



**Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata**

Trabajo de Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Naturales

**Evaluación del parasitoide, *Pseudapanteles dignus*
(Hymenoptera, Braconidae) como agente de control
biológico de la “polilla del tomate”,
Tuta absoluta (Lepidoptera, Gelechiidae)**



Lic. Eliana Lorena Nieves

Directoras

Dra. Patricia C. Pereyra y Dra. Norma E. Sánchez

2012

a mi Madre

Agradecimientos

Hacer una tesis doctoral es un proceso muy personal, en el que se proyectan cuestiones no sólo académicas sino también personales. Un proceso de aprendizaje, de madurez profesional y de cambio individual. Durante todos estos años, han sido muchas las personas que merecen unas palabras de agradecimiento. Sin duda, ni esfuerzo, ni constancia, ni trabajo hubieran llegado a buen puerto de no haber contado con la colaboración y el apoyo de todos ellos.

Mis más sinceros agradecimientos a todos aquellos con quienes compartí estos años de trabajo en el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE):

En primer lugar, a mis directoras Dra. Patricia Pereyra y Dra. Norma Sánchez por su enorme esfuerzo dedicado, su confianza, generosidad y paciencia en el trabajo de todos estos años.

En especial a mis amigos del laboratorio Fernanda Cingonali, Margarita Rocca, Nicolás Cluigt, Fernanda Gugole, Lucas Marchetta y Vivina Savino con los que compartí momentos hermosos, los famosos “almuerzos terapia”, los mates, los viajes de campaña. Gracias por hacer de la rutina algo diferente, por sus risas y buena onda.

A Margarita y Nicolás gracias además, por la minuciosa revisión de la tesis. No solo por sus acertadas sugerencias sino por su valiosa amistad, por el buen humor, disposición, cooperación y complicidad en esas largas jornadas de trabajo experimental.

A los pasantes María Zubillaga, Cristian Di Battista, Denise Paoletti por su colaboración.

A todos los integrantes del grupo de Ecología de Plagas por hacer del laboratorio un clima de compañerismo y colaboración realmente extraordinario y contagioso.

Al personal de apoyo del CEPAVE por la ayuda y cordialidad de estos años. En especial a Maria Cristina Estivariz por sus ilustraciones científicas y su calidez y a Jorge Barneche por su paciencia y buena predisposición, su confianza y simpatía.

La presente tesis no hubiera sido posible sin el apoyo y las becas recibidas por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas [CONICET] del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la República Argentina. Conjuntamente a los Proyectos PIP N° 1182 del CONICET y N° 585 correspondiente

al Programa de Incentivos a Docentes-Investigadores del Ministerio de Cultura y Educación de La Nación. Gracias a la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (FCNyM - UNLP) por la formación académica y al CEPAVE por brindar el lugar de trabajo para realizar esta Tesis.

A los productores de los sitios de muestreo Norma Olivera, Raúl López, Mariana del Pino, Marcelo Maita, a todos los integrantes de “Colectivo Orgánico” por su buena predisposición y colaboración en mis tareas de campo. El trato con todos ellos me brindó un cúmulo de experiencias inolvidables. Sólo espero que, tanto este trabajo como todos los que puedan llegar a venir en el futuro, resulten de utilidad en la mejora de sus actividades. Ésta debería ser siempre la motivación de nuestro esfuerzo.

Quiero expresar mi gratitud a todas aquellas personas que de una forma u otra transitaron por mi vida brindándome su apoyo con gran generosidad:

Al Dr. Jorge Rabinovich. Su profesionalidad, espíritu de trabajo y afán de superación siempre me acompañarán como modelo. Porque, como encontré una vez de un tesista suyo citando a Bernardo de Chartres, *“si pude ver un poco mas, fue porque estuve a hombros de gigantes”*.

A Ramiro Sarandón por la colaboración en el análisis estadístico. Andrés Polack por su preocupación de hacerme llegar alimento a las colonias de laboratorio en los momentos de mayor dificultad para conseguir plantas de tomate. A Gustavo Codella por la edición fotográfica y por creer en mí.

A mi nueva amiga Paula Medone por enseñarme a que *“cuando las papas queman hay que sacarlas del horno”*, por tantas horas dedicadas al análisis de los resultados, por su apoyo incondicional, por su ejemplo y por contagiarme de tanta *ñoñez*.

A mis amigas del alma, de la vida, mis referentes femeninos, Pamela Graff, María José Tiecher, Susana Grant, Victoria Tasso, gracias por sus consejos, su apoyo, su compañía, su ejemplo. Nosotras conocemos apenas lo que la mujer salvaje “sabe”, razón y vísceras en su justa proporción. *“Mis mujeres que corren con los lobos”*, gracias por tanto amor.

A mi mejor amigo Diego Cao, siempre dispuesto a colaborar. Por su tiempo dedicado y sus valiosos consejos que tanto me han ayudado.

A mi amor por su enorme paciencia, por toda la comprensión, el apoyo, las palabras de aliento y la esperanza de una vida mejor. Jorge Villano, gracias por

enseñarme a confiar y dejarme apoyar sobre tus hombros. Esa disposición tuya a todo el tiempo hacerme querer sentir bien y a la que tanto estaré agradecida no sólo porque me ha sido de gran ayuda en los momentos más críticos, sino por la forma en que nos ha unido. El esfuerzo de este trabajo fue sin duda mucho más placentero porque tuve la suerte de ir prendida de tu mano.

A mi hermano, Pablo al que deseo lo mejor. Porque aún desde la distancia he recibido siempre su cariño. Una mente brillante con un gran corazón. Que puedas lograr todo lo que te propongas y nunca dejes de luchar por tus sueños.

Finalmente, quiero agradecer infinitamente a mi madre María Ester por su apoyo constante. En las buenas y en las malas, en las fáciles y en las difíciles, en las posibles y en las imposibles. Ha constituido el pilar sobre el que siempre me apoyé cuando surgieron dificultades, ofreciendo sus oídos cuando necesité ser escuchada así como sus palabras cargadas de consejos y protección incondicional como sólo una madre sabe brindar. Por eso mi más profundo agradecimiento y la dedicación de todo el esfuerzo que encierra este trabajo.

Índice

Resumen.....	1
Abstract.....	5
Capítulo 1.....	8
Introducción General.....	8
Capítulo 2.....	17
Materiales y Métodos Generales.....	17
Área de estudio	17
Cría de los insectos	22
Cría del hospedador <i>Tuta absoluta</i>	22
Cría del parasitoide <i>Pseudapanteles dignus</i>	25
Capítulo 3.....	28
Parámetros demográficos.....	28
Introducción.....	29
Materiales y Métodos.....	30
Desempeño de <i>P. dignus</i> desarrollado en distintos estadios larvales de <i>T. absoluta</i>	31
Análisis estadístico.....	36
Resultados.....	36
Tiempo de desarrollo	36
Longevidad	38
Mortalidad.....	40
Supervivencia.....	40
Expectativa de vida	41
Características reproductivas	42
Parámetros demográficos.....	46
Discusión	46
Capítulo 4.....	51
Estrategias de oviposición	51
Introducción.....	52
Materiales y Métodos.....	56
Determinación del desarrollo de huevos por pro-ovigenia o sinovigenia	56
Efecto de la edad del parasitoide y de la privación de hospedadores sobre la carga de huevos	58
Análisis estadístico.....	58
Resultados.....	59
Determinación del desarrollo de huevos por pro-ovigenia o sinovigenia.	59

Efecto de la edad del parasitoide y de la privación de hospedadores sobre la carga de huevos	60
Discusión	62
Capítulo 5	66
Superparasitismo	66
Introducción.....	67
Materiales y Métodos.....	71
Estudios en laboratorio.....	71
Estudios en condiciones de campo.....	71
Análisis de los datos de laboratorio y campo	73
Resultados.....	75
Estudios en laboratorio.....	75
Estudios en condiciones de campo.....	82
Discusión	88
Capítulo 6	92
Impacto del parasitismo sobre poblaciones naturales de <i>Tuta absoluta</i>	92
Introducción.....	93
Materiales y Métodos.....	94
Resultados.....	96
Discusión	99
Capítulo 7	102
Consideraciones finales.....	102
Referencias.....	106

Índice de Figuras

Figura 1.1. Enemigos naturales de las plagas. a) Coleóptero depredador de pulgones. b) Arácnido depredador generalista. c) Hongo entomopatógeno atacando lepidóptero.	9
Figura 1.2. “Polilla del tomate” <i>Tuta absoluta</i> . a) Daño en foliolo y b) daño en fruto del estado larval (Fuente: Deputación Pontevedra 2012) c) Adulto.....	10
Figura 1.3. Ciclo biológico de <i>P. dignus</i> sobre la “polilla del tomate” <i>T. absoluta</i> en el tomate <i>Lycopersicon esculentum</i>	12
Figura 1.4. <i>Pseudapanteles dignus</i> a) Adulto sobre mina producida por larva de <i>T. absoluta</i> en foliolo de tomate. b) Larva 3 saliendo de larva <i>T. absoluta</i> para empupar.	14
Figura 2.1. Ubicación del Cinturón Hortícola de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina. a) mapa de la Argentina, b) de la provincia de Buenos Aires y c) partidos que pertenecen al Cinturón Hortícola de La Plata. d) Tipos de invernáculos presentes en la zona. (Fuente: García 2012)	18
Figura 2.2. Imagen satelital de la zona de invernáculos y cultivos a cielo abierto del Cinturón Hortícola de La Plata.	18
Figura 2.3. Finca del tipo convencional intensivo. Obsérvese la gran dimensión del invernáculo con un solo tipo de cultivo y la ausencia de plantas espontáneas.	20
Figura 2.4. Finca del tipo convencional de bajos insumos. Obsérvese la presencia intercalada de plantas de presencia espontánea.	20
Figura 2.5. Finca del tipo Orgánico. Obsérvese el desarrollo de plantas de presencia espontánea y flores.	21
Figura 2.6. Finca del tipo orgánica con una gran diversidad de cultivos y vegetación espontánea. De izquierda a derecha, dentro del invernáculo: tomate, pimiento, vegetación espontánea, lechuga; fuera del invernáculo: vegetación espontánea, maíz.....	21
Figura 2.7. Foliolos con “daño fresco” producido por larvas de <i>T. absoluta</i> recolectados en campo.....	22
Figura 2.8. Jaulas de voile con adultos de <i>T. absoluta</i> con plantines de tomate para la oviposición.....	23
Figura 2.9. a) Reemplazo de plantines para la oviposición de los adultos de <i>T. absoluta</i> . b) Recipientes plásticos con plantines con huevos retirados de las jaulas. .	24

Figura 2.10. Mantenimiento de larvas de <i>T. absoluta</i> en folíolos de tomate dentro de bandejas plásticas hasta la obtención de pupas.....	24
Figura 2.11. Unidades de oviposición con adultos de <i>P. dignus</i> parasitando larvas de <i>T. absoluta</i> sobre hojas de tomate.....	25
Figura 2.12. Detalle de unidades de oviposición a) obsérvese pincelada de miel pura sobre la pared, y b) adulto caminando sobre florero con larvas para parasitar, (círculo rojo).	26
Figura 2.13. a) Cocones individualizados en cápsulas de Petri. b) Detalle de adulto de <i>P. dignus</i> recién emergido (círculo rojo), c) Detalle cocón del cual ya emergió el adulto.	27
Figura 3.1. Curvas de supervivencia específica por edad en días (l_x) de dos cohortes del parasitoide <i>P. dignus</i> desarrolladas sobre distintos estadios larvales del hospedador <i>T. absoluta</i> . (— L_1 - L_2 : Cohorte desarrollada sobre los estadios L_1 - L_2), (--- L_3 - L_4 : Cohorte desarrollada sobre los estadios L_3 - L_4). H= Huevo; L= Larva; P= Pupa; A= Adulto.	41
Figura 3.2. Expectativa de vida diaria de dos cohortes del parasitoide <i>P. dignus</i> desarrolladas sobre distintos estadios larvales del hospedador <i>T. absoluta</i> . (— L_1 - L_2 : Cohorte desarrollada sobre los estadios L_1 - L_2), (--- L_3 - L_4 : Cohorte desarrollada sobre los estadios L_3 - L_4). H= Huevo; L= Larva; P= Pupa; A= Adulto.	42
Figura 3.3. Número promedio de cocones (CC) producidos diariamente por hembras de <i>P. dignus</i> a lo largo de su vida, sobre distintos estadios larvales del hospedador <i>T. absoluta</i> (— L_1 - L_2 y --- L_3 - L_4).	43
Figura 3.4. Curva de supervivencia específica por edad en días (l_x) y curva de fecundidad específica por edad (m_x) (huevos hembra/hembra/día) de <i>P. dignus</i> (n= 7♀).....	44
Figura 3.5. Porcentaje de parasitismo promedio a lo largo de la vida de la hembra <i>P. dignus</i> (n= 7♀).....	45
Figura 4.1. Sistema reproductor de la hembra en insectos.	57
Figura 4.2. a) Curva de fecundidad realizada a lo largo de la vida de la hembra de <i>P. dignus</i> . b) Curvas teóricas de fecundidad realizada de diferentes especies de parasitoides. (Fuente: Jarvis et al. 2008).	59
Figura 4.3. Número de huevos (media \pm DS) en hembras de <i>P. dignus</i> de diferente edad. a) sin hospedadores, b) con hospedadores. En el día 1 las hembras permanecieron con el macho, el día 5 hubo una sola hembra por lo cual esta	

fecha no se incluyó en el análisis. Las barras con la misma letra no difieren estadísticamente (test de Tukey, $\alpha= 0,05$).....	61
Figura 5.1. Porcentaje de larvas de <i>T. absoluta</i> con 1 a 9 individuos del parasitoide en su interior.	75
Figura 5.2. Promedio (\pm ES) de larvas de <i>T. absoluta</i> monoparasitadas y superparasitadas en cada día de vida de la hembra de <i>P. dignus</i> . Letras iguales para cada día indican que no hay diferencias significativas (t de Student, $P<0,05$). A la derecha se presenta la tabla con los resultados de esta prueba.	79
Figura 5.3. Encapsulamiento hallado en larvas de <i>T. absoluta</i> con a) una, b) dos, y c) tres larvas del parasitoide <i>P. dignus</i> en su interior	79
Figura 5.4. Encapsulamiento de <i>P. dignus</i> por larvas del hospedador <i>T. absoluta</i> en relación al superparasitismo que presentan las larvas criadas en laboratorio. FE: Frecuencia de encapsulamiento, EE: Eficiencia de encapsulamiento. .	80
Figura 5.5. a) Porcentaje de hospedadores superparasitados en los distintos estadios larvales; b) Porcentaje de hospedadores que encapsularon al menos un huevo y/o larva del parasitoide en sus distintos estados larvales. Las barras con letras iguales no difieren significativamente entre sí (comparación de a pares, χ^2 , $P< 0,05$).....	81
Figura 5.6. Porcentaje de larvas de <i>T. absoluta</i> con 1 a 6 individuos del parasitoide en su interior.	82
Figura 5.7. Porcentaje de superparasitismo (barras negras) comparado con el porcentaje de parasitismo (barras grises) y la densidad de larvas de <i>T. absoluta</i> por foliolo (línea negra), en el sitio 3. a) Período 2009 con tomate de primera temporada. b) Período 2011 con tomate de segunda temporada.	85
Figura 5.8. Regresión lineal entre el porcentaje de superparasitismo de <i>P. dignus</i> y la densidad de larvas de <i>T. absoluta</i> para el período 2009 y 2011 en el sitio 3 ($y= 8,52 + 0,32x$; $R^2= 0,10$). Los datos graficados son los originales, sin transformar.....	85
Figura 5.9. Encapsulamiento de <i>P. dignus</i> en larvas de <i>T. absoluta</i> en relación al grado de superparasitismo que presentan larvas recolectadas del campo. FE: Frecuencia de encapsulamiento, EE: Eficiencia de encapsulamiento.	86
Figura 5.10. a) Porcentaje de hospedadores superparasitados en sus distintos estadios larvales en el campo. b) Porcentaje de hospedadores que encapsularon al menos un huevo y/o larva del parasitoide en sus distintos estadios larvales.	

Las barras con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí (comparación de a pares, χ^2 ; $P \leq 0,05$)	87
Figura 5.11. Larva de otra especie de parasitoide encontrada dentro de una larva de <i>T. absoluta</i> multiparasitada.....	88
Figura.6.1. Curvas de porcentaje de parasitismo y áreas bajo las curvas de densidad de larvas de <i>T. absoluta</i> (número de larvas/folículo) y de larvas parasitadas por <i>P. dignus</i> , en cultivos de tomate orgánico bajo invernáculo del Cinturón Hortícola de La Plata, durante las tres temporadas de muestreo.	98
Figura 6.2. Regresión lineal entre el porcentaje de parasitismo de <i>P. dignus</i> y la densidad de larvas/folículo de <i>T. absoluta</i> para tres temporadas de estudio en condiciones de campo ($y = 16,20 + 0,60x$; $R^2 = 0,36$). Los datos graficados son los originales, sin transformar.....	99

Índice de Tablas

Tabla 3.1. Influencia del estadio larval de <i>T. absoluta</i> sobre el tiempo de desarrollo en días (media \pm ES) de <i>P. dignus</i>	37
Tabla 3.2. Influencia del estadio larval de <i>T. absoluta</i> sobre la longevidad en días (media \pm ES) de hembras sin y con experiencia en parasitismo y machos de <i>P. dignus</i>	39
Tabla 3.3. Comparación de la longevidad en días (media \pm ES) entre hembras sin experiencia en parasitismo y machos de <i>P. dignus</i> , dentro de cada tratamiento (L ₁ -L ₂ y L ₃ -L ₄).....	39
Tabla 3.4. Comparación de la longevidad en días (media \pm ES) entre hembras sin y con experiencia en oviposición de <i>P. dignus</i> , dentro de cada tratamiento (L ₁ -L ₂ y L ₃ -L ₄)	40
Tabla 3.5. Resultados del ANOVA de medidas repetidas para el número de cocones producidos diariamente por hembras de <i>P. dignus</i> a lo largo de su vida, sobre distintos estadios larvales del hospedador <i>T. absoluta</i>	43
Tabla 3.6. Características reproductivas de las hembras del parasitoide <i>P. dignus</i> en condiciones de laboratorio (n= 7♀).....	45
Tabla 3.7. Parámetros demográficos de <i>P. dignus</i> desarrollado sobre larvas de <i>T. absoluta</i> del estadio L ₁ -L ₂ en laboratorio bajo condiciones ambientales controladas (25 \pm 2°C, 60–70% HR, 14:10 L:O)	46
Tabla 4.1. Número de huevos maduros (media \pm DS) en los ovarios de hembras de <i>P. dignus</i> de diferentes edades, sin y con hospedadores, y número de huevos depositados en los hospedadores.	60
Tabla 5.1. Número de larvas de <i>T. absoluta</i> recolectadas en cada muestreo para los tres sitios de estudio en los años 2009 y 2011. Sitio 1: manejo convencional; sitio 2: manejo orgánico con aplicación de plaguicidas permitidos; sitio 3: manejo orgánico sin aplicación de plaguicidas.	72
Tabla 5.2. Relación 1 parasitoide:1 hospedador en diferentes días de vida de las hembras de <i>P. dignus</i> que parasitaron en condiciones de laboratorio.	76
Tabla 5.3. Relación 1 parasitoide:1 hospedador encontrada en condiciones de campo para cada fecha de muestreo.	83
Tabla 6.1. Muestreos de <i>T. absoluta</i> y <i>P. dignus</i> en las tres temporadas de estudio en el Sitio 3 (orgánico, sin uso de plaguicidas) del Cinturón Hortícola de La Plata	95

Resumen

En el Cinturón Hortícola de La Plata (provincia de Buenos Aires), el cultivo de tomate constituye una de las actividades productivas más importantes, tanto en invernáculo como al aire libre. La “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae), de origen Neotropical, es la plaga clave del cultivo de tomate en esta región. El control de este insecto se lleva a cabo casi exclusivamente utilizando plaguicidas, lo que trae aparejado toxicidad sobre la salud humana y el ambiente, y efectos negativos sobre los enemigos naturales, con la consecuente disminución del control natural de la plaga. Por estas razones, se necesita explorar enfoques para el manejo basados en principios ecológicos. Entre los endoparasitoides larvales que atacan a *T. absoluta* en la provincia de Buenos Aires, *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera, Braconidae) es el dominante. Es un endoparasitoide de distribución Neártica y Neotropical, solitario y koinobionte. El conocimiento existente sobre la interacción entre este parasitoide con *T. absoluta* no es aún suficiente para concluir si el mismo constituye un buen agente de control biológico. La hipótesis central de este trabajo es que el parasitoide *P. dignus* posee atributos de su historia de vida y parámetros demográficos que le confieren potencialidad para controlar a la plaga *T. absoluta*, en tomate. El objetivo general fue estudiar aspectos fundamentales de las estrategias de su historia de vida y de su demografía, a campo y en laboratorio, con el fin de aportar bases más sólidas para evaluar su viabilidad en el Control Biológico. Se plantearon los siguientes objetivos parciales: 1) Determinar el potencial de crecimiento poblacional de *P. dignus* sobre el hospedador *T. absoluta*, a través de la estimación de parámetros poblacionales en laboratorio, 2) Evaluar el efecto del parasitismo en hospedadores de diferente edad (L_1 - L_2 y L_3 - L_4) de *T. absoluta* sobre la fecundidad y supervivencia de la hembra de *P. dignus*, 3) Determinar la estrategia de oviposición (Pro-ovigénica – Sinovigénica) de *P. dignus* sobre *T. absoluta* 4) Evaluar la existencia de superparasitismo, 5) Estimar el impacto de *P. dignus* sobre poblaciones de *T. absoluta*, en condiciones de campo.

Los estudios se realizaron en el Cinturón Hortícola de La Plata, ubicado en los alrededores de La Plata, NE de la provincia de Buenos Aires (34° 56' S, 57° 59' W). Se recolectaron larvas de *T. absoluta* en cultivos de tomate bajo cubierta, con distintos tipo

Resumen

de manejo. Para la obtención de individuos de *P. dignus*, se colectaron hojas infestadas con larvas de *T. absoluta* que fueron llevadas al laboratorio. Las colonias de ambas especies, hospedador y parasitoide, fueron mantenidas en un bioterio bajo condiciones controladas: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 60–70% HR, 14:10 L:O.

