

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Rendimiento energético y trabajo muscular en larvas de la polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae).

Tesis previa a la obtención del título de Magíster en Biología de la Conservación

**MONSERRATH ELIZABETH LEÓN CAHUASQUÍ**

Quito, 02 de Febrero del 2017

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que la tesis de Maestría en Biología de la Conservación de la candidata Monserrath Elizabeth León Cahuasquí, ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas, por tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

---

Dr. Carlos A. Soria, Ph.D.

Director de Tesis

Quito, 02 de febrero del 2017

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) por el uso de sus laboratorios y los fondos destinados a esta investigación, al INSPI - Guayaquil por el uso del microscopio electrónico de barrido.

Al Lcdo. Rafael Narváez, al Dr. Oscar Chang Ph. D, y al Ing. Alejandro Lozada, por la asistencia técnica y académica.

De manera especial mis agradecimientos al Dr. Carlos A. Soria, Ph.D. por la dirección de este trabajo.

Al equipo de investigadores y amigos que forman parte del Laboratorio de Bioquímica (PUCE)

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
MATERIALES Y MÉTODOS .....	7
Recolección de larvas .....	7
Rendimiento energético.....	7
Cálculos de Fuerza.....	8
Microscopio electrónico de barrido .....	9
Análisis Estadísticos .....	10
RESULTADOS .....	11
DISCUSIÓN .....	15
LITERATURA CITADA .....	19
FIGURAS .....	24
TABLAS .....	34
ANEXOS .....	45

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Cámara de respiración continua, (a) envase de vidrio con una salida en donde se colocaron las larvas, (b) tubo de vidrio o manguera como vía de transporte del  $\text{CO}_2$ , que conecta al envase a y c, (c) tubo de ensayo con solución saturada de hidróxido de bario.

**Figura 2:** Muestras de Carbonato de bario precipitado secas

**Figura 3:** Balanza diseñada para medir la fuerza de empuje de las larvas, y función de torque del sistema.

**Figura 4: Rendimiento energético.** Gráfico estadístico de barras de los resultados de la energía expresada J (Joules) comparada con el peso de los diferentes estadios larvales (I, II, III, IV). Las líneas de error hacen referencia a la desviación estándar de los datos experimentales.

**Figura 5: Fuerza absoluta.** Gráfico estadístico de barras de los resultados de la Fuerza en N (Newtons) comparada con el peso de los diferentes estadios larvales (I, II, III, IV). Las líneas de error hacen referencia a la desviación estándar de los datos experimentales.

**Figura 6:** Fuerza relativa. Gráfico estadístico de barras de los resultados de la relación entre la Fuerza (gramos.fuerza sobre gramos) dividido para el peso (en gramos) de los diferentes estadios larvales (I, II, III, IV). Las líneas de error hacen referencia a la desviación estándar de los datos experimentales.

**Figura 7:** Microfotografía electrónica. Morfología externa de la larva de la polilla de la papa *T. solanivora* en primer estadio, sin fijar. El cuerpo de la larva está constituido por la cabeza (HD), tórax (TH) y abdomen (AB), llega a medir aproximadamente 1 mm de longitud.

**Figura 8:** Microfotografía electrónica. Morfología mandibular de la larva de primer estadio: palpo maxilar (PM), labro (LB), setas mandibulares anteriores (SMA), antena (AT), gula (GL), la porción mandibular mide aprox. 225-250  $\mu\text{m}$  x 150-200  $\mu\text{m}$ . T= 24°C, sin fijar.

**Figura 9:** Microfotografías electrónicas. Estructura de la epicutícula (EC), conformada por pináculos (PN), setas (ST) y pequeñas espículas (EP). Proceso de fijación descrito.

**Figura 10:** Microfotografías electrónicas. Porción abdominal anterior. Ubicación de los espiráculos (EP) y pináculos (PN) con setas (ST) en el cuerpo larval.. *T. solanivora*, T= 24°C, sin fijar.

**Figura 11:** “A”, Imagen magnificada, se identifica uno de los espiráculos (EP) de la larva de *T. solanivora* en primer estadio mide aproximadamente 15  $\mu\text{m}$  de diámetro externo y 5  $\mu\text{m}$  de diámetro interno, pináculos (PN) y setas (ST), longitud de la larva 0.8 mm. “B”, Imagen magnificada, espiráculo de la larva de *T. solanivora* en tercer estadio, mide aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  de diámetro externo y 10  $\mu\text{m}$  de diámetro interno, longitud de la larva 5.5 mm.

**Figura 12:** Microfotografías electrónicas. “A” Morfología externa, segmento abdominal anterior de la larva, se pueden observar setas (ST) y pares de patas falsas o propatas (PA). T= 24°C, sin fijar. “B” segmento abdominal posterior, propatas o patas falsas anales (PAA), ganchos terminales (GT) “C” Morfología de ganchos terminales (GT) en las patas falsas o propatas abdominales (PA) de *T. solanivora*. T=20°C, protocolo de fijación descrito.

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1:** Duración (días) del ciclo larval de la polilla de la papa *Tecia solanivora* en laboratorio a partir del día 10 de la eclosión de las larvas, a 18 - 20°C. (N= número de repeticiones con cámaras de infestación que contienen 10 papas y 100 huevos)

**Tabla 2:** Medias de los valores energéticos en Joules en el desarrollo de los estadios larvales de *T. solanivora*. y la relación con el peso promedio. (N= número de réplicas)

**Tabla 3:** Estadísticos descriptivos de los datos de rendimiento energético, en larvas de estadios I, II, III y IV. (N= número de réplicas)

**Tabla 4:** Cuadro de análisis de varianza entre los datos de pesos de las larvas y la energía requerida en Joules con un nivel de significancia de 0,05.

**Tabla 5:** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey entre los datos de pesos de las larvas y la energía requerida en Joules con un nivel de significancia de 0,05

**Tabla 6:** Estadísticos descriptivos de los datos de fuerza absoluta, en larvas de estadios I, II, III y IV. (N= número de réplicas)

**Tabla 7:** Cuadro de análisis de varianza entre los datos de pesos de las larvas y Fuerza absoluta generada en Newtons, con un nivel de significancia de 0,05

**Tabla 8:** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey entre datos de los pesos de las larvas y Fuerza absoluta generada en Newtons, con un nivel de significancia de 0,05

**Tabla 9:** Estadísticos descriptivos de los datos de fuerza absoluta, en larvas de estadios I, II, III y IV. (N= número de réplicas)

**Tabla 10:** Cuadro de análisis de varianza entre datos de los pesos de las larvas y Fuerza relativa generada en Newtons, con un nivel de significancia de 0,05

**Tabla 11:** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey entre datos de los pesos de las larvas y Fuerza relativa generada en Newtons, con un nivel de significancia de 0,05

## RESUMEN

El cultivo de papa en el Ecuador es una de las actividades socio-económicas más importantes para la población rural del país. Este cultivo es susceptible a plagas invasivas, entre ellas la polilla guatemalteca *Tecia solanivora* (Povolny), reportada como una de las más agresivas de su tipo. En esta investigación se estudió la fase larvaria infecciosa de *T. solanivora*. La eficiencia energética fue evaluada por el consumo de oxígeno desde el momento de la eclosión del huevo hasta la muerte de la larva por inanición. Se observó un mayor consumo de energía en las larvas de primer estadio en comparación con estadios más avanzados, cada individuo del primer estadio metaboliza el equivalente a 0,279 J de energía útil para el proceso infectivo. Además se determinó la fuerza absoluta y relativa de las larvas en varios estadios en relación con su peso, se demostró que la fuerza de las larvas es inversamente proporcional a su crecimiento y desarrollo. Las larvas más pequeñas de primer estadio pueden empujar hasta 1000 veces su peso corporal, mientras que las más grandes solo 30 veces su peso. Las microfotografías electrónicas describen la compleja estructura externa de las larvas en primer y tercer estadio mostrando la ubicación y variación del diámetro en los espiráculos, la morfología de la cutícula, patas y propatas que intervienen como soporte en el desplazamiento de las larvas.

**Palabras clave:** Consumo de oxígeno, Fuerza muscular, microscopía electrónica, *Tecia solanivora*.

## ABSTRACT

Potato growing in Ecuador is one of the most important socio-economic activity for the rural population of the country. This crop is susceptible to invasive plagues including the Guatemalan moth, *Tecia solanivora* (Povolny), which has been reported as one of the most aggressive of its kind. In this research, the infectious larval stage of *T. solanivora* was studied. Energy efficiency was evaluated by oxygen consumption from the time the egg hatches up to the first stage larva's death caused by inanition. Greater energy consumption was found in first stage larvae as compare to the ones in most advance stages, each individual of the first stage metabolizes the equivalent of 0.279 J of energy that is used during the infective process. The absolute and relative strength of the different larvae stages was measured in relation to their weight; it was shown that the larvae strength is inversely proportional to its growth and development . The smallest first stage larvae can push up to 1000 times their body weight while the largest ones on fourth stage can only push 30 times their weight. . Electron micrographs described the complex external structure of the larvae in their first and third stages showing the location and diameter variation in the spiracles, the cuticle morphology, the legs and prolegs that support the larvae displacement.

**Key words:** electron microscopy, muscular force, oxygen consumption, *Tecia solanivora*

## INTRODUCCIÓN

Las especies invasoras son una gran amenaza para la provisión sostenible de productos y servicios de los ecosistemas (Mooney & Hobbs 2000). La polilla *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae, descrita por primera vez por Dadibor Povolny en 1973) ha sido reportada como causante de pérdidas económicas significativas observadas en los cultivos de papa *Solanum tuberosum* (Solanaceae) en Guatemala desde 1956. De igual manera ha afectado importantes zonas productoras en Venezuela, Colombia y se reportó su presencia en Ecuador desde 1996, convirtiéndose en la principal plaga de este cultivo (Herrera 1998, Niño and Notz 2000, Niño 2004, Torres-Leguizamon et al. 2011). En Ecuador, el impacto económico de esta plaga ha llegado a afectar hasta el 40% de la producción total en campo y en algunas bodegas hasta el 100% del producto almacenado ocasionando ingentes pérdidas económicas en cultivos no controlados y un subsecuente aumento indiscriminado en el uso de insecticidas tóxicos fosforados y carbamatados (SENASA 2001).

Las hembras de *T. solanivora* ovipositan entre 180 y 235 huevos, cantidad que depende de su alimentación en estado larval (Raman 1988) y lo hacen cerca de la base del tallo o en la superficie del tubérculo cosechado, lo que significa que luego de la eclosión las larvas localizan su alimento con mayor facilidad (Torrado-León et al. 2003). La larva se desplaza activamente sobre el tubérculo hasta ubicar un punto de penetración, y mientras se alimenta va formando galerías en el interior, dejando esparcidos sus excrementos mientras digiere la pulpa (Torres 1997) con lo que favorece la contaminación con variados microorganismos que aumentan la pudrición ocasionando la pérdida del valor comercial y alimenticio.

