



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**"ALMACENAJE A BAJAS TEMPERATURAS DE ADULTOS DE
Catolaccus hunteri CRAWFORD (HYMENOPTERA:
PTEROMALIDAE) Y SU EFECTO EN PARÁMETROS
BIOLÓGICOS"**

DEISY NOEMI MORALES KOYOC

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

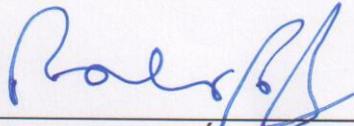
2014

La presente tesis titulada: "**Almacenaje a bajas temperaturas y su efecto sobre adultos de *Catolaccus hunteri* Crawford (Hymenoptera: Pteromalidae)**" realizada por la alumna **Deisy Noemi Morales Koyoc** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



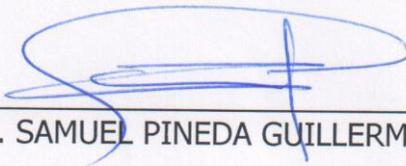
DR. ESTEBAN RODRÍGUEZ LEYVA

ASESOR



DR. J. REFUGIO LOMELÍ FLORES

ASESOR



DR. SAMUEL PINEDA GUILLERMO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril del 2014.

**ALMACENAJE A BAJAS TEMPERATURAS DE ADULTOS DE *Catolaccus hunteri*
CRAWFORD (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) Y SU EFECTO EN
PARÁMETROS BIOLÓGICOS**

Deisy Noemi Morales Koyoc, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2014

RESUMEN

El almacenamiento a bajas temperaturas, de 0 a 15°C, es un método que se usa para prolongar la vida útil de algunas especies de enemigos naturales que se usan en control biológico. En este trabajo se estudió el efecto de la combinación de temperaturas (5, 8, 10 y 25°C) y periodos de almacenamiento (7, 14 y 21 d) sobre la supervivencia, fecundidad, depredación (alimentación sobre el huésped) y capacidad de vuelo de adultos del parasitoide *Catolaccus hunteri* Crawford (Hymenoptera: Pteromalidae). Para la evaluación de estos parámetros, una vez que se concluyeron los periodos de almacenaje, los parasitoides se mantuvieron a 25°C±1°C, 65±5% H.R. y fotoperiodo 12:12 h L: O. En general todos los parámetros biológicos disminuyeron conforme se incrementó el periodo de almacenamiento a 10, 8 y 5°C. No obstante, los efectos fueron más desfavorables en insectos que se almacenaron a 5 y 8°C por 14 y 21 d. La supervivencia y capacidad de vuelo fueron mayores al 92% en insectos almacenados a 10°C durante los tres periodos (7, 14 y 21 d), y no difirieron del testigo. La fecundidad fue el parámetro sobre el que se observaron efectos más desfavorables como consecuencia del almacenamiento a bajas temperaturas. A esto se adicionó una disminución natural en la fecundidad, por el incremento en la edad de esta especie durante el desarrollo del experimento. Las hembras de *C. hunteri* que se almacenaron a 5, 8 y 10°C por 7 d depositaron 33.6±0.7, 37.1±1.0 y 84.5±0.8 huevos respectivamente, mientras que las hembras que se mantuvieron a 25°C±1°C depositaron 134.8±1 huevos. Esta disminución se acentuó en los tratamientos a 5, 8 y 10°C almacenados por 21 d donde las hembras depositaron 15.8±0.4, 28.4±0.6 y 45.6±0.8 huevos respectivamente, *versus* 85.2±1.2 de hembras que se mantuvieron a 25±1°C. En este trabajo se discute la relevancia de los efectos del almacenamiento sobre *C. hunteri*.

Palabras clave: Control biológico, parasitoides, *Catolaccus hunteri*, *Callosobruchus maculatus*.

**STORAGE AT LOW TEMPERATURES OF *Catolaccus hunteri* CRAWFORD
ADULTS (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) AND ITS EFFECT ON
BIOLOGICAL PARAMETERS.**

Deisy Noemi Morales Koyoc, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2014

ABSTRACT

The storage at low temperatures, from 0° to 15°C, is a method used to prolong the productive life of some species of natural enemies that are used in biological control. The effect of the combination of temperatures (5, 8, 10 and 25°C) and periods of storage (7, 14 and 21 days) on the survival, fertility, depredation (host feeding) and the capacity of flight in *Catolaccus hunteri* Crawford (Hymenoptera: Pteromalidae) adults was studied in this work. To evaluate all this parameters, once the periods of storage were concluded, the parasitoids were kept at 25°C±1°C, 65±5% H.R. and at a photoperiod 12:12 h L:O. In general, all the biological parameters went down as the period of storage went up at 10, 8 and 5°C. Nevertheless, the effects were less favorable on insects kept at 5 and 8°C for 14 and 21 days. The survival and capacity of flight were higher at 92% in insects coming from the treatment at 10°C at any period of storage (7, 14, and 21 days) without differing from the control. The fertility was the parameter on which less favorable effects were observed as a consequence of the storage at low temperatures. In addition, a natural diminution in the fertility was added because of the aging of this species during the development of the experiment. *C. hunteri* females that were kept at 5, 8, and 10°C for 7 days laid 33.6± 0.7, 37.1 ± 1.0, and 84.5 ±0.8 eggs respectively in contrast, females that were kept at 25 ± 1°C laid 134.8± eggs. This decreasing was intensified in the treatments at 5, 8, and 10°C for 21 days in which the females laid 15.8± 0.4, 28.4± 0.6 and 45.6±0.8 eggs comparing with the females that were kept at 25±1°C which laid 85.2 ±1.2 eggs. The relevance of the effects in storing *C. hunter* is discussed in this document.

Key words: Biological control, parasitoids, *Catolaccus hunteri*, *Callosobruchus maculatus*.

DEDICATORIA

Le dedico primeramente mi trabajo a Dios por estar conmigo en cada paso que doy, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante el periodo de estudio.

De igual forma, a mis padres por su apoyo, confianza, cariño y su comprensión, quienes sin escatimar esfuerzo alguno, han sacrificado gran parte de su vida para formarme con buenos sentimientos y valores, lo cual me ha ayudado para convertirme en una persona de provecho.

A mis hermanos Carlos, Pedro y Roberto que han sido unos de los pilares fundamentales en mi crecimiento como persona a quienes jamás encontraré la forma de agradecer su apoyo y confianza esperando que comprendan que mis logros son también suyos.

A mis Cuñadas Faty y Biany por su cariño, comprensión y porque siempre me consienten.

A mis sobrinas Karla y Briguet que siempre me hace la vida más alegre con sus ocurrencias.

En especial a José María, por tu amor, comprensión y apoyo incondicional en todo momento, por motivar mi vida moral y profesionalmente aunque esto último implique estar lejos uno del otro, gracias por inspirarme a ser mejor, por tu ternura, eres lo mejor de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento para realizar los estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, por darme la oportunidad de crecer profesionalmente y brindarme la educación y los conocimientos necesarios para alcanzar una más de las metas en mi vida.

Al proyecto INNOVAPYME 154411, “Desarrollo tecnológico para el control biológico de plagas en cultivos de jitomate y chile en ambientes protegidos”, asignado a Koppert México S.A. de C.V. por el financiamiento para esta investigación y por la beca para concluir este escrito.