Pseudapanteles dignus tiene la capacidad de parasitar y desarrollarse en todos los estadios larvales de *T. absoluta*. No obstante, cuando se compararon los tiempos de desarrollo de dos cohortes de *P. dignus* parasitando distintos estadios larvales del hospedador *T. absoluta*, se observó que para larvas y pupas el desarrollo fue mayor sobre L_1-L_2 , aunque no hubo diferencias en el tiempo de desarrollo desde huevo a adulto ♀ entre los dos grupos. La proporción de sexos en la cohorte desarrollada L_1-L_2 fue de 0,6, significativamente sesgada hacia las hembras mientras que en las desarrolladas sobre L_3-L_4 fue de 0,07, sesgada hacia los machos. El porcentaje de mortalidad del huevo fue del 3% sobre L_1-L_2 , y del 0% sobre L_3-L_4 . La mortalidad de la L_1 de *P. dignus* sobre L_1-L_2 fue de 26%. Las pupas obtenidas de ambos grupos presentaron una mortalidad muy similar (cerca del 25%). Alrededor del 50% de los individuos llegaron al estado adulto en ambos grupos. Los parasitoides desarrollados sobre larvas L_1-L_2 del hospedador mostraron una supervivencia significativamente mayor que sobre L_3-L_4 . La expectativa de vida también fue mayor para los parasitoides criados sobre L_1-L_2 . El número promedio de cocones producidos por hembra, por día fue mayor en L_1-L_2 . En promedio, las hembras ovipusieron hasta el día 20 de su vida, y la mayoría puso el 50% de su carga de huevos a los 6 días de vida adulta. El número de huevos/♀ fue 192, el número de huevos/♀/día fue 13, y el número de huevos ♀/♀/día fue 8,49. El % parasitismo/♀ fue 47%, y el % parasitismo/♀/día fue 40%. Los parámetros reproductivos fueron: $R_0= 61$; $r_m= 0,15$; $\lambda= 1,16$; $T= 29$. Para el control biológico de una plaga, se consideran que un parasitoide es eficiente como enemigo natural, si su tasa instantánea de ataque y su r_m son mayor o igual al r_m de su hospedador, como es el caso de *P. dignus*, cuyo r_m es mayor al hallado para su hospedador *T. absoluta*. Esto resulta de gran importancia para optimizar la cría masiva y las liberaciones del parasitoide, para ser usado como agente de control biológico en programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) en los cultivos de tomate.

En cuanto a la estrategia reproductiva, *P. dignus*, con un índice de ovigenia de 0,23 muy cercano al promedio de la mayoría de las especies de los parasitoides, y una

Resumen

curva de fecundidad realizada Tipo 2, resultó una especie sinovigénica moderada. Las hembras privadas de hospedadores mostraron un aumento en la carga de huevos hacia el segundo y tercer día, mientras que las hembras con hospedadores, disminuyeron su carga de huevos casi a la mitad hacia el tercer día debido al parasitismo. La carga diaria de huevos en las hembras sin hospedadores, fue mayor que en las hembras con hospedadores, es decir, mantener a las hembras sin parasitoides durante los primeros días y esperar a que alcancen la máxima carga de huevos al momento de la liberación, permitirá optimizar el control biológico. El conocimiento de las estrategias reproductivas de las hembras parasitoides tiene implicancias directas sobre la implementación del control biológico.

En el laboratorio, las hembras de *P. dignus* superparasitaron todos los estadios larvales, sin embargo existe un predominio de monoparasitismo. El encapsulamiento del parasitoide ocurrió en larvas mono y superparasitadas. La frecuencia de encapsulamiento (FE) incrementó a medida que aumentó el número de huevos depositados por la hembra del parasitoide, desde un 28% en las larvas monoparasitadas, a 91% con cinco parasitoides por hospedador. La eficiencia de encapsulamiento (EE) aumentó levemente entre uno y tres parasitoides por larva hospedadora, y alcanzó el valor máximo con cinco parasitoides. Del total de larvas parasitadas, los mayores porcentajes de superparasitismo se registraron en los estadios L_2 y L_3 , y a su vez, fueron los que exhibieron mayor capacidad de encapsulamiento. Al igual que en el laboratorio, pero aún más marcadamente, en el campo predominó el monoparasitismo. El encapsulamiento (FE) incrementó a medida que aumentó el número de huevos depositados en el hospedador, de 9% en larvas monoparasitadas, a 75% con cuatro parasitoides por hospedador. Si bien la respuesta al encapsulamiento por parte de las larvas de *T. absoluta* aumentó con el superparasitismo, su eficiencia cayó bruscamente cuando el número de parasitoides superó los tres individuos. Las larvas L_4 fueron las menos superparasitadas, mientras que las L_1 - L_2 , las que más encapsularon. El superparasitismo y el encapsulamiento por parte del hospedador son dos procesos que pueden afectar la cría de un parasitoide. La elevada competencia entre larvas, así como altas tasas de encapsulamiento pueden obstaculizar la cría en masa de un enemigo natural en el laboratorio. Una mayor comprensión del superparasitismo podrá contribuir a mejorar los programas de control biológico, tanto en lo vinculado a la cría en masa, como a la efectividad de control en el campo. En *P. dignus*, el superparasitismo es un

Resumen

fenómeno poco frecuente en el campo, y controlable en el laboratorio mediante condiciones apropiadas de cría. Esto permitiría reducir la frecuencia de encapsulamiento, y por consiguiente aumentar la supervivencia de los descendientes, y hacer más exitosa una cría masiva para posteriores liberaciones aumentativas.

En el campo, existió parasitismo a todo lo largo del ciclo del cultivo, en las tres temporadas estudiadas, tanto en tomate de primera como en el de segunda, lo que se traduce en una gran sincronía temporal entre la aparición de la plaga en el cultivo y la del parasitoide. Los porcentajes de parasitismo en el tomate de primera, variaron de 26 a 39%. Los porcentajes de parasitismo más altos se encontraron en el tomate de segunda, variando entre 46% y 74%. Los valores de impacto de parasitismo hallados mediante el método trapezoidal oscilaron entre 33 y 49% en tomate de primera y de 64% en tomate de segunda. Estos resultados indican una elevada mortalidad causada por la población del parasitoide sobre la de su hospedador. Se observó una relación densoindependiente entre el porcentaje de parasitismo causado por *P. dignus* y la densidad de larvas de *T. absoluta*. Este parasitoide mostró la capacidad de atacar hospedadores tanto a bajas como a altas densidades de *T. absoluta*. *P. dignus* muestra efectividad para limitar las poblaciones de *T. absoluta* en cultivos de tomate bajo invernáculo. La presencia de sus poblaciones naturales debería ser propiciada a través de la disminución y/o eliminación del uso de plaguicidas no selectivos y de la búsqueda de otras alternativas de manejo que favorezcan su persistencia.

Abstract

In La Plata Horticultural belt (Buenos Aires province), the tomato crop is one of the most important productive activities, both in greenhouse and outdoors. The "tomato moth" *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae), of Neotropical origin, is the key pest of tomato crop in this region. The control of this insect is carried out almost exclusively, with pesticides which produce toxicity on human health and on the environment, and also cause negative effects on natural enemies, with the consequent reduction of pest natural control. For these reasons, different management approaches for its control, based on ecological principles, are needed. Among larval endoparasitoids of *T. absoluta* in Buenos Aires province, *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera, Braconidae) is the dominant species. It is a solitary koinobiont parasitoid of Nearctic and Neotropical distribution. Existing knowledge on the interaction between this parasitoid and *T. absoluta* is not sufficient yet to conclude whether or not it is a good biological control agent.

The central hypothesis of this work is that the parasitoid *P. dignus* has some attributes of the life history and demographic parameters that give it potentiality for controlling the pest *T. absoluta*, in tomato. The general objective was to study fundamental aspects of life history strategies and the demography, in the field and laboratory, in order to provide stronger basis for assessing the viability *P. dignus* for biological control. The partial objectives were: 1) determine the potential population growth of *P. dignus* on the host *T. absoluta*, through the estimation of population parameters in laboratory, 2) evaluate the effect on the fertility and survival of *P. dignus* female when parasitizing hosts of different ages (L_1 - L_2 and L_3 - L_4), 3) determine the oviposition strategy (Pro-ovigeny – Synovigeny) of *P. dignus* on *T. absoluta*, 4) evaluate the existence of superparasitism, 5) estimate the impact of parasitism of *P. dignus* on *T. absoluta* field populations.

The studies were conducted in La Plata Horticultural belt, NE of Buenos Aires province (34 ° 56 'S, 57 ° 59' W). *Tuta absoluta* larvae were collected in greenhouse tomato crops with different management practices. To obtain specimens of *P. dignus*, leaves infested with *T. absoluta* were collected in the greenhouses and taken to the

Abstract

laboratory. Colonies of both species, host and parasitoid, were kept under controlled conditions: 25 ± 2 ° C, 60-70% RH, 14:10 L: O.

Pseudapanteles dignus parasitizes and develops in all larval stages of *T. absoluta*. However, when comparing the developmental time of two cohorts parasitizing different host ages (L_1-L_2 and L_3-L_4), it was observed a longer development in larvae and pupae of *P. dignus* on L_1-L_2 hosts, but no difference was found in the develop from egg to ♀adult between the two age groups. The sex ratio of the cohort developed on L_1-L_2 hosts was 0.6, significantly biased towards females, whereas in those developed on L_3-L_4 hosts was 0.07, biased towards males. The egg mortality was 3% on L_1-L_2 , and 0% on L_3-L_4 hosts. Mortality of L_1 of *P. dignus* was 26% on L_1-L_2 hosts. Pupae obtained from both groups had similar mortality (25%). About 50% of individuals reached the adult stage in both cohorts. Parasitoid larvae developed on L_1-L_2 hosts showed significantly higher survival than those on L_3-L_4 . Life expectancy was also greater for parasitoids reared on L_1-L_2 . The average number of cocoons per female per day was higher on L_1-L_2 hosts. On average, females laid eggs until the 20th day of his life as adult, and laid 50% of the total eggs at 6th day. The number of eggs/♀ was 192, the number of eggs/♀/day was 13 and the number of eggs ♀/♀/day was 8.49. The parasitism/♀ were 47%, and parasitism/♀/day was 40%. Reproductive parameters were: $R_0= 61$, $r_m= 0.15$, $\lambda= 1.16$, $T= 29$. A parasitoid is considered efficient for biological control when its r_m is greater or equal to the r_m of its host; this is the case of *P. dignus*, which r_m is higher than the r_m of *T. absoluta*.

Regarding reproductive strategies, *P. dignus*, had an ovigeny index of 0.23, very close to the average of most parasitoids species, and a Type 2 fertility curve, which means that this species is moderate sinovigenic. The daily egg load of females without hosts, was higher than in females with hosts. Host privated females increased the egg load in the second and third days, while females with hosts, decreased the egg load to almost a half by the third day, due to parasitism. This means that keeping females without hosts during the first days and wait a maximum egg load for releasing time would optimize biocontrol. Knowledge of the reproductive strategies of parasitoids has direct implications for biological control implementation.

Females of *P. dignus* superparasitized all larval stages in the laboratory, but monoparasitism were dominant. Encapsulation of parasitoid larvae occurred in mono and superparasitized host larvae. The frequency of encapsulation (FE) increased with

Abstract

the number of eggs laid, from 28% in monoparasitized larvae, to 91% with five parasitoids per host. The encapsulation efficiency (EE) increased slightly, at one to three parasitoids per host larva, and reached the maximum at five parasitoids per host. The highest percentages of superparasitism occurred in stages L_2 and L_3 , and also, they showed a greater capacity of encapsulation. Monoparasitism was predominant in the field as well as in the laboratory. Encapsulation (FE) increased with the number of eggs laid, from 9% of monoparasitized host, to 75% with four parasitoids per host. Although response to encapsulation increased with superparasitism, the efficiency declined when the number of parasites was greater than three. L_4 stadium was less superparasitized, while L_1 and L_2 were more encapsulated. Superparasitism and host encapsulation are two processes that can affect a parasitoid mass rearing. Competition among larvae, and high rates of encapsulation may hinder mass rearing of natural enemies in the laboratory. A greater understanding of superparasitism may contribute to enhance biological control programs, in terms of mass rearing and to the effectiveness in the field. Superparasitism by *P. dignus* is a rare phenomenon in the field, and it is controllable in the laboratory under appropriate breeding conditions. This would reduce the frequency of encapsulation, increasing the survival of the offspring.

There was parasitism throughout the crop cycle, in the three seasons, with a high synchrony between the occurrence of the pest and the parasitoid. Percentages of parasitism (early tomato) ranged from 26 to 39% and the highest values were found in a late tomato (between 46% and 74%). Values of impact of parasitism found using the trapezoidal method ranged between 33 and 49% in the early tomato and 64% in the late tomato. These results indicate a high mortality caused by the parasitoid on host populations. This parasitoid showed the ability to attack hosts either at low and at high densities and data for three seasons analyzed together indicated a direct density dependence of parasitism, which is the percentage of parasitism caused by *P. dignus* increased with host density. *P. dignus* showed effectiveness in limiting populations of *T. absoluta* in greenhouse tomato crops. The presence of *P. dignus* natural populations should be enhanced through the reduction and/or elimination of non-selective pesticides and other alternative management practices that promote its persistence.

Capítulo 1

Introducción General

En el Cinturón Hortícola de La Plata (provincia de Buenos Aires, Argentina) el cultivo de tomate constituye una de las actividades productivas más importantes, tanto en invernáculo como al aire libre (Corvo Dolcet 2005). El tomate, *Lycopersicon esculentum* Miller (Solanaceae) es una de las principales hortalizas de la Argentina debido al consumo (16 kg/persona/año), al valor económico de la producción, y a la superficie sembrada: 16.800 ha según FAO (2010). Se estima que la superficie de este cultivo en el Cinturón Hortícola de La Plata y en el Gran Buenos Aires es de 2.608 ha (CHFBA 2005; Barsky 2005; García 2010, citados por Stupino *et al.* 2012) con una producción de 70.000 t anuales (Argerich 2011).

Sin embargo, la presencia de numerosos artrópodos plaga (polilla del tomate, mosca blanca, trips, etc.) produce una importante disminución en su rendimiento. La modalidad convencional de control de estas plagas se basa en el uso de plaguicidas (Polack 1997, García *et al.* 2005, Lietti *et al.* 2005), lo cual trae aparejado problemas de diversa índole: residuos tóxicos en los productos, intoxicaciones crónicas y agudas de consumidores y trabajadores rurales, desarrollo de resistencia de las plagas, destrucción de fauna silvestre y organismos benéficos (polinizadores, enemigos naturales, etc.), e impactos negativos sobre el medio ambiente (aguas subterráneas y superficiales, suelo y aire) (Pimentel & Lehman 1993; van Lenteren & Bueno 2003).

Una alternativa al control químico de las plagas puede darse a través del control biológico por enemigos naturales, que consiste en la utilización de éstos para reducir las poblaciones plaga a densidades por debajo del nivel de daño económico (Debach & Rosen 1991; Bellows & Fisher 1999; Wajnberg *et al.* 2008). El control biológico es considerado uno de los pilares más importantes del Manejo Integrado de Plagas y de la agricultura sustentable, por tratarse de una estrategia no contaminante y de bajo impacto ambiental (Kogan 1986; Pimentel & Lehman 1993).

Entre los enemigos naturales de las plagas se encuentran los parasitoides (dípteros e himenópteros), los depredadores (arañas, ácaros, neurópteros, etc.) y los patógenos (bacterias, virus, hongos, protozoos y nemátodos) (Figura 1.1). Los parasitoides se caracterizan, en su mayoría, porque dependen del hospedador para desarrollarse en sus estados inmaduros, consumen su cuerpo y luego empupan fuera de él (Godfray 1994). El parasitoide adulto emerge del cocón y tiene vida libre; se alimenta de polen, néctar, agua y fluidos del hospedador, y busca activamente hospedadores para la oviposición (Hawkins 1994).



Figura 1.1. Enemigos naturales de las plagas. a) Coleóptero depredador de pulgones. b) Arácnido depredador generalista. c) Hongo entomopatógeno atacando lepidóptero.

La “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae), de origen Neotropical, es la plaga clave del cultivo de tomate en esta región y está considerada la más importante de este cultivo en la Argentina y en varios países de América del Sur (Vargas 1970; Fernández y Montagne 1990; Uchoa-Fernandes & De Campos 1993; Vercosa de Magalhaes *et al.* 2001) (Figura 1.2). Recientemente, debido a su elevado potencial biótico, esta especie ha invadido varios países de Europa y del norte de África (Desneux *et al.* 2010, Luna *et al.* 2012). Es un microlepidóptero multivoltino que se alimenta de hojas, frutos, flores, brotes y tallos del tomate, donde cava galerías. Su daño provoca pérdidas del 33 al 90% de la producción (Larrain 1986; Picanco *et al.* 1995; Consoli *et al.* 1998) y se manifiesta al comer el mesófilo de las hojas haciendo minas que restan capacidad fotosintética al cultivo, y en el perjuicio que

causa al penetrar directamente en los frutos dejando marcas indeseables que disminuyen su valor comercial.

El control de este insecto se lleva a cabo casi exclusivamente, utilizando plaguicidas neurotóxicos y reguladores del crecimiento. En los casos en que se realizan monitoreos previos, se utiliza un umbral de acción de dos folíolos con daño fresco por planta (Polack y Brambilla 2000). Sin embargo, se ha reportado baja eficacia del control químico, debido a los hábitos minadores de *T. absoluta* y al desarrollo de resistencia en algunas poblaciones (Ecole *et al.* 2001; Siqueira *et al.* 2000; García *et al.* 2005; Lietti *et al.* 2005). Además de la toxicidad que generan los plaguicidas sobre la salud humana y el ambiente, su uso excesivo tiene efectos negativos sobre los enemigos naturales, con la consecuente disminución del control natural de la plaga. Por estas razones, se necesita explorar otros enfoques para el manejo de *T. absoluta* basados en principios ecológicos.



Figura 1.2. “Polilla del tomate” *Tuta absoluta*. a) Daño en foliolo y b) daño en fruto del estado larval (Fuente: Deputación Pontevedra 2012) c) Adulto.

Capítulo 1. Introducción General

Se han reportado más de 20 especies de parasitoides primarios de *T. absoluta* (Lange & Bronson 1981; De Santis 1983; Uchoa-Fernandes & De Campos 1993; Consoli *et al.* 1998; Faria *et al.* 2000; Colomo *et al.* 2002; Luna *et al.* 2004), que comprenden cinco gremios definidos por Mills (1994) como: 1) parasitoides de huevos, 2) endoparasitoides de larvas, 3) ectoparasitoides de larvas, 4) parasitoides de huevo a larva y 5) parasitoides de larva a pupa.

Entre los endoparasitoides larvales que atacan a *T. absoluta* en la provincia de Buenos Aires, *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera, Braconidae) es el dominante (Figura 1.3) (Rojas 1981; De Santis 1983; Botto *et al.* 1998). Es un endoparasitoide solitario, nativo, y sus hospedadores son larvas de lepidópteros Gelechiidae minadores de hojas y tallos. Tiene distribución Neártica y Neotropical (Colomo *et al.* 2002; Polack *et al.* 2002).

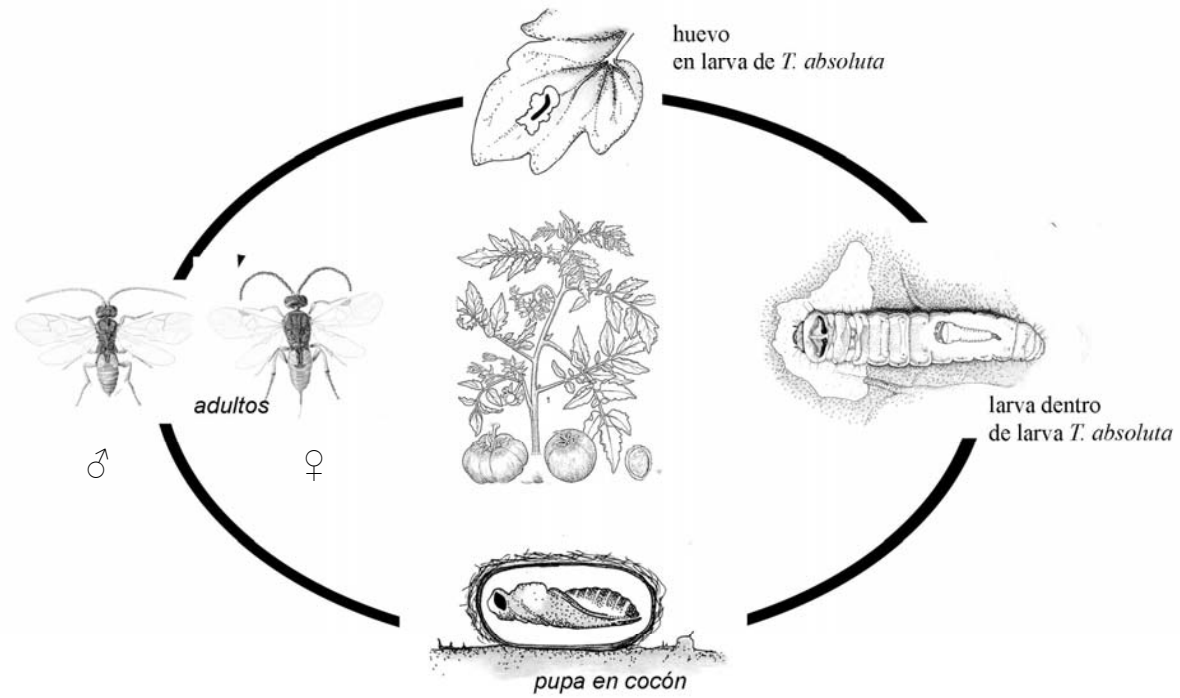


Figura 1.3. Ciclo biológico de *P. dignus* sobre la “polilla del tomate” *T. absoluta* en el tomate *Lycopersicon esculentum*.

Un principio básico del control biológico es que un enemigo natural efectivo contribuirá a reducir la densidad de la plaga y a estabilizar la interacción entre ambas poblaciones. Se considera que un buen agente de control biológico tiene un ciclo de vida corto, una alta tasa de incremento poblacional, y una elevada tasa de ataque (Bellows & van Driesche 1999).

El grupo de Ecología de Plagas del CEPAVE ha realizado estudios sobre la interacción entre el parasitoide *P. dignus* y el hospedador *T. absoluta*. Se determinó la comunidad natural de parasitoides de la polilla del tomate (Luna *et al.* 2004), el tipo de respuesta funcional del parasitoide (Sánchez *et al.* 2005; Luna *et al.* 2007), la disposición espacial a campo del parasitoide y la polilla (Pereyra *et al.* 2004), el patrón de parasitismo a distintas escalas espaciales en el campo (Sánchez *et al.* 2009), y su interacción con el parasitoide larval *Dineulophus pthorimaeae* (Hymenoptera: Eulophidae) (Luna *et al.* 2010). Estos estudios avalan la idea de que *P. dignus* (Figura 1.4) sería un buen candidato para el control de *T. absoluta*. Entre las características ventajosas encontradas pueden mencionarse: su presencia espontánea en cultivos de tomate bajo invernáculo y al aire libre, tanto en producciones orgánicas como en convencionales con fuertes aplicaciones de plaguicidas, la elevada coincidencia espacio-temporal con *T. absoluta*, el estrecho rango específico de hospedadores, la sincronización del tiempo de desarrollo de su larva con la de su hospedador, y los elevados valores de parasitismo en condiciones naturales (Luna *et al.* 2007; Sánchez *et al.* 2009).