La evaluación del impacto potencial que puede causar una especie de insecto plaga en su hábitat, puede ser medida de acuerdo a su capacidad energética. La energía es uno de los

indicadores que marcan la importancia del insecto en una comunidad referente a su actividad infectiva y conservación de la especie (Bailey & Singh 1977). Varios organismos del orden Lepidóptera en fase larval se han convertido en modelos atractivos para el estudio de fuerzas musculares por la biomecánica y morfología de su cuerpo blando, diferente a la de los vertebrados o invertebrados con cuerpos hidrostáticos o articulados (Lin & Trimmer 2010). El cuerpo blando de las larvas de estos insectos permiten un especial biomecanismo mediante el cual se mueven, excavan sustratos con sus mandíbulas, ingieren alimento o levantan verticalmente los segmentos cefálico y torácico cuando se desplazan o se orientan sobre una superficie (Trimmer & Issberner 2007). Los movimientos para el desplazamiento larvario observados en Lepidoptera son impulsados como una respuesta eléctrica de la estimulación nerviosa generando fuerza de contracción de las fibras musculares ventrales clasificadas como oblicuas, segmentarias e intersegmentarias que producen un flujo de aire unidireccional coordinadamente con la apertura de los espiráculos (Belton 1969, Slama 1999, Wasserthal 2001). Este desplazamiento es coordinado junto con las patas y propatas útiles como soporte y agarre controlable. Se ha demostrado que en varias especies de Lepidoptera las propatas funcionan como anclas y no como palancas. (Trimmer & Issberner 2007)

Las reservas energéticas de las larvas se convierten en componentes clave para la locomoción durante los primeros momentos de inanición al cual se enfrentan luego de la eclosión. La relación energética de insectos con el oxígeno del ambiente, es sustancial y poco estudiada, el consumo de oxígeno se relaciona con la tasa metabólica necesaria en locomoción y en procesos relacionados con el crecimiento, la reproducción y sus actividades ecológicas (Darias et al. 1999, Harrison et al. 2012). La relación directa entre el oxígeno que necesita la larva en primer estadio y su capacidad metabólica permite calcular

el rendimiento energético que demanda esta larva durante el proceso de infección al tubérculo (Bailey & Singh 1977, Van't Hof & Martin 1989).

En este trabajo se presta especial atención a las larvas del primer estadio de *T. solanivora*, por su importancia en el estudio del comportamiento inmediatamente luego de la eclosión y antes de la infección del tubérculo. En la actualidad, no existen estudios reportados acerca del rendimiento muscular, fuerza y morfología específica de *T. solanivora* durante el desarrollo de las larvas, importante para comprender los factores energéticos que intervienen durante los primeros estadios de vida, su agresividad y su diseminación entre los diferentes cultivos de papa en los ecosistemas agrícolas (Dangles et al. 2008).

El estudio fisiomorfológico de las larvas podría contribuir al desarrollo de una técnica de control biológico más eficiente a través de la identificación de pórtilos que permitan el acceso de macromoléculas que puedan afectar las funciones metabólicas de las larvas, aspectos que pueden ser críticos para el control de sus poblaciones. En la actualidad, el uso de plaguicidas químicos sintéticos es la única alternativa disponible para el control fitosanitario, y es costoso en hasta el 20% de los costos totales de producción (Rodríguez 1996), causa efectos adversos letales en organismos benéficos y afecta también la salud pública y al ambiente (Cisneros et al. 1995, Osorio et al. 2001).

El proceso morfodinámico de *T. solanivora* no ha sido estudiado y podría explicar otras fases de su comportamiento a la vez de sugerir formas amigables de control. El objetivo de este trabajo fue estudiar las fuerzas de empuje y la cantidad de energía que interviene en la agresividad de esta plaga, lo cual podría explicar otros factores no conocidos involucrados en el desplazamiento invasivo. Se plantea como hipótesis que las larvas luego de la

eclosión en primer estadio necesitan mayor fuerza y energía que en estadios más avanzados, necesarios para infectar el tubérculo, encontrar alimento y un nicho que le permita su desarrollo y la perpetuación de la especie.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **RECOLECCIÓN DE LARVAS**

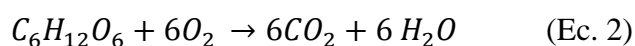
Se utilizó una cepa de polillas de *T. solanivora*, criadas en condiciones controladas en el laboratorio de cultivo masivo en el Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Los adultos fueron colocados en cámaras de cópula según la metodología desarrollada por Mora et al. (2013), los huevos colectados fueron incubados a temperatura controlada de 20 °C por 10 días, hasta la eclosión de las larvas de primer estadio. Para obtener larvas en estadios más avanzados se realizan cámaras de infestación que contienen 10 papas sin contaminación, sobre las cuales se colocan de 10 a 15 huevos. El estadio de las larvas es controlado mediante registros de tiempo en días desde la oviposición según los valores registrados en la Tabla 1. Las larvas de segundo y tercer estadio, fueron colectadas abriendo con cuidado las papas contaminadas, mientras que las de cuarto estadio pueden ser colectadas en la cámara fuera de las papas, debido a que en esta etapa salen del tubérculo para encontrar un lugar donde pupar.

### **RENDIMIENTO ENERGÉTICO**

El consumo de oxígeno se determinó en una cámara respiratoria (Fig. 1), desde la última etapa como huevo hasta la muerte de la larva de primer instar por inanición. Para esto se colocaron en tres cámaras aproximadamente 800 huevos recientemente ovipositados en cada cámara de vidrio cerrada, y una cámara control. Se cuantificó también el consumo de

oxígeno de las larvas en segundo, tercer y cuarto estadio con 30 larvas en cada cámara con dos réplicas de cada una.

Se aplicó el protocolo de cuantificación de CO<sub>2</sub> producido el mismo que fue absorbido en una solución concentrada de hidróxido de bario para formar carbonato de bario que precipita y que fue aislado, secado y pesado (Fig. 2). Con el carbonato de bario encontrado se determinó la cantidad de CO<sub>2</sub> desprendido (Ec. 1), que permite calcular la cantidad de nanomoles de oxígeno consumido durante el metabolismo energético de cada individuo (Ec. 2).



El peso promedio de una larva de primer estadio se obtuvo pesando cada vez 100 larvas por triplicado. Los pesos de las larvas de estadios más avanzados fueron determinados al pesar la totalidad de larvas en cada cámara.

## **CÁLCULOS DE FUERZA**

Para determinar la fuerza absoluta y la fuerza relativa de empuje, se utilizaron 5 larvas de cada estadio I, II, III y IV. Se diseñó y construyó un sistema de torque con madera de balsa de diferentes pesos establecidos (Fig. 3), que permitió medir la capacidad de empuje de cada larva, con tres repeticiones. La fuerza absoluta final que se genera en Newtons (N), fue calculada con la ecuación 3.

$$FL = Ws * g \frac{dH}{dL} \quad (\text{Ec. 3})$$

Dónde:  $FL$  es la fuerza absoluta (N) de empuje de la larva,  $Ws$  es el peso total del sistema en Kilogramos,  $dL$  es la distancia del brazo longitudinal de torque en milímetros,  $dH$  es la distancia recorrida del brazo horizontal que empuja la larva expresado en milímetros, y  $g$  es la aceleración de la gravedad en  $m/s^2$

Mientras que la fuerza relativa (FR), se calculó en relación a FL convertido en ( $g \cdot m/s^2$ ) en función del peso de cada larva (Wl), mediante la ecuación 4.

$$FR = \frac{FL}{wl} \quad (\text{Ec. 4})$$

## **MORFOLOGÍA GENERAL**

Con el fin de comparar ciertas estructuras que intervienen en la locomoción de las larvas en estadios iniciales con estadios más avanzados se aplicaron técnicas de Microscopía electrónica de barrido (SEM)

### **MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO**

Se utilizó el microscopio electrónico de barrido (modelo SEM JEOL – JSM5310) del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública, INSPI, en Guayaquil, Ecuador. Se modificó la técnica descrita por Amano & Díaz (2012), se analizaron 10 larvas frescas de primer instar sin previo tratamiento químico de fijación debido a que los reactivos requeridos a base de glutaraldehído al 3% y tetra óxido de osmio 1%, dañan la morfología de la larva. También se realizaron pruebas con larvas de instares más avanzados, para esto se utilizó un recubridor de oro para Muestras (Jeol JF-1200) con el fin de contrastar las imágenes que fueron analizadas en el microscopio y fotografiadas.

De igual manera, se fotografiaron larvas de tercer y cuarto instar en el microscopio electrónico de barrido (modelo SEM ZEISS DSM-960A) del laboratorio de microscopía de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, utilizando el protocolo de fijación con glutaraldehído al 2% durante 48 horas, deshidratación en disolución de etanol al 50, 70, 90, 99% y un proceso de liofilización durante 48 horas.

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos de fuerza absoluta, relativa, y el rendimiento energético fueron analizados en el software estadístico SPSS versión 18.0, con el cual se obtuvieron estadísticos descriptivos, con un nivel de confianza del 95%, se reportó la tabla de ANOVA y se aplicó la prueba de Tukey para realizar el ajuste del nivel de confianza, a fin de establecer diferencias significativas en los cuatro estadios larvales de cada método.

## RESULTADOS

### RENDIMIENTO ENERGÉTICO

El proceso de captación ininterrumpida del CO<sub>2</sub> producido en las cámaras con larvas de primer estadio se inició cuando los huevos eclosionaron a los 9 días. Luego la larva continuó moviéndose hasta que agotó sus reservas energéticas 24 horas después de la eclosión hasta su muerte por inanición. El peso promedio obtenido en la precipitación del Carbonato de Bario fue de 0.083 g equivalente a 0.019 g de CO<sub>2</sub>. Se determinó mediante ecuaciones estequiométricas el consumo total de oxígeno producido, que fue de 0.014 g equivalente a 643.8 nM.O<sub>2</sub>.ind<sup>-1</sup> que corresponde a 0.279 J o 0.066 calorías de energía metabólica consumida por cada larva de primer estadio (Anexo1).

El mismo proceso se realizó con larvas de II, III y IV estadio, alcanzando valores promedio de energía en Joules por individuo de 5.99, 16.68 y 11.57 J respectivamente. En la Tabla 2 se observó que al comparar el gasto energético en relación al peso de las larvas entre los individuos desde el primer al cuarto estadio los valores cambian elocuentemente, obteniéndose resultados de 5.9285, 2.1383, 2.1660 y 0.4265 J×ind<sup>-1</sup> respectivamente.

Al realizar la prueba de comparación múltiple de Tukey (Tabla 5), se muestra mayor energía en larvas de primer estadio con diferencias significativas (p<0.0001), respecto a estadios más avanzados, de igual manera se observó que entre larvas de segundo y tercer estadio la energía con relación al peso no varía en forma significativa (p=0.997), pero si presentan variación con larvas de cuarto estadio (p<0,001) las cuales reducen sus valores en el consumo de oxígeno (Fig. 4).

## CÁLCULO DE FUERZA

Los resultados obtenidos de la fuerza absoluta para los estadios larvales I, II, III y IV, se reportaron en la Tabla 6, las medias fueron de 1.0077E-03, 1.1484E-03, 1.2287E-03 y 1.4884E-03 Newtons para cada estadio respectivamente, estos datos aumentan según el estadio y el peso de la larva generando diferencias significativas entre larvas de I y II estadio ( $p < 0.0001$ ) mientras que en larvas de II y III estadio no se encontraron diferencias significativas en el procedimiento ( $p < 0.187$ ). En la figura 5 se muestra los resultados de la fuerza absoluta, donde las larvas de IV estadio presentan mayor fuerza de empuje que las larvas de I estadio, debido a su mayor masa corporal.

Sin embargo se realizó la relación de la fuerza absoluta en función al peso de cada larva con el fin de determinar la fuerza relativa entre cada individuo, estos datos fueron procesados y analizados estadísticamente mediante el Análisis de varianza y pruebas de Tukey en las tablas 9, 10 y 11 se mostraron diferencias entre las medias para los estadios larvales I, II, III y IV donde se obtuvieron valores de  $p < 0.0001$  indicando diferencias significativas entre todos los tratamientos.