A mi consejo particular, un singular agradecimiento

Dr. Esteban Rodríguez Leyva, gracias por el apoyo brindado en la presente investigación, por el esfuerzo, la dedicación y el tiempo brindados pero sobre todo por la infinita paciencia para conmigo y por enseñarme a superarme.

Dr. J. Refugio Lomeli Flores, gracias por todo su apoyo, comprensión y sugerencias para la realización de esta tesis, así como por los consejos que me brindó y me sirvieron para madurar en mi vida personal y profesional.

Dr. Samuel Pineda Guillermo, gracias por su apoyo en todo momento, así como por las sugerencias al escribir la presente tesis, por sus consejos y recomendaciones.

El buen profesor hace que el mal estudiante se convierta en bueno y el buen estudiante en superior. (Maruja Torres).

Gracias a todos los profesores del área de Entomología-Acarología por todos su conocimientos transmitidos y por las facilidades que se me otorgaron durante mi estancia por el CP.

A Trinidad Lomeli Flores, gracias el apoyo brindado, por esas palabras de ánimo, pero sobre todo por su amistad.

Al M.C. Juan Venegas por brindarme su amistad, su apoyo y ayuda con las fotografías.

Agradezco a todos mis compañeros del grupo de Control Biológico, en especial a Nadia, Salvador, Alfonso, Eduardo, Nuvia, Claudia, Jorge, Yessi y Edgar, les agradezco a cada uno de ustedes el haberme brindado su valiosa amistad, el convivir y pasar momentos inolvidables los cuales los llevo grabados en mi mente y corazón. Le doy gracias a Dios por haberlos puesto en mi camino, de cada uno de ustedes me llevo una enseñanza la cual me ayudado a ser mejor persona. Los quiero mucho

También agradezco a Eber Josué, por todo su apoyo, ayuda y haberme brindado su amistad.

A la Familia Canul-Ramos por su cariño, comprensión y sus consejos.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	x
2. OBJETIVOS	3
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
3.1 Insectos	4
3.2 Procedimiento experimental	4
3.3 Fecundidad	6
3.4 Supervivencia sin huésped	7
3.5 Capacidad de vuelo.....	7
3.6 Análisis	9
4. RESULTADOS	10
4.1 Supervivencia al almacenaje	10
4.2 Supervivencia sin huésped	11
4.3 Capacidad de vuelo.....	12
4.4 Preoviposición y fecundidad	12
4.5 Alimentación y parasitismo sobre el huésped	16
5. DISCUSIÓN.....	20
5.1 Supervivencia al almacenaje	20
5.2 Supervivencia sin huésped	20
5.3 Capacidad de Vuelo.....	21
5.4 Preoviposición y Fecundidad.....	22
5.5 Alimentación y parasitismo sobre el huésped	23
6. CONCLUSIÓN	24
7. BIBLIOGRAFÍA	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Unidades experimentales utilizadas en la evaluación.	5
Figura 2. Unidad experimental donde se evaluó la fecundidad.....	6
Figura 3. Jaula donde se evaluó la capacidad de vuelo de las hembras <i>Catolaccus hunteri</i> . ..	8
Figura 4. Porcentaje de hembras de <i>Catolaccus hunteri</i> que mostraron capacidad de vuelo después de diferentes tiempos y temperaturas de almacenaje.	12
Figura 5. Fecundidad de <i>Catolaccus hunteri</i> sobre larvas de <i>Callosobruchus maculatus</i> a diferentes temperaturas y tiempos de almacenamiento.	15

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Supervivencia al almacenaje de hembras de <i>Catolaccus hunteri</i> después de ser almacenadas a diferentes temperaturas y periodo de tiempo.	10
Cuadro 2. Supervivencia sin huésped de hembras de <i>Catolaccus hunteri</i> después de ser almacenadas a diferentes temperaturas y periodo de tiempo.	11
Cuadro 3. Preoviposición y fecundidad, por día y total, de hembras de <i>Catolaccus hunteri</i> después de diferente tiempo y temperaturas de almacenaje.	14
Cuadro 4. Larvas parasitadas y depredadas de <i>Callosobruchus maculatus</i> por <i>Catolaccus hunteri</i> después de diferentes temperaturas y tiempos de almacenamiento.	17

1. INTRODUCCIÓN

El almacenamiento a bajas temperaturas, de 0 a 15°C, es un método que prolonga la vida útil de algunas especies que se usan en programas de control biológico, y permite disponer de suficientes insectos para las liberaciones en campo cuando se necesitan (Leopold, 1998; Venkatesan *et al.*, 2000; Tezze y Botto, 2004; Coudron *et al.*, 2007). La condición para almacenar a bajas temperaturas, cuando se pretende retardar la emergencia o establecer periodos de quiescencia, depende del estado de desarrollo y de la especie de interés. Los parasitoides generalmente se almacenan en rangos de 0 a 15°C (Colinet y Boivin, 2011). En algunas especies el almacenamiento de adultos en un rango de 5 a 15°C no afecta su capacidad reproductiva (Arias *et al.*, 2009; Nadeem *et al.*, 2010). Por ejemplo, *Trissolcus basalis* Wollaston (Hymenoptera: Scelionidae), parasitoide de pentatómidos, se almacenó a 15 y 18°C hasta por 120 días sin afectar su fecundidad (Foerster y Doetzer, 2006). De igual forma, cuando adultos de *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) se almacenaron a 5±1°C durante 20 días tampoco se afectó su supervivencia y capacidad reproductiva (Chen *et al.*, 2011).

Los estudios de almacenaje de insectos conducen a suponer que hay interacción con la especie, los tiempos de almacenamiento y el estado de desarrollo (Foerster y Doetzer, 2006; Colinet y Hance, 2010). En general, el almacenamiento a bajas temperaturas permite que los insectos disminuyan su metabolismo y aumente el periodo de supervivencia; no obstante, con el tiempo las reservas de energía se agotan y pueden provocar la muerte (Colinet *et al.*, 2007). El consumo de las reservas de energía, en particular de lípidos, provoca una disminución en la supervivencia y reproducción (Renault *et al.*, 2003; Colinet *et al.*, 2006a). Los órganos reproductores son particularmente vulnerables al efecto de bajas

temperaturas (Flandes, 1938; Foerster y Doetzer, 2006) y en algunos parasitoides éstas temperaturas ocasionan una disminución en la maduración de ovocitos o malformaciones de ovariolas (Hanna, 1935). De igual manera se puede reducir el número de huevos en los ovarios de hembras, y el volumen de las vesículas seminales y testículos de machos (Michel, 2007). Estos efectos pueden conducir a retraso en la reproducción (Lacoume *et al.*, 2007) o en última estancia a la esterilidad (Hanna, 1935; Foerster *et al.*, 2004).

La exposición a bajas temperaturas, antes de causar mortalidad, puede afectar diversos parámetros biológicos tales como disminución en la viabilidad, supervivencia, movilidad y proporción sexual de la progenie (Langer y Hance 2000; Sigsgaard 2000; Colinet *et al.*, 2006; Ismail *et al.*, 2010). También se ha demostrado que puede disminuir la capacidad de parasitismo (Mendel *et al.*, 1987; Bleicher y Parra, 1989). Para mejorar el almacenamiento de parasitoides se debe determinar la temperatura óptima y el tiempo de exposición para cada especie (Lysyk, 2004; Frère *et al.*, 2011), de esta manera se pueden prevenir efectos adversos y mantener las características biológicas deseables en un agente de control biológico.

