

La duración del período embrionario disminuyó progresivamente a medida que la temperatura aumentó. Alcanzó un valor máximo de 13.91 ± 0.46 días a 13.3 ± 0.3°C y

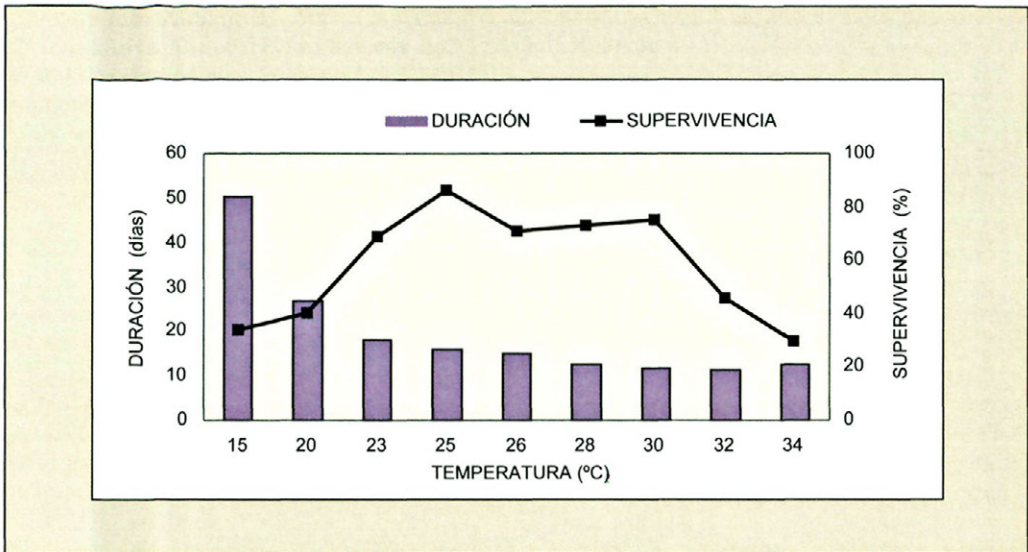


Fig. 5. - Relación entre duración y supervivencia a temperaturas constantes en el ciclo de *P. citrella*.

un valor mínimo de  $1.38 \pm 0.00$  días a  $34.1 \pm 0.4^\circ\text{C}$ . El aumento de la temperatura de  $30.5 \pm 0.4^\circ\text{C}$  a  $32.6 \pm 0.6^\circ\text{C}$  no supuso una disminución de la duración del desarrollo embrionario. (Cuadro 1).

Nuestros resultados difirieron de los obtenidos por BA-ANGOOD (1978). El valor menor obtenido por este autor fue de 3.5 días a  $35^\circ\text{C}$ , superior al obtenido en nuestros ensayos a  $34^\circ\text{C}$ . Mayores diferencias encontramos a  $20^\circ\text{C}$ , según este autor, la duración fue de 9.5 días y siguiendo nuestra metodología obtuvimos un valor de  $3.40 \pm 0.08$  días. La explicación a esta discordancia de resultados podría ser debida a la diferente metodología utilizada por este autor, que llevó a cabo el estudio del desarrollo del minador en hojas introducidas en el interior de placas petri conteniendo papel de filtro humedecido.

Los resultados obtenidos por TAN y HUANG, (1996) fueron sensiblemente superiores a los nuestros, a  $29.5^\circ\text{C}$  obtuvieron un valor de 2.5 días, este resultado fue alcanzado entre  $23^\circ\text{C}$  y  $25^\circ\text{C}$  en nuestro trabajo. En este caso, aunque los autores utilizaron plantas para el desarrollo del minador, no se ofrece una descripción detallada de su metodología.

YAMAMOTO (1971), a  $25^\circ\text{C}$  obtuvo el mismo resultado que nosotros, sin embargo en el resto de temperaturas sus resultados fueron sensiblemente superiores.

### C) Duración del estado larvario

La duración del estado larvario resultó ser de  $18.58 \pm 1.97$  días a  $15.3 \pm 0.1^\circ\text{C}$ , disminuyó a medida que aumentó la temperatura y aunque alcanzó un valor mínimo de  $4.48 \pm 0.31$  días a  $32.6 \pm 0.6^\circ\text{C}$  no existieron diferencias estadísticamente significativas a temperaturas superiores a  $26.1 \pm 0.3^\circ\text{C}$ .

Nuestros resultados coinciden con algunos de los obtenidos por TAN y HUANG (1996), que obtuvieron una duración de 5 y 10 días a  $27^\circ\text{C}$  y  $18.7^\circ\text{C}$ , respectivamente, sin embargo a  $24.2^\circ\text{C}$ ,  $27.9^\circ\text{C}$  y  $29.2^\circ\text{C}$  sus valores fueron de 7.5, 6.5 y 7 días, respectivamente, datos sensiblemente superiores a los nuestros. Según BA-ANGOOD (1978) a  $20^\circ\text{C}$  el estado larvario se completó en  $18.5 \pm 2.5$  días, este valor fue alcanzado en nuestros ensayos a una temperatura de  $15.3 \pm 0.1^\circ\text{C}$ , a  $35^\circ\text{C}$  obtuvo un valor de  $10.4 \pm 1.3$  días, mientras

que nosotros obtuvimos una duración de  $4.78 \pm 0.18$  días a  $34.1 \pm 0.4^\circ\text{C}$ .