Al determinar la fuerza relativa, se confirma la hipótesis planteada de que las larvas de menor tamaño poseen una fuerza mayor que las larvas maduras en relación al peso. La figura 6, indica la diferencia de la fuerza relativa que alcanzan las larvas de menor tamaño que corresponde a I estadio con un peso promedio de 7.8E-04 g, comparada con las de IV estadio con mayor tamaño y peso promedio de 2.7E-02 g. Es así que larvas de menor tamaño (I estadio), muestran tener una fuerza relativa mayor que las larvas de estadios más avanzados, esta relación permite determinar que los individuos de estadio I pueden llegar a obtener una fuerza de más de 1000 veces relacionada a su peso, mientras que las

larvas de estadio IV a pesar de haber adquirido una masa corporal mayor, solo logran empujar hasta 30 veces el valor de su peso.

## **MORFOLOGÍA GENERAL**

### **MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO**

Las larvas de *T. solanivora* en primer instar miden en promedio 1 mm de largo y en el cuarto instar pueden alcanzar 14 mm de largo. Con el SEM se pudo identificar la morfología externa de las larvas en primer estadio, las larvas de lepidóptera bibliográficamente para estudios morfológicos se dividen en cápsula cefálica, tórax y abdomen (Fig.7). En la figura 8, se observa la morfología mandibular en la cual se distingue el palpo maxilar, antenas, gula, labro y setas mandibulares anteriores.

Las larvas en primer estadio de *T. solanivora* presentan una estructura compleja, la epicutícula es la capa más externa de la cutícula y en ella se puede distinguir además de los espiráculos, estigmas y setas, los cinturones de espículas cuya característica rugosa permite que el cuerpo de la larva pueda adherirse fácilmente a las superficies (Fig. 9). En la figura 10 se identifican los espiráculos, que se encuentran dispuestos en pares por cada segmento a lo largo del cuerpo de las larvas en individuos de primer instar presentan un tamaño aproximado de 15  $\mu\text{m}$  de diámetro externo y 5  $\mu\text{m}$  de diámetro interno, mientras que en larvas de tercer estadio mide aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  de diámetro externo y 10  $\mu\text{m}$  de diámetro interno (Fig. 11).

Otro factor importante para el desplazamiento de las larvas son las patas y pseudopatas o patas falsas que conforman el punto de soporte para su direccionamiento. Presenta tres pares de patas verdaderas torácicas, cuatro pares de pseudopatas o protuberancias

abdominales y un par de pseudopatas anales. Las pseudopatas poseen una estructura en forma de gancho que permite diferenciarlas entre larvas de otras especies (Fig.12). Las patas torácicas terminan en puntas que sirven como apoyo motriz, y le dan firmeza al caminar. Las propatas abdominales están equipadas con ganchos terminales utilizados como soporte para adherirse a las superficies. Las anales en cambio le sirven como eje para levantarse, rotar o cambiar de dirección.

## DISCUSIÓN

Los movimientos de las larvas de los insectos son generados por un conjunto de músculos que se ejercitan desde la eclosión, alcanzando su desarrollo, madurez y máximo rendimiento en el primero y segundo instar, luego cambian sus propiedades y masa muscular significativamente en su trayectoria hacia el último estado larval (Harrison et al. 2012). Las neuronas motoras del sistema nervioso se relacionan con el crecimiento, el desarrollo de ciertos músculos en la metamorfosis del insecto y con la velocidad de contracción de los segmentos corporales larvales; de esta manera, en un trabajo conjunto con el sistema respiratorio, permiten la regulación del flujo de oxígeno (Belton 1969; Rehuben & Kammer 1979).

El oxígeno es el principal activador del metabolismo respiratorio de los insectos y mediante el cálculo de su consumo se puede establecer el gasto energético de la larva durante un periodo determinado de tiempo (Chapman 2011). El rendimiento energético se basó en el cálculo de consumo de oxígeno desde la eclosión de la larva hasta su muerte por inanición que ocurrió 24 h después, se registró un rango de consumo desde 643 nmol  $O_2 \cdot ind^{-1}$  (I estadio) hasta 26678.5 nmol  $O_2 \cdot ind^{-1}$  (IV estadio), sin embargo, el consumo de oxígeno y por tanto el rendimiento energético en función de la masa corporal de las larvas, desciende según el desarrollo de cada estadio reflejando la disposición o predisposición a una disminución de la locomoción debido a que en los estadios II III y IV las larvas se supone ya alcanzaron su fuente de alimento (Bailey & Singh 1977, Hetz 2007). La extensa y continua actividad muscular en la búsqueda inicial de alimento y protección, podría ser la que explica una agresiva capacidad infectiva y su perpetuidad como especie (Zalucki et al. 2002). El mayor gasto energético que no se diferencia de manera significativa entre el

estadio II y III, se explica probablemente a que las larvas al ser retiradas del tubérculo se han sometido a un alto nivel de estrés por el cambio brusco de las condiciones ambientales normales necesarias para continuar con su desarrollo, lo cual no ocurre con el estadio IV en el cual el comportamiento natural de las larvas es salir del tubérculo para pupar. Es así que la energía generada se considera esencial para el trabajo que debe realizar la larva a partir del momento de la eclosión en su búsqueda de alimento. Es así que el primer estadio representa la mayor amenaza para los cultivos, debido a que a pesar de medir 1 mm de longitud, posee la cantidad de energía equivalente a 0.279 J, suficiente para desplazarse por horas buscando el lugar apropiado para horadar, penetrar al tubérculo, alimentarse e iniciar su ciclo de vida.

La fuerza muscular de las larvas sufre cambios importantes desde el estadio inicial hasta alcanzar el estado de pre-pupa (Chapman 2011). Las larvas de primer estadio, con pesos promedio de 0.8 mg generaron una gran fuerza capaz de empujar hasta 1000 veces el peso de su cuerpo, a diferencia de las de cuarto estadio que a pesar de haber adquirido mayores pesos corporales, logran empujar hasta únicamente 30 veces su peso, algo similar ocurre en estudios realizados con anélidos en que los más pequeños llegan a empujar hasta 500 veces el peso de su cuerpo, mientras que los más grandes solo 10 (Quillin 2000). Estos datos indican que la fuerza relativa al igual que el gasto energético tiende a seguir un patrón directamente proporcional al relacionarlos con el desarrollo de las larvas en los diferentes estadios.

A pesar de que el estudio morfológico de las larvas de *T. solanivora* se dificultó por una composición interna compleja, constituida por proteínas, lípidos y ceras, que impidieron seguir un protocolo común de fijación para los procesos en el SEM, se logró identificar la morfología de estructuras externas importantes que intervienen en la locomoción y el desarrollo larval.

Los cinturones de espículas cuticulares forman parte del sistema locomotor de las larvas, pueden servir como punto de apoyo para la excavación de sustratos o para realizar movimientos peristálticos (Araneda & Godoy-Herrera 1986); entre larvas de primer y tercer estadio de *T. solanivora* no se evidenciaron diferencias relevantes en la estructura morfológica de la cutícula.

El par de espiráculos que se observan en cada segmento larvario son órganos como agujeros que se abren y se cierran, y conectan con un sistema traqueal que cumple la función de intercambio gaseoso con el medio externo (Hetz 2007), facilitado por los amplios diámetros internos y externos que se observaron y que facilitan la entrada de la cantidad de O<sub>2</sub> y la salida del CO<sub>2</sub> requerido y producido en el trabajo muscular. Las larvas de primer estadio necesitaron consumir mayor cantidad de oxígeno en relación a su masa corporal por la alta tasa metabólica debido al rápido crecimiento y desarrollo y el alto gasto energético para movilizarse, por lo tanto, es más probable que exista la necesidad de un sistema respiratorio más eficiente (Greenlee et al. 2000, Zalucki et al. 2002)

La presencia de estos pares de amplios espiráculos que se repiten en cada segmento, aparte de facilitar la posible captación de oxígeno limitado en ciertos hábitats y dentro de la pulpa, podría sugerir una diseminación de la plaga en cultivos de altura, aparte de merecer más atención como posibles pórticos de entrada en el diseño de macromoléculas para control biológico

Estudios realizados por Lin & Trimmer (2010) en *Manduca sexta* (Lepidoptera) afirman que las propatas contribuyen con el funcionamiento de los músculos anteriores y abdominales, durante este proceso, el sustrato larval transmite las fuerzas necesarias a través del cuerpo, por tanto, la presencia de estructuras como las pro-patas o patas falsas, aportan a la generación de la fuerza de empuje. Esta morfología en lepidóptera y

artrópodos son controladas por las actividades reguladoras de ciertas proteínas (Hox proteins) en los segmentos abdominales y son una característica como modelo de evolución de estos insectos (Suzuki & Palopoli 2001).

Tanto el gasto energético, la cantidad de fuerza y las variadas estructuras externas que se observaron en *T. solanivora*, muestran la gran habilidad de esta especie de plaga desde el momento de eclosión, etapa en la cual requiere de un alto índice de energía para iniciar su ciclo específico de alimentación, metamorfosis y perpetuidad de su especie.

## LITERATURA CITADA

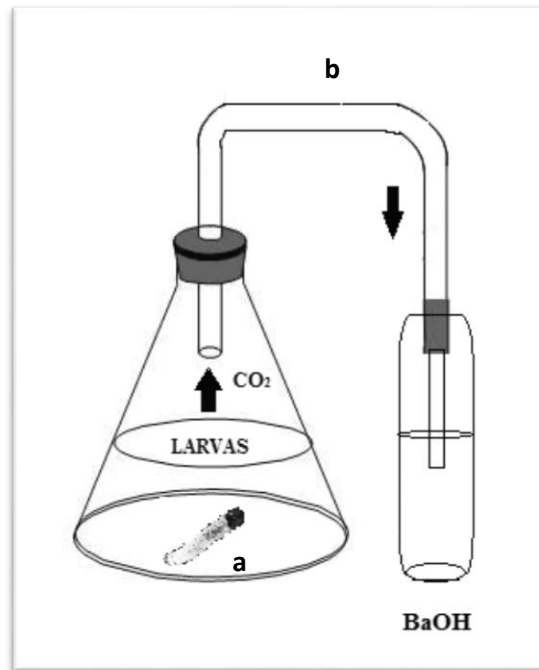
- Amano, Y.J. & Díaz, L., 2012. *Introducción a la microscopía electrónica* Segunda Ed., Guayaquil - Ecuador: Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Izquieta Pérez.”
- Araneda, J. & Godoy-Herrera, R., 1986. El crecimiento de las espículas de la cutícula larval de *Drosophila melanogaster* (Diptera: drosophilidae). *Rev. Chilena Ent.*, pp.81–86.
- Bailey, C.G. & Singh, N., 1977. An energy budget for *Mamestra Confzgurata* (Lepidoptera: Noctuidae). *The Canadian Entomologist*, (717).
- Bailey, L., 1954. The respiratory currents of the tracheal system of the adult honey-bee. *Journal of Experimental Biology*, 31, pp.589–93.
- Belton, P., 1969. Innervation and neural excitation of ventral muscle fibres of the larva of the waxmoth, *Galleria mellonella*. *J Insect Physiol*, 15(5), pp.731–741.
- CABI, 1999. Crop Protection Compendium. , p.Base de Datos.
- Chapman, R.F., 2011. *The Insects: Structure and Function* Fifth Edit. S. Simpson & A. Douglas, eds., USA.
- Cisneros, F. et al., 1995. Una estrategia para el desarrollo e implementación del Manejo Integrado de Plagas. , p.CIP Circular 21(3): 2–7.
- Dangles, O. et al., 2008. Temperature as a key driver of ecological sorting. *Ecological Applications*, 18(7), pp.1795–1809.