Con el mejoramiento en la metodología de reproducción sobre un huésped facticio de *Catolaccus hunteri* Crawford (Hymenoptera: Pteromalidae) (Vasquez *et al.*, 2005), la posibilidad de usar a este parasitoide como un agente de control biológico por aumento contra el picudo del chile, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae), sigue considerándose con potencial (Riley y Schuster, 1992; Schuster, 2007). Lo anterior debido a que este parasitoide posee excelente adaptación a las regiones de Norteamérica y el Caribe, donde *A. eugenii* es una plaga importante (Rodríguez-Leyva *et al.*, 2000, 2007,

2012). *C. hunteri* presenta niveles de parasitismo de 5 a 35% sobre esta plaga en algunos campos en Florida (Riley y Schuster, 1992), y pudiera desempeñar un papel importante en la regulación del picudo del chile en frutos silvestres menores de 2 cm de diámetro (Schuster, 2007; Gómez-Domínguez *et al.*, 2012). Aun así se necesita realizar estudios que aseguren la disponibilidad de este parasitoide en grandes cantidades, esto se podría facilitar mediante la producción masiva y almacenamiento a bajas temperaturas. Por consiguiente, el objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia del almacenamiento a bajas temperaturas sobre la supervivencia, fecundidad, parasitismo y capacidad de vuelo de adultos de *C. hunteri*.

2. OBJETIVOS

Determinar la influencia de la temperatura y periodos de almacenamiento sobre la fecundidad, parasitismo, depredación, capacidad de vuelo, supervivencia después del almacenaje y sin huésped de adultos de *C. hunteri*.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Insectos

Los individuos de *Catolaccus hunteri* provinieron de una cría mantenida en el Laboratorio de Control Biológico del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco. La cría de este parasitoide se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Rodríguez-Leyva *et al.* (2002) y Vasquez *et al.* (2005); ésta consistió básicamente en la utilización del brúquido *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae), que se producía en garbanzo, como hospedero de *C. hunteri*. Se infestaba garbanzo con los brúquidos y cuando había larvas de último ínstar en el garbanzo, alrededor de tres semanas a 25°C, se ofrecían directamente al parasitoide.

3.2 Procedimiento experimental

Como unidades experimentales se usaron grupos de 100 adultos de *C. hunteri* en una proporción 60: 40(hembras: machos) (≤ 3 d de edad), mismos que se colocaron en tubos de vidrio de 3 cm de diámetro y 9.5 cm de largo. Para mantener la humedad relativa y proveer de agua a los insectos en cada unidad experimental se adhirió en la parte superior del tubo un algodón húmedo. Para favorecer la aireación, y evitar el escape de los insectos, la abertura de cada unidad se cubrió con tela de organza y sobre esta se colocaban líneas de miel que sirvieron como alimento (Figura1). En este experimento se evaluaron los factores temperatura y periodo de almacenamiento, y cada factor tuvo tres niveles. Las temperaturas fueron 5, 8 y 10°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) y los periodos de almacenamiento fueron 7, 14 y 21 d, adicionalmente se incluyó un testigo a 25°C para cada temperatura. Posteriormente, las unidades experimentales se colocaron dentro de cámaras climáticas a la temperatura y por

el tiempo indicado. Cada 24 h se renovó el algodón húmedo y las líneas de miel a cada unidad. Después de los periodos de almacenamiento los parasitoides se retiraron y se registró la supervivencia al almacenaje. Con los individuos supervivientes se evaluaron los parámetros de fecundidad, supervivencia sin huésped, parasitismo y capacidad de vuelo. Todos estos parámetros se evaluaron a $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, $65\pm 5\%$ H.R., y fotoperiodo 12:12 L: O de la forma como se describe a continuación.



Figura 1. Unidades experimentales utilizadas en la evaluación.

3.3 Fecundidad

De los individuos sobrevivientes del procedimiento anterior se eligieron aleatoriamente cinco parejas de cada tratamiento y a cada una se le ofreció huésped con una metodología similar a la descrita por Rodríguez-Leyva *et al.* (2000). Cada pareja se confinó dentro de una caja Petri (4.5 de diámetro por 1.5 cm de altura), y dentro de cada caja se colocaron líneas de miel y una lámina con 12 burbujas de Parafilm®, cada burbuja contenía dos larvas del último ínstar de *C. maculatus* (Figura 2). Las láminas de parafilm con el huésped y las líneas de miel se expusieron al parasitoide, y se renovaron cada 24 h durante 21 días consecutivos. La fecundidad de las hembras de *C. hunteri* se determinó con el número de huevos durante este periodo de tiempo, debido a que este periodo la oviposición disminuye (Rodríguez-Leyva *et al.* 2000). También se registró el tiempo de preoviposición, número de larvas muertas por depredación (alimentación sobre el huésped) y parasitación de cada tratamiento. Este experimento se realizó en bloques de cinco parejas con tres repeticiones en el tiempo.



Figura 2. Unidad experimental donde se evaluó la fecundidad.

3.4 Supervivencia sin huésped

Después del almacenaje se tomaron 10 parejas de parasitoides de cada tratamiento, cada pareja se colocó en una caja Petri con las características mencionadas anteriormente pero sin huésped. Cada caja Petri contenía un algodón saturado de agua y líneas de miel que se renovaban diariamente. Cada 24 h se registró la supervivencia de cada parasitoide, se consideró individuo muerto a aquél que no mostró movimiento o no respondió al estímulo provocados por un pincel de cerdas finas y las observaciones se realizaron por 21 días. Este experimento se repitió en tres ocasiones con lotes de diferente generación.

3.5 Capacidad de vuelo

Se utilizaron 20 hembras de *C. hunteri* provenientes de cada tratamiento y se sometieron a una aclimatación por 24 h a $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 12:12 h L: O. Para esta prueba se utilizó una jaula (1.20 x 1.20 x 1.20 m) de estructura de tubos de PVC de 2 cm de diámetro cubierta con tela de organza. En el centro de esta jaula se colocó un cilindro de cartón (40 cm de altura x 10 cm de diámetro), que sirvió de base para colocar un vaso de precipitado, que a su vez se colocaban los parasitoides antes de iniciar la prueba (Figura 3). Se consideró insectos con capacidad de vuelo a aquellos que se desplazaron volando hacia la parte superior o lateral de la jaula, al menos 0.6 m dentro de los primeros 30 min. El dispositivo para vuelo de esta especie fue siete veces más grande que el utilizado para otros parasitoides como *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) (Posthuma-Doodeman *et al.*, 1996; van Lenteren *et al.*, 2003). Se realizó así porque en pruebas preliminares con dispositivos descritos en la literatura para otros parasitoides no se favorecía el vuelo. El experimento se repitió en tres ocasiones.