Pseudapanteles dignus es un parasitoide koinobionte, es decir, no detiene el desarrollo del hospedador (Askew & Shaw 1986) Sin embargo, la edad del hospedador al cual parasita puede afectar ciertas características de la historia de vida en la siguiente generación (supervivencia, fecundidad y proporción de sexos) (Thompson & Hagen 1999; Harvey *et al.* 2000; Colinet *et al.* 2005)

Ciertos aspectos del comportamiento de los parasitoides como la limitación en el número de huevos o el tiempo disponible para oviponer dan lugar a diferentes estrategias de oviposición: pro-ovigenia (cuando las hembras emergen con su complemento de huevos completo) y sinovigenia (cuando sincronizan la oogénesis con la oviposición) (Godfray 1994; Heimpel & Rosenheim 1998). Estas estrategias pueden tener diferentes implicancias en el control biológico (Gordh *et al.* 1999). Luna *et al.* (2007) sugirieron, en base a observaciones de laboratorio, que la tasa de parasitismo de

las hembras de *P. dignus* estaría más limitada por el tiempo de forrajeo que por la fecundidad.

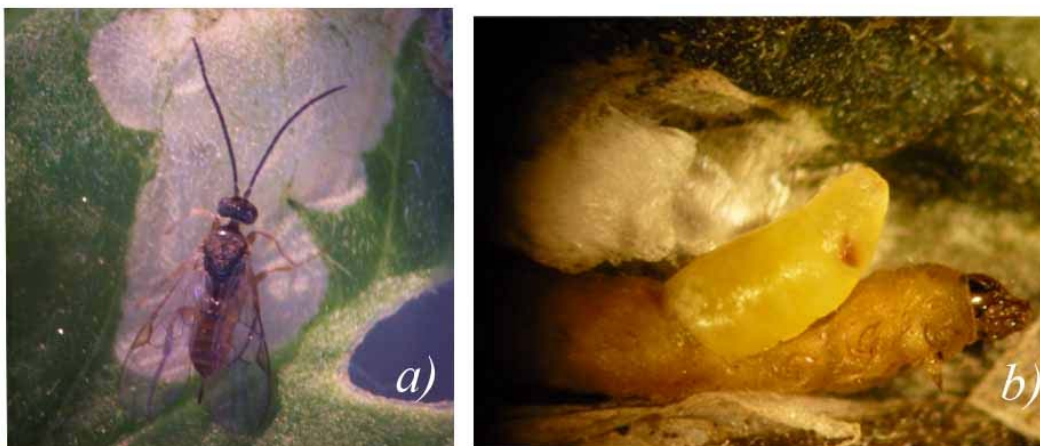


Figura 1.4. *Pseudapanteles dignus* a) Adulto sobre mina producida por larva de *T. absoluta* en foliolo de tomate. b) Larva 3 saliendo de larva *T. absoluta* para empupar.

Otro aspecto fundamental en la estrategia de oviposición de un parasitoide es impedir a otra hembra de la misma (o diferente) especie oviponer en un hospedador ya parasitado (Godfray 1994). Evitar el superparasitismo es un fenómeno adaptativo ampliamente difundido entre los parasitoides solitarios (Hubbard *et al.* 1987), debido a que la progenie de la segunda hembra tendría menor probabilidad de supervivencia. *P. dignus* es un parasitoide solitario (Luna *et al.* 2007), o sea que una larva hospedador es apta para soportar el desarrollo de un sólo parasitoide. Sin embargo, en larvas colectadas en el campo, se ha encontrado más de un huevo por hospedador.

Estos aspectos de la teoría de las estrategias de historia de vida de los parasitoides, cruciales para evaluar el desempeño de *P. dignus* como agente de control biológico, no han sido aun estudiados en profundidad.

Finalmente, además de analizar el desempeño de un parasitoide en laboratorio para evaluar su potencialidad como agente de control biológico, ya sea natural o por liberaciones aumentativas, es necesario conocer el impacto que ejerce a campo sobre las poblaciones del hospedador. Sánchez *et al.* (2009) reportaron altos porcentajes de parasitismo de *P. dignus* sobre poblaciones de *T. absoluta* al final del ciclo del cultivo de tomate. Sin embargo, se desconoce si existe sincronía entre ambas poblaciones y el impacto del parasitismo a lo largo de toda la temporada del cultivo.

Capítulo 1. Introducción General

El conocimiento existente sobre la interacción entre este parasitoide con *T. absoluta* no es aún suficiente para concluir si el mismo constituye un buen agente de control biológico.

La **hipótesis central** de esta investigación fue que el parasitoide *P. dignus* posee atributos de su historia de vida y parámetros demográficos que le confieren potencialidad para controlar a la plaga *T. absoluta*, en tomate.

El **objetivo general** fue estudiar aspectos fundamentales de las estrategias de su historia de vida y de su demografía, en laboratorio y a campo, con el fin de aportar bases más sólidas para evaluar su viabilidad en el control biológico.

A lo largo de los Capítulos que componen esta Tesis, se plantearon las siguientes hipótesis y predicciones particulares:

1. *Pseudapanteles dignus* posee parámetros demográficos que le confieren potencialidad para ser utilizado en el control biológico de la plaga *T. absoluta*. Se espera encontrar tasas de supervivencia y fecundidad que le permita un crecimiento poblacional igual o mayor que el de su hospedador.
2. La edad en que es parasitada la larva del hospedador no influirá en el desempeño futuro del parasitoide.
3. La hembra de *P. dignus* tiene una estrategia de oviposición pro-ovigénica y su carga de huevos es afectada por la edad de la hembra y la disponibilidad de hospedadores para parasitar. Se predice que la carga de huevos de la hembra al momento de su emergencia es similar a la fecundidad potencial total, que las hembras más jóvenes tienen una mayor carga de huevos y que la privación de hospedadores no afectará la carga de huevos.
4. Las hembras de *P. dignus* evitan el superparasitismo. Por lo tanto, se espera encontrar una relación 1 parasitoide:1 hospedador.
5. *Pseudapanteles dignus* es un relevante factor natural de mortalidad de las poblaciones de *T. absoluta* en los cultivos de tomate. Se espera registrar un alto impacto del parasitismo.

Capítulo 1. Introducción General

Los objetivos parciales correspondientes fueron:

1. Determinar el potencial de crecimiento poblacional de *P. dignus* sobre el hospedador *T. absoluta* a través de la estimación de parámetros poblacionales en laboratorio (Capítulo 3).
2. Evaluar el efecto del parasitismo en hospedadores de diferente edad sobre la fecundidad y supervivencia de la hembra de *P. dignus* (Capítulo 3).
3. Determinar la estrategia de oviposición (pro-ovigénica - sinovigénica) de la hembra de *P. dignus* sobre *T. absoluta* e identificar si existe un efecto de la edad del parasitoide y de la disponibilidad de hospedadores en el número de huevos maduros almacenados en los ovarios. (Capítulo 4).
4. Determinar la existencia de superparasitismo de *P. dignus* sobre las larvas de *T. absoluta*, en laboratorio y en condiciones de campo, y establecer en qué medida los huevos y las larvas del parasitoide son encapsulados por la larva hospedadora.(Capítulo 5).
5. Estimar el impacto de *P. dignus* sobre poblaciones de *T. absoluta* en condiciones de campo (Capítulo 6).

Capítulo 2

Materiales y Métodos Generales

Área de estudio

El Cinturón Hortícola de La Plata se encuentra ubicado en los alrededores de La Plata, NE de la provincia de Buenos Aires (34° 56' S, 57° 59' W), Argentina (Figura 2.1a). El área es representativa de una extensa y tradicional zona hortícola dentro de la Pampa ondulada (Figura 2.1b). El Gran La Plata comprende la zona sur del Cinturón Verde Bonaerense, que rodea y abastece al área metropolitana de Buenos Aires con verduras frescas (Benecia 1994; Le Gall & García 2010) (Figura 2.1c). No sólo es la zona más importante de Buenos Aires, sino que es además una de las más capitalizadas de la Argentina. Esto último es consecuencia de la impulsiva adopción de la denominada tecnología del invernáculo (Figura 2.1d), caracterizada por estructuras de madera recubiertas con polietileno que buscan controlar el ambiente, que demanda y depende de un gran volumen de agroquímicos (García 2011).

La región se caracteriza por la presencia de fincas de dimensiones variables (7 ha en promedio) (Benecia 1994) (Figura 2.2). El manejo se realiza a cielo abierto, bajo cubierta o mixto. Los suelos son Argiudoles, la temperatura media anual es de 15,9°C y las precipitaciones promedios anuales son de 1.092 mm (Stupino *et al.* 2012).

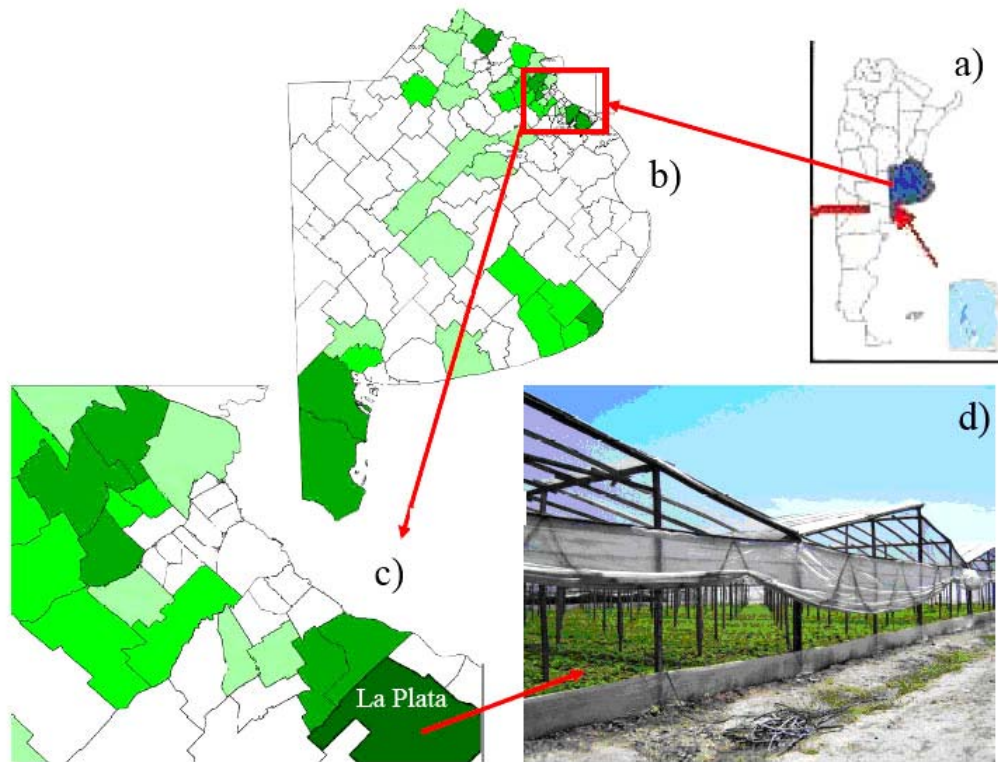


Figura 2.1. Ubicación del Cinturón Hortícola de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina. a) mapa de la Argentina, b) de la provincia de Buenos Aires y c) partidos que pertenecen al Cinturón Hortícola de La Plata. d) Tipos de invernáculos presentes en la zona. (Fuente: García 2012)



Figura 2.2. Imagen satelital de la zona de invernáculos y cultivos a cielo abierto del Cinturón Hortícola de La Plata.

La horticultura platense emplea distintos manejos que se clasifican con distintos criterios. Una clasificación refiere a manejos denominados convencionales y orgánicos. En la zona estudiada, las fincas, si bien pueden encuadrarse en tipos discretos generales, integran un gradiente de intensidad de manejo que va de sistemas convencionales intensivos a orgánicos, con intermedios denominados convencionales con bajos insumos (Stupino *et al.* 2012).

En este trabajo se seleccionaron tres fincas con cultivos de tomate bajo invernáculo. Una con manejo convencional de bajos insumos, una orgánica con aplicación de plaguicidas permitidos y una orgánica sin aplicación de plaguicidas. Las mismas se situaron en las zonas de Olmos y Colonia Urquiza y se caracterizaron en este trabajo como Sitio 1, 2 y 3, respectivamente:

Sitio 1: Finca con manejo convencional de bajos insumos.

Representa un grupo donde, en general, si bien utilizan fertilizantes o herbicidas como en los convencionales intensivos (Figura 2.3) manejan técnicas tradicionales como el riego por surco o el desmalezado físico y presentan mayor diversidad de cultivos como en el caso de los orgánicos. En general, el uso de la tierra es intensivo y es limitado el uso de insumos químicos. Los productores tienen una baja tolerancia a la vegetación espontánea (Stupino *et al.* 2012) (Figura 2.4).

Sitio 2: Finca orgánica con aplicación de plaguicidas permitidos

A diferencia de las convencionales, presenta una mayor diversidad de cultivos con rotaciones y períodos de descanso, sin utilización de fertilizantes/herbicidas sintéticos y con una mayor tolerancia de los productores orgánicos a la vegetación espontánea (Figura 2.5).

Sitio 3: Finca orgánica sin aplicación de plaguicidas.

En casos muy particulares, los productores tienen una lógica de producción orgánica y al igual que los anteriores buscan diversificar el sistema sembrando una mayor cantidad de cultivos. No utilizan ningún tipo de plaguicidas y tienen una gran tolerancia a la vegetación espontánea. Estos productores, si bien no son comunes en la zona, siguen la lógica de favorecer procesos ecológicos como la regulación biótica y el ciclo natural de nutrientes (Figura 2.6)



Figura 2.3. Finca del tipo convencional intensivo. Obsérvese la gran dimensión del invernáculo con un solo tipo de cultivo y la ausencia de plantas espontáneas.



Figura 2.4. Finca del tipo convencional de bajos insumos. Obsérvese la presencia intercalada de plantas de presencia espontánea.



Figura 2.5. Finca del tipo Orgánico. Obsérvese el desarrollo de plantas de presencia espontánea y flores.



Figura 2.6. Finca del tipo orgánica con una gran diversidad de cultivos y vegetación espontánea. De izquierda a derecha, dentro del invernáculo: tomate, pimiento, vegetación espontánea, lechuga; fuera del invernáculo: vegetación espontánea, maíz.

Cría de los insectos

Todos los experimentos y la cría de las colonias fueron llevados a cabo en el Centro Parasitológico y de Vectores (CEPAVE), La Plata, Buenos Aires, Argentina, en un bioterio bajo condiciones ambientales controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 60–70% HR, 14:10 L:O).

Cría del hospedador Tuta absoluta

La colonia de *Tuta absoluta* se formó a partir de larvas traídas del campo. Para la reposición de individuos, se colectaron folíolos de tomate con daño fresco (Figura 2.7) en cultivos del Cinturón Hortícola de La Plata (ver Área de estudio). Estos fueron llevados al laboratorio para su examinación.



Figura 2.7. Foliolos con “daño fresco” producido por larvas de *T. absoluta* recolectados en campo.

Todos aquellos folíolos que presentaron minas con la larva de *T. absoluta* en su interior fueron colocados en bandejas plásticas (20 x 12 x 5 cm). Las mismas se alimentaron, *ad libitum*, con hojas frescas de tomate hasta la formación de las pupas.

Capítulo 2. Materiales y Métodos Generales

Las pupas fueron colocadas en jaulas de *voile* (0,5 × 0,5 × 0,5 m), las cuales, en su interior contenían plantines de tomate como sitio de oviposición para los adultos emergidos (Figura 2.8). Los mismos, fueron alimentados *ad libitum*, con solución de miel. Las plantas se reemplazaron cada dos días y las extraídas con huevos se mantuvieron individualizadas en recipientes plásticos (30 x 20 x 15 cm) cubiertos con una malla fina (*voile*) para garantizar la ventilación (Figura 2.9).



Figura 2.8. Jaulas de *voile* con adultos de *T. absoluta* con plantines de tomate para la oviposición.

Capítulo 2. Materiales y Métodos Generales

Una vez emergidas las larvas (L_1) se mantuvieron en los recipientes plásticos hasta que el recurso alimenticio fuera agotado. Luego se colocaron en bandejas plásticas con tapa (20 x 12 x 5cm), sobre papel de filtro humedecido y hojas frescas de tomate *ad libitum* (Figura 2.10). Las bandejas fueron acondicionadas periódicamente hasta la obtención de las pupas, las cuales fueron colocadas en jaulas para comenzar con un nuevo ciclo.



Figura 2.9. a) Reemplazo de plantines para la oviposición de los adultos de *T. absoluta*. b) Recipientes plásticos con plantines con huevos retirados de las jaulas.



Figura 2.10. Mantenimiento de larvas de *T. absoluta* en folíolos de tomate dentro de bandejas plásticas hasta la obtención de pupas.

Cría del parasitoide *Pseudapanteles dignus*

Para la obtención de individuos de *P. dignus* se colectaron larvas de *T. absoluta* en cultivos de tomate del Cinturón Hortícola de La Plata. Estas fueron llevadas al laboratorio y alimentadas *ad libitum* con hojas de tomate. Diariamente se examinaron los individuos bajo lupa binocular y se separaron los cocones formados, dentro de los cuales se encontraban las pupas del parasitoide.

Una vez emergidos los adultos, fueron sexados a simple vista para la formación de parejas las cuales fueron colocadas en unidades de oviposición (Figura 2.11).



Figura 2.11. Unidades de oviposición con adultos de *P. dignus* parasitando larvas de *T. absoluta* sobre hojas de tomate.

Las unidades de oviposición consistieron en frascos transparentes de 1 l (20 cm de alto x 15 cm de diámetro en su parte superior y 10 cm de diámetro en su parte inferior) en cuyo interior contenían un recipiente con agua (“floreros”) con 2 a 3 hojas de tomate infestadas con las larvas de la polilla del tomate en sus correspondientes galerías. Además, contaban con una pincelada de miel pura en la parte superior del frasco para alimentar a los parasitoides adultos, y estaban cubiertos en su parte superior por una tela de malla fina para garantizar una buena ventilación (Figura 2.12).

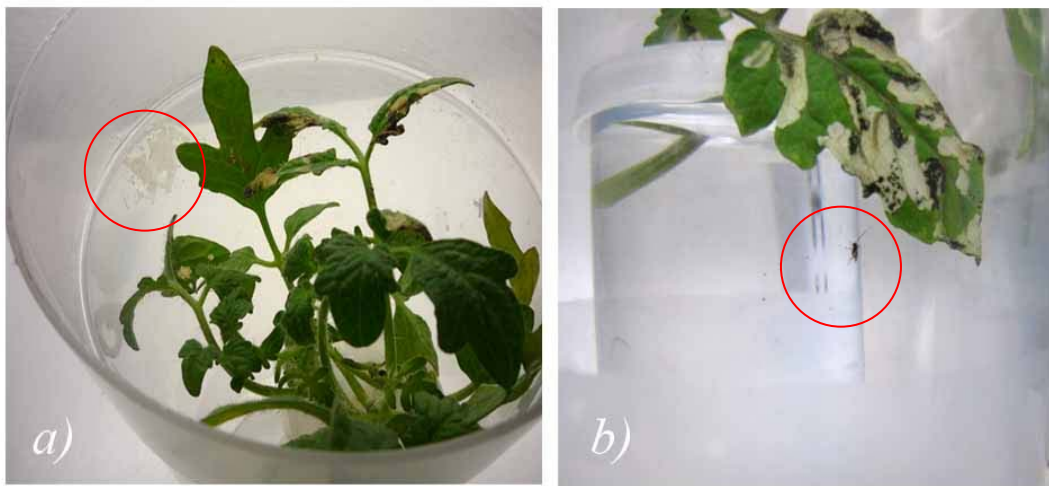


Figura 2.12. Detalle de unidades de oviposición a) obsérvese pincelada de miel pura sobre la pared, y b) adulto caminando sobre florero con larvas para parasitar, (círculo rojo).

Luego del parasitismo los adultos fueron removidos con un aspirador bucal y las larvas hospedadoras colocadas en bandejas plásticas para su seguimiento de la misma manera como se llevó a cabo en la colonia de *T. absoluta* (Figura 2.4). Las bandejas fueron acondicionadas periódicamente hasta la obtención de los cocones de *P. dignus*.

Los cocones fueron colocados individualmente en cápsulas de Petri de 10 cm de diámetro con un papel humedecido en su base para garantizar la humedad (Figura 2.13). Una vez emergidas las avispas, se aparearon para continuar el ciclo.

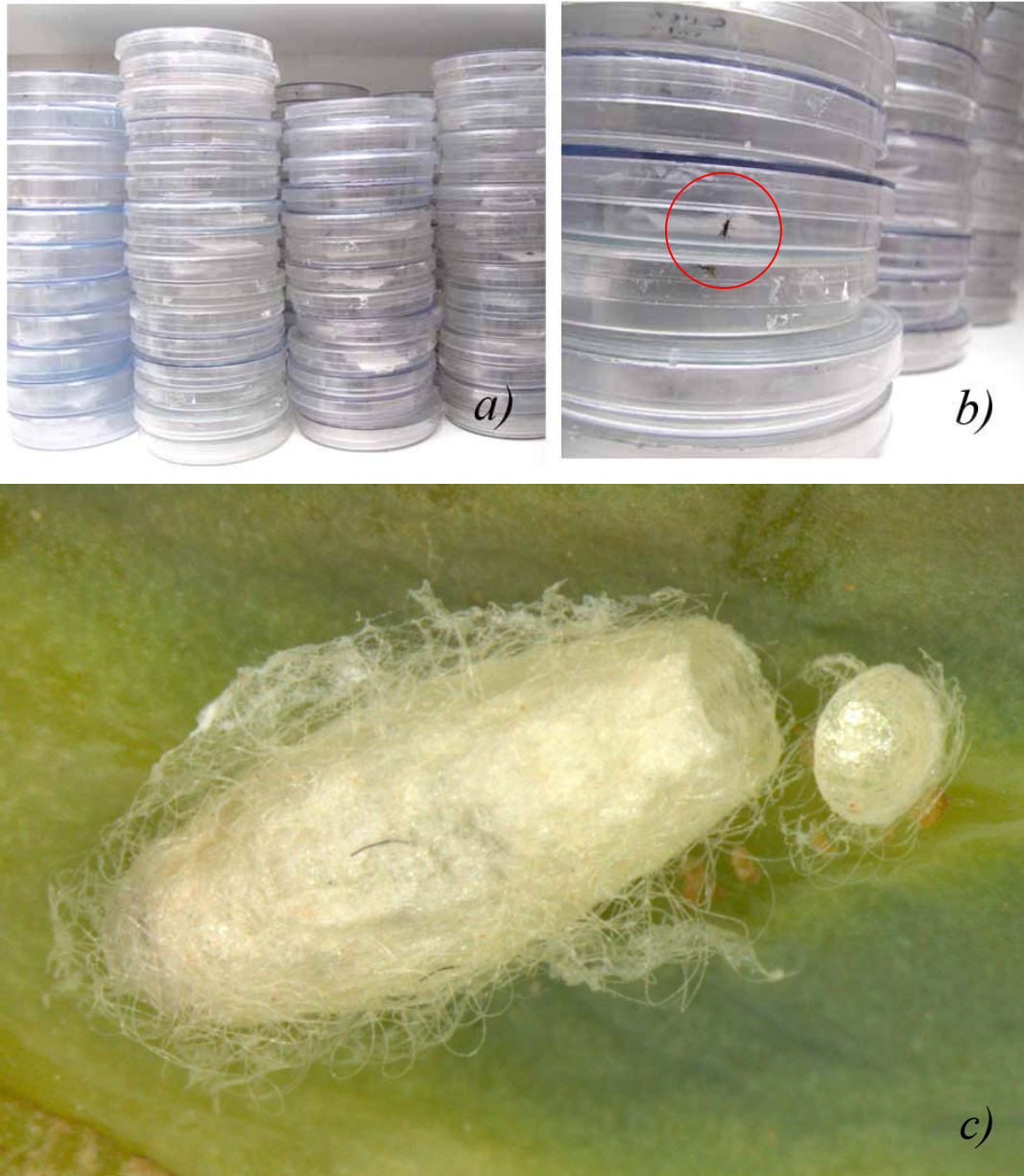


Figura 2.13. a) Cocones individualizados en cápsulas de Petri. b) Detalle de adulto de *P. dignus* recién emergido (círculo rojo), c) Detalle cocón del cual ya emergió el adulto.