- Darias, M. et al., 1999. Metabolismo energético de huevos y larvas sin alimentar del sargo (*Diplodus sargus*) en cultivo. *Ciencias Marinas*, pp.6–7.
- Duncan, F.D. & Byrne, M.J., 2002. Respiratory airflow in a wingless dung beetle. *Journal of Experimental Biology*, 205, pp.2489–97.
- Greenlee, K., Harrison, J. & Egbert, K., 2000. How does the respiratory response to hypoxia changes throughout ontogeny in a grasshopper and a caterpillar? *Am. Zool.*, 40, pp.1033–1034.
- Harrison, J., Woods, A. & Roberts, S., 2012. *Ecological and Environmental Physiology of Insects* Vol 3., Oxford New York: Oxford University Press.
- Herrera, F., 1998. La polilla guatemalteca de la papa. Biología, Comportamiento y Prácticas de Manejo Integrado. *Programa Regional Agrícola. CORPOICA, ICA, FEDEPAPA*, Segunda Ed.
- Hetz, S.K., 2007. The role of the spiracles in gas exchange during development of *Samia cynthia* (Lepidoptera, Saturniidae). *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 148(4), pp.743–754.
- Lin, H.T. & Trimmer, B. a, 2010. The substrate as a skeleton: ground reaction forces from a soft-bodied legged animal. *Journal of Experimental Biology*, 213(Pt 7), pp.1133–1142.
- Mooney, H.A. & Hobbs, R.J., 2000. *Invasive species in a changing world*, Island Press, Washington.

- Mora, P., Rodríguez, A. & Soria, C., 2013. Caracterización de la actividad amilásica presente en extractos larvarios de dos polillas plagas de la papa: *Tecia solanivora* y *Symmetrischema tangolias*. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, p.34: 113–127.
- Niño, L., 2004. *Revisión sobre la Polilla de la Papa Tecia solanivora en Centro y Suramérica*, Mérida, Venezuela.
- Niño, L. & Notz, A., 2000. *Patogenicidad de un virus granulosis de la polilla de la papa Tecia solanivora (Povolny) 1973 (Lepidóptera: Gelechiidae) en el estado Mérida, Venezuela*.
- Osorio, P., Espitia, E. & Luque, E., 2001. *Reconocimiento de enemigos naturales de Tecia solanivora (Lepidoptera: Gelechiidae) en localidades productoras de papa en Colombia.*, Colombia, Bogotá.
- Quillin, K.J., 2000. Ontogenetic scaling of burrowing forces in the earthworm *Lumbricus terrestris*. *The Journal of experimental biology*, 203(Pt 18), pp.2757–70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10952876>.
- Raman, K., 1988. Manejo Integrado de Plagas de la Papa en los Países de Tercer Mundo. *CIP Circular*, pp.1–8.
- Rodríguez, B., 1996. *Consideraciones al manejo de plagas y enfermedades de papa en Colombia. En: Papas Colombianas con el mejor entorno ambiental.*, Bogotá.
- SENASA, 2001. *Perfil para la caracterización de plagas A1*, Perú.
- Slama, K., 1988. A new look at insect respiration. *Biological Bulletin*, 175, pp.289–300.

- Slama, K., 1999. Active regulation of insect respiration. *Annals of the Entomological Society of America*, 92, pp.916–29.
- Suzuki, Y. & Palopoli, M.F., 2001. Evolution of insect abdominal appendages: Are prolegs homologous or convergent traits? *Development Genes and Evolution*, 211(10), pp.486–492.
- Torrado-León, E. et al., 2003. Aspectos Generales del Comportamiento de *Tecia solanivora* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae). In *Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. (SOCOLEN)*. Cali-Valle del Cauca, Colombia.: Julio 17-19.
- Torres, F., 1997. Ciclo de vida y otros aspectos de la biología de la polilla de la papa *Tecia solanivora* (Povolny)(Lepidoptera: Gelechiidae) en el estado Tachira. , pp.81–94.
- Trimmer, B. & Issberner, J., 2007. Kinematics of soft-bodied, legged locomotion in *Manduca sexta* larvae. *Biological Bulletin*, 212(2), pp.130–142.
- Van't Hof, H.M. & Martin, M.M., 1989. The effect of diet water content on energy expenditure by third-instar *Manduca sexta* larvae (Lepidoptera: Sphingidae). *Journal of Insect Physiology*, 35(5), pp.433–436.
- Wasserthal, L.T., 2001. Flight-motor-driven respiratory air flow in the hawkmoth *Manduca sexta*. *Journal of Experimental Biology*, 204, pp.2209–20.
- Zalucki, M., Clarke, A. & Malcolm, S., 2002. Ecology and Behavior of first instar larval Lepidoptera. , pp.1–12.

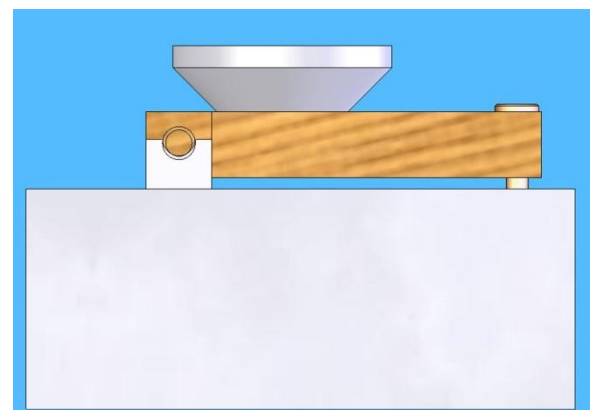
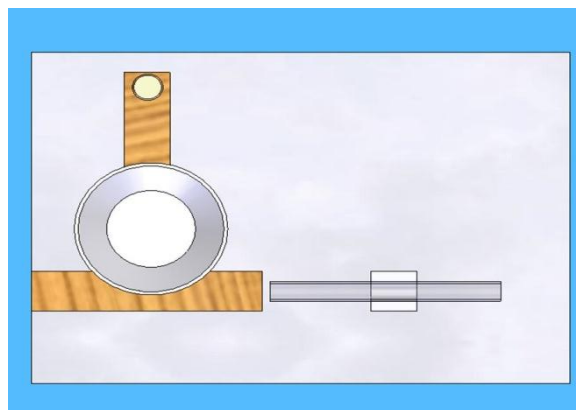
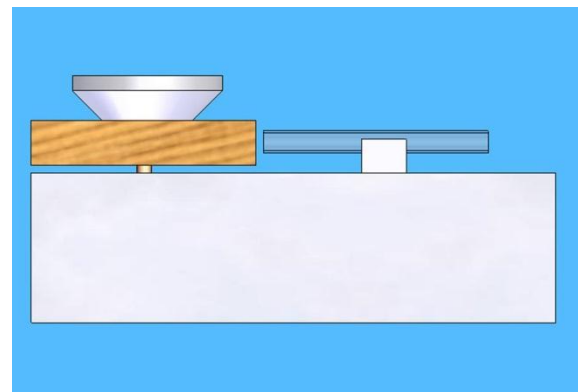
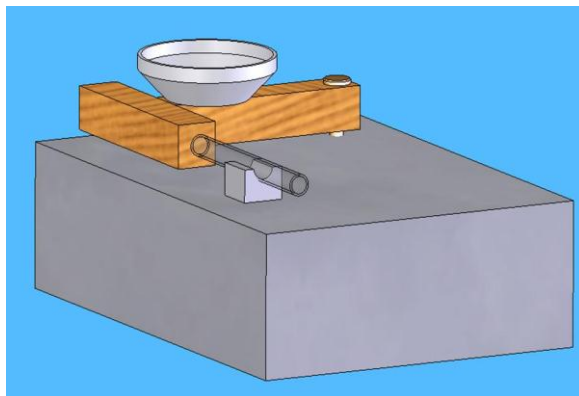
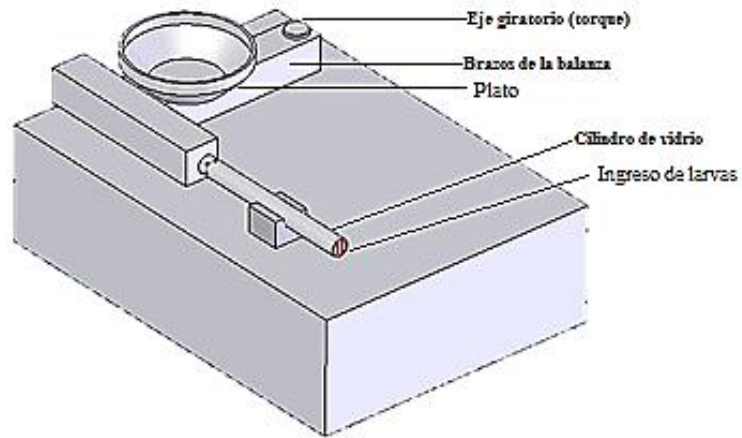
## FIGURAS



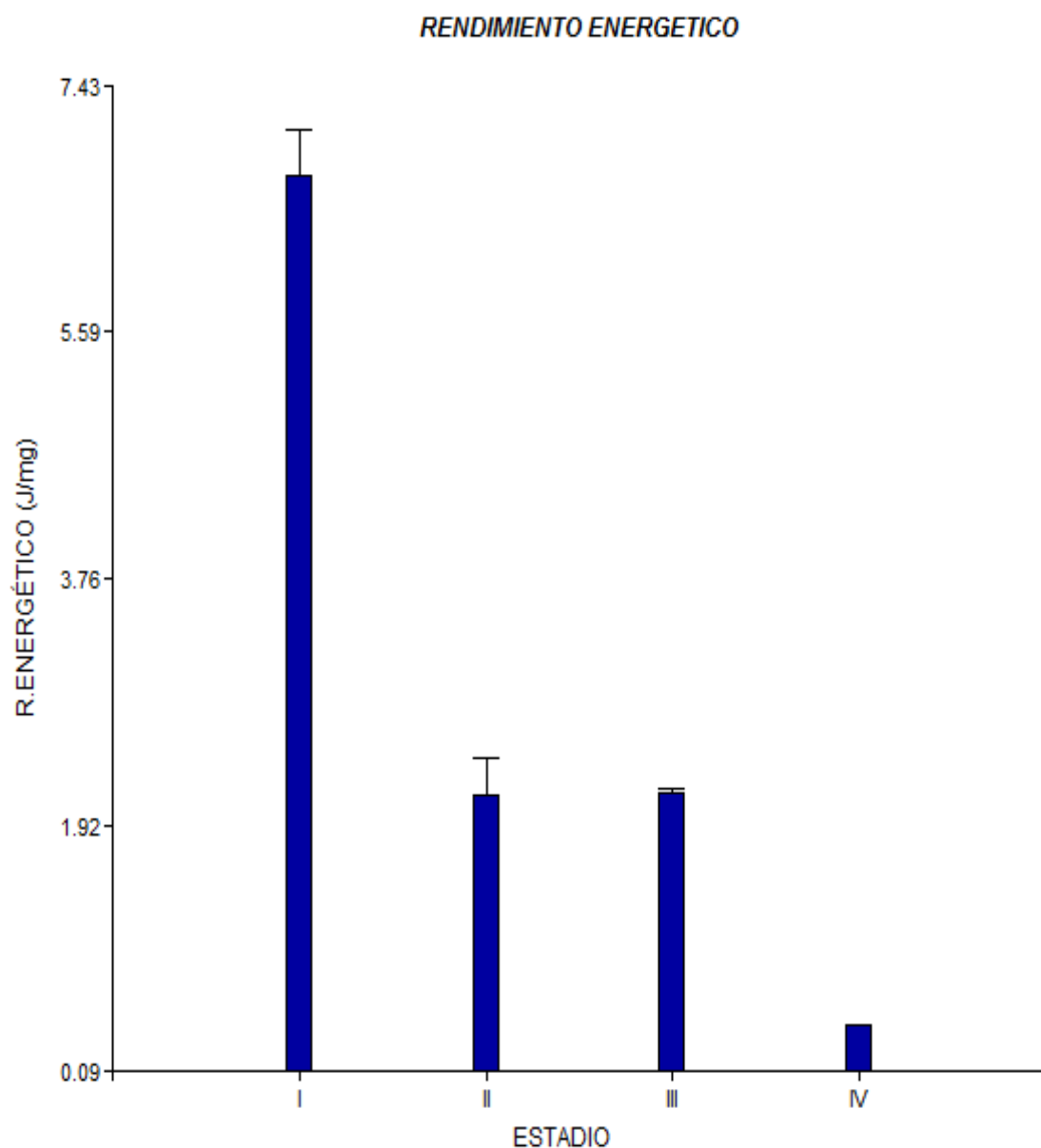
**Figura 1:** Cámara de respiración continua, (a) envase de vidrio con una salida en donde se colocaron las larvas, (b) tubo de vidrio o manguera como vía de transporte del CO<sub>2</sub>, que conecta al envase a y c, (c) tubo de ensayo con solución saturada de hidróxido de bario.