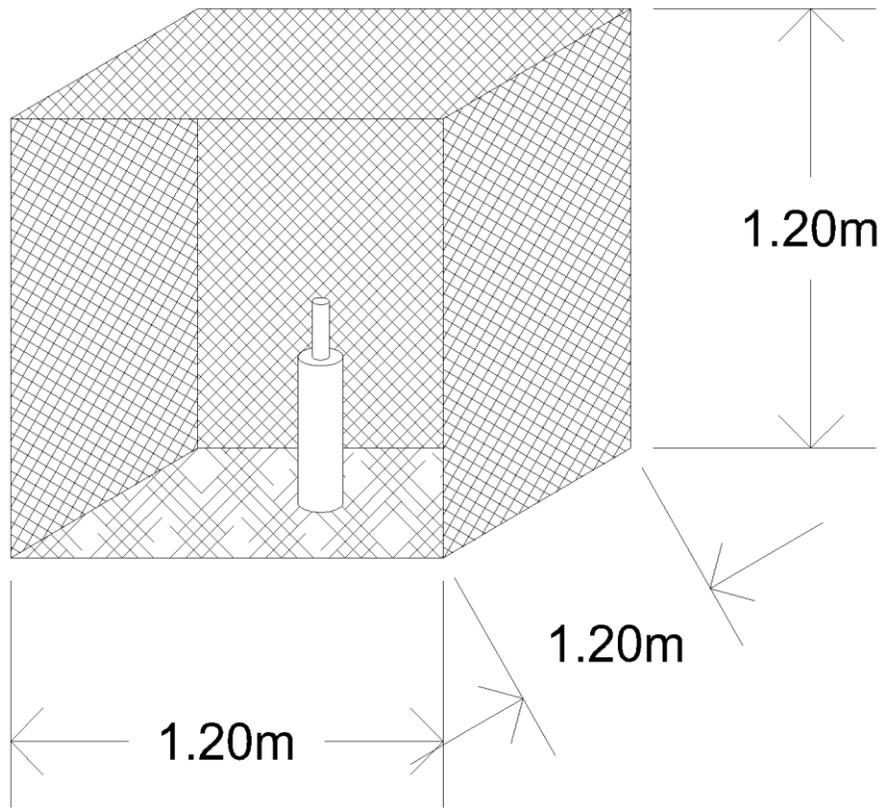


Figura 3. Jaula donde se evaluó la capacidad de vuelo de las hembras *C. hunteri*.

3.6 Análisis

Los datos de fecundidad, preoviposición, supervivencia, parasitismo, alimentación y capacidad de vuelo se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y las medias se separaron por la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Los datos de supervivencia sin huésped no cumplieron los supuestos de normalidad e independencia de varianzas; por ello esta variable se analizó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, posteriormente se realizó comparaciones múltiples de medias de rangos. Todos los análisis se realizaron en el programa SAS Versión 9.0 (SAS 2002).

4. RESULTADOS

4.1 Supervivencia al almacenaje

La supervivencia de los adultos de *Catolaccus hunteri* fue significativamente ($F_{11, 24}=40.52$, $P<0.0001$) diferente entre los tratamientos. Con excepción de 14 y 21 d de almacenamiento a 5 °C, donde se registró 87% y 84% de supervivencia, respectivamente, ésta fue del orden de 91 a 99% en el resto de tratamientos (Cuadro 1). En las temperaturas de 10, 8 y 5°C la sobrevivencia tuvo una tendencia inversamente proporcional al incremento en el periodo de almacenamiento.

Cuadro 1. Supervivencia de *Catolaccus hunteri* (hembras) después del almacenamiento a diferentes tratamientos.

Tratamiento		Supervivencia al almacenaje (%) $\bar{x} \pm E.E$
Temperatura (°C)	Periodo (días)	
25	7	98.88±0.07(a)
	14	98.33±0.00(a)
	21	97.77±0.07(ab)
10	7	98.33±0.12(a)
	14	97.22±0.07(ab)
	21	96.11±0.07(abc)
8	7	96.11±0.07(abc)
	14	94.44±0.14(bcd)
	21	92.77±0.07(cd)
5	7	91.66±0.12(d)
	14	87.14±0.14(e)
	21	83.89±0.14(f)

En cada columna tratamientos seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$)

4.2 Supervivencia sin huésped

La combinación de temperatura y el periodo de almacenamiento fueron factores determinantes en la supervivencia sin huésped de los parasitoides (Kruskal-Wallis=61.70, P=0.0001). Las hembras que presentaron la mayor supervivencia correspondieron a los tratamientos de 25°C almacenadas por 7 y 14 días y las de 10°C almacenadas por 7 días. Después de estos tratamientos se presentó una disminución gradual de la supervivencia hasta llegar a sólo 12 días en el tratamiento de 5°C por 21 días (Cuadro 2).

Cuadro 2. Supervivencia de *Catolaccus hunteri*, hembras sin huésped, después del almacenamiento a diferentes tratamientos.

Tratamiento		Supervivencia sin huésped (días)
Temperatura (°C)	Periodo (días)	$\bar{x} \pm E.E$
	7	21±0(a)
25	14	20.6±0.28(ab)
	21	18.2±0.85(cde)
	7	19.10±0.77(abc)
10	14	17.80±1.02(cde)
	21	16.53±1.11(def)
	7	19±0.66(bcd)
8	14	16.57±1.11(def)
	21	15.53±1.08(ef)
	7	16.5±1.11(def)
5	14	15.73±1.23(ef)
	21	12.77±1.22(g)

En cada columna tratamientos seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$)

4.3 Capacidad de vuelo

Las hembras mostraron capacidad de vuelo en más del 80% de los tratamientos, pero se encontraron diferencias entre estos ($F_{11, 24}=6.66$, $P=0.0001$). Las hembras expuestas a 10°C se comportaron de manera similar al testigo y con excepción del tratamiento de 8°C por 7 días, la capacidad de vuelo disminuyó en cualquier periodo de almacenaje a 5 y 8°C (Figura 4).

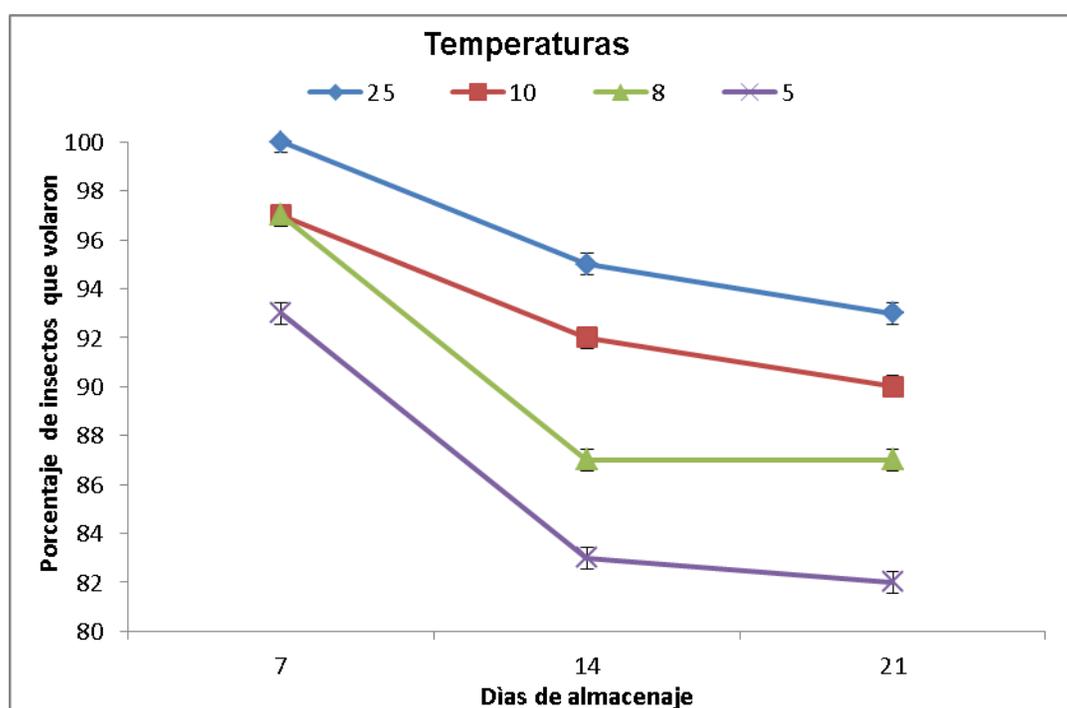


Figura 4. Porcentaje de *Catolaccus hunteri* (hembras) que mostraron capacidad de vuelo después de diferentes periodos y temperaturas de almacenamiento.