Capítulo 3

Parámetros demográficos



Introducción

El conocimiento de los parámetros demográficos es esencial para entender muchos aspectos de la biología de una población (Pianka, 1983). Las tablas de vida sintetizan en forma cuantitativa la supervivencia y la fecundidad específica en cada edad y a partir de ellas se pueden calcular los parámetros demográficos, y de esta manera conocer características esenciales de una población (Rabinovich 1980; Fox 2001).

La mayoría de los estudios sobre la supervivencia de los animales se basan en tablas de vida estándar, que muestran el número de individuos que han sobrevivido a las diferentes etapas de su ciclo de vida, junto con la producción de descendencia (Bellows & van Driesche 1999). En el estudio de la interacción parasitoide-hospedador, la demografía de ambas poblaciones es igualmente importante. En el marco del control biológico, los datos de supervivencia y fecundidad de una tabla de vida proveen una visión integrada de las características biológicas de la población bajo ciertas condiciones ambientales, y permiten estimar el potencial de un enemigo natural para reducir la abundancia de una plaga (Bellows *et al.* 1992). En este sentido, el conocimiento de las estrategias de vida de ambos componentes de la interacción nos permitirá predecir el mejor método de control biológico a implementar (van Lenteren 1983; van Lenteren & Woets 1988; Bellows *et al.* 1992; van Lenteren & Manzaroli 1999).

Los parámetros demográficos más relevantes que pueden calcularse a partir de una tabla de vida son: la tasa intrínseca de incremento (r_m), la tasa reproductiva neta (R_o), la tasa finita de crecimiento (λ) y el tiempo generacional (T). Éstos son indicadores de la capacidad potencial de crecimiento de una población.

Cuando se evalúan parasitoides para ser usados en el control biológico de una plaga, la tasa instantánea de crecimiento (r_m) es una característica a la que suele prestarse especial atención, ya que se considera que un buen candidato debería presentar una r_m mayor o igual a la de su hospedador (van Lenteren & Woets 1988). Por otra parte, numerosos trabajos sobre estrategias de la historia de vida de parasitoides relacionan su desempeño con la edad y el tamaño del hospedador a la cual se produce el parasitismo (Colinet *et al.* 2005).

Capítulo 3. Parámetros demográficos

Estudios previos de Luna *et al.* (2007) y Sánchez *et al.* (2009) realizados en laboratorio y a campo, reportaron varios atributos de la historia de vida de *P. dignus* que le confieren potencialidad como agente de control biológico de *T. absoluta*. Entre ellos, pueden destacarse su presencia espontánea tanto en cultivos de tomate a cielo abierto como bajo invernáculo; alta sincronía temporal con el hospedador; rango específico de hospedadores relativamente estrecho; capacidad de las hembras de parasitar todos los estadios larvales del hospedador y de detectarlo aún a bajas densidades; elevados porcentajes de parasitismo a campo. Sin embargo, en esta investigación se estudian aspectos demográficos no conocidos hasta el momento, los cuales aportarán información necesaria para la evaluación de su potencialidad como agente de control.

La hipótesis central de este capítulo es que *P. dignus* posee parámetros demográficos que le confieren potencialidad para ser utilizado en el control biológico de la plaga *T. absoluta*, por lo que se espera encontrar tasas de supervivencia y fecundidad que le permita un crecimiento poblacional igual o mayor que el de su hospedador. Por otra parte, la edad en que es parasitada la larva del hospedador no influirá en el desempeño futuro del parasitoide. Los parasitoides desarrollados en larvas del hospedador de diferente estadio, no diferirán en fecundidad y en supervivencia.

El objetivo fue determinar los parámetros demográficos de *P. dignus* mediante la construcción de tablas de vida en condiciones de laboratorio, sobre larvas hospedadoras de distinta edad de *T. absoluta*, a fin de conocer su capacidad potencial de crecimiento.

Materiales y Métodos

Todos los ensayos realizados se llevaron a cabo bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperíodo ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 60–70% HR, 14:10 L:O). Los parasitoides y hospedadores utilizados fueron obtenidos a partir de las colonias mantenidas en el laboratorio bajo las mismas condiciones ambientales.

Desempeño de P. dignus desarrollado en distintos estadios larvales de T.

absoluta

A fin de conocer si el desempeño de *P. dignus* varía con el estado larval de su hospedador se formaron dos cohortes del parasitoide, una desarrollada sobre larvas hospedadoras de los estadios L_1-L_2 y otra sobre los estadios L_3-L_4 . Para cada cohorte se seleccionaron las larvas parasitadas con éxito, es decir, aquellas de las que emergió la larva parasitoide para tejer el cocón. De la cohorte desarrollada sobre L_1-L_2 se obtuvieron 227 cocones, y de la desarrollada sobre L_3-L_4 , 322 cocones.

Para la formación de las cohortes se ofreció un número variable de larvas de *T. absoluta* de cada grupo (L_1-L_2 vs L_3-L_4) a hembras copuladas de distinta edad, durante 24 h. Dicho proceso se llevó a cabo en las cámaras de oviposición descritas en Capítulo 2 – Materiales y Métodos generales. Luego del parasitismo, las larvas hospedadoras fueron colocadas de a dos por cápsula de Petri de 10 cm de diámetro con foliolos de tomate sobre papel humedecido para asegurar su turgencia, siguiendo su destino hasta la formación de las pupas del parasitoide en sus respectivos cocones.

Los cocones de las distintas cohortes se mantuvieron en forma individual en cápsulas de Petri hasta la emergencia del adulto, con papel humedecido para evitar el desecamiento de la pupa, ya que la experiencia en la cría en laboratorio indicó que una humedad adecuada es importante para mantener su hidratación. Los adultos emergidos fueron alimentados con miel pura, *ad libitum*, y mantenidos individualmente en las cápsulas con papel humedecido hasta su muerte.

Se registró el tiempo de desarrollo desde huevo (momento del parasitismo) hasta la formación del cocón (pupa), del estado de pupa hasta la emergencia de los adultos, la proporción de sexos al estado adulto y la longevidad de los adultos. Diariamente se registró el número de adultos muertos.

En el cálculo de la proporción de sexos también se tuvieron en cuenta aquellos cocones muertos pero que en la disección se pudo determinar el sexo de la pupa o del adulto no emergido. Por lo tanto, la proporción de sexos se estimó de la siguiente manera:

Capítulo 3. Parámetros demográficos

$$\text{Proporción de sexos } \text{♀} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{♀ emergidas} + \text{N}^{\circ} \text{♀ en cocones}}{\text{N}^{\circ} \text{♀} + \text{♂ emergidos y en los cocones}}$$

La determinación de la duración y supervivencia de los estados de desarrollo del parasitoide que ocurren dentro de la larva hospedadora se realizó mediante dos ensayos complementarios:

1. Para determinar el tiempo de desarrollo y el porcentaje de eclosión de huevos se ofreció a hembras copuladas de *P. dignus*, de distinta edad, un número variable de larvas de *T. absoluta* de cada grupo (L_1-L_2 vs L_3-L_4), durante 1 h. Dicho proceso se llevó a cabo en las cámaras de oviposición descritas en Capítulo 2 – Materiales y Métodos generales. Luego del parasitismo, las larvas hospedadoras fueron mantenidas en los floreros con folíolos de tomate hasta la disección. Un primer grupo ($n= 70 L_1-L_2$ y $n= 49 L_3-L_4$) fue disecado a las 24 h, un segundo grupo ($n= 63 L_1-L_2$ y $n= 54 L_3-L_4$) a las 48h y un tercer y último grupo ($n= 79 L_1-L_2$ y $n= 62 L_3-L_4$) a las 72 h. A partir de las larvas parasitadas se determinó el porcentaje de eclosión de huevos a las 24, 48 y 72h, y se estimó el tiempo de desarrollo de los mismos.
2. La determinación del tiempo de desarrollo y supervivencia larval se estimó de manera indirecta. El tiempo de desarrollo larval se calculó a partir de la diferencia entre el tiempo de desarrollo promedio desde huevo a pupa menos el tiempo promedio de desarrollo de huevo, obtenido en los ensayos anteriores. La supervivencia larval sólo se estimó para el estadio L_1 contando el número de larvas encapsuladas encontradas en los hospedadores L_1-L_2 disecados en el ensayo que se llevó a cabo para la determinación de la fecundidad (descrito más adelante). Se determinó el porcentaje de supervivencia a partir del número de L_1 no encapsuladas respecto del total encontrado en aquellos hospedadores con un solo parasitoide (monoparasitado) ($n= 530$ larvas).

Capítulo 3. Parámetros demográficos

Las características reproductivas se determinaron a partir de dos ensayos:

1. En un primer ensayo se determinó la producción diaria de cocones por hembra a lo largo de su vida. La misma se midió en cinco hembras de la colonia parasitando sobre 15-20 hospedadores de *T. absoluta* del estadio L_1-L_2 ofrecidos diariamente; y en otras cinco parasitando sobre L_3-L_4 . Dicho proceso se llevó a cabo en las cámaras de oviposición descritas en Capítulo 2 – Materiales y Métodos generales. Luego del parasitismo, las larvas hospedadoras fueron colocadas de a dos por cápsula de Petri sobre foliolos de tomate con papel humedecido para asegurar la turgencia, siguiendo su destino hasta la formación de las pupas del parasitoide en sus respectivos cocones. Se calculó el número promedio de cocones/hembra/día y se comparó entre los dos grupos (L_1-L_2 vs L_3-L_4 del hospedador).
2. En un segundo ensayo, se determinó la fecundidad realizada de la hembra a partir del número de huevos puestos diariamente en cada hospedador, a lo largo de toda su vida. Dado el esfuerzo que implica la realización de este tipo de ensayos, la fecundidad se midió en siete hembras de la colonia parasitando sobre 20 hospedadores de *T. absoluta*, sólo del estadio L_1-L_2 , ofrecidos diariamente. Dicho proceso se llevó a cabo en las cámaras de oviposición. Luego del parasitismo, las larvas hospedadoras, se conservaron en los floreros durante 72 h para asegurar la eclosión de los huevos y de esta manera facilitar la visualización de las L_1 durante la disección. Las larvas fueron conservadas a -18°C hasta su disección. Se registró el número de L_1 el cual, debido a la baja mortalidad de huevos observada, se consideró equivalente al número de huevos depositados por larva hospedadora por día. Además, se calculó el período reproductivo, pre- y post-reproductivo, y el porcentaje de parasitismo total y para cada día de vida de la hembra.

En ambos ensayos de fecundidad se registró la longevidad de las hembras que ovipusieron y se la comparó con la de las hembras vírgenes que no ovipusieron obtenidas de las cohortes desarrolladas sobre las larvas hospedadoras L_1-L_2 vs L_3-L_4 .

Capítulo 3. Parámetros demográficos

Con la información obtenida en los puntos anteriores se construyeron tablas de vida (Carey 1993), para las cohortes desarrolladas sobre larvas hospedadoras L_1 - L_2 y L_3 - L_4 . Donde:

x = Edad en días

N_x = Número de individuos vivos a la edad x

l_x = Proporción de la cohorte que sobrevive desde el nacimiento hasta la edad x

d_x = Diferencia en el número de sobrevivientes entre las edades x y $x+1$

$$d_x = l_x - l_{x+1}$$

q_x = Probabilidad de morir en el período x y $x+1$

$$q_x = \frac{d_x}{l_x}$$

L_x = Número de días vividos por un individuo medio de la cohorte desde la edad x a la $x+1$

$$L_x = \frac{(l_x + l_{x+1})}{2}$$

T_x = Número total de días por vivir de un individuo promedio de la cohorte desde la edad x hasta el último día de vida posible

$$T_x = \sum_{y=x}^w L_y$$

e_x = Expectativa de vida a la edad x

$$e_x = \frac{T_x}{l_x}$$

Capítulo 3. Parámetros demográficos

En base a los esquemas de supervivencia de las tablas de vida y a la fecundidad obtenida a partir de aquellos individuos desarrollados sobre larvas hospedadoras de los estadios L_1 - L_2 , se calcularon los siguientes parámetros demográficos:

R_0 = Tasa Reproductiva Neta o número de descendientes hembra producidos por una hembra a lo largo de su vida

$$R_0 = \sum l_x m_x$$

donde m_x = Número medio de huevos hembra producido por hembra de edad x

r_m = Tasa Intrínseca de Incremento Natural

$$1 = \sum e^{-rx} l_x m_x$$

λ = Tasa Finita de Crecimiento

$$\lambda = e^r$$

T = Tiempo Generacional

$$T = \frac{\sum x l_x m_x}{\sum l_x m_x}$$

Los parámetros fueron calculados a partir de la población hembra. Para ello, se convirtieron todos los valores huevos/♀/día a huevos ♀/♀/día multiplicándolos por la proporción de sexos promedio registrada en la cohorte desarrollada sobre larvas hospedadoras L_1 - L_2 .

Análisis estadístico

El efecto del estadio larval del hospedador (L_1-L_2 , L_3-L_4) sobre la duración de cada etapa de desarrollo del parasitoide (huevo, pupa, adulto) y para los dos sexos, y sobre el número promedio de cocones producidos a lo largo de toda la vida de la hembra, fue analizado mediante ANOVA previa transformación a raíz cuadrada de los datos. En aquellos casos en los que no se cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se realizó la prueba no paramétrica de U Mann-Whitney (Zar 1999). El número de cocones producidos por hembra por día en cada tratamiento se comparó mediante un ANOVA de medidas repetidas, previa realización del test de esfericidad de Mauchly. Las curvas de supervivencia por edad (l_x) de las cohortes desarrolladas sobre distinto estadio larval del hospedador se analizaron mediante el test de Kaplan- Meier (StatSoft, Inc. 2009). La proporción de sexos obtenida para cada cohorte se comparó mediante la prueba de Chi cuadrado (χ^2). Para estimar el error estándar de los parámetros demográficos se utilizó el método de remuestreo de jackknife (Scheiner & Gurevitch 2001). En todas las pruebas estadísticas el valor de significancia usado fue $P < 0,05$.

Resultados

Tiempo de desarrollo

En la Tabla 3.1 se resume el tiempo de desarrollo de dos cohortes de *P. dignus* parasitando distintos estadios larvales del hospedador *T. absoluta* (L_1-L_2 y L_3-L_4). El único estado de desarrollo que no difirió entre tratamientos fue el de huevo, en todos los demás el tiempo de desarrollo fue mayor en las L_1-L_2 . Lo mismo ocurrió para la duración total del ciclo de vida. Sin embargo, cuando se analizaron las diferencias

Capítulo 3. Parámetros demográficos

Tabla 3.1. Influencia del estadio larval de *T. absoluta* sobre el tiempo de desarrollo en días (media \pm ES) de *P. dignus*

	<i>Estadio larval de T. absoluta</i>		<i>Análisis estadístico</i>
	<i>L₁-L₂</i>	<i>L₃-L₄</i>	
<i>Huevo</i>	1,00 \pm 0,00 a (1-1; n= 57)	1,03 \pm 0,03 a (1-2; n= 34)	F= 1,69; g.l.= 1, 89; P= 0,20
<i>Larva</i>	12,61 \pm 0,13 a (8-20; n= 227)	9,49 \pm 0,08 b (8-19; n= 322)	Z= 7182,5; P<0,0001
<i>Pupa</i>	9,14 \pm 0,09 a (6-13; n= 166)	8,55 \pm 1,05 b (6-14; n= 242)	F= 30,44; g.l.= 1, 41; P<0,0001
<i>Pupa</i> ♀	9,15 \pm 0,11 a α (6-12; n= 98)	10,06 \pm 0,47 b α (8-14; n= 16)	F= 6,30; g.l.= 1, 11; P= 0,01
<i>Pupa</i> ♂	9,13 \pm 0,15 a α (6-13; n= 68)	8,44 \pm 0,06 b β (6-14; n= 226)	Z= 4985,0; P<0,0001
<i>Huevo-Adulto</i>	22,47 \pm 0,17 a (17-29; n= 166)	19,08 \pm 0,13 b (16-32; n= 242)	Z= 4137,5; P<0,0001
<i>Huevo-Adulto</i> ♀	22,69 \pm 0,22 a α (19-29; n= 98)	22,63 \pm 0,93 a α (19-32; n= 16)	Z= 663,0; P= 0,32
<i>Huevo-Adulto</i> ♂	22,15 \pm 0,25 a α (17-28; n= 68)	18,83 \pm 0,10 b β (16-26; n= 226)	Z= 1552,5; P<0,0001

Entre paréntesis el rango y n= número de individuos. Letras iguales en cada fila indican diferencias no significativas entre tratamientos y, para la comparación entre sexos, los promedios de cada columna seguidos de la misma letra griega indican diferencias no significativas de acuerdo a ANOVA o a prueba U Mann-Whitney.

discriminando los sexos se observó que las pupas ♀ desarrolladas sobre L_1-L_2 tuvieron un tiempo de desarrollo más corto que las desarrolladas sobre L_3-L_4 . Por otro lado, no hubo diferencias en el tiempo de desarrollo desde huevo a adulto ♀ entre los dos grupos.

Dentro de cada cohorte, los individuos desarrollados sobre L_1-L_2 no presentaron diferencias en el tiempo de desarrollo entre sexos (Pupa: $F= 0,80$; g.l.= 1, 16; $P= 0,80$ - Huevo-adulto: $F= 2,70$; g.l.= 1, 164; $P= 0,10$), mientras que en las desarrolladas sobre L_3-L_4 el tiempo de desarrollo de las pupas y el ciclo de huevo a adulto de los machos fue menor que el de las hembras (Pupa: $Z= 830,5$; $P= 0.00$ - Huevo-adulto: $Z= 397,5$; $P= 0.00$). El tiempo de desarrollo desde huevo a cocón fue más largo cuando parasitó L_1-L_2 que cuando lo hizo sobre L_3-L_4 .

La proporción de sexos fue diferente de 0,5 en ambos grupos. En las desarrolladas sobre L_1-L_2 fue de 0,6, significativamente sesgada hacia las hembras ($\chi^2= 7,01$; g.l.= 1; $P= 0,05$), mientras que en las desarrolladas sobre L_3-L_4 fue de 0,07 sesgada hacia los machos ($\chi^2= 186,13$; g.l.= 1; $P= 0,05$),

Longevidad

La longevidad de los adultos fue muy variable entre grupos desarrollados sobre distintos estadios del hospedador (Tabla 3.2), entre sexos (Tabla 3.3), y entre hembras sin y con experiencia de oviposición (Tabla 3.4). En el tratamiento L_1-L_2 las hembras sin experiencia de oviposición vivieron más que las que tuvieron experiencia, mientras que en L_3-L_4 la longevidad fue similar. A su vez las hembras sin experiencia del tratamiento L_1-L_2 vivieron más que las correspondientes al grupo L_3-L_4 ($Z= 6220,0$; $P= 0,02$), mientras que las que tuvieron experiencia no mostraron diferencias ($F= 0,17$; g.l.= 1, 16; $P= 0,68$). Los machos tuvieron mayor longevidad cuando se desarrollaron en L_1-L_2

Capítulo 3. Parámetros demográficos

Tabla 3.2. Influencia del estadio larval de *T. absoluta* sobre la longevidad en días (media \pm ES) de hembras sin y con experiencia en parasitismo y machos de *P. dignus*

<i>Estadio larval de T. absoluta</i>			
	L_1-L_2	L_3-L_4	<i>Análisis estadístico</i>
♀ <i>s/ experiencia</i>	26,33 \pm 1,47 a (1-54; n= 98)	16,06 \pm 1,36 b (1-36; n= 16)	F= 5,60; g.l.= 1, 12; P= 0,02
♀ <i>c/ experiencia</i>	16,83 \pm 1,20 a (11-24; n= 12)	18,67 \pm 2,65 a (8-26; n= 6)	F= 0,17; g.l.= 1, 16; P= 0,68
♂	23,65 \pm 1,52 a (2-48; n= 68)	19,47 \pm 0,68 b (1-45; n= 226)	Z= 6220,0; P= 0,02

Entre paréntesis el rango y n= número de individuos. Letras iguales en cada fila indican diferencias no significativas entre tratamientos, de acuerdo a ANOVA o a prueba U Mann-Whitney.

Tabla 3.3. Comparación de la longevidad en días (media \pm ES) entre hembras sin experiencia en parasitismo y machos de *P. dignus*, dentro de cada tratamiento (L_1-L_2 y L_3-L_4)

<i>Adultos de P. dignus</i>			
<i>Tratamientos</i>	♀	♂	<i>Análisis estadístico</i>
L_1-L_2	26,33 \pm 1,47 a (1-54; n= 98)	23,65 \pm 1,52 a (2-48; n= 68)	F= 0,42; g.l.= 1, 164; P= 0,52
L_3-L_4	16,06 \pm 1,36 a (1-36; n= 16)	19,47 \pm 0,68 b (1-45; n= 226)	F= 2,86; g.l.= 1, 240; P= 0,09

Entre paréntesis el rango y n= número de individuos. Letras iguales en cada fila indican diferencias no significativas entre sexos de acuerdo a ANOVA.