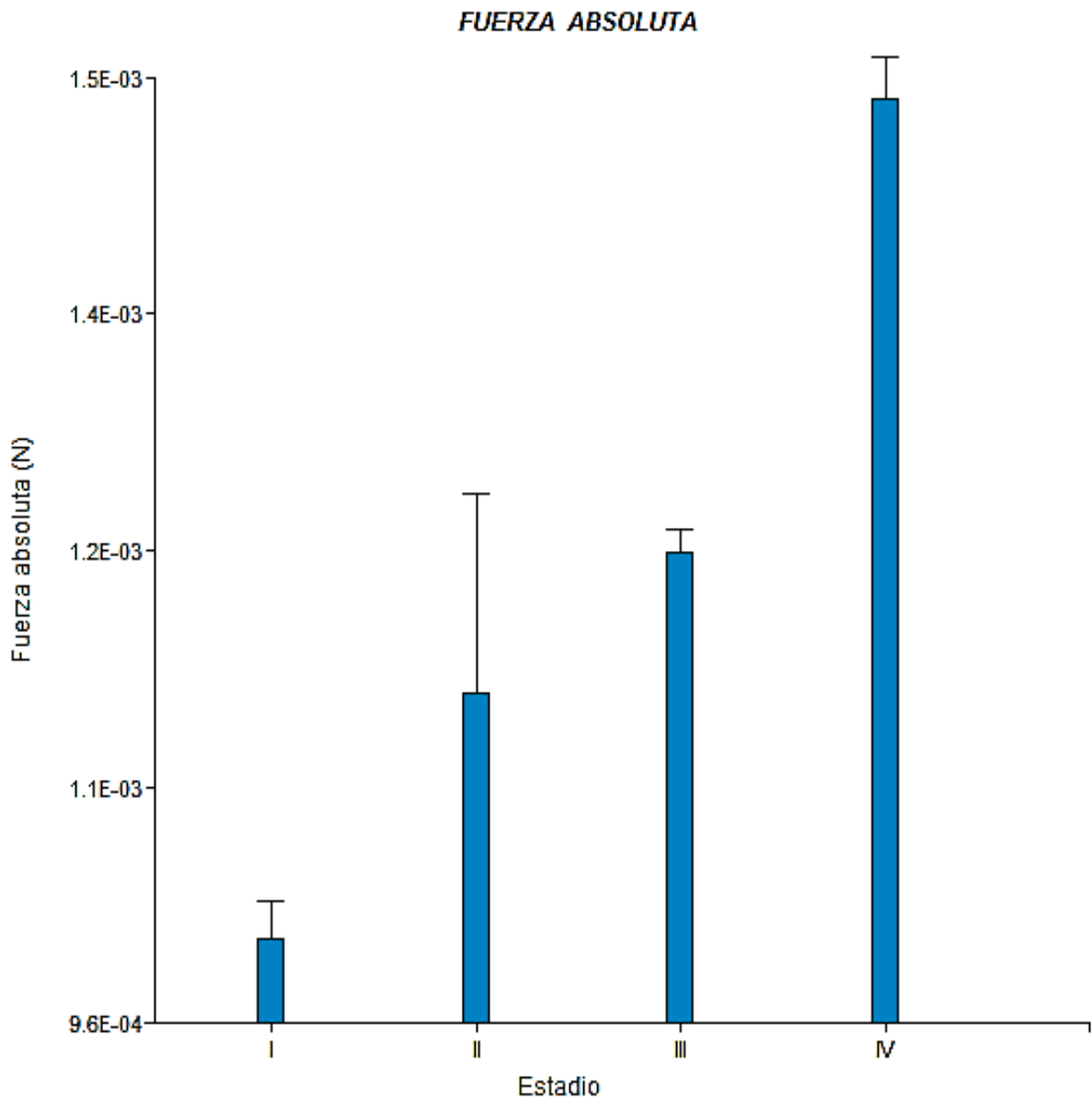
**Figura 2:** Muestras de Carbonato de bario precipitado secas.



**Figura 3:** Balanza diseñada para medir la fuerza de empuje de las larvas, y función de torque del sistema.

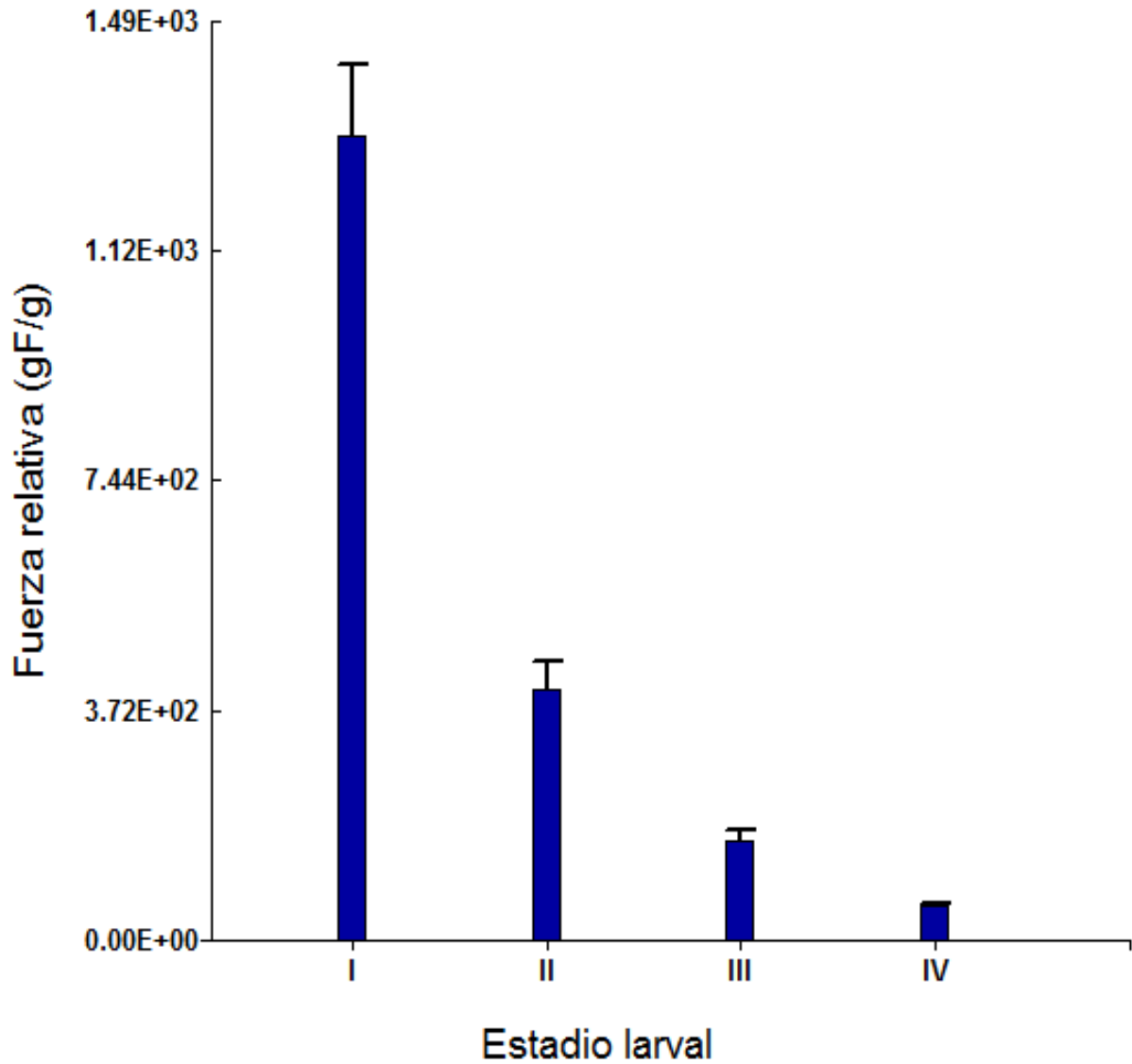


**Figura 4: Rendimiento energético.** Gráfico estadístico de barras de los resultados de la energía expresada J (Joules) comparada con el peso de los diferentes estadios larvales (I, II, III, IV). Las líneas de error hacen referencia a la desviación estándar de los datos

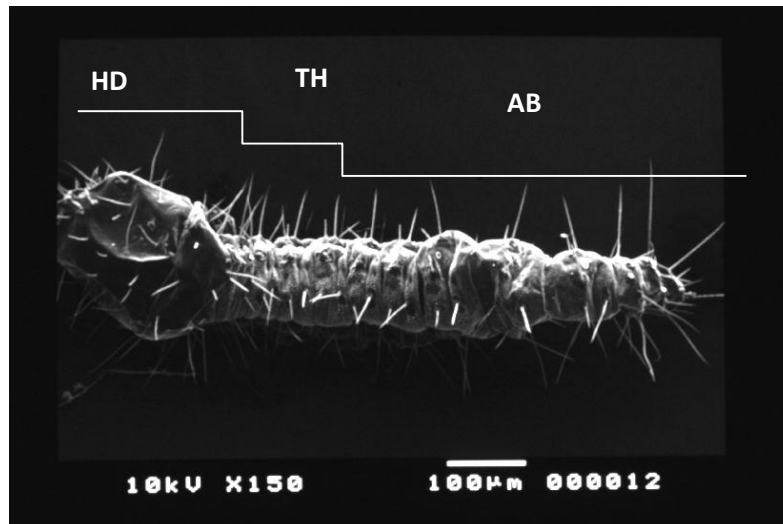


**Figura 5: Fuerza absoluta.** Gráfico estadístico de barras de los resultados de la Fuerza en N (Newtons) comparada con el peso de los diferentes estadios larvales (I, II, III, IV). Las líneas de error hacen referencia a la desviación estándar de los datos experimentales.