4.4 Preoviposición y fecundidad

El tiempo de preoviposición de las hembras de *C. hunteri* fue diferente entre tratamientos ($F_{11,11}=14.10$, $P=0.0001$). De manera general, la duración del periodo de preoviposición aumentó conforme la temperatura disminuyó y el periodo de almacenamiento se incrementó. El periodo de almacenamiento influyó en esta variable de manera más significativa después de la segunda semana. El tiempo de preoviposición fue de 4-6 días en las temperaturas de 5 y 8°C, comparado con el testigo que no fue mayor de 3 días (Cuadro 3).

La combinación de la temperatura y periodo de almacenamiento afectaron significativamente la fecundidad de las hembras de *C. hunteri* ($F_{11,3768}=74.66$, $P=0.0001$). En cada temperatura la fecundidad disminuyó inversamente proporcional al incremento del periodo de almacenamiento del parasitoide. El efecto fue desfavorable para el número de huevos por hembra por día y para la fecundidad total. El tratamiento a bajas temperaturas más cercano al testigo (25°C 7 días) fue 10°C por 7 días, pero incluso para éste ya se notaba una diferencia de alrededor de 40% menos. La combinación de las temperaturas 5 y 8°C por periodos de 7, 14 o 21 días de almacenamiento ocasionaron disminución desde 40 hasta 85% en fecundidad (Cuadro 3).

A pesar de la disminución significativa de la fecundidad, la dinámica de la oviposición diaria de las hembras de *C. hunteri* mostró una tendencia similar después del almacenamiento. Se observó un incremento paulatino hasta llegar a un pico máximo, posteriormente la fecundidad se redujo gradualmente hasta los 21 días de cada tratamiento. La mayor fecundidad se obtuvo en 25 y 10°C entre el noveno y treceavo día, se alcanzó un promedio de doce y ocho huevos por hembra por día, respectivamente. Para 5 y 8°C se

encontró que el pico máximo de fecundidad se presentó entre el cuarto y octavo día (Figura 5).

Cuadro 3. Preoviposición y fecundidad de *Catolaccus hunteri* después del almacenamiento a diferentes tratamientos.

Tratamiento		Preoviposición	Fecundidad	
Temperatura (°C)	Periodo (días)	$\bar{x} \pm E.E$	huevos/hembra/ día	Total $\bar{x} \pm E.E$
	7	2.26±0.24(a)	6.42±1.31	134.8±1.31(a)
25	14	2.80±0.34(ab)	4.88±1.00	102.53±1.00(b)
	21	3.20±0.42(abc)	4.06±1.23	85.2±1.23(c)
	7	3.26±0.20(bcd)	4.03±0.88	84.53±0.88(c)
10	14	3.80±0.30(bcde)	2.97±0.77	62.46±0.77(d)
	21	4.46±0.32(cdef)	2.17±0.79	45.66±0.79(e)
	7	4.40±0.21(bcde)	2.44±1.01	37.13±1.01(ef)
8	14	4.13±0.32(bcde)	1.77±0.59	37.13±0.59(ef)
	21	5.20±0.17(fg)	1.35±0.62	28.4±0.62(g)
	7	4.93±0.88(efg)	1.6±0.71	33.66±0.71(fg)
5	14	5.93±0.24(g)	1.1±0.45	23.2±0.45(g)
	21	4.53±0.19(defg)	0.76±0.40	15.86±0.40(h)

En columnas tratamientos seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha = 0.05$)

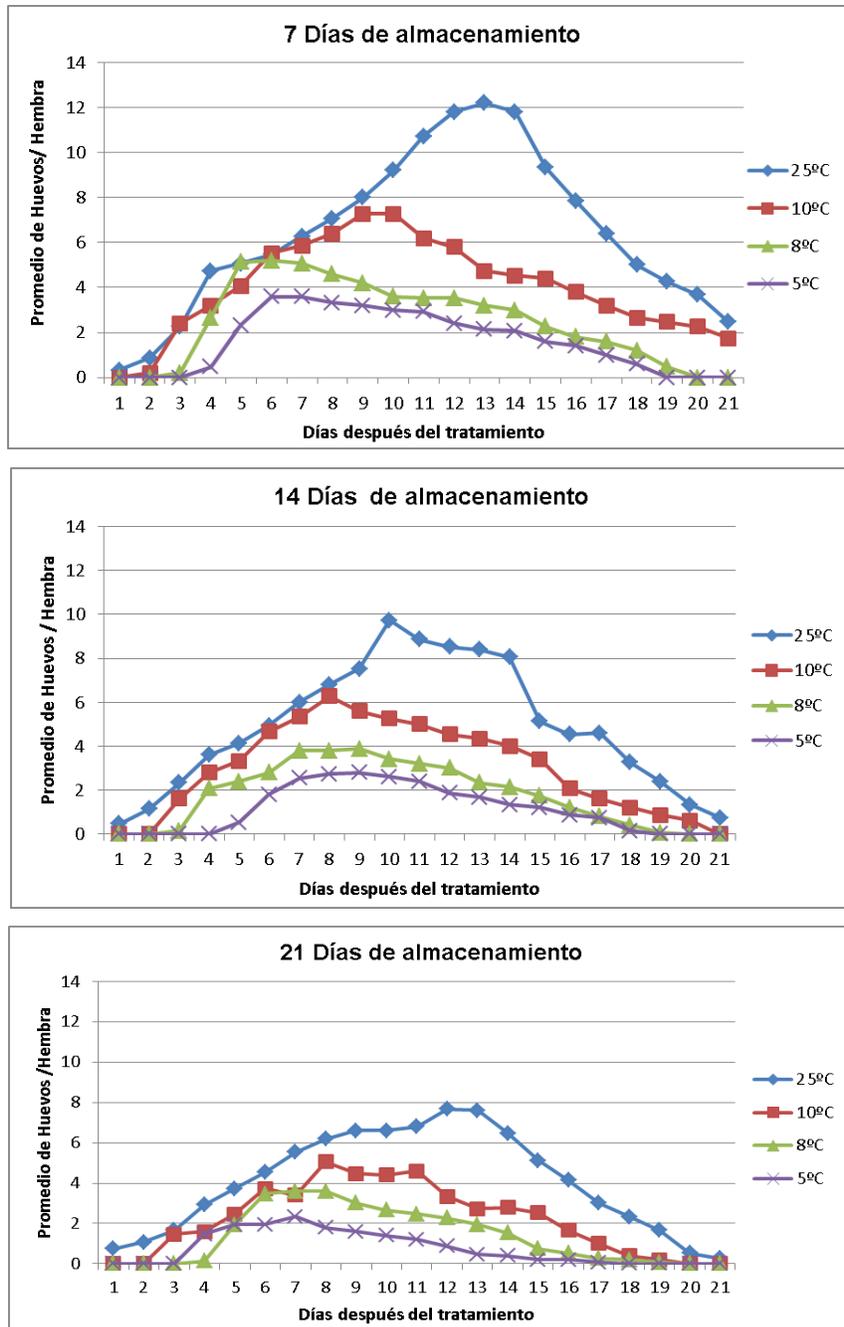


Figura 5. Fecundidad de *Catolaccus hunteri* sobre larvas de *Callosobruchus maculatus* a diferentes temperaturas y tiempos de almacenamiento.