Capítulo 3. Parámetros demográficos

Tabla 3.4. Comparación de la longevidad en días (media \pm ES) entre hembras sin y con experiencia en oviposición de *P. dignus*, dentro de cada tratamiento (L_1 - L_2 y L_3 - L_4)

<i>Adultos de P. dignus</i>			
<i>Tratamientos</i>	♀ s/ experiencia	♀ c/ experiencia	<i>Análisis estadístico</i>
L_1 - L_2	26,33 \pm 1,47 a (1-54; n= 98)	16,83 \pm 1,20 b (11-24; n= 12)	Z= 358,5; P= 0,03
L_3 - L_4	16,06 \pm 1,36 a (1-36; n= 16)	18,67 \pm 2,65 a (8-26; n= 6)	F= 0,32; g.l.= 1, 20; P= 0,57

Entre paréntesis el rango y n= número de individuos. Letras iguales en cada fila indican diferencias no significativas entre hembras sin y con experiencia, de acuerdo a ANOVA o a prueba U Mann-Whitney.

Mortalidad

El porcentaje de mortalidad del estado de huevo fue del 3,03% cuando el parasitismo ocurrió sobre L_1 - L_2 , y del 0,0% en los desarrollados sobre L_3 - L_4 . La mortalidad de la L_1 desarrollada sobre L_1 - L_2 fue de 25,77%. Las pupas obtenidas de ambos grupos presentaron una mortalidad muy similar (26,87% y 24,84% para las desarrolladas en L_1 - L_2 y L_3 - L_4 respectivamente). Alrededor del 50% de los individuos llegaron al estado adulto en ambos grupos (49,98% y 48,59% para las desarrolladas en L_1 - L_2 y L_3 - L_4 respectivamente)

Supervivencia

Los parasitoides desarrollados sobre larvas del hospedador L_1 - L_2 mostraron una supervivencia significativamente mayor que los del grupo L_3 - L_4 (Kaplan Meier: $\chi^2= 33,68$; g.l.= 1; P<0,0001).

La Figura 3.1 muestra las curvas de supervivencia por edad (l_x) para dos cohortes de *P. dignus* desarrolladas sobre distinto estadio larval del hospedador *T. absoluta*. Ambas curvas mostraron una importante disminución en los primeros días del

ciclo de vida, correspondiente a la mortalidad de larvas, fundamentalmente L_1 , debido a encapsulamiento por parte del hospedador. La supervivencia durante el resto del estado larval parece mantenerse bastante constante, para luego declinar en forma semejante a una curva de tipo II (Deevey 1947) durante los estados de pupa y adulto.

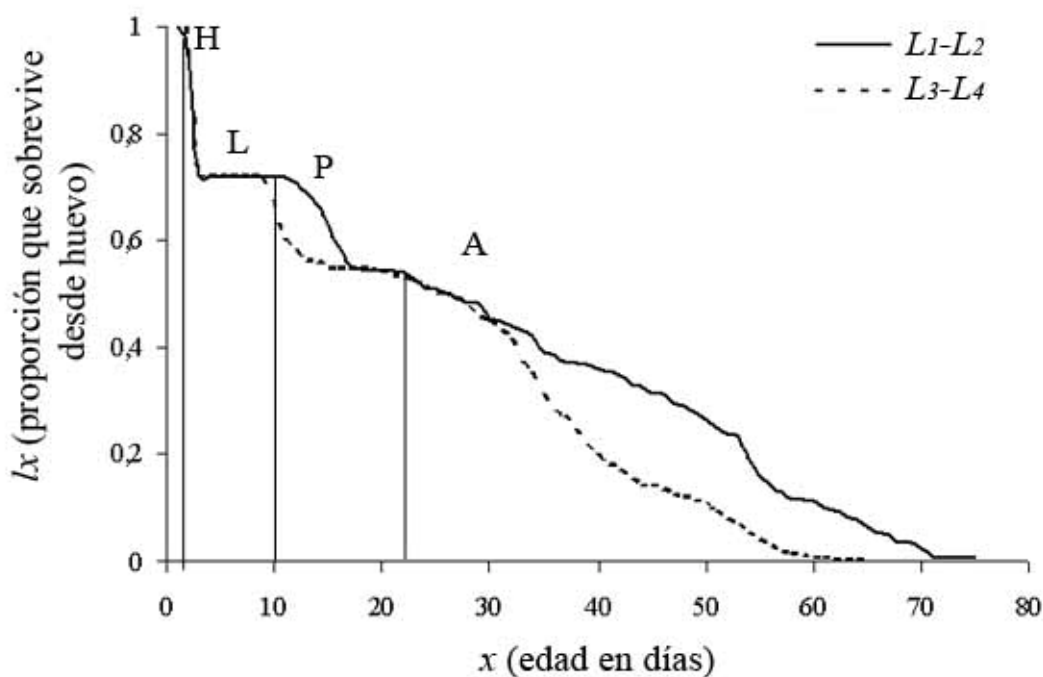


Figura 3.1. Curvas de supervivencia específica por edad en días (l_x) de dos cohortes del parasitoides *P. dignus* desarrolladas sobre distintos estadios larvales del hospedador *T. absoluta*. (— L_1-L_2 : Cohorte desarrollada sobre los estadios L_1-L_2), (--- L_3-L_4 : Cohorte desarrollada sobre los estadios L_3-L_4). H= Huevo; L= Larva; P= Pupa; A= Adulto.

Expectativa de vida

Los individuos desarrollados sobre larvas del hospedador L_1-L_2 presentaron mayor expectativa de vida a lo largo de todo el ciclo que los desarrollados sobre L_3-L_4 (Figura 3.2). La máxima expectativa de vida fue de 36,24 y de 29,09 para los desarrollados sobre L_1-L_2 y L_3-L_4 respectivamente y se alcanzó a los 3 días, es decir, durante la L_1 avanzada. Un pequeño aumento en la expectativa de vida se registró en ambos grupos luego de la formación de la pupa. Posteriormente, se observó un descenso

constante durante el estado adulto hasta llegar a cero a los 75 y 65 días de edad de cada cohorte desarrollada sobre L_1-L_2 y L_3-L_4 respectivamente.

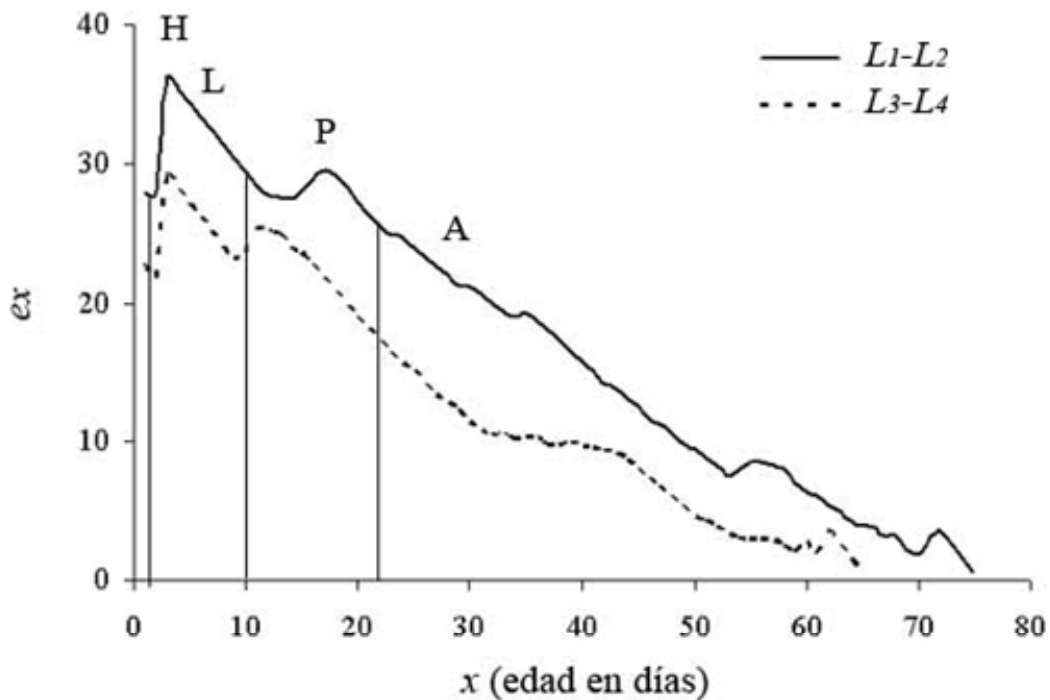


Figura 3.2. Expectativa de vida diaria de dos cohortes del parasitoide *P. dignus* desarrolladas sobre distintos estadios larvales del hospedador *T. absoluta*. (— L_1-L_2 : Cohorte desarrollada sobre los estadios L_1-L_2), (--- L_3-L_4 : Cohorte desarrollada sobre los estadios L_3-L_4). H= Huevo; L= Larva; P= Pupa; A= Adulto.

Características reproductivas

El número promedio (\pm ES) de cocones producidos, es decir, el número de descendientes que efectivamente mataron al hospedador, a lo largo de la vida de la hembra de *P. dignus* fue significativamente mayor ($100 \pm 12,35$ cocones) en aquellas que parasitaron sobre larvas L_1-L_2 que las que lo hicieron sobre L_3-L_4 ($56,60 \pm 15,95$ cocones) ($F= 5,06$; $g.l.= 1, 8$; $P= 0,05$). Lo mismo ocurrió con el número promedio de cocones producidos por hembra, por día. Se obtuvo un promedio diario de 4,54 cocones en las L_1-L_2 y de 2,48 cocones en las L_3-L_4 (Figura 3.3) (Tabla 3.5).

Capítulo 3. Parámetros demográficos

El número máximo de cocones producidos en las que parasitaron sobre L_1-L_2 fue de $9,20 (\pm 0,86)$ cocones el día 3, alcanzando un segundo pico de $8,60 (\pm 1,36)$ cocones el día 12. El número de cocones producidos en las que parasitaron sobre L_3-L_4 fue relativamente constante y bajo a lo largo de la vida de la hembra, presentando un pico máximo de $5,25 (\pm 2,11)$ cocones el día 8 (Figura 3.3).

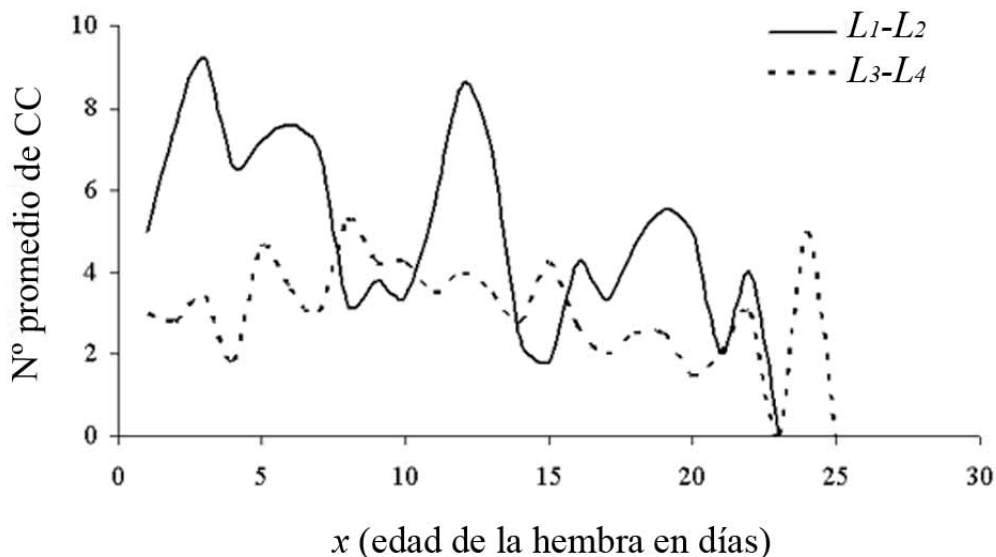


Figura 3.3. Número promedio de cocones (CC) producidos diariamente por hembras de *P. dignus* a lo largo de su vida, sobre distintos estadios larvales del hospedador *T. absoluta* (— L_1-L_2 y --- L_3-L_4).

Tabla 3.5. Resultados del ANOVA de medidas repetidas para el número de cocones producidos diariamente por hembras de *P. dignus* a lo largo de su vida, sobre distintos estadios larvales del hospedador *T. absoluta*.

	<i>F</i>	<i>g.l.</i>	<i>P</i>
Tratamientos (L_1-L_2 y L_3-L_4)	0,54	1, 168	0,03
Días de vida de la ♀	4,57	21, 168	<0,0001
Interacción	1,72	21, 168	0,03

Capítulo 3. Parámetros demográficos

En la Figura 3.4, se presenta la fecundidad específica por edad (m_x) (número de huevos hembra/hembra/día), calculada sobre hospedadores de estadios L_1 - L_2 . La curva mostró una oviposición sostenida desde la emergencia y que abarcó prácticamente toda la vida adulta. Tuvo varios picos de oviposición y el número máximo de huevos hembra/hembra/día fue de 12,96 a los 28 días desde la eclosión del huevo, lo que se corresponde con el sexto día de vida como adulto.

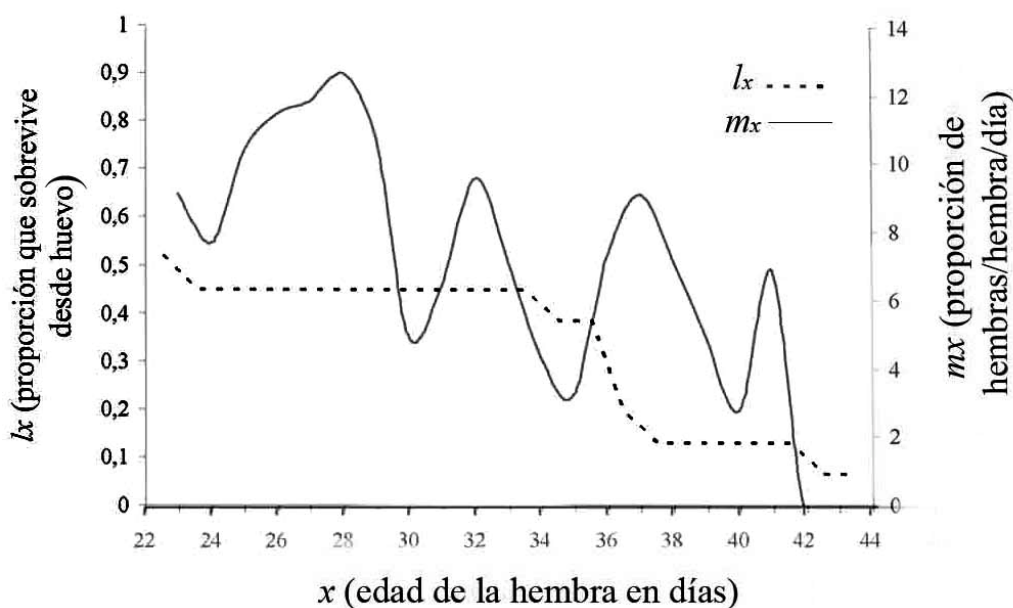


Figura 3.4. Curva de supervivencia específica por edad en días (l_x) y curva de fecundidad específica por edad (m_x) (huevos hembra/hembra/día) de *P. dignus* ($n=7\text{♀}$)

La hembra de *P. dignus* no presentó periodo pre-reproductivo, por lo que la edad de la primera reproducción se puede considerar como el tiempo promedio (\pm ES) alcanzado por la hembra al entrar a la edad adulta ($22,69 \pm 0,22$ días) (Tabla 3.6). El periodo post-reproductivo fue breve y varió entre 0 y 2 días. En promedio, las hembras ovipusieron hasta el día 20 de su vida, y la mayoría puso el 50% de su carga de huevos a los $6,43 (\pm 0,88)$ días de vida adulta.

Capítulo 3. Parámetros demográficos

Tabla 3.6. Características reproductivas de las hembras del parasitoide *P. dignus* en condiciones de laboratorio (n= 7♀).

	\bar{x}	ES	CV (%)	Rango
Período pre-reproductivo (días)	0	-	-	-
Período reproductivo (días)	14,29	1,16	21,41	11-19
Período post-reproductivo (días)	0,57	0,28	128,07	0-2
Nº huevos/♀	192,36	17,17	23,62	144-278
Nº huevos/♀/día	13,27	1,17	22,68	9-18
Nº huevos ♀/♀/día	8,49	0,73	22,73	6-11
% parasitismo/♀	46,54	4,73	26,88	27-61
% parasitismo/♀/día	40,49	20,43	50,47	21-70

\bar{x} = Promedio, ES= Error estándar; CV (%)= Coeficiente de Variación.

El porcentaje de parasitismo promedio fue disminuyendo a lo largo de la vida de la hembra desde un 69,69% el día cinco, hasta un 31,82% los últimos dos días (Figura 3.5).

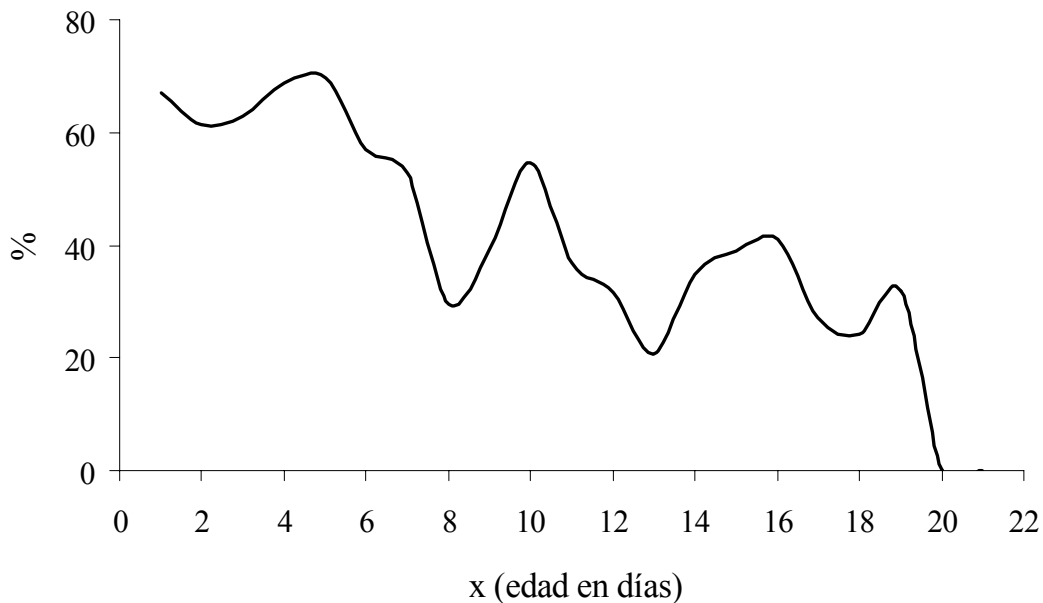


Figura 3.5. Porcentaje de parasitismo promedio a lo largo de la vida de la hembra *P. dignus* (n= 7♀)

Parámetros demográficos

Las tasas de incremento poblacional de *P. dignus* indicaron una elevada capacidad de crecimiento (Tabla 3.7).

Tabla 3.7. Parámetros demográficos de *P. dignus* desarrollado sobre larvas de *T. absoluta* del estadio L_1-L_2 en laboratorio bajo condiciones ambientales controladas ($25\pm 2^\circ\text{C}$, 60–70% HR, 14:10 L:O)

	\bar{x}	ES
R_0 (Tasa Reproductiva Neta)	60,77	0,8456
r_m (Tasa Intrínseca de Incremento Natural)	0,15	0,0005
λ (Tasa Finita de Crecimiento)	1,16	0,0006
T (Tiempo Generacional)	28,80	0,1226

\bar{x} = Promedio; ES= Error estándar

Discusión

Pseudapanteles dignus puede parasitar todos los estadios larvales de *T. absoluta*. Sin embargo, el estadio larval del hospedador afectó el tiempo de desarrollo y el número de cocones producidos por la hembra de este parasitoide. El estado larval mostró mayor duración sobre los estadios L_1-L_2 del hospedador, pero el periodo huevo-adulto ♀ no mostró diferencias entre hospedadores de distinta edad. Por otra parte, la producción de cocones fue mayor sobre hospedadores L_1-L_2 . La capacidad de *P. dignus* de parasitar y desarrollarse en todos los estadios larvales de *T. absoluta* indica la habilidad de ajustar su tiempo de desarrollo al del hospedador, lo cual coincide por lo reportado por Luna *et al.* (2007). Harvey *et al.* (2000) consideran que del tamaño del hospedador van a depender el tiempo de desarrollo y la producción de descendencia. En este caso, *P. dignus* tendría la posibilidad de ajustar su tiempo de desarrollo al del hospedador, pero el hecho de producir un menor número de cocones sobre larvas de mayor edad podría

sugerir una menor oviposición de las hembras sobre estas larvas o una mayor mortalidad preimaginal, debida a una mayor capacidad de defensa de las larvas más grandes (Brodeur *et al.* 1998; Colinet *et al.* 2005).

La duración de los distintos estados de desarrollo en el presente estudio fueron, en general, mayores que las estimaciones de Cardona & Oatman (1971) sobre una cepa mexicana de *Apanteles dignus* (actualmente *P. dignus*) parasitando sobre *Keiferia lycopersicella*. Estas diferencias podrían deberse, fundamentalmente, a la mayor temperatura utilizada por estos autores ($26,6\pm 1^\circ\text{C}$) en relación a la de este estudio ($25\pm 2^\circ\text{C}$), el tipo de hospedador y la cepa del parasitoide. Ambos estudios coincidieron en que los machos emergen antes que las hembras.

La longevidad de los adultos también resultó ser mayor en este trabajo, tanto en las hembras que no ovipusieron como en las hembras que ovipusieron, y en los machos. Los valores registrados por Cardona & Oatman (1971) fueron 10,2, 7, y 13,6 días para las hembras que no ovipusieron, las que ovipusieron, y los machos, respectivamente.

En este trabajo *P. dignus* reveló una longevidad variable dependiendo del estadio del hospedador, en aquellas hembras sin experiencia de oviposición y en los machos, la cual fue mayor en los desarrollados sobre L_1-L_2 .

Las hembras vírgenes que fueron privadas de hospedadores y no pudieron parasitar vivieron casi el doble (1,84 veces más) que las que estuvieron con hospedadores. Estos resultados sugieren que el costo de poner huevos disminuiría la longevidad (Roitberg *et al.* 2001). La misma tendencia fue observada por Lins *et al.* (2011) con *Praon volucre*, un braconido parasitoide de áfidos. Es interesante destacar que las hembras de *P. dignus* que ovipusieron sobre L_3-L_4 vivieron lo mismo que las hembras sin experiencia. Estos resultados acompañados con la baja producción de cocones a partir de estas, demuestra la compensación de la baja fecundidad en un alargamiento de la longevidad.