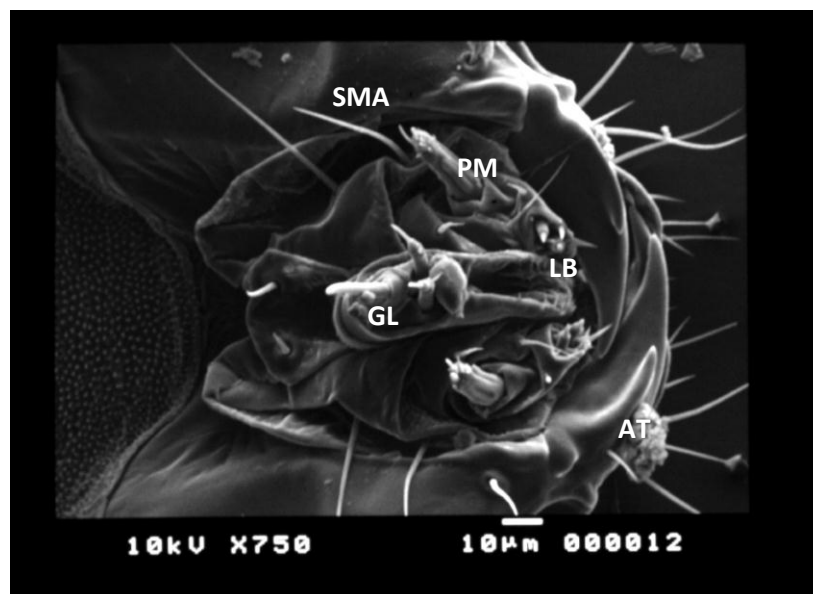
## FUERZA RELATIVA



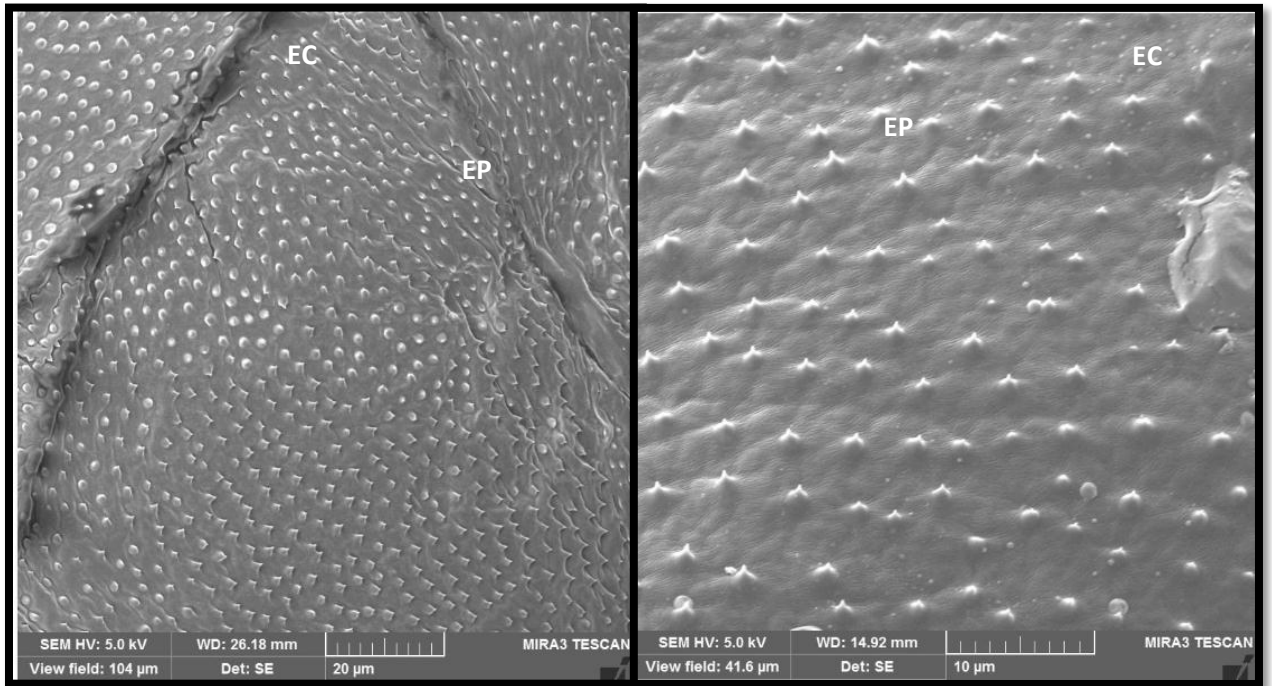
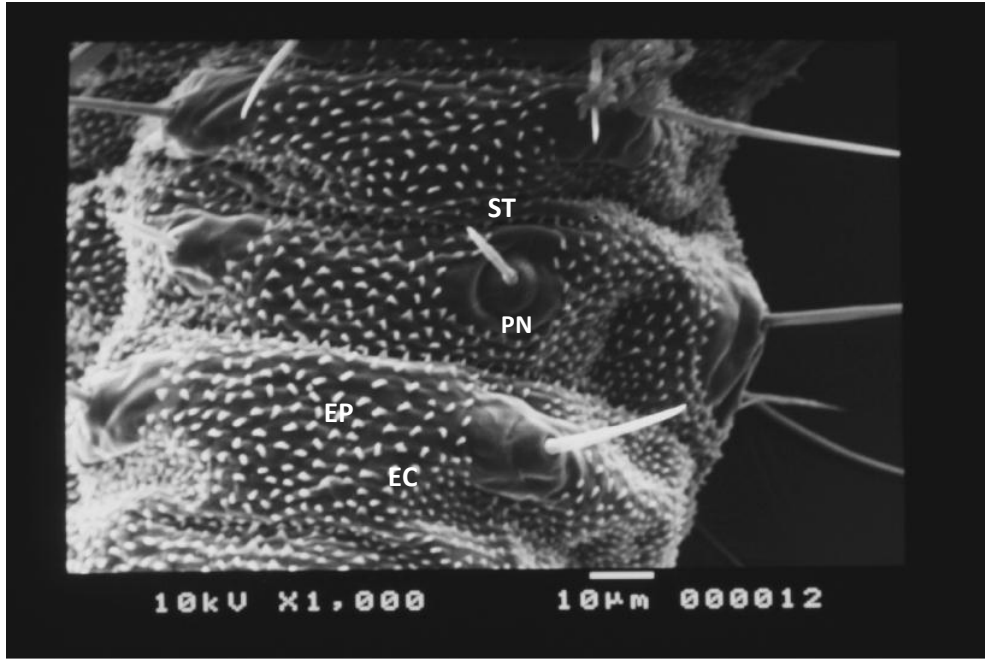
**Figura 6:** Fuerza relativa. Gráfico estadístico de barras de los resultados de la relación entre la Fuerza (gramos.fuerza sobre gramos) dividido para el peso (en gramos) de los diferentes estadios larvales (I, II, III, IV). Las líneas de error hacen referencia a la desviación estándar de los datos experimentales.



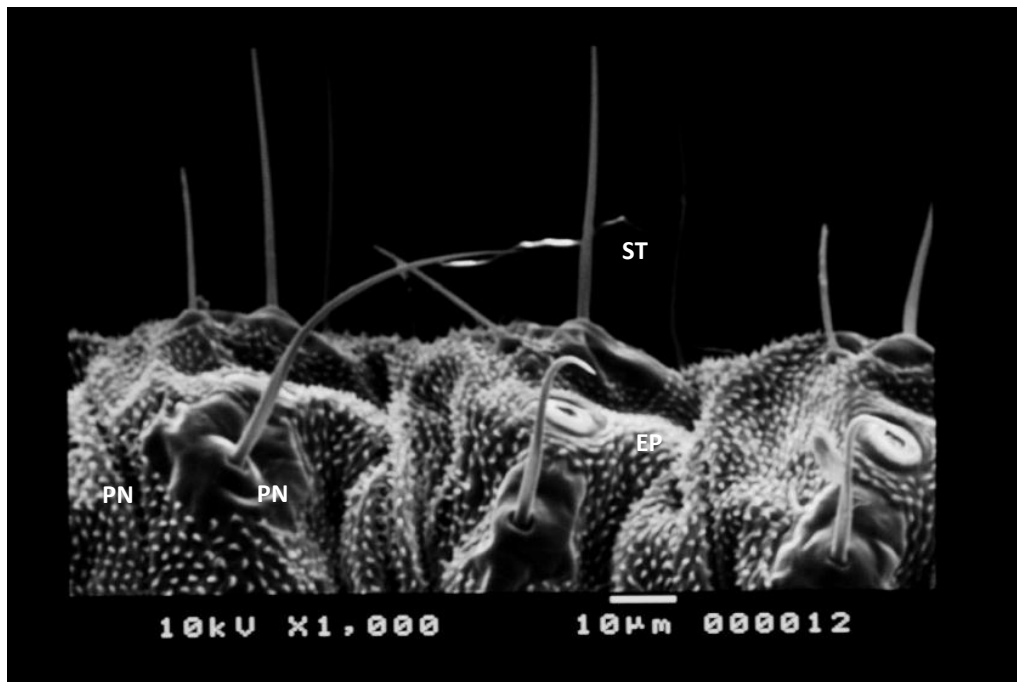
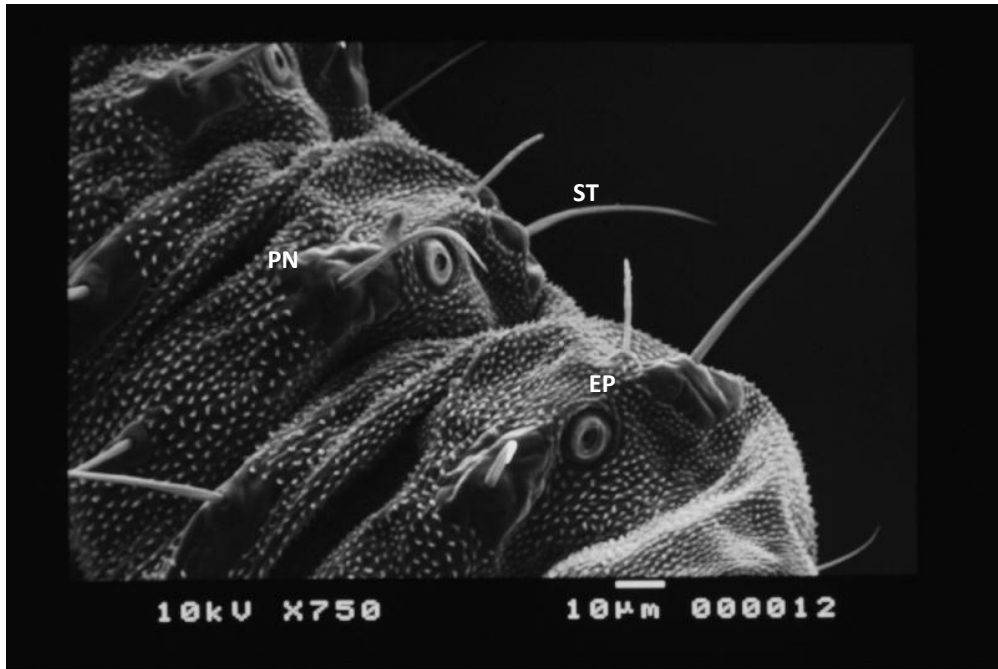
**Figura 7:** Microfotografía electrónica. Morfología externa de la larva de la polilla de la papa *T. solanivora* en primer estadio, sin fijar. El cuerpo de la larva está constituido por la cabeza (HD), tórax (TH) y abdomen (AB), llega a medir aproximadamente 1 mm de longitud.