### C) Duración del estado de crisálida

El estado de crisálida llegó a completarse en sólo  $5.53 \pm 0.29$  días a  $34.1 \pm 0.4^\circ\text{C}$ , sin embargo se prolongó progresivamente según el incremento de la temperatura alcanzando un valor máximo de  $24.12 \pm 0.93$  días a  $15.3 \pm 0.1^\circ\text{C}$ .

Los resultados obtenidos por TAN y HUANG (1996) coinciden con los nuestros a  $28.8^\circ\text{C}$  y a  $20.1^\circ\text{C}$  con unos valores de 6.8 y 14 días, sin embargo a  $27.7^\circ\text{C}$  y a  $25.4^\circ\text{C}$  los autores obtuvieron unos valores de 5.2 y 7.5 días respectivamente, valores inferiores a los obtenidos por nosotros a las temperatura de  $26.1 \pm 0.3^\circ\text{C}$  y  $25.1 \pm 0.1^\circ\text{C}$  que fueron  $7.03 \pm 0.6$  y  $8.24 \pm 0.39$  días respectivamente. Según MINSHENG *et al.*, (1995) la duración de la crisálida fue de  $22.03 \pm 0.76$  días a  $15^\circ\text{C}$ , nuestro resultado de  $24.12 \pm 0.93$  a la misma tempe-

ratura, no difirió del anterior, sin embargo estos autores obtuvieron una duración de  $10.33 \pm 0.32$  a  $34^\circ\text{C}$ , que comparado con el nuestro de  $5.53 \pm 0.29$  días a la misma temperatura, supone casi el doble de nuestro valor.

### CONCLUSIONES

Se ha determinado la influencia de las temperaturas constantes sobre la duración y supervivencia del ciclo biológico y de las distintas fases evolutivas del insecto. En cuanto a la duración, el aumento de la temperatura supuso una reducción tanto de la duración del ciclo completo como de las fases evolutivas. El ciclo del minador se completó en 11.5 días a  $32.6^\circ\text{C}$  y se prolongó a 50.15 días a  $15.3^\circ\text{C}$ . La supervivencia presentó unos porcentajes elevados en un rango de temperaturas comprendido entre  $23-30^\circ\text{C}$ , fuera de este intervalo la supervivencia fue disminuyendo hasta alcanzar los umbrales de desarrollo.

### ABSTRACT

C. MARGAIX y A. GARRIDO: Efecto de temperaturas constantes en el desarrollo de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). *Bol. San. Veg. Plagas*.

The effect of constant temperatures on the insect's development was studied. The duration and survival rate of each stage of *Phyllocnistis citrella* Stainton was determined.

According to the results the duration of all the insect's development stages was decreasing by increasing temperatures. The highest value was  $50.15 \pm 2.34$  days at  $15.3 \pm 0.1^\circ\text{C}$  and the lowest was  $11.5 \pm 0.56$  days at  $32.6 \pm 0.6^\circ\text{C}$ . Survival rate was maintained at maximum values between 23 and  $30^\circ\text{C}$ , but minimum values out of this interval.

**Key words:** *Phyllocnistis citrella* Stainton.

## REFERENCIAS

- BA-ANGOOD, S. A. S., 1978: On the biology and food preference of the Citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Gracillariidae, Lepidoptera) in PDR of Yemen. *Z. Ang. Ent.* **86**: 53-57.
- DENT, D. R., y WALTON, M. P., 1997: *Methods in ecological & agricultural entomology*. Edit. by CAB International. 387 pp.
- GARRIDO, A. 1995a: *Phyllocnistis citrella* Stainton, Aspectos biológicos y enemigos naturales encontrados en España. *Levante Agrícola*. **330**: 13-22.
- GARRIDO, A. 1995b: El minador de las hojas de los cítricos (*Phyllocnistis citrella* Stainton): morfología, biología, comportamiento, daños, interacción con factores foráneos. *Phytoma España* **72**: 84-92.
- GARRIDO, A., y GASCÓN, I., 1995: Distribución de fases inmaduras de *Phyllocnistis citrella* Stainton, según el tamaño de la hoja. *Bol. San. Veg. Plagas*. **21**: 559-571.
- GARRIDO, A.; JACAS, J.; MARGAIX, C., y TADEO, F., 1998: Biología del minador de las hojas de los cítricos (*Phyllocnistis citrella* Stainton). *Levante Agrícola*. **343**: 167-170.
- GASCÓN, I., 1995: Ciclo biológico, invernación y distribución de los estados inmaduros de *Phyllocnistis citrella* Stainton. Trabajo fin de carrera. E.U.I.T.A. Universidad Politécnica de Valencia. 96 pp.
- MISHENG, Y.; LIANDE, W.; QUIONGHUA, Z., y XINGXIAO, F., 1995: Influence of temperature on an experimental population of citrus leafminer. *Journal of Fujian Agricultural University*. **24**(4): 414-419.
- TAN, B. y HUANG, M., 1996: Managing the citrus leafminer in China. Guangdong Entomological institute, Guangzhou 510260, China. 13 pp.
- YAMAMOTO, E., 1968: Studies on the biology of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*. *Proc. Assoc. Pl. Kyushu*. **14**: 47-50.
- Yamamoto, E., 1971: Studies on the biology and control of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*. *Proc. Assoc. Pl. Kyushu*. **17**: 64-65.

(Recepción: 20 diciembre 1999)  
(Aceptación: 8 julio 2000)