La proporción de sexos hallada en este estudio fue de (1,20:1) a favor de las hembras sobre hospedadores L_1-L_2 . Del mismo modo, Luna *et al.* (2007) encontraron una proporción de sexos de 1,25:1 ($\text{♀}:\text{♂}$) en una primera generación de *P. dignus* en laboratorio. Sin embargo, Cardona & Oatman (1971) encontraron una proporción de sexos a favor de los machos (1:1,42) lo que se acerca más a lo hallado sobre L_3-L_4 (1:1,86). La diferencia encontrada en la proporción de sexos en este trabajo podría

deberse a distintas causas. En general, en los parasitoides, ocurre que la proporción de sexos de la descendencia está determinada por las hembras (Godfray 1994; Jarosik *et al.* 2003) ya que controlan la fertilización almacenando el esperma en la espermateca. La proporción de sexos resulta por lo general muy variable dado que dependerá del estado de la hembra, las condiciones climáticas y el tamaño y la densidad de hospedadores (Wilkesa 1963; Shukla & Tripathi 1993), entre otras variables. Por tratarse de una especie haplodiploide las hembras no fecundadas de *P. dignus* dejan descendencia macho (Wellings *et al.* 2008; Cardona & Oatman 1971; Antolin 1999; Heather 2003). En otros casos depositan huevos machos en hospedadores pequeños y hembras en los más grandes (Jones 1982; King 1987; King 1988; Dicke 1999 citado por Dannon *et al.* 2010). El braconido *Microplitis manilae*, parasitoide de distintas especies de *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) presenta una proporción de hembras muy alta, entre 0.92:0,5 a 1.08:0,5, y variable a distintas temperaturas (Qiu *et al.* 2012). La proporción de sexos en las especies arrenotocas de braconidos, en general, se desvía a favor de los machos (Green *et al.* 1982; Dannon *et al.* 2010) lo que ha conducido al fracaso de la crías masivas (Luck *et al.* 1999). En cambio, en el caso de *P. dignus*, la mayor proporción de hembras encontrada en hospedadores L_1 - L_2 puede considerarse una característica ventajosa para la cría masiva.

En general, la mayor parte de los organismos que tienen estados larvales bien destacados, seguidos de una metamorfosis para llegar al estado adulto, suelen evidenciar mortalidades relativamente altas en las etapas más jóvenes o en las transiciones de un modo de vida a otro (Rabinovich 1980). En *P. dignus*, la mortalidad preimaginal fue del 50%. En el caso de los endoparasitoides, la supervivencia de los estados inmaduros es altamente dependiente de la supervivencia del hospedador (Jervis & Copland 1996 citado por Jervis *et al.* 2001), de la edad del hospedador (Colinet *et al.* 2005), de los factores climáticos (Rodrigues *et al.* 2004), de la calidad nutricional (Silva *et al.* 2008a; Sidney *et al.* 2010) y de las defensas del hospedador (Brodeur & Boivin 2004), entre otros.

El aumento inicial de la curva de expectativa de vida se interpreta como el resultado de haber superado los mayores riesgos en las primeras etapas del ciclo de vida, como es el encapsulamiento de la L_1 . Luego la etapa de pupa y los primeros días de vida del adulto resultan ser otros dos momentos críticos. La información referida a la expectativa de vida resulta esencial para crías masivas y para calcular los momentos de

Capítulo 3. Parámetros demográficos

liberación de enemigos naturales en el campo. *P. dignus* exhibió una mayor expectativa de vida sobre hospedadores L_1 - L_2 . La máxima expectativa de vida de *P. dignus* fue similar a la de *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae), parasitoide pupal de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) (Núñez-Campero *et al.* 2012).

Las hembras de *P. dignus* generalmente oviponen el 50% de los huevos antes de completar la primer semana de vida como adulto. No poseen período de preoviposición tal como lo habían reportado Cardona & Oatman (1971) en *A. dignus* y tienden a oviponer hasta el último día de vida, a diferencia de las especies de la subfamilia Aphidiinae, las cuales a pesar de presentar un período de oviposición similar al de *P. dignus*, ponen el 50% de los huevos entre los primeros 3-5 días (Messenger 1964; Rodrigues *et al.* 2003; Torres *et al.* 2007; Silva *et al.* 2008b; Lins *et al.* 2011).

El porcentaje de parasitismo promedio fue un 15% más alto que el presentado por Cardona & Oatman (1971) y varió a lo largo de la vida de la hembra desde valores de alrededor del 70% los primeros días a 32% los últimos días de vida de la hembra.

El conocimiento de los parámetros demográficos es muy importante a la hora de evaluar la potencialidad de un enemigo natural para ser usado como agente de control biológico (van Lenteren 1983; van Lenteren & Woets 1988; van Lenteren & Manzaroli 1999, Lins *et al.* 2011). Este estudio es el primero en determinar los parámetros demográficos del parasitoide *P. dignus* sobre el hospedador *T. absoluta* a partir de tablas de vida de laboratorio, en las cuales se calculó la supervivencia de los estados preimaginales, aspecto muy difícil de determinar en especies de endoparasitoides koinobiontes.

Para el control biológico de una plaga se considera que un parasitoide es eficiente como enemigo natural si, entre otros factores, su tasa instantánea de ataque y su r_m son mayores o iguales al r_m de su hospedador (Huffaker *et al.* 1976; Bigler 1989). En el caso de *P. dignus* el r_m promedio obtenido en este trabajo (0,15) resultó levemente mayor al hallado para su hospedador *T. absoluta* (0,14) por Pereyra & Sánchez (2006) bajo las mismas condiciones de laboratorio. Por otra parte, Luna *et al.* (2007) hallaron una tasa instantánea de ataque de 0,22 para este parasitoide. Ambas características permiten calificar a *P. dignus* como un candidato a tener en cuenta para el control biológico de *T. absoluta*.

Capítulo 3. Parámetros demográficos

Los parámetros demográficos estimados para *P. dignus* son comparables a los obtenidos por otros autores para otros braconidos. Por ejemplo, Odebiyi & Oatman (1977) trabajando a temperaturas de 24 y 27°C y 50% HR, 12:12 L:O, hallaron que *Agathis unicolor* (Hymenoptera, Braconidae) parasitoide primario del minador del tubérculo de la papa *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera, Gelechiidae) presentó valores de $R_0= 39-62$, $T= 24-36$ días, $r_m= 0,11-0,16$, y $\lambda= 1,12-1,16$; mientras que para *Agathis gibosa* (Hymenoptera, Braconidae) sobre el mismo hospedador fueron : $R_0= 43-76$, $T= 19-29$ días, $r_m= 0,15-0,19$, y $\lambda= 1,16-1,21$. En otra especie de Braconidae, *Lysiphlebus testaceipes*, la r_m varió con la temperatura y sobrepasó los valores obtenidos para su hospedador (*Aphis gossypii*) sólo a 25°C, mientras que a menor temperatura (18°C) fue bastante menor (van Steenis 1994). Por lo tanto, es necesario tener en cuenta que los parámetros demográficos estimados a temperaturas constantes en el laboratorio son sólo un indicador de la potencialidad de crecimiento de una población, la cual no siempre se corresponde con la que puede expresarse en condiciones de campo.

En resumen, tanto la tasa reproductiva neta (r_m) como la tasa finita de incremento (λ) proveen estimaciones del crecimiento potencial de la población de *P. dignus*. Las hembras de *P. dignus* tienen una tasa reproductiva neta más alta que la de su hospedador ($R_0= 48,92$ huevos/♀) y un tiempo generacional similar al de *T. absoluta* ($T= 27,98$ días) (Pereyra & Sánchez 2006). El tiempo generacional es representativo de la duración media real de una generación y es un dato a tener en cuenta para la cría y liberación de un parasitoide.

En conclusión, los resultados obtenidos en este capítulo proveen información fundamental para entender los aspectos de la biología y ecología de *P. dignus*, tales como el efecto de la edad del hospedador, la supervivencia, el tiempo de desarrollo, la fecundidad, tiempo generacional y finalmente calcular la tasa de crecimiento poblacional en condiciones óptimas. Se ha observado que *P. dignus* tiene una alta capacidad de incremento poblacional, mayor a la de su hospedador *T. absoluta*. Esta información resulta de gran importancia para optimizar la cría masiva y las liberaciones del parasitoide, para ser usado como agente de control biológico en programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) en los cultivos de tomate.

Capítulo 4

Estrategias de oviposición



Introducción

El conocimiento de la biología reproductiva de un parasitoide es decisivo cuando se quiere desarrollar un programa de control biológico basado en la liberación aumentativa de tipo inoculativa (Donaldson & Walter 1988; Godfray 1994; Jervis & Copland 1996), el cual podrá ser incluido en la implementación de un manejo integrado de plagas (MIP). Para ello, es trascendental conocer el tipo de estrategia reproductiva que presentan las especies de parasitoides que se usarán en estos programas.

Las hembras de un parasitoide pueden dividirse en dos categorías fisiológicas fundamentales: pro-ovigénicas y sinovigénicas (Godfray 1994; Heimpel & Rosenheim 1998). Las pro-ovigénicas emergen con el total de su complemento o carga de huevos maduros y comienzan a oviponer en forma inmediata a la emergencia. Las sinovigénicas maduran los huevos en forma sostenida a lo largo de su vida adulta (Flanders 1950; Shea *et al.* 1996; Quicke 1997; Jervis *et al.* 2001).

Las hembras a su vez, pueden estar limitadas en su capacidad de oviposición por la carga de huevos maduros que poseen (*egg-limited*) o por el tiempo de forrajeo que incluye el tiempo de búsqueda y de manipuleo del hospedador (*time-limited*) (Lessells 1985). En las especies pro-ovigénicas la limitación de huevos es permanente imponiendo un límite en la fecundidad potencial. Una vez que se agota la dotación fija de huevos con la que emergen, el éxito reproductivo de la hembra queda limitado, lo que se denomina senescencia reproductiva (Mangel & Heimpel 1998). En cambio, en las especies sinovigénicas puede haber una limitación temporaria de huevos provocando una reducción en la tasa de oviposición (Heimpel & Rosenheim 1998; Rosenheim 1999). En estas especies, como la maduración de huevos es sostenida a lo largo de la vida, la limitación de huevos puede ocurrir en una escala de tiempo diaria dependiendo del número de hospedadores encontrados, aunque, rara vez estarán limitadas por el complemento de huevos a lo largo de su vida (Lane *et al.* 1999). En cualquier caso, la limitación de huevos en la hembra de un parasitoide tiene grandes implicancias en su capacidad para controlar a una plaga (Heimpel & Rosenheim 1998).

Jervis *et al.* (2001) desarrollaron un índice de ovigenia que permite clasificar a las especies en sinovigénicas y pro-ovigénicas dentro de un rango de valores que van de 0 a 1. Este índice mide el grado de concentración de la producción de huevos al

comienzo de la vida adulta. De este modo, la carga inicial de huevos es similar a la fecundidad potencial de la hembra en los parasitoides pro-ovigénicos (el índice de ovigenia tiende a 1) y es mucho menor en los sinovigénicos (el índice de ovigenia tiende a 0).

Según Jervis *et al.* (2008) la variación en el índice de ovigenia se refleja en la forma de la curva de fecundidad realizada específica por edad. A partir de datos empíricos, este autor describe cuatro tipos de curvas (Figura 4.2b). En la Tipo 1, las especies son estrictamente pro-ovigénicas, mientras que en las Tipo 2 a 4 las especies presentan grados variables de sinovigenia (moderada a extrema). Las especies de Tipo 1 presentan los valores máximos de oviposición al comienzo de la vida adulta. Las de Tipo 2 presentan una fecundidad más baja que las anteriores al momento de la emergencia, aumentan en los primeros días de la vida adulta, y luego declinan rápidamente. Las de Tipo 3 tienen generalmente un período de preoviposición corto y luego el patrón temporal de oviposición se asemeja al de las especies de Tipo 2, excepto en que la curva de fecundidad realizada es notoriamente más baja. Finalmente, las de Tipo 4 emergen sin huevos maduros, tienen un período de preoviposición más largo, y ponen los huevos a un ritmo menor durante un período más prolongado.

Las estrategias de maduración de los huevos (pro-ovigenia – sinovigenia) están asociadas con las distintas estrategias de la historia de vida de los parasitoides. A la mayoría de las especies pro-ovigénicas se las asocia con el modo de parasitismo koinobionte, mientras que a una alta proporción de especies sinovigénicas se las asocia con el modo idiobionte (Quicke 1997; Mayhew & Blackburn 1999; Jervis *et al.* 2001).

Las especies koinobiontes son aquellas que permiten al hospedador continuar con su desarrollo, crecimiento y alimentación (si es atacado como larva), y reproducción (si es atacado en la edad adulta), permaneciendo activo después del ataque.

Las especies idiobiontes, por el contrario, son aquellas que inactivan al hospedador y le impiden continuar con su desarrollo y crecimiento (Askew & Shaw 1986; Shaw & Huddleston 1991).

Varios autores (Askew 1975; Force 1975; Price 1977; Blackburn 1991a; 1991b) han propuesto un conjunto de rasgos divergentes para cada estrategia de historia de vida, modelados por selección natural y que se resumen en una “hipótesis dicotómica” (Godfray 1994; Jervis *et al.* 2001). Mayhew & Blackburn (1999) utilizando datos

filogenéticos establecieron que los koinobiontes tienen una vida adulta más corta, producen huevos más pequeños (pobres en vitelo) y tienen una fecundidad realizada y una tasa máxima de oviposición más alta que los idiobiontes. Jervis *et al.* (2001) encontraron que las especies koinobiontes poseen en promedio un índice de ovigenia más alto que las idiobiontes, y relacionan este índice con las siguientes características:

- i. Una fecundidad realizada alta está relacionada con una producción de huevos más pequeños (hidrópicos), lo que constituye un *trade-off* frecuente (Godfray 1994).
- ii. Las hembras de especies koinobiontes tienen una vida más corta que las idiobiontes (Mayhew & Blackburn 1999), lo que se relaciona con una mayor proporción de ovocitos maduros al emerger.
- iii. Las hembras koinobiontes tienen una tasa de oviposición más alta y una tendencia hacia la pro-ovigenia (Blackburn 1991b).
- iv. Los parasitoides koinobiontes pasan más tiempo como pupas en comparación con los idiobiontes (Blackburn 1991a), y esto debería dar más tiempo a los ovocitos para desarrollarse antes de la emergencia de la hembra.
- v. El *host-feeding* (consumo de hemolinfa y/o tejidos del hospedador) está más limitado a las especies fuertemente sinovigénicas dado que requieren más nutrientes para la maduración de huevos que las especies pro-ovigénicas o sinovigénicas débiles, las cuales ya nacen con un complemento de huevos maduros (Flanders 1950, Jervis *et al.* 2001).

La sinovigenia es el patrón predominante de maduración y oviposición entre las avispa parasitoides (Jervis *et al.* 2001) y algunos autores (Gordh *et al.* 1999) consideran que estas especies son más efectivas en el control biológico. En general, las hembras pro-ovigénicas, dado que tienen un número fijo de huevos, ponen menos huevos en cada hospedador y son más selectivas en la elección de la calidad de hospedadores (Iwasa *et al.* 1984; Heimpel *et al.* 1996; Sirot & Krivan 1997; Heimpel & Rosenheim 1998; van Baalen 2000). Las sinovigénicas, por otro lado, sincronizan la oogénesis con la oviposición, siendo el período de oviposición de las mismas relativamente largo. Además pueden reproducirse a densidades más bajas de la población del hospedador que las pro-ovigénicas (Gordh *et al.* 1999).

Capítulo 4. Estrategias de oviposición

Por otro lado, la evaluación de un enemigo natural para control biológico requiere, además del conocimiento de los rasgos anteriormente nombrados, de un estudio de la influencia de factores intrínsecos y extrínsecos sobre el número de huevos maduros en los ovarios, también llamada carga de huevos. Entre los factores intrínsecos se encuentra la edad de las hembras, y entre los extrínsecos la presencia de hospedadores, entre otros. La carga de huevos presenta una gran variabilidad entre los parasitoides. Por ejemplo, según Jervis *et al.* (2001) un incremento en la carga de huevos a lo largo del tiempo en hembras privadas de hospedadores, así como una carga de huevos que no varía a lo largo del tiempo en hembras con disponibilidad de hospedadores para parasitar, son características indicadoras de sinovigenia. Las variaciones en la carga de huevos puede afectar aspectos tales como el comportamiento de forrajeo, la eficiencia de búsqueda y la motivación para oviponer (Collier *et al.* 1994; Collier 1995; Heimpel & Rosenheim 1995; Ueno 1999). A su vez, todos estos aspectos pueden afectar procesos poblacionales del parasitoide y del hospedador (Eliopoulos *et al.* 2003), influyendo en el éxito de la implementación del parasitoide como agente de control biológico.

El conocimiento que se tiene sobre la biología reproductiva de *P. dignus* es que el adulto emerge con una cierta carga de huevos maduros. Esto fue observado en *Apanteles dignus* (actualmente *P. dignus*) parasitando sobre *Keiferia lycopersicella* perteneciente a la familia Gelechiidae (Cardona & Oatman 1971). Además, Luna *et al.* (2007) reportaron para *P. dignus* la condición de koinobionte y sugieren una estrategia reproductiva pro-ovigénica. Sin embargo, se desconoce el patrón de maduración de huevos a lo largo de la vida de la hembra adulta de esta especie. Tampoco se ha estudiado aún el efecto de la edad del adulto y de la privación de hospedadores sobre la carga de huevos.

El estudio de estos aspectos son cruciales para evaluar el desempeño y, por lo tanto, la potencialidad de *P. dignus*, ya que contribuirán a profundizar el conocimiento de aspectos de la biología reproductiva mejorando la eficiencia del empleo de estos organismos en el control biológico de *T. absoluta*.

La hipótesis de este capítulo es que la hembra de *P. dignus* tiene una estrategia de oviposición pro-ovigénica y que su carga de huevos es afectada por la edad de la hembra y la disponibilidad de hospedadores para parasitar. Se predice que la carga de huevos de la hembra al momento de su emergencia es similar a la fecundidad potencial

total, que las hembras más jóvenes tienen una mayor carga de huevos y que la privación de hospedadores no afectará la carga de huevos.

El objetivo de este estudio fue determinar la estrategia de oviposición (pro-ovigénica - sinovigénica) de la hembra de *P. dignus* e identificar si existe un efecto de la edad del parasitoide y de la disponibilidad de hospedadores en el número de huevos maduros almacenados en los ovarios.

Materiales y Métodos

Determinación del desarrollo de huevos por pro-ovigenia o sinovigenia

Para determinar la estrategia de oviposición de las hembras de *P. dignus*, es decir, si son pro-ovigénicas o sinovigénicas, se calculó el índice de ovigenia (IO) propuesto por Jervis *et al.* (2001), y se comparó la curva de fecundidad realizada específica por edad con las cuatro curvas teóricas propuestas por Jervis *et al.* (2008).

El índice de ovigenia se calculó a partir de la fracción de huevos maduros en el momento de la emergencia de la hembra (carga inicial de huevos) en relación a la fecundidad potencial máxima. Esta última, representa la suma de huevos inmaduros y maduros al inicio de vida de la hembra y fue medida a partir de la fecundidad realizada a lo largo de la vida (ver capítulo 3: Parámetros Demográficos), más el número de huevos remanentes en los ovarios cuando la hembra murió.

Un índice igual a 1 (pro-ovigenia estricta) indica que todos los ovocitos están maduros al momento de la emergencia de la hembra, mientras que un índice igual a 0 (sinovigenia extrema) denota la emergencia sin ovocitos maduros. Se calculó de la siguiente manera:

$$IO = \frac{\text{carga inicial de huevos}}{\text{fecundidad potencial máxima}}$$

Capítulo 4. Estrategias de oviposición

Para calcular el número de huevos maduros al momento de la emergencia se contó el número de huevos presentes en los ovarios de hembras recién emergidas ($n=39$). Para ello, los cocones del parasitoide fueron colocados individualmente en cápsulas de Petri y examinados diariamente para garantizar que las avispas adultas no superaran las 24 h de edad.

La disección de las hembras se realizó colocándolas sobre un portaobjetos con unas gotas de solución fisiológica. El metasoma fue separado del resto del cuerpo con la ayuda de pinzas, y fue abierto desgarrándolo por los lados con unas agujas muy finas llamadas “minucias”, lo que permitió que pudiera quedar expuesto el sistema reproductivo. Éste fue removido y colocado en un portaobjetos con una gota de solución fisiológica para contar el número de huevos maduros ubicados en los ovarios justo por encima del cáliz (Figura 4.1).

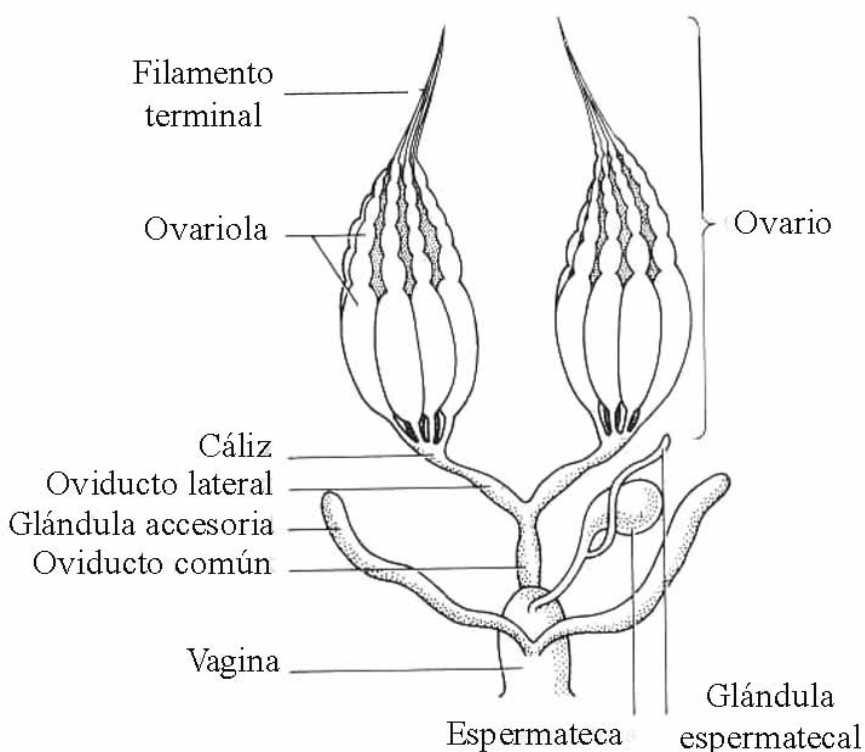


Figura 4.1. Sistema reproductor de la hembra en insectos.