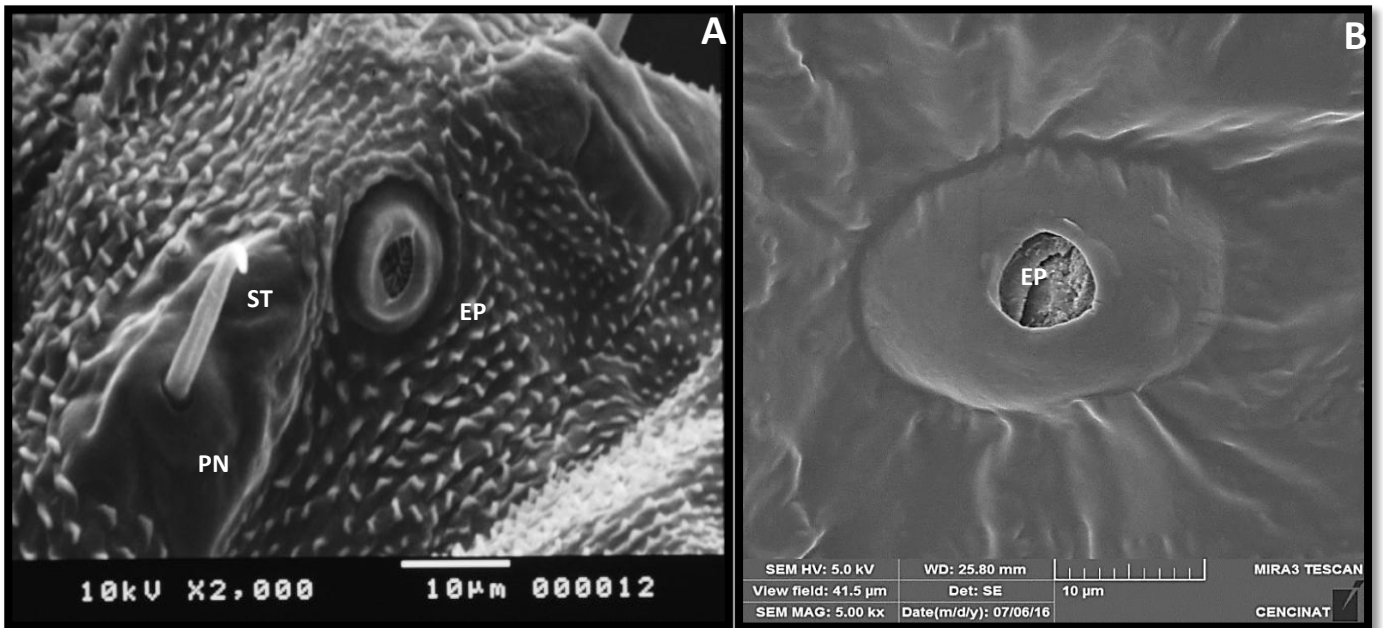
**Figura 8:** Microfotografía electrónica. Morfología mandibular de la larva de primer estadio: palpo maxilar (PM), labro(LB), setas mandibulares anteriores (SMA), antena (AT), gula (GL) la proporción mandibular mide aprox. 225-250  $\mu\text{m}$  x 150-200  $\mu\text{m}$ . T= 24°C, sin fijar.



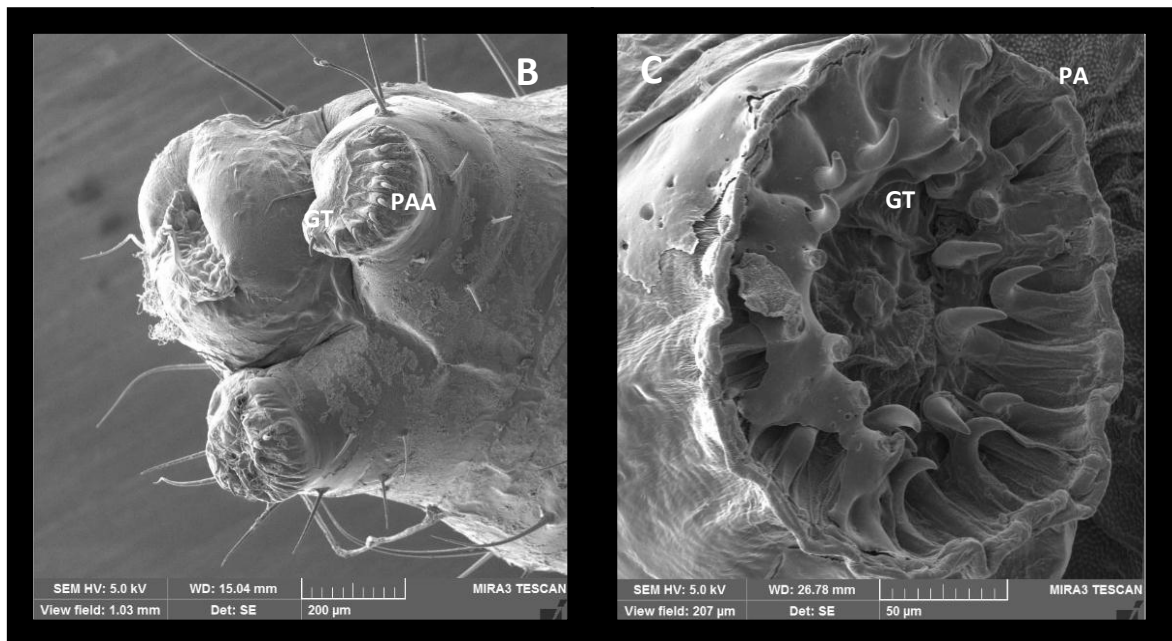
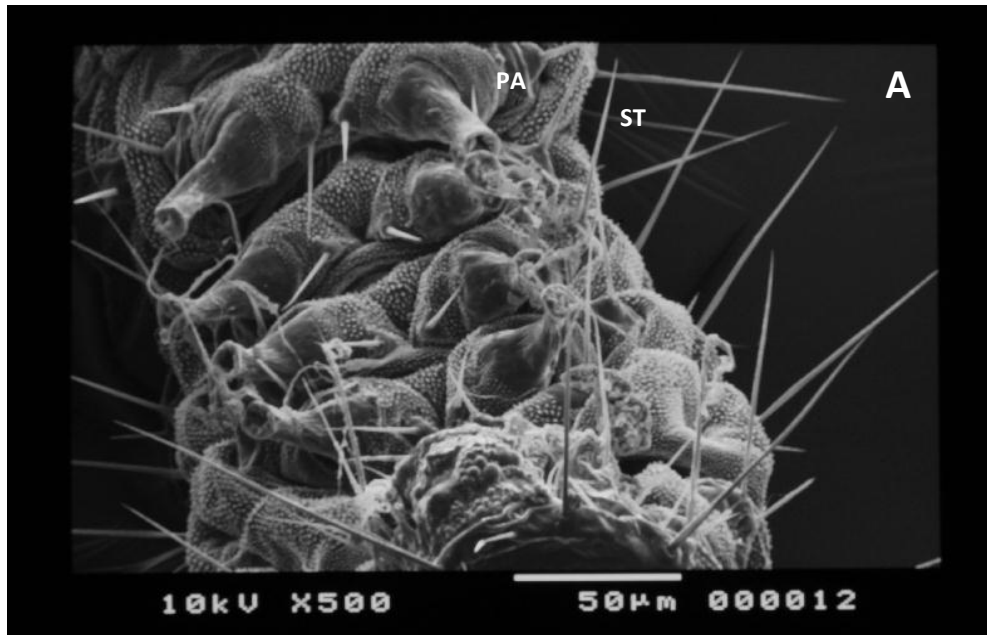
**Figura 9:** Microfotografías electrónicas. Estructura de la epicutícula (EC), conformada por pináculos (PN), setas (ST) y pequeñas espículas (EP). Proceso de fijación descrito.



**Figura 10.** Microfotografías electrónicas. Porción abdominal anterior. Ubicación de los espiráculos (EP) y pináculos (PN) con setas (ST) en el cuerpo larval.. *T. solanivora*, T= 24°C, sin fijar.



**Figura 11.** “A”, Imagen magnificada, se identifica uno de los espiráculos (EP) de la larva de *T. solanivora* en primer estadio mide aproximadamente 15  $\mu$ m de diámetro externo y 5  $\mu$ m de diámetro interno, pináculos (PN) y setas (ST), longitud de la larva 0.8 mm. “B”, Imagen magnificada, espiráculo de la larva de *T. solanivora* en tercer estadio mide aproximadamente 30  $\mu$ m de diámetro externo y 10  $\mu$ m de diámetro interno, longitud de la larva 5.5 mm.



**Figura 12:** Microfotografías electrónicas. “A” Morfología externa, segmento abdominal anterior de la larva, se pueden observar setas (ST) y pares de patas falsas o propatas (PA). T= 24°C, sin fijar. “B” segmento abdominal posterior, propatas o patas falsas anales (PAA), ganchos terminales (GT) “C” Morfología de ganchos terminales (GT) en las patas falsas o propatas abdominales (PA) de *T. solanivora*. T=20°C, protocolo de fijación descrito.

## TABLAS

**Tabla 1:** Duración (días) del ciclo larval de la polilla de la papa *Tecia solanivora* en laboratorio a partir del día 10 de la eclosión de las larvas, a 18 - 20°C. (N= número de repeticiones con cámaras de infestación que contienen 10 papas y 100 huevos)

ESTADIOS	N	DIAS
I	8	10
II	8	15
III	8	23
IV	8	31

**Tabla 2:** Medias de los valores energéticos en Joules en el desarrollo de los estadios larvales de *T. solanivora*. y la relación con el peso promedio. (N= número de réplicas, n= número de individuos)

<b>ESTADIO</b>			<b>ENERGÍA</b>		<b>Peso promedio</b>	
	<b>N</b>	<b>n</b>	media (J.ind <sup>-1</sup> )	Desviación estándar	<b>Larvas</b> <b>mg</b>	<b>J.mg<sup>-1</sup></b>
<b>I</b>	2	1600	0.2703	0.0233	0.0456	5.9285
<b>II</b>	2	60	5.987	0.7889	2.8	2.138
<b>III</b>	2	60	16.678	0.1306	7.7	2.166
<b>IV</b>	2	35	11.568	0.1604	27.12	0.427

**Tabla 3:** Estadísticos descriptivos de los datos de rendimiento energético, en larvas de estadios I, II, III y IV. (N= número de réplicas)

<b>ESTADIO</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>N</b>
I	5.9285	0.09374	2
II	2.1383	0.28175	2
III	2.1660	0.01697	2
IV	0.4265	0.00591	2
Total	2.6649	2.15354	8

**Tabla 4:** Cuadro de análisis de varianza entre los datos de pesos de las larvas y la energía requerida en Joules con un nivel de significancia de 0.05.

<b>Origen</b>	<b>Tipo III de suma de cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo corregido	32.376 <sup>a</sup>	3	10.792	487.8	<0.0001
Intersección	56.812	1	56.812	2568	<0.0001
ESTADIO	32.376	3	10.792	487.8	<0.0001
Error	0.088	4	0.022		
Total	89.276	8			
Total corregido	32.464	7			

a. R al cuadrado = 0.997 (R al cuadrado ajustada = 0.995)

**Tabla 5:** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey entre los datos de pesos de las larvas y la energía requerida en Joules con un nivel de significancia de 0.05.

HSD Tukey

(I) ESTADIO	(J) ESTADIO	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
I	II	3.7902*	0.14874	0.0001	3.18	4.39
	III	3.7625*	0.14874	0.0001	3.15	4.36
	IV	5.5020*	0.14874	0.0001	4.89	6.10
II	I	-3.7902*	0.14874	0.0001	-4.39	-3.18
	III	-.0277	0.14874	0.997	-.63	0.57
	IV	1.7118*	0.14874	0.001	1.10	2.31
III	I	-3.7625*	0.14874	0.0001	-4.36	-3.15
	II	.0277	0.14874	0.997	-0.57	0.63
	IV	1.7395*	0.14874	0.001	1.13	2.34
IV	I	-5.5020*	0.14874	0.0001	-6.10	-4.89
	II	-1.7118*	0.14874	0.001	-2.31	-1.10
	III	-1.7395*	0.14874	0.001	-2.34	-1.13

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 0.022.