4.5 Alimentación y parasitismo sobre el huésped

Los datos de parasitismo y alimentación sobre el huésped (depredación) de *C. hunteri* se presentan por cada semana de evaluación. Ambos parámetros estuvieron influenciados por la combinación de temperatura y periodo de almacenamiento y se encontraron diferencias entre tratamientos. Estas diferencias se mantuvieron en la primera ($F_{11,168}=13.71$ $P=0.0001$), segunda ($F_{11,168}=34.90$ $P=0.0001$) y tercera semana ($F_{11,168}=44.08$ $P=0.0001$) (Cuadro 4). De manera general se presentó una tendencia similar en cada semana de evaluación. La combinación de 5 y 8°C y los periodos de almacenamiento mayores (14 y 21 d) proporcionaron las disminuciones más importantes en parasitismo y depredación. Adicionalmente, se observó que durante la segunda semana se eliminó la mayor cantidad de larvas; en el caso de 10 y 25°C, en cualquier periodo de almacenaje, ese incremento superó el 100% con respecto a la primera y tercera semanas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Larvas de *Callosobruchus maculatus* parasitadas y depredadas por *Catolaccus hunteri* después de diferentes tratamientos.

Primera semana				
Tratamiento		No. total de larvas $\bar{x} \pm E.E$		
Temperatura (°C)	Periodo (días)	Parasitadas	Depredadas	Eliminadas
	7	19.66±1.51	13.26±1.04	32.93±2.25(a)
25	14	18.26±1.82	14.93±0.91	33.2±2.21(a)
	21	14.66±1.74	14.6±1.41	29.26±2.92(ab)
	7	17.86±1.60	12±0.98	29.86±2.32(ab)
10	14	13.73±1.85	14.13±1.66	27.86±3.32(bc)
	21	10.53±1.27	12.53±0.82	23.06±2.35(cd)
	7	11.06±1.58	16.26±0.82	27.33±3.42(bc)
8	14	9.33±0.92	11.53±1.00	20.86±1.86(cd)
	21	7.93±0.58	11.06±0.99	19±1.48(de)
	7	6.6±0.92	8.86±0.82	15.46±1.37(e)
5	14	4.4±0.65	5.06±0.77	9.46±1.20(f)
	21	7.6±0.59	7.8±0.82	15.4±1.24(e)

En columnas tratamientos seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$)

Cuadro 4. (Continuación)

Segunda semana				
Tratamiento		No. total de larvas $\bar{x} \pm E.E$		
Temperatura (°C)	Tiempo (días)	Parasitadas	Depredadas	Eliminadas
	7	47.33±2.80	43.86±1.91	91.2±4.66(a)
25	14	44.71±1.81	39.57±2.23	84.28±3.59(a)
	21	33.6±2.98	32.66±1.91	66.26±5.79(b)
	7	30.8±1.46	28.73±1.81	59.53±2.89(b)
10	14	26.73±1.45	26.80±1.47	53.53±2.77(b)
	21	21.2±2.26	23.2±1.91	44.4±4.71(c)
	7	14.73±2.42	21.33±1.91	29.26±2.08(d)
8	14	16.86±2.42	18.73±2.56	35.6±4.85(c)
	21	14±1.01	15.26±1.91	29.26±2.08(d)
	7	12.62±1.91	13.18±1.91	25.81±3.66(de)
5	14	12.66±1.08	13.26±1.29	25.93±2.21(e)
	21	7.26±1.20	6.66±1.91	13.93±1.95(f)

En columnas tratamientos seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$)

Cuadro 4. (Continuación)

Tercera semana				
Tratamiento		No. total de larvas $\bar{x} \pm E.E$		
Temperatura (°C)	Tiempo (días)	Parasitadas	Depredadas	Eliminadas
	7	25.66±1.48	21.73±1.88	47.4±2.18(a)
25	14	17.6±1.77	14.33±3.43	31.93±3.26(ab)
	21	14.73±0.89	12.73±1.88	27.46±1.58(c)
	7	16.4±1.97	13.6±2.41	30±3.15(bc)
10	14	8.46±0.77	7.60±2.45	16.06±1.34(d)
	21	5.46±0.71	5.33±1.88	10.8±1.39(c)
	7	5.33±0.96	9.06±1.88	14.4±3.05(d)
8	14	3.86±0.81	4.33±2.24	8.2±1.62(e)
	21	2.26±0.58	1.66±1.88	3.93±0.94(ef)
	7	4.73±1.91	4.33±1.88	9.06±3.84(e)
5	14	2.6±0.36	2.53±1.48	5.13±0.70(e)
	21	0.93±0.33	0.93±1.88	1.86±0.65(f)

En las columnas los tratamientos seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$)

5. DISCUSIÓN

5.1 Supervivencia al almacenaje

La supervivencia de los adultos de *C. hunteri* después del almacenamiento fue superior al 83% en todos los tratamientos, y llegó a más de 92% a 8 y 10°C en los periodos de almacenamiento más largos. Esta supervivencia puede atribuirse a la capacidad innata de la especie, y a la disponibilidad de alimento y agua en las unidades experimentales. Se señala esto porque se ha confirmado que la alimentación a base de carbohidratos, como fue en el presente estudio, antes y después del periodo de almacenamiento, aumenta significativamente la tolerancia a las bajas temperaturas en parasitoides (Leopold, 1998; Coudron *et al.*, 2007). En el desarrollo del trabajo se confirmó, al menos visualmente, que los insectos almacenados a 10°C tenían más movilidad que aquellos que se almacenaron a 5°C. Conforme se incrementó el periodo de almacenamiento esa reducción en movilidad fue más marcada a 5°C. Probablemente esa disminución en movilidad disminuía también la capacidad para alimentarse.

5.2 Supervivencia sin huésped

La supervivencia sin huésped se redujo también en los individuos del testigo cuando se almacenaron por 21 días. Esta reducción en la supervivencia del testigo sugiere que el envejecimiento para esta especie puede influenciar la supervivencia. En otras palabras, aún a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por tres semanas se influyó la supervivencia sin huésped, en este caso 42 contra 39 días. Para *C. hunteri* se han reportado longevidades promedio, sin estar almacenadas y con disposición de huésped, alrededor 47 y 58 días a la misma temperatura

(Dakshina *et al.*, 2002; Rodríguez-Leyva *et al.*, 2000). Se ha demostrado con otras especies de parasitoides que la alimentación sobre el huésped puede contribuir a prolongar esa supervivencia posterior al almacenamiento (Giron *et al.*, 2004). En este caso no se dispuso de alimentación sobre el huésped y, probablemente, el envejecimiento y falta de otros nutrientes ocasionaron la disminución en supervivencia.