Efecto de la edad del parasitoide y de la privación de hospedadores sobre la carga de huevos

Para evaluar cómo influye la edad de la hembra y la privación de hospedadores sobre la carga de huevos, es decir, sobre el número de huevos maduros presentes en los ovarios, se contó el número de huevos maduros en los ovarios de avispas adultas:

- i. de diferente edad: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 días.
- ii. con distinta disponibilidad de hospedadores: hembras privadas de hospedadores vs. hembras con 20-25 larvas de *T. absoluta* por día.

En todos los casos las hembras fueron alimentadas con miel pura *ad-libitum* y aquellas que estuvieron en presencia de hospedadores fueron mantenidas individualmente junto a un macho, durante las primeras 24 h, para asegurar la cópula. El parasitismo se produjo en las unidades de oviposición descritas en capítulo 2 – Materiales y Métodos Generales.

A las larvas hospedadoras retiradas cada día de vida de la hembra (días 0 a 6), se les permitió comer durante 72 h antes de la disección, para permitir la eclosión de los huevos del parasitoide, y de esta manera facilitar su visualización y conteo. El número de larvas encontradas se consideró equivalente al número de huevos depositados por la hembra del parasitoide. La disección de las hembras para el conteo de la carga de huevos remanentes fue realizada de la misma manera que en el ensayo anterior. Tanto las larvas como las hembras fueron congeladas a -18°C hasta el momento de la disección.

Análisis estadístico

La carga de huevos maduros al nacer se comparó con la fecundidad total realizada mediante un análisis de la varianza (ANOVA) (Zar 1999).

El efecto de la edad del parasitoide y la privación de hospedadores sobre la carga de huevos de la hembra fueron analizados mediante ANOVA de una vía para cada factor (Zar 1999). El número de huevos maduros en el día 0 fue el mismo para las hembras sin y con hospedadores.

Resultados

Determinación del desarrollo de huevos por pro-ovigenia o sinovigenia.

Se obtuvo un índice de ovigenia= 0,23. La carga inicial promedio (\pm ES) de huevos fue de $51,71 \pm 4,3$ (n= 39) (mínimo= 14, máximo= 90), y la fecundidad potencial fue de $222,85 \pm 10,4$ (n= 7) (mínimo= 144, máximo= 306). La carga de huevos de las hembras recién emergidas fue significativamente menor que la fecundidad realizada ($F= 133,75$; g.l.= 1,44; $P<0,0001$), lo que al igual que el índice de ovigenia indica que la maduración de la mayor parte de los huevos ocurre luego de la emergencia de las hembras.

En la Figura 4.2a se puede observar que la curva de fecundidad realizada específica por edad de *P. dignus* se asemeja a la curva de Tipo 2 propuesta por Jervis (2008) (Figura 4.2b) correspondiente a una sinovigenia moderada, donde las hembras emergen con una cierta cantidad de huevos y luego son capaces de madurar más a lo largo de la vida.

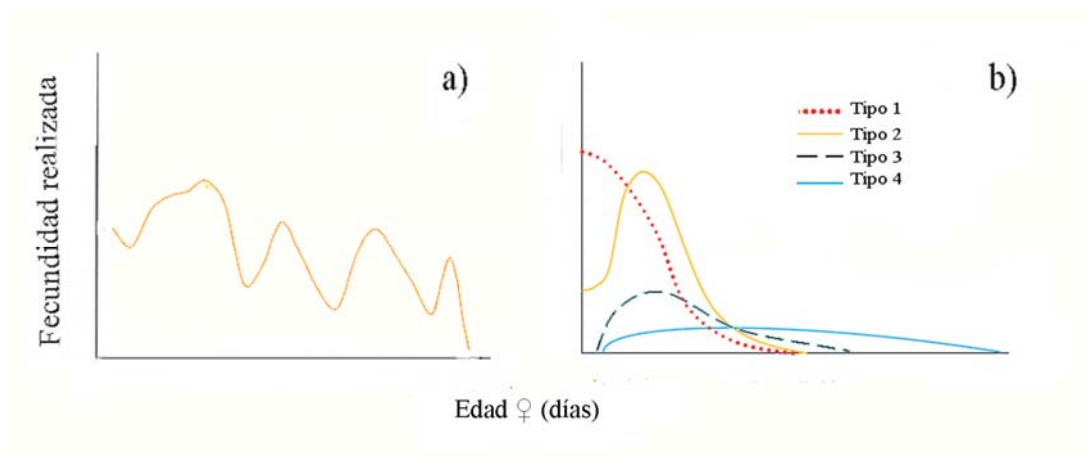


Figura 4.2. a) Curva de fecundidad realizada a lo largo de la vida de la hembra de *P. dignus*. b) Curvas teóricas de fecundidad realizada de diferentes especies de parasitoides. (Fuente: Jervis *et al.* 2008).

Efecto de la edad del parasitoide y de la privación de hospedadores sobre la carga de huevos

Los resultados de las cargas de huevos medidas se muestran en la Tabla 4.1. Las hembras privadas de hospedadores mostraron un aumento significativo en la carga de huevos ($F= 6,42$; g.l.= 6, 108; $P<0,0001$) (Figura 4.3a). Durante el segundo y tercer día el incremento representó un 36%, alcanzando un máximo de alrededor de 82 huevos maduros en el día dos. A partir del día tres, la carga de huevos se mantuvo constante. En cambio, las hembras que tuvieron acceso a hospedadores, disminuyeron su carga de huevos casi a la mitad hacia el tercer día debido al parasitismo pero no mostraron diferencias estadísticamente significativas en su carga de huevos a lo largo del tiempo ($F= 2,59$; g.l.= 4, 17; $P= 0,09$) (Figura 4.3b). Además, estas hembras mostraron mayor número de huevos en los ovarios que en los hospedadores parasitados

Tabla 4.1. Número de huevos maduros (media \pm DS) en los ovarios de hembras de *P. dignus* de diferentes edades, sin y con hospedadores, y número de huevos depositados en los hospedadores.

Edad (días)	Carga de huevos en los ovarios		N° huevos en hospedadores
	Sin hospedadores	Con hospedadores	
0	51,74 \pm 19,13 (14-90; n= 39)		-----
1	67,80 \pm 18,47 (22-89; n= 20)	-----	-----
2	81,92 \pm 15,33 (51-104; n= 13)	30,33 \pm 17,02 (7-69; n= 9)	25,41 \pm 13,46 (2-47; n= 22)
3	80,75 \pm 23,29 (42-112; n= 16)	26,50 \pm 7,68 (20-35; n= 4)	12,69 \pm 6,81 (5-29; n= 13)
4	70,83 \pm 17,38 (49-95; n= 6)	48,50 \pm 11,90 (35-64; n= 4)	14,89 \pm 6,75 (4-26; n= 9)
5	52,46 \pm 29,67 (17-117; n= 13)	46,00 (n= 1)	20,00 \pm 7,04 (10-28; n= 5)
6	58,86 \pm 27,78 (20-100; n= 7)	46,75 \pm 17,11 (22-61; n= 4)	23,00 \pm 7,53 (17-34; n= 4)

Entre paréntesis el rango, n= número de adultos disecados.

Capítulo 4. Estrategias de oviposición

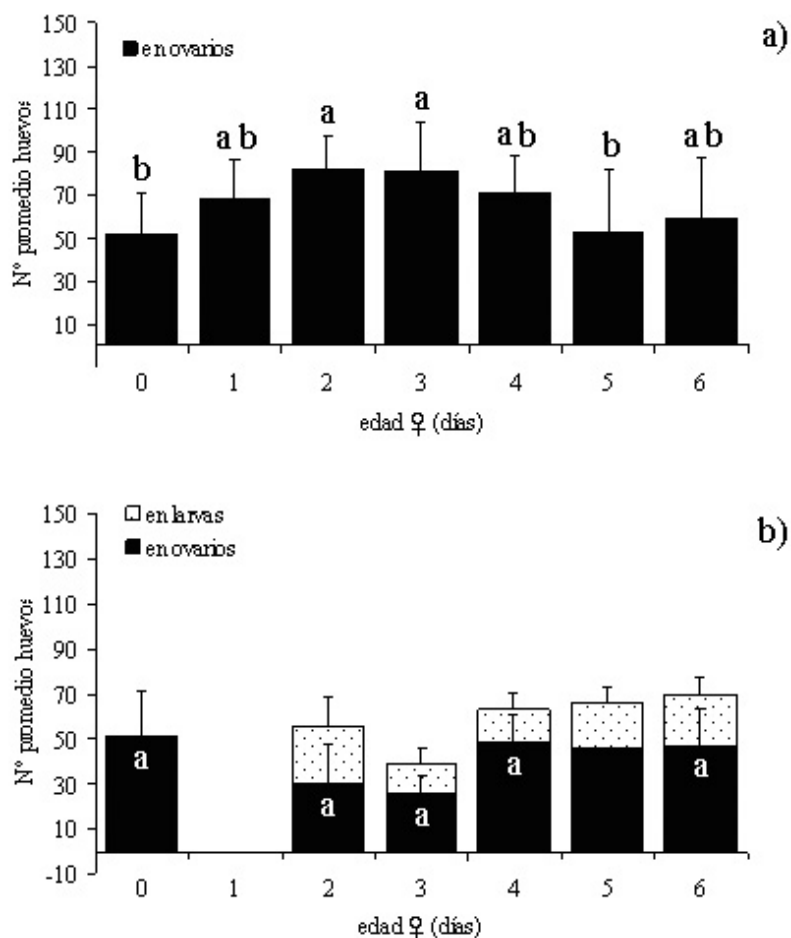


Figura 4.3. Número de huevos (media \pm DS) en hembras de *P. dignus* de diferente edad. a) sin hospedadores, b) con hospedadores. En el día 1 las hembras permanecieron con el macho, el día 5 hubo una sola hembra por lo cual esta fecha no se incluyó en el análisis. Las barras con la misma letra no difieren estadísticamente (test de Tukey, $\alpha=0,05$).

La carga diaria de huevos en las hembras privadas de hospedadores fue significativamente mayor que en las hembras que estuvieron en presencia de hospedadores (día 2: $F=58,52$; g.l.= 1, 21; $P<0,0001$; día 3: $F=20,40$; g.l.= 1, 18; $P<0,0001$; día 4: $F=4,95$; g.l.= 1, 8; $P=0,05$) excepto en el último día (día 6: $F=0,61$; g.l.= 1, 9; $P=0,46$) en que no hubo diferencias.

Discusión

Las hembras adultas de *P. dignus* mostraron un índice de ovigenia de 0,23, es decir, más cercano a 0 (sinovigenia extrema) que a 1 (pro-ovigenia estricta) según el continuo propuesto por Jervis *et al.* (2001) para definir diferentes estrategias de producción de huevos de los parasitoides a partir del análisis de unas 638 especies. El índice de ovigenia de *P. dignus* fue muy similar al índice promedio hallado por estos autores (0,22) dentro del conjunto de especies que presentaron sinovigenia. Valores coincidentes fueron también encontrados en las especies *Asobara tabida* (Nees) (Hymenoptera: Braconidae) (IO= 0,24-0,36) parasitoide solitario de la mosca de la fruta (Ellers & van Alphen 1997) y *Praon palitans* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae) (IO= 0,25) parasitoide de áfidos de la familia Aphididae (Schlinger & Hall 1960). Dentro de la familia Braconidae, el índice de ovigenia fue muy variable, presentando valores que abarcan todo el rango, de 0 a 1, aunque la mayoría de las especies presentó valores más bajos que 1, indicando sinovigenia. Sólo se registraron dos especies pro-ovigénicas, con valores muy cercanos a 1: *Cotesia flavipes* (Cameron) parasitoide gregario de larvas de lepidópteros de las familias Pteromalidae y Noctuidae (Potting *et al.* 1997) y *Microctonus vittatae* Muesebeck parasitoide solitario de escarabajos de la familia Chrysomelidae (Smith 1952). La investigación llevada a cabo por Jervis *et al.* (2001) encontró que el 98,12% de las especies analizadas presentaron sinovigenia.

Según varios autores (Godfray 1994; Quicke 1997; Mayhew & Blackburn 1999), en los parasitoides existe una asociación entre las estrategias de oviposición (pro-ovigenia – sinovigenia) con el modo de desarrollo (koinobionte – idiobionte) y Jervis *et al.* (2001) demostraron que las especies koinobiontes tienen un índice de ovigenia más alto que las idiobiontes. En tal sentido, *P. dignus* por ser una especie koinobionte, cuyos hospedadores continúan su desarrollo luego de ser atacados, debería presentar una estrategia de oviposición más cercana a la pro-ovigénica (Luna *et al.* 2007). Sin embargo, el índice de ovigenia de *P. dignus* es bastante menor que 1 indicando que, a pesar de ser koinobionte, su estrategia reproductiva es la sinovigenia.

Asociado al modo de desarrollo, también se encuentran otras características como el tipo de huevos y la longevidad. Las especies koinobiontes producen huevos hidrópicos (pobres en vitelo) y esto se relaciona con una mayor proporción de huevos

maduros al momento de la emergencia de la hembra y una fecundidad más alta (Godfray 1994; Jervis *et al.* 2001) que en las especies idiobiontes. En el caso de *P. dignus*, si bien no se midió el tamaño de los huevos, teniendo en cuenta que la hembra emerge con una cierta cantidad de huevos maduros, se esperaría que éstos sean del tipo hidrópico y que la fecundidad sea relativamente alta respecto de especies idiobiontes. Esta característica, sumada a que las especies koinobiontes tienen una vida adulta más corta, sería ventajoso en relación a su potencial uso para el control biológico (van Lenteren 1986).

Ellers & van Alphen (1997) proporcionaron evidencia de que existe una relación inversa entre la longevidad y la proporción de ovocitos maduros al momento de la emergencia entre diferentes cepas de la avispa parasitoide *A. tabida* (Nees). Jervis *et al.* (2001) encontraron una diferencia significativa entre la longevidad media de las especies pro-ovigénicas (9 días) y sinovigénicas (26 días). Estas diferencias se pueden observar, por ejemplo, dentro de la familia Braconidae: *C. flavipes* (Cameron) es pro-ovigénica con un índice muy cercano a 1 y una longevidad aproximadamente de 5 días (Potting *et al.* 1997). En contraste, *Biosteres vandenboschii* (Fullaway) y *A. tabida* (Nees) con índices alejados de 1 (entre 0,24-0,36 la primera, y menor a 0,06 la segunda) poseen una longevidad mayor (45-50 y 24 días respectivamente) (Ramadan *et al.* 1995, Ellers & van Alphen 1997). En comparación con estas especies de braconidos, las hembras de *P. dignus* tienen una longevidad intermedia, de casi 15 días (ver capítulo 3 - Parámetros Demográficos), lo que podría explicar que siendo koinobionte tenga una sinovigenia moderada.

El número de huevos que una hembra de parasitoide deposita durante su vida está determinado por la interacción entre tres factores: el número de hospedadores disponibles, el número de huevos maduros a lo largo de la vida y el comportamiento de manipulación durante la oviposición (Jervis *et al.* 2001). En este trabajo se analizó en particular, el número de huevos maduros en relación a la disponibilidad de hospedadores. En hembras de *P. dignus* privadas de hospedadores, se pudo ver un aumento significativo de su carga de huevos hacia el segundo y tercer día de vida confirmando su sinovigenia. Este proceso también se ha observado en varias especies durante la fase temprana de la vida adulta (Djambong & Lauge 1977; van Vianen & van Lenteren 1986; Le Masurier 1991; Harvey *et al.* 1994; Olson *et al.* 2000).

Capítulo 4. Estrategias de oviposición

Por el contrario, en hembras de *P. dignus* con hospedadores disponibles, se pudo observar que no hubo diferencias significativas en la carga de huevos a lo largo del tiempo. Según Jervis *et al.* (2001) las hembras que oviponen sin mayores cambios en la carga de huevos a lo largo del tiempo son sinovigénicas. Esta característica se ha encontrado, por ejemplo, en *Leptomastix dactylopii* (Chalcidoidea: Encyrtidae), donde la carga de huevos se mantiene constante durante una larga fase de la vida adulta, independientemente de cuantos huevos han sido puestos en los hospedadores (Rivero-Lynch & Godfray 1997).

En el último ensayo se pudo observar que las hembras conservaron un gran número de huevos en los ovarios a pesar de disponer de hospedadores. Esto podría atribuirse a que el número de hospedadores ofrecidos ($n= 20-25$ larvas de *T. absoluta*) no fue suficiente. Cardona & Oatman (1971) consideran que para una cepa mexicana de *A. dignus* parasitando sobre *K. lycopersicella*, el número óptimo de hospedadores para optimizar la cría del parasitoide fue de 90 larvas/día. En el caso que *P. dignus* fuera provista con un número mayor de hospedadores, se esperaría, según Harvey *et al.* (2001), que la oviposición alcanzara su máximo fisiológico, llegando a estar solo limitada por la tasa de maduración de huevos y el tiempo de manipuleo y no por la disponibilidad de hospedadores.

Entre las especies sinovigénicas, es frecuente que las hembras se alimenten de su hospedador (*host-feeding*). Sin embargo las hembras de *P. dignus*, al igual que algunas especies sinovigénicas, sólo ingieren néctar y miel para compensar el incremento metabólico requerido para la ovogénesis (Jervis & Copland 1996). Consecuentemente, la alimentación con miel promueve la producción de huevos, mientras que la privación de hospedadores produce retención de huevos. Harvey *et al.* (2001) demostraron que hembras de *Venturia canescens*, alimentadas y expuestas a hospedadores de *Plodia interpunctella* durante 24 h, después de 5 días de privación, produjeron más del doble de descendientes en ese período, que avispas con disponibilidad de hospedadores a partir de la eclosión. Un resultado similar se observó para *Coccophagus atratus* (Hymenoptera: Aphelinidae) (Donaldson & Walter 1988). Es muy importante tener en cuenta este fenómeno si se quiere criar masivamente a un parasitoide con estas características, debido a que en el momento de la liberación, las hembras deberían alcanzar su máxima carga de huevos para que la producción de progenie resulte exitosa. Es decir, mantener a las hembras sin hospedadores durante los primeros días y esperar a

que alcancen la máxima carga de huevos al momento de la liberación, permitiría optimizar la tasa de parasitismo.

Una disminución en la carga de huevos en las hembras de *P. dignus* privadas de hospedadores luego del tercer día de vida, podría sugerir la capacidad de reabsorción de huevos, y de acuerdo a Harvey *et al.* (2001) esto se debería a una re-distribución de las reservas metabólicas para el mantenimiento. Muchas especies sinovigénicas son capaces de reabsorber los huevos cuando los hospedadores están ausentes o son escasos. Los nutrientes de los huevos se reutilizan principalmente para mantener a la hembra hasta que pueda reanudar la oviposición (Jervis & Kidd 1986) o, más raramente, como un medio para mantener un suministro constante de huevos recién maduros (Rivero-Lynch & Godfray 1997). Según algunos autores (Jervis *et al.* 2001), esta cualidad es propia de los parasitoides que producen huevos ricos en vitelo, es decir, los idiobiontes. *P. dignus*, por ser koinobionte tiene un desarrollo de huevos pobres en vitelo, por lo que este proceso parece poco probable.

El conocimiento de la historia de vida de los parasitoides tiene importantes implicancias para entender la evolución de las estrategias reproductivas y demográficas de las interacciones parasitoide-hospedador (Godfray 1994; Harvey *et al.* 2001). A su vez, el éxito reproductivo de las hembras parasitoides tiene implicancias directas sobre la implementación del control biológico.

En conclusión, los resultados obtenidos indican que en contraste con la mayoría de las especies koinobiontes que son pro-ovigénicas, *P. dignus* debe ser considerada como una especie moderadamente sinovigénica. Además, la privación de hospedadores puede aumentar la producción de descendientes hacia el segundo y tercer día de vida de la hembra, por lo que este aspecto debería ser tenido en cuenta en las crías masivas con fines de liberación.

Capítulo 5

Superparasitismo



Introducción

El superparasitismo se define como la oviposición de uno o varios huevos en un hospedador que ha sido previamente parasitado por la misma hembra (auto-superparasitismo), o por otra de la misma especie (superparasitismo conespecífico) (van Dijken & Waage 1987). En el caso de una especie solitaria, de la cual emerge sólo un parasitoide, este comportamiento produce competencia larval (Reynolds & Hardy 2004). Existe una diferencia importante entre la oviposición en un hospedador previamente parasitado por la misma hembra y la oviposición en un hospedador parasitado por un conespecífico (van Alphen & Nell 1981). Para van Dijken & Waage (1987) la diferencia entre “auto” y superparasitismo “conespecífico” es que en el primer caso aumentará la competencia entre hermanos, y en el segundo la competencia será entre los descendientes de hembras distintas. En el caso de los parasitoides solitarios, donde sólo uno de los huevos depositados en un hospedador será capaz de convertirse en un adulto, el auto-superparasitismo podría significar una pérdida de tiempo y de huevos, mientras que el superparasitismo conespecífico podría llegar a ser ventajoso, bajo ciertas condiciones, debido a la probabilidad de eliminación de un competidor no hermano del hospedador parasitado (van Alphen & Visser 1990).

El superparasitismo fue considerado durante mucho tiempo como una conducta no adaptativa (Reynolds & Hardy 2004). Waage (1986) explica que desde el punto de vista del parasitoide, un hospedador parasitado representa un recurso de baja calidad en términos de *fitness*; la progenie de una hembra que superparasita está, normalmente, en desventaja competitiva en comparación con la progenie de aquella que monoparasita, ya que a menudo, la segunda larva muere por competencia con la primera (Baaren 1996). A la vista de esta desventaja, tendría sentido para el parasitoide, ser capaz de reconocer los hospedadores parasitados de los no parasitados (Godfray 1994), esto le permitiría evitar perder tiempo y huevos sobre hospedadores donde su progenie tiene una muy baja probabilidad de sobrevivir. Asimismo, donde el hospedador ha sido previamente parasitado por la misma hembra, la habilidad de reconocer el parasitismo evita el riesgo de dañar al hospedador sometiéndolo a un nuevo ataque (van Lenteren 1981).

Sin embargo, para otros autores el superparasitismo a pesar de representar un fuerte proceso competitivo en parasitoides solitarios, puede ser adaptativo siempre que un huevo puesto en un hospedador parasitado incremente la probabilidad de la hembra

de obtener descendencia en ese hospedador (van Alphen & Nell 1981; Hubbard *et al.* 1987; Visser *et al.* 1990; van Alphen & Visser 1990).

La capacidad de discriminación, que consiste en aceptar o no a un hospedador previamente parasitado, y de esta manera evitar el superparasitismo, ha sido objeto de fuertes presiones selectivas (Salt 1961; Speirs *et al.* 1991; Hamelin *et al.* 2007). Ésta consiste en la detección de marcas dejadas en el hospedador por su predecesor, generalmente señales químicas (Hubbard *et al.* 1987; Roitberg & Mangel 1988; Marris *et al.* 1996; van Baaren & Boivin 1998; Lize *et al.* 2006). Considerando que la mayoría de las hembras de los parasitoides son capaces de discriminar, y que el superparasitismo es común en la naturaleza (Salt 1934, 1961; Schröder 1971; Driessen & Hemerik 1991), cabría preguntarse: ¿Qué factores influyen en una hembra parasitoide para que superparasite?. van Lenteren (1976) enumera una serie de factores que pueden causar el superparasitismo, de los cuales considera que los dos más importantes son:

- i. La hembra del parasitoide no puede evitar el superparasitismo cuando sólo encuentra hospedadores parasitados durante un periodo largo de tiempo.
- ii. La hembra aún no ha aprendido a discriminar entre hospedadores parasitados y no parasitados.