**Tabla 6:** Estadísticos descriptivos de los datos de fuerza absoluta, en larvas de estadios I, II, III y IV. (n= número de individuos)

<b>Estadio</b>	<b>Media (Newtons)</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>n</b>
I	1.0077E-003	2.14380E-005	5
II	1.1484E-003	1.14359E-004	5
III	1.2287E-003	1.34741E-005	5
IV	1.4884E-003	2.40329E-005	5
Total	1.2183E-003	1.87603E-004	20

**Tabla 7:** Cuadro de análisis de varianza entre los datos de pesos de las larvas y Fuerza absoluta generada en Newtons con un nivel de significancia de 0.05

<b>Origen</b>	<b>Tipo III de</b>		<b>Media</b>		
	<b>suma de</b>	<b>Gl</b>	<b>cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
	<b>cuadrados</b>				
Modelo	6.115E-7 <sup>a</sup>	3	2.038E-7	57.031	0.0001
corregido					
Intersección	2.969E-5	1	2.969E-5	8305.486	0.0001
Estadio	6.115E-7	3	2.038E-7	57.031	0.0001
Error	5.719E-8	16	3.574E-9		
Total	3.035E-5	20			
Total corregido	6.687E-7	19			

a. R al cuadrado = 0.914 (R al cuadrado ajustada = 0.898)

**Tabla 8:** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey entre datos de los pesos de las larvas y Fuerza absoluta generada en Newtons con un nivel de significancia de 0,05

HSD Tukey

(I) Estadio	(J) Estadio	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
I	II	-1.4069E-004*	3.78110E-005	0.009	-2.48E-004	-3.25E-005
	III	-2.2105E-004*	3.78110E-005	0.001	-3.29E-004	-1.12E-004
	IV	-4.8070E-004*	3.78110E-005	0.001	-5.88E-004	-3.72E-004
II	I	1.4069E-004*	3.78110E-005	0.009	3.25E-005	2.48E-004
	III	-8.0364E-005	3.78110E-005	0.187	-1.88E-004	2.78E-005
	IV	-3.4001E-004*	3.78110E-005	0.001	-4.48E-004	-2.31E-004
III	I	2.2105E-004*	3.78110E-005	0.001	1.12E-004	3.29E-004
	II	8.0364E-005	3.78110E-005	0.187	-2.78E-005	1.88E-004
	IV	-2.5965E-004*	3.78110E-005	0.001	-3.67E-004	-1.51E-004
IV	I	4.8070E-004*	3.78110E-005	0.001	3.72E-004	5.88E-004
	II	3.4001E-004*	3.78110E-005	0.001	2.31E-004	4.48E-004
	III	2.5965E-004*	3.78110E-005	0.001	1.51E-004	3.67E-004

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 3.574E-9.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

**Tabla 9:** Estadísticos descriptivos de los datos de fuerza absoluta, en larvas de estadios I, II, III y IV. (n= número de individuos)

<b>Estadio</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>n</b>
I	1.3018E+003	1.17343E+002	5
II	4.0509E+002	4.76632E+001	5
III	1.6107E+002	1.75732E+001	5
IV	5.5005E+001	2.84787E+000	5
Total	4.8075E+002	5.06911E+002	20

**Tabla 10:** Cuadro de análisis de varianza entre datos de los pesos de las larvas y Fuerza relativa generada en Newtons con un nivel de significancia de 0.05

<b>Origen</b>	<b>Tipo III de suma de cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Modelo corregido	4816787.186 <sup>a</sup>	3	1605595.729	392.612	0.0001
Intersección	4622409.922	1	4622409.922	1130.306	0.0001
Estadio	4816787.186	3	1605595.729	392.612	0.0001
Error	65432.350	16	4089.522		
Total	9504629.458	20			
Total corregido	4882219.536	19			

a. R al cuadrado = 0.987 (R al cuadrado ajustada = 0.984)

**Tabla 11:** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey entre datos de los pesos de las larvas y fuerza relativa generada en Newtons con un nivel de significancia de 0.05

HSD Tukey

(I) Estadio	(J) Estadio	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
I	II	8.9674E+002*	4.04451E+001	0.0001	7.81E+002	1.01E+003
	III	1.1408E+003*	4.04451E+001	0.0001	1.02E+003	1.25E+003
	IV	1.2468E+003*	4.04451E+001	0.0001	1.13E+003	1.36E+003
II	I	-8.9674E+002*	4.04451E+001	0.0001	-1.01E+003	-7.81E+002
	III	2.4402E+002*	4.04451E+001	0.0001	1.28E+002	3.59E+002
	IV	3.5009E+002*	4.04451E+001	0.0001	2.34E+002	4.65E+002
III	I	-1.1408E+003*	4.04451E+001	0.0001	-1.25E+003	-1.02E+003
	II	-2.4402E+002*	4.04451E+001	0.0001	-3.59E+002	-1.28E+002
	IV	1.0607E+002	4.04451E+001	0.078	-9.64E+000	2.21E+002
IV	I	-1.2468E+003*	4.04451E+001	0.0001	-1.36E+003	-1.13E+003
	II	-3.5009E+002*	4.04451E+001	0.0001	-4.65E+002	-2.34E+002
	III	-1.0607E+002	4.04451E+001	0.078	-2.21E+002	9.64E+000

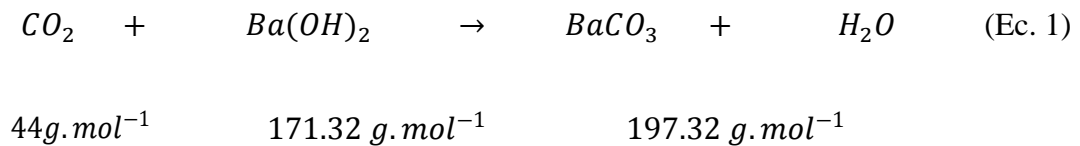
Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 4089.522.

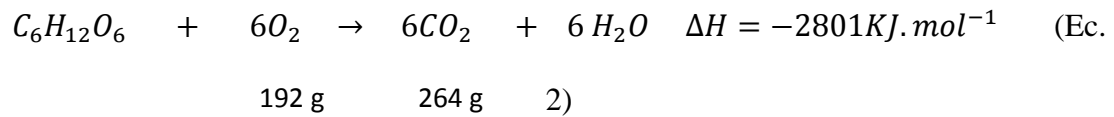
\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05

## ANEXOS

**Anexo 1:** Ejemplo del cálculo de ecuaciones estequiométricas para determinar la cantidad de CO<sub>2</sub> emitido y O<sub>2</sub> consumido.



$$44gCO_2 \frac{0.0855 g BaCO_3}{197.32g BaCO_3} = 0.019g CO_2$$



$$192 g O_2 \frac{0.019 g CO_2}{264 g CO_2} = 0.013g O_2 \rightarrow 439995.88 nMol O_2$$

$$439995.88 nMol O_2 \frac{1}{795 Larvas} = 553.4539 nMol.ind^{-1}$$

$$5.53E - 7 mol O_2 \frac{2801000J}{6 mol O_2} = 0.25 J$$

**Anexo 2:** Datos y cálculos de rendimiento energético en los cuatro estadios larvales.

	#larvas	peso rec inicial	peso rec final	diferenc. peso	carbonato	CO2	O2	MOLES	Nmol O2	nmol.ind	J	J/peso
<b>E1</b>	415	23.862	23.9284	0.0664	0.059	0.0134	0.0098	0.0003	305166.7353	735.3415	0.3188	6.9920
	813	18.6643	18.7688	0.1045	0.097	0.0221	0.0160	0.0005	501235.0762	616.5253	0.2673	5.8623
	406	18.4146	18.4757	0.0611	0.054	0.0122	0.0089	0.0003	277892.1367	684.4634	0.2968	6.5082
	804	19.3127	19.4183	0.1056	0.099	0.0223	0.0162	0.0005	506895.8419	630.4675	0.2734	5.9948
	795	42.2876	42.3731	0.0855	0.086	0.0194	0.0141	0.0004	439995.8831	553.4539	0.2500	5.2625
<b>E2</b>	30	25.903	25.976	0.073	0.073	0.0165	0.0120	0.0004	375668.9996	12522.3000	5.4295	1.9391
	30	17.929	18.017	0.088	0.088	0.0199	0.0145	0.0005	452861.2598	15095.3753	6.5452	2.3376
<b>E3</b>	30	14.027	14.25	0.223	0.223	0.0505	0.0367	0.0011	1147591.6015	38253.0534	16.5861	2.1540
	31	13.688	13.921	0.233	0.233	0.0528	0.0384	0.0012	1199053.1083	38679.1325	16.7709	2.1780
<b>E4</b>	15	13.592	13.669	0.077	0.077	0.0174	0.0127	0.0004	396253.6023	26416.9068	11.4541	0.4223
	20	13.393	13.4977	0.1047	0.105	0.0237	0.0172	0.0005	538801.9761	26940.0988	11.6809	0.4307

**Anexo 3:** Datos obtenidos de la fuerza absoluta y relativa de las larvas en los cuatro estadios larvales.

<b>Estadios</b>	<b>peso balanza</b>	<b>peso larva</b>	<b>Fuerza Absoluta</b>	<b>Fuerza N</b>	<b>Fuerza relativa</b>
I	0.9818	0.0009	0.10523044	1.03E-03	1145.84256
I	0.945	0.0007	0.10128617	9.93E-04	1418.00643
I	0.9816	0.0008	0.105209	1.03E-03	1288.81029
I	0.9442	0.0008	0.10120043	9.92E-04	1239.70525
I	0.9442	0.0007	0.10120043	9.92E-04	1416.806
II	0.956	0.0029	0.10246517	1.00E-03	346.261596
II	0.995	0.0029	0.10664523	1.05E-03	360.38733
II	0.7706	0.0028	0.12389068	1.21E-03	433.617363
II	0.7851	0.0028	0.12622186	1.24E-03	441.776527
II	0.788	0.0028	0.1266881	1.24E-03	443.40836
III	0.7706	0.0068	0.12389068	1.21E-03	178.548326
III	0.7851	0.0068	0.12622186	1.24E-03	181.907982
III	0.7706	0.0083	0.12389068	1.21E-03	146.280556
III	0.7851	0.0083	0.12622186	1.24E-03	149.033045
III	0.788	0.0083	0.1266881	1.24E-03	149.583543
IV	0.788	0.026	0.14780279	1.45E-03	55.7102811
IV	0.8103	0.026	0.15198553	1.49E-03	57.2868538
IV	0.82	0.026	0.15380493	1.51E-03	57.9726276
IV	0.8103	0.0288	0.15198553	1.49E-03	51.7172986
IV	0.82	0.0288	0.15380493	1.51E-03	52.3363999

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR DECLARACIÓN Y  
AUTORIZACIÓN

Yo, Monserrath Elizabeth León Cahuasquí, CI 1804151460 autora del trabajo de graduación titulado “Rendimiento energético y trabajo muscular en larvas de la polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae).”, previa a la obtención del grado académico de MAGISTER EN BIOLOGÍA DE LA CONSERVACIÓN, en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales:

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito 02, de Febrero de 2017

Ing. Monserrath León

C.I.: 1804151460