5.3 Capacidad de Vuelo

Cualquiera de los tratamientos, aún los periodos de almacenamiento más largos a temperaturas más bajas, mantuvieron porcentajes de vuelo del parasitoide mayores del 80%. Este porcentaje se encuentra registrado como bueno para los rangos comerciales establecidos para *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) que van de 35 a 85% (Vázquez *et al.*, 2004). Aunque existe evidencia de que en otras especies el periodo de almacenamiento causa deformidades en las alas (Schread y Garman, 1934; Tezze y Botto, 2004), en el caso de *C. hunteri* no se percibió, al menos visualmente, ese efecto. De hecho, prácticamente todos los individuos mostraron capacidad de mover las alas durante su estancia en la cámara de vuelo. En *E. formosa* y *Eretmocerus corni* Haldeman (Hymenoptera: Aphelinidae), el periodo para registrar el desplazamiento o vuelo fue de 5 días (van Lenteren *et al.*, 2003). Es probable que un periodo mayor de observación en *C. hunteri* habría contribuido a superar los porcentajes señalados; no obstante, por cuestiones prácticas y de espacio disponible el dispositivo de vuelo no podía dejarse más del tiempo que se indicó.

5.4 Preoviposición y Fecundidad

El periodo de preoviposición varió por el periodo de almacenamiento y la temperatura, pero ese cambio fue sólo alrededor de 2 días entre el testigo y el tratamiento que la retrasó más. Esta situación se puede atribuir a la necesidad de los parasitoides para recuperarse de las bajas temperaturas, como sucede con otras especies (Danks, 1978, Yocum *et al.*, 1994; Leopold *et al.*, 1998; Reznik y Vaghina, 2006).

La fecundidad diaria y total de *C. hunteri* fue el parámetro con más cambios desfavorables por la combinación de bajas temperaturas y periodos largos de almacenamiento. Esta situación podría ser atribuida a varios factores. Primero, al avance en edad biológica (envejecimiento) como se ha documentado en otras especies (Mendel *et al.*, 1987; Drost *et al.*, 1992; Ayvaz *et al.*, 2008). En el diseño del experimento se incluyeron tratamientos que serían menos influenciados por el envejecimiento. Así se observó que a 5°C con 7 días de almacenamiento la fecundidad de *C. hunteri* disminuyó 50% con respecto al testigo (Cuadro 3). Una posible explicación es que cada vez mayores cantidades de recursos se agotaban para lograrse mantener vivas a bajas temperaturas, lo cual reduce su aptitud biológica (Storey y Storey, 1998). Ya se señaló anteriormente que las avispas, durante y después del almacenamiento, siempre tuvieron disponibilidad de miel y agua, pero también fue evidente una disminución marcada en movilidad durante el almacenamiento a 5°C, probablemente los insectos no tuvieron la movilidad suficiente para procurarse alimento, o este recurso no fue suficiente para poder recuperarse del frío (Danks, 1978; Yocum *et al.*, 1994; Leopold *et al.*, 1998). Otra posible explicación para este fenómeno puede ser una disminución en la maduración de ovocitos o malformaciones de

las ovariolas (Hanna, 1935). Estas tendencias se han presentado con otras especies (Chen *et al.*, 2011), pero no fue posible corroborarlo en esta investigación.

5.5 Alimentación y parasitismo sobre el huésped

El incremento de la capacidad de parasitismo y depredación en la segunda semana de evaluación de *C. hunteri* se puede relacionar con la necesidad de la hembra para obtener proteínas, para inducir la producción y maduración de los huevos de manera natural en esta especie, situación que sucede en especies sinovigénicas es decir aquellas que se alimentan de los fluidos corporales de su huésped (Jervis *et al.*, 2001). Este incremento en la capacidad de consumo coincidió además con el pico natural de reproducción en esta especie, que sucede en la segunda y tercera semana de vida (Rodríguez-Leyva *et al.*, 2000; Dakshina *et al.*, 2002). Aunque hay una disminución gradual y significativa de la fecundidad, los cambios marcados con respecto al testigo suceden más a partir de 10°C por dos y tres semanas de almacenamiento. Esta situación se podría atribuir a los mismos factores que modificaron la fecundidad. Entre los más importantes es el envejecimiento y, probablemente, y una disminución en los recursos que se podían destinar a reproducción y a la posible causa, no comprobada, de maduración más lenta en los ovocitos. Finalmente, con la acumulación de la edad biológica (envejecimiento) también se observó que los tratamientos redujeron más su fecundidad.

6. CONCLUSIONES

- De manera general, *Catolaccus hunteri* disminuyó su fecundidad, depredación, parasitismo, capacidad de vuelo y supervivencia por la combinación de bajas temperaturas (5, 8 y 10°C) y periodos de almacenamiento de 7, 14 y 21 días. No obstante, el tratamiento de 10°C por 7 días fue el que presentó menos efectos desfavorables.
- *Catolaccus hunteri* presentó una supervivencia, y capacidad de vuelo, superior al 80% después del almacenamiento en cualquier tratamiento.
- La fecundidad fue el parámetro que disminuyó más por la combinación de las bajas temperaturas (5, 8 y 10°C) y los periodos prolongados de almacenamiento. La disminución fue de 37% en la combinación de 10°C por 7 días hasta 82% a 5°C por 21 días de almacenamiento.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Arias, D., F. Cantor, J. R. Cure., y D. Rodríguez. 2009. Biología y ciclo reproductivo de *Praon pos. occidentale* (Hymenoptera: Braconidae) parasitoide de *Macrosiphum euphorbiae* (Hymenoptera: Aphididae). Agron. Colomb. 27: 375-383.
- Ayvaz, A. K. E. Karabörklü S, and A. Tunçbilek S. 2008. Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J. Stored Prod. Postharvest Res. 44: 232-240.
- Bleicher, E., and J. R. Parra P. 1989. Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argillacea* I. Biología de tres populações. Pesquisa Agropecu. Bras. 25: 215-219.
- Chen, H. P. G. Opit, P. Sheng, and H. Zhang. 2011. Maternal and progeny quality of *Habrobracon hebetor* say (Hymenoptera: Braconidae) after cold storage. Biol. Control. 58: 255-261.
- Colinet, H., T. Hance, and P. Vernon. 2006. Water relations, fat reserves, survival and longevity of a cold-exposed parasitic wasp *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). Environ. Entomol. 35: 228-236.
- Colinet, H., D. Renault, T. Hance., and P. Vernon 2006a. The impact of fluctuating thermal regimes on the survival of a cold-exposed parasitic wasp, *Aphidius colemani*. Physiol. Entomol. 31:234-240.

- Colinet, H., P. Vernon., and T. Hance. 2007. Does thermal-related plasticity in size and fat reserves influence supercooling abilities and cold-tolerance in *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae) mummies. *J. Therm. Biol.* 32:374-382.
- Colinet, H., and T. Hance. 2010. Interspecific variation in the response to low temperature storage in different aphid parasitoids. *Ann. Appl. Biol.* 156: 147-156.
- Colinet, H, and G. Boivin. 2011. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biol. Control.* 58: 83-95.
- Coudron, T. A., M. R. Ellersieck., and K. S. Shelby. 2007. Influence of diet on long-term cold storage of the predator *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera: Pentatomidae). *Biol. Control.* 42: 186-195.
- Danks, H. 1978. Modes of seasonal adaptation in the insects in winter survival. *Can. Entomol.* 110: 1167-1205.
- Dakshina, R. S., P. A. Stansly., and D. J. Schuster. 2002. Influence of temperature and host on life history parameters of *Catolaccus Hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae) *Environ. Entomol.* 31: 354-360.
- Drost, Y. C., and R. T. Carde. 1992. Influence of host deprivation on egg load and oviposition behavior of *Brachymeria intermedia*, a Parasitoid of Gypsy Moth. *Physiol. Entomol.* 17: 230-234.
- Foerster, L. A., A. Doetzer K., and L. C. F. de Castro. 2004. Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basalus* and *Telenomus podisi* after cold storage in the pupal stage. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 39: 841-45.

- Foerster, L. A., and A. Doetzer K. 2006. Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basalis* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Biol. Control.* 36: 232-37.
- Frère, I., B. Carole, S. Ahmed., and T. Hance. 2011. Improvement in the cold storage of *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Aphidiinae) *Eur. J. Environ. Sci.* 1: 33-40.
- Flanders S. E. 1938. The effect of cold storage on reproduction of parasitic Hymenoptera. *J. Econ. Entomol.* 31: 633-634.
- Giron D., S. Pincebourde., and J. Casas. 2004. Lifetime gains of host-feeding in a synovigenic parasitic wasp *Physiol. Entomol.* 29: 436-442.
- Gómez-Domínguez, N. S., J. R. Lomeli-Flores, E. Rodríguez-Leyva, J. M. Valdez-Carrasco., and A. Torres-Ruiz. 2012. Ovipositor of *Catolaccus hunteri* Burks (Hymenoptera: Pteromalidae) and implications for its potential as biological control agent of pepper weevil. *Southwest. Entomol.* 37: 239-241.
- Hanna, A. D. 1935. Fertility and toleration of low temperature in *Euchalcidia caryobory* Hanna (Hymenoptera: Chalcidinae). *Bull. Entomol. Res.* 26: 315-322.
- Ismail, M., P. Vernon, T. Hance., and J. van Baaren. 2010. Physiological cost of cold exposure on the parasitoid *Aphidius ervi*, without selection pressure and under constant or fluctuating temperatures. *Biol. Control.* 55: 729-740.
- Jervis, M. A., G. Heimpel E., P. Ferns N., A. Harvey., and N. Kidd A.C. 2001. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. *J. Anim. Ecol.* 70: 442-458.

- Lacoume, S., C. Bressac., and C. Chevrier. 2007. Sperm production and mating potential of males after a cold shock on pupae of the parasitoid wasp *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Insect. Physiol.* 53: 1008-1015.
- Langer, A., and T. Hance 2000. Overwintering strategies and cold hardiness of two aphid parasitoid species (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *J. Insect. Physiol.* 46: 671-676.
- Leopold, R. A., R. R. Rojas., and P. Atkinson W. 1998. Post pupation cold storage of three species of flies: increasing chilling tolerance by acclimation and recurrent recovery periods. *Cryobiology* 36: 213-224.
- Lysyk, T. J. 2004. Effects of cold storage on development and survival three species of parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) of house fly, *Musca domestica*. L. *Environ. Entomol.* 33: 823-831.
- Mendel, M. J., P. Shaw B., and J. Owens C. 1987. Life-History Characteristics of *Anastatus semiflavus* (Hymenoptera: Eupelmidae), an egg parasitoid of the range caterpillar, *hemileuca oliviae* (Lepidoptera: Saturniidae) over a range of temperatures. *Environ. Entomol.* 16: 1035-1041.
- Nadeem, S., M. Ashfaq, M. Hamed., and S. Ahmed. 2010. Optimization of short and long term storage duration for *Trichogramma chilonis* (Ishii) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) at low temperatures. *J. Zool.* 42: 63-67.
- Posthuma-Doodeman, C.J.A.M., J.C Van Lenteren, I. Sebestyen., and Z. Ilovai. 1996. Short-range flight test for quality control of *Encarsia formosa*. *Proc. Neth. Entomol. Soc. Meet.* 7: 153-158.

- Renault D., T. Hance, G. Vannier., and P. Vernon. 2003. Is body size an influential parameter in determining the duration of survival at low temperatures in *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Zool.* 259: 381-388.
- Reznik S. YA., and N. P Vaghina. 2006. Temperature effects on induction of parasitization by females of *Trichogramma principium* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Entomol. Rev.* 86: 133-138.
- Riley, D. G., and D. Schuster J. 1992. The occurrence of *Catolaccus hunteri*, a parasitoid of *Anthonomus eugenii*, in insecticide treated bell pepper. *Southwest. Entomol.* 17: 71-72.
- Rodríguez-Leyva, E., J. L. Leyva, V. Gómez, N. M. Bárcenas., and G. W. Elzen. 2000. Biology of *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of pepper weevil and boll weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93: 862-868.
- Rodríguez-Leyva E., V. Gómez., N. M. Bárcenas., y J. L. Leyva. 2002. Efecto de diferentes factores sobre la cría de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) para la producción de *Catolaccus* sp. (Hymenoptera: Pteromalidae). *Acta Zool. Méx. (n.s.)* 86: 87-101.
- Rodríguez-Leyva, E., P. A. Stansly, D. J. Schuster., and E. Bravo-Mosqueda. 2007. Diversity and distribution of parasitoids of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) from Mexico and prospects for biological control. *Fla. Entomol.* 90: 693-702.

- Rodríguez-Leyva E., J. R. Lomelí-Flores, J. M. Valdez-Carrasco, R. W. Jones., and P. A. Stansly. 2012. New records and locations of parasitoids of the pepper weevil in Mexico. *Southwest. Entomol.* 37: 73-83.
- SAS.2002.Institute Inc. SAS/STAT user`s guide, version 9. SAS Institute, Cary, NC.
- Sigsgaard, L. 2000. The temperature-dependent duration of development and parasitism of three cereal aphid parasitoids, *Aphidius ervi*, *A. rhopalosiphi*, and *Praon volucre*. *Entomol. Exp. Appl.* 95:173-184.
- Schread, J. C., and P. Garman. 1934. Some effects of refrigeration on the biology of *Trichogramma* in artificial breeding. *The J. N. Y. Entomol. Soc.* 42: 268-283.
- Schuster, D., J. 2007. Suppression of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) pepper fruit infestation with releases of *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Bio. Control. Sci. Technol.* 17: 345-351.
- Storey, K. B., and J. M. Storey 1988. Freeze tolerance in animals. *Physiol. Rev.* 68: 27-84.
- Tezze, A. A., and E. N. Botto 2004. Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biol. Control.* 30: 11-16.
- van Lenteren, J. C., A. Hale, J. N. Kalapwijk, J. Van Schelt., and S. Steinberg. 2003. Guidelines for quality control of commercially produced natural enemies. In: van Lenteren, J.C. (Ed.). *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures.* CABI Publishing. pp. 265-272.
- Vasquez, G. M., D. Orr B., and J. Baker R. 2004. Quality assessment of selected commercially available whitefly and aphid biological control agents in the United States. *J. Econ. Entomol.* 97: 781-788.

- Vazquez, E. D. Dean, D. J. Schuster., and P. V. Etten. 2005. A laboratory method for rearing *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of the pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). Fla. Entomol. 88: 191-194.
- Venkatesan, T., S. Singh P., and S. Jalali K. 2000. Effect of cold storage on cocoons of *Gonizus nephantidis* Muesebeck (Hymenoptera: Bethylidae) stored for varying periods at different temperature regimes. J. Entomol. Res. 24: 43-47.
- Yocum, G. D., J. Zdárek, K. Joplin H. Jr. Lee R.E., D.C. Smith, K. D. Manter and D.L Denlinger. 1994. Alteration of the eclosion rhythm and eclosion behavior in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*, by low and high temperature stress. J. Insect. Physiol. 40: 13-21.