En cuanto al primer factor, la teoría sugiere que el superparasitismo debería incrementar cuando la tasa de encuentro con hospedadores no parasitados es baja, y disminuir cuando los hospedadores parasitados son relativamente menos frecuentes (Parker & Courtney 1984; Skinner 1985). En relación al “autosuperparasitismo” esto se ha podido demostrar cuando se confina a una hembra del parasitoide con unos pocos hospedadores. van Dijken & Waage (1987) observaron que cuando las hembras de *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) fueron expuestas a la misma cantidad de hospedadores, durante diferentes periodos de tiempo, el superparasitismo aumentó a medida que el tiempo de exposición fue mayor. En relación al “superparasitismo conespecífico” este comportamiento fue encontrado en el endoparasitoide solitario *Leptopilina heterotoma* (Hymenoptera: Eucoilidae) (Thompson). En este caso el porcentaje de supervivencia de los huevos puestos en hospedadores parasitados fue alto cuando esto ocurría poco después de la primera oviposición. Sin embargo, a medida que aumentó el tiempo entre la primera y segunda oviposición la supervivencia del segundo huevo fue decreciendo (Bakker *et al.* 1985).

Capítulo 5. Superparasitismo

Se podría considerar que el superparasitismo en una especie solitaria tendría ventaja selectiva si la probabilidad de sobrevivir, de al menos un huevo, incrementara.

En cuanto al segundo factor, hay una amplia evidencia de que los parasitoides retienen la información y que su comportamiento puede ser modificado por la experiencia (Thorpe 1956; Arthur 1966; 1971; van Alphen & van Harsel 1982 citado por van Alphen & Visser 1990; van Dijken *et al.* 1986). Entonces, la decisión de superparasitar puede estar influenciada por la experiencia previa. Según van Alphen & Visser (1990) antes se consideraba como una incapacidad de las hembras sin experiencia, no poder reconocer a los hospederos parasitados (Klomp *et al.* 1980; Suzuki *et al.* 1984; van Lenteren 1976); luego, se demostró que los parasitoides evitan la oviposición en hospedadores parasitados después de oviponer en varios hospedadores no parasitados, y se concluyó que la discriminación del hospedador puede ser aprendida (van Lenteren 1976; Klomp *et al.* 1980). Sin embargo, en un nuevo análisis de estos datos (van Lenteren 1976; Klomp *et al.* 1980) se ha demostrado que los parasitoides inexpertos son perfectamente capaces de discriminar entre los hospedadores no parasitados y parasitados (van Alphen *et al.* 1986; van Alphen & Nell 1981).

El superparasitismo puede afectar el sistema de defensa del hospedador, reduciendo su respuesta inmune (Puttler 1974; Bakker *et al.* 1985; Salt 1968; Vinson 1990). El encapsulamiento del parasitoide, en estado de huevo y/o larva, es un mecanismo por el cual el hospedador responde formando una cápsula de células sanguíneas (hemocitos) alrededor del huevo o la larva del parasitoide provocándole la muerte por diversas causas, tales como sofocación, inanición e inhibición del desarrollo embrionario. Se ha observado que en general, a medida que el número de parasitoides por hospedador aumenta, la reacción de encapsulamiento disminuye en intensidad (Salt 1959; van den Bosch & Dietrick 1959) e incidencia (Schneider 1950 citado por Blumberg 1997; Puttler & van den Bosch 1959; Puttler 1967; van Strien-van Liempt 1983). El superparasitismo induciría un debilitamiento del hospedador disminuyendo su capacidad para producir una reacción de defensa completa (Salt 1963; van Alphen & Visser 1990). En este caso, uno o más huevos podrían ser parcialmente encapsulados o evadir la reacción y de esta manera sobrevivir y desarrollarse normalmente (Blumberg 1991).

Al evaluar el efecto del superparasitismo sobre la eficacia de un parasitoide, es importante conocer la proporción de huevos o larvas encapsulados (Blumberg 1991), ya

que, el grado de encapsulamiento que sufre un parasitoide puede resultar útil para predecir el potencial para dejar descendencia del parasitoide en el campo y/o explicar los fracasos de su establecimiento. Desde el punto de vista de la implementación del control biológico mediante liberaciones aumentativas, altas tasas de encapsulamiento pueden obstaculizar la cría masiva del parasitoide en el laboratorio (Blumberg & Swirski 1977; Hart 1972; Reed *et al.* 1968).

Estudios recientes revelan que el superparasitismo podría estar controlado por un virus (Varaldi *et al.* 2003; Reynolds & Hardy 2004; Gandon *et al.* 2006). Varaldi *et al.* (2003) muestran un ejemplo en que el comportamiento de superparasitismo de la avispa *Leptopilina bouleari* (Hymenoptera: Eucoilidae) es causado por un agente infeccioso de transmisión vertical y horizontal.

Debido a la importancia de los parasitoides para el control biológico de plagas (Wajnberg & Hassan 1994 citado por Hamelin *et al.* 2007), una mayor comprensión de las consecuencias del superparasitismo podrá contribuir a mejorar los programas de control biológico, tanto en lo vinculado a la cría en masa, como a la efectividad de control en el campo (Hamelin *et al.* 2007). No obstante, resulta difícil afirmar si el superparasitismo en un parasitoide solitario es un proceso ventajoso o no para el control biológico, ya que podría existir un *trade-off* entre la pérdida de huevos por parte de la hembra del parasitoide y el aumento de la efectividad del parasitismo, al aumentar la probabilidad de muerte del hospedador.

En el caso del parasitoide *P. dignus*, existen escasos registros de superparasitismo a campo y en laboratorio, y sobre su capacidad de evitar el encapsulamiento por parte del hospedador (Luna *et al.* 2006). Dado que es un parasitoide solitario y que sólo se desarrolla un individuo por hospedador, la hipótesis de este capítulo es que las hembras del parasitoide *P. dignus* evitan el superparasitismo sobre larvas de *T. absoluta*. Por lo tanto, se espera encontrar una relación 1 parasitoide:1 hospedador.

El objetivo fue determinar la existencia de superparasitismo de *P. dignus* sobre las larvas de *T. absoluta*, en laboratorio y en condiciones de campo, y establecer en qué medida los huevos y las larvas del parasitoide son encapsulados por la larva hospedadora.

Materiales y Métodos

Estudios en laboratorio

Para el cálculo del superparasitismo y del encapsulamiento por parte de la larva hospedadora se usó material proveniente de los experimentos correspondientes a los Capítulos 3 y 4, en donde a parejas de adultos de *P. dignus* se les ofreció, diariamente, entre 20 y 25 larvas de *T. absoluta*. Transcurrido cada día se retiraron las larvas hospedadoras, y se las mantuvo alimentadas con hojas de tomate *ad libitum* durante 72 h para dar tiempo a que los huevos del parasitoide eclosionaran en su interior y de esta manera facilitar su observación. Posteriormente, se colocaron en un *freezer* hasta su disección bajo lupa binocular. Para cada día de vida de la hembra de *P. dignus* se registró el número de huevos o larvas dentro de cada hospedador, el grado de desarrollo de la larva del parasitoide (L_1 temprana o avanzada), y la presencia de encapsulamiento. El total de larvas de *P. dignus* disecadas en laboratorio fue de 2.952.

Los individuos se mantuvieron en un bioterio con condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperiodo ($25\pm 2^\circ\text{C}$, 60–70% HR, 14:10 L:O).

Estudios en condiciones de campo

Se recolectaron larvas de *T. absoluta* en los cultivos de tomate bajo cubierta de los tres sitios del Cinturón Hortícola de La Plata con distinto tipo de manejo descritos en el capítulo 2 (Materiales y Métodos Generales). El sitio 1 estuvo compuesto por dos predios caracterizados por presentar cultivos con manejo convencional con baja aplicación de insecticidas químicos; el sitio 2 presentó un manejo orgánico, sólo con aplicación de plaguicidas permitidos para este tipo de manejo; y el sitio 3 presentó un manejo orgánico sin aplicación de ninguna clase de plaguicidas.

Capítulo 5. Superparasitismo

La existencia y los niveles de superparasitismo y eventualmente multiparasitismo (cuando hay más de una especie de parasitoide por hospedador) se determinaron mediante la disección de un número total de 526 larvas de *T. absoluta* (Tabla 5.1). Para ello se recolectaron folíolos con daño fresco tomados del tercio superior de plantas de tomate elegidas al azar dentro del invernáculo. Los folíolos fueron llevados en bolsas al laboratorio y revisados bajo lupa binocular para detectar la presencia de minas con larvas de *T. absoluta*. Se extrajeron todas las larvas vivas y muertas presentes, y se colocaron en pequeñas bolsas plásticas rotuladas y conservadas en *freezer* a -18° C hasta su posterior disección. Para cada sitio y fecha de muestreo se contó el número de individuos de *P. dignus* y de cualquier otro parasitoide que se encontrara en el interior de la larva hospedadora. Se registró el estado/estadio del hospedador y del parasitoide, así como el número de individuos encapsulados.

Tabla 5.1. Número de larvas de *T. absoluta* recolectadas en cada muestreo para los tres sitios de estudio en los años 2009 y 2011. Sitio 1: manejo convencional; sitio 2: manejo orgánico con aplicación de plaguicidas permitidos; sitio 3: manejo orgánico sin aplicación de plaguicidas.

Sitio	Fecha de muestreo	Nº de larvas Recolectadas
1	08/01/2009	40
1	24/02/2009	47
1	11/03/2009	21
1	19/03/2009	25
2	08/01/2009	9
2	28/01/2009	27
2	24/02/2009	58
2	11/03/2009	37
2	19/03/2009	34
2	14/02/2011	31
3	28/01/2009	29
3	05/02/2009	31
3	24/02/2009	8
3	06/03/2009	14
3	14/02/2011	11
3	14/02/2011	23
3	30/03/2011	24
3	29/04/2011	10
3	03/06/2011	29
3	17/06/2011	18

Análisis de los datos de laboratorio y campo

La existencia de superparasitismo, en laboratorio y a campo, se calculó en base al número de larvas del parasitoide por larva de *T. absoluta*, y se analizó el alejamiento de los datos de la relación 1 parasitoide:1 hospedador mediante la prueba de Chi cuadrado (χ^2) de Pearson, realizando la corrección de Yates cuando fue necesario (Zar 1999). Los casos con frecuencia teórica menor a 5 no se incluyeron en el análisis. En el laboratorio este dato se registró cada día de vida de la hembra de *P. dignus*, mientras que en el campo, en cada fecha de muestreo. Para evaluar las diferencias entre el número de larvas parasitadas con un sólo huevo (monoparasitadas) y el de aquellas parasitadas con más de uno (superparasitadas) por una misma hembra de *P. dignus* en laboratorio, se realizó una prueba *t* de Student para dos muestras apareadas, previa transformación raíz cuadrada, para cada día de vida de la hembra. Se obtuvieron datos del día 1 al 19, sin embargo, sólo pudieron analizarse los días 1 a 13, ya que la falta de réplicas impidió analizar el día 14 en adelante.

En el laboratorio y en el campo la frecuencia de huevos y/o larvas encapsuladas se determinó para los distintos niveles de parasitismo (larvas hospedadoras monoparasitadas, y superparasitadas con 2, 3, ..., *n* individuos). De acuerdo a Blumberg (1991) se calculó, para cada nivel de parasitismo, la frecuencia de encapsulamiento (FE) en las larvas parasitadas como el porcentaje total de huevos y/o larvas encapsuladas del parasitoide:

$$FE = \frac{\text{Nº de huevos y/o larvas encapsuladas} \times 100}{\text{Nº total de huevos y/o larvas}}$$

y la eficiencia de encapsulamiento (EE), esto es el porcentaje de larvas parasitadas donde el encapsulamiento fue completo evitando el desarrollo del parasitoide, según:

$$EE = \frac{\text{Nº de hospedadores que encapsularon todos los individuos} \times 100}{\text{Nº total de hospedadores parasitados}}$$

Capítulo 5. Superparasitismo

A partir de los valores FE y EE se calculó la probabilidad de supervivencia de un descendiente de *P. dignus* por hospedador para los diferentes niveles de parasitismo (larvas monoparasitadas, y superparasitadas con 2, 3, ..., n individuos). El porcentaje de pérdida de descendientes (huevos y L_1) por hembra de *P. dignus* se estimó en base a la suma del porcentaje de pérdida (por encapsulamiento y por competencia larval) para los diferentes niveles de superparasitismo y del porcentaje de encapsulamiento de las monoparasitadas.

Los porcentajes de superparasitismo y de hospedadores encapsulados en los diferentes estadios larvales de *T. absoluta* se contrastaron mediante la prueba de Chi cuadrado (χ^2) de Pearson.

En el estudio de campo, la existencia de multiparasitismo, se evaluó a través de la presencia y número de huevos o larvas de más de una especie de parasitoides en las larvas de *T. absoluta*.

Resultados

Estudios en laboratorio

De un total de 2.952 larvas disecadas en laboratorio, el 50% se encontraron parasitadas. Las hembras de *P. dignus* superparasitaron todos los estadios larvales. En la Figura 5.1 pueden verse los porcentajes del total de larvas parasitadas que tenían entre 1 y 9 parasitoides en su interior. El porcentaje de larvas monoparasitadas fue notoriamente más elevado, y si bien el número de huevos y/o larvas de *P. dignus* por larva hospedadora varió entre 1 y 9 individuos, el porcentaje de hospedadores con más de tres huevos fue extremadamente bajo.

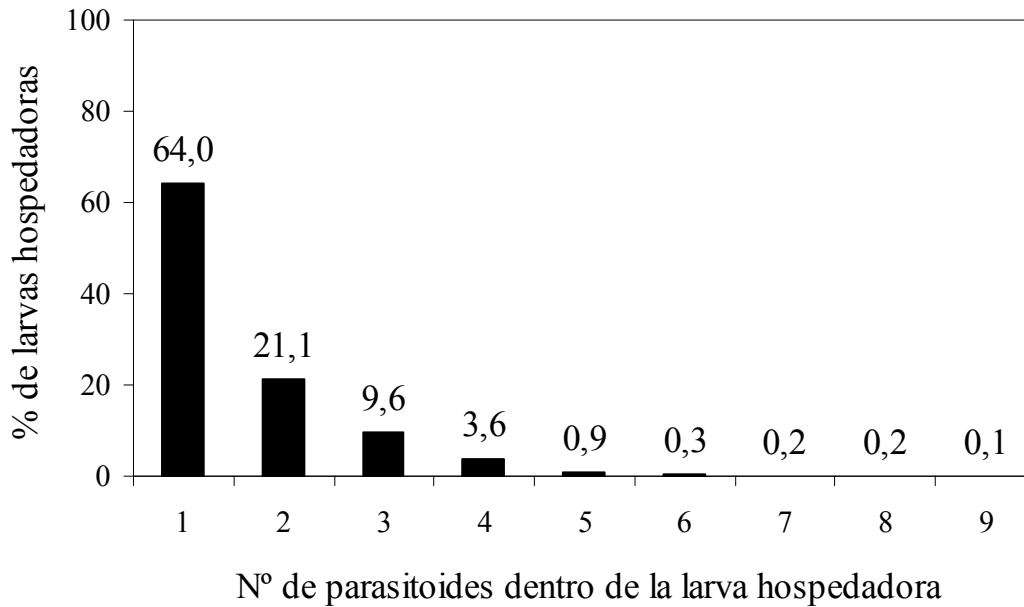


Figura 5.1. Porcentaje de larvas de *T. absoluta* con 1 a 9 individuos del parasitoide en su interior.

La cantidad de parasitoides encontrados dentro de los hospedadores no se alejó significativamente de la relación 1 parasitoide:1 hospedador en la mayor parte de los casos (Tabla 5.2), indicando un predominio del monoparasitismo.

Capítulo 5. Superparasitismo

Si bien, las hembras de *P. dignus* superparasitaron a lo largo de toda la vida (Figura 5.2) el número de larvas monoparasitadas siempre fue mayor que el de superparasitadas, salvo durante los tres primeros días donde no existieron diferencias significativas entre el número promedio de larvas mono y superparasitadas, al igual que para los días 6, 7, 9 y 13. En general, no se observó un patrón definido en el número de larvas de *T. absoluta* mono y superparasitadas a lo largo del periodo observado.

Tabla 5.2. Relación 1 parasitoide:1 hospedador en diferentes días de vida de las hembras de *P. dignus* que parasitaron en condiciones de laboratorio.

<i>Nº Hembra</i>	<i>días de vida de la ♀ en que parasitó</i>	<i>n</i>	<i>Relación observada parasitoide:hospedador</i>	<i>χ²</i>
1	1	9	1,1 : 1	0,11
2	1	9	2,1 : 1	3,61
3	1	13	2,2 : 1	5,51*
4	1	9	2,9 : 1	8,29*
5	2	17	1,3 : 1	0,67
6	2	19	1,8 : 1	4,76*
7	2	26	1,8 : 1	5,57*
8	2	14	1 : 1	0,04
8	3	13	1,3 : 1	0,57
9	2	12	2,1 : 1	4,59*
9	3	11	1,4 : 1	0,65
10	2	11	2,6 : 1	8,13*
10	3	6	1,5 : 1	0,67
11	2	19	2,5 : 1	11,89*
11	3	5	1 : 1	0,10
12	2	12	3,8 : 1	19,95*
12	3	9	1,7 : 1	1,54
13	2	9	1,4 : 1	0,77
13	3	8	1,3 : 1	0,28
13	4	9	1 : 1	0,06
14	2	17	1,9 : 1	4,61*
14	3	10	1,4 : 1	0,71
14	4	10	1,1 : 1	0,10
15	2	15	2,7 : 1	11,38*
15	3	7	1 : 1	0,07
15	4	13	1,2 : 1	0,34
16	2	12	3,2 : 1	13,54*
16	3	13	1,6 : 1	1,91
16	4	13	1,4 : 1	0,84
16	5	11	2 : 1	3,70
17	2	14	1,1 : 1	0,17
17	3	7	1 : 1	0,07
17	4	16	1,3 : 1	0,70
17	5	15	1 : 1	0,03

Capítulo 5. Superparasitismo

<i>Nº Hembra</i>	<i>días de vida de la ♀ en que parasitó</i>	<i>n</i>	<i>Relación observada parasitoide:hospedador</i>	<i>X²</i>
17	6	30	1,1 : 1	0,27
18	2	9	1,2 : 1	0,25
18	3	8	1,1 : 1	0,12
18	4	11	1 : 1	0,05
18	5	8	1,3 : 1	0,28
18	6	12	1,4 : 1	0,90
19	2	18	1,7 : 1	3,02
19	3	17	1,7 : 1	3,15
19	4	15	1,2 : 1	0,30
19	5	16	1,8 : 1	3,30
19	6	14	1,4 : 1	1,09
20	2	13	2,1 : 1	4,93*
20	3	7	1 : 1	0,07
20	4	18	1,4 : 1	1,48
20	5	22	1,1 : 1	0,04
20	6	15	1,4 : 1	1,03
21	2	12	2,4 : 1	7,07*
21	3	10	2,3 : 1	5,15*
21	4	9	2 : 1	3,04
21	5	12	2,4 : 1	7,07*
21	6	11	1,9 : 1	3,16
21	7	12	2,3 : 1	5,79*
21	9	8	2,1 : 1	3,28
21	11	4	1,5 : 1	0,50
22	2	16	2,5 : 1	10,3*
22	3	13	1,6 : 1	1,91
22	4	15	1,4 : 1	1,03
22	5	10	1,7 : 1	1,85
22	6	17	2,1 : 1	6,83*
22	7	19	1,5 : 1	2,10
22	8	10	1,7 : 1	1,85
22	9	6	1,7 : 1	1,06
22	10	12	1,5 : 1	1,23
22	11	12	1,7 : 1	2,03
23	2	10	2,3 : 1	5,15*
23	3	6	2 : 1	2,06
23	4y5	13	1,7 : 1	2,34
23	6	6	1 : 1	0,08
23	7	9	1,8 : 1	2,00
23	9	7	1 : 1	0,07
23	10	17	1,5 : 1	1,91
23	12	12	1,1 : 1	0,08
24	1	8	2,5 : 1	5,18*
24	3	13	1,3 : 1	0,57
24	4	17	1,5 : 1	1,91
24	5	11	1,6 : 1	1,32
24	6	11	2,4 : 1	6,11*
24	9	12	1,4 : 1	0,90
24	10	12	1,4 : 1	0,90
24	11y12	5	1,4 : 1	0,42
24	13	3	2,3 : 1	1,70
25	1	12	1,1 : 1	0,08

Capítulo 5. Superparasitismo

<i>Nº Hembra</i>	<i>días de vida de la ♀ en que parasitó</i>	<i>n</i>	<i>Relación observada parasitoide:hospedador</i>	<i>X²</i>
25	2	11	1 : 1	0,05
25	3	19	1,2 : 1	0,40
25	4	16	2 : 1	5,35*
25	5	16	1,3 : 1	0,70
25	6	17	1,8 : 1	4,10*
25	7	12	1,3 : 1	0,37
25	8	7	1,3 : 1	0,31
25	9	10	1,1 : 1	0,10
25	10	15	1,1 : 1	0,16
25	11y12	10	1,3 : 1	0,43
25	13	5	1,2 : 1	0,18
26	2	11	1,3 : 1	0,40
26	3y4	8	2,4 : 1	4,52*
26	5	10	1,6 : 1	1,42
26	6	4	1,8 : 1	0,91
26	7	11	1,4 : 1	0,65
26	11	17	1,4 : 1	1,22
26	12	8	1,1 : 1	0,12
26	14	10	1,4 : 1	0,71
26	15	12	1,5 : 1	1,23
26	16	5	1,2 : 1	0,18
27	2	13	2,7 : 1	10,10*
27	3y4	17	1,4 : 1	0,93
27	5	18	1,3 : 1	0,63
27	6	9	1,7 : 1	1,54
27	7	14	1,4 : 1	1,09
27	8	13	1,5 : 1	1,16
27	9	13	1,9 : 1	3,30
27	10	10	1,5 : 1	1,04
27	11	16	1,1 : 1	0,15
27	12	6	1 : 1	0,08
27	13	10	1,1 : 1	0,10
27	14	15	1,7 : 1	2,53
27	15	8	1,4 : 1	0,53
27	16	13	1,5 : 1	1,16
27	17	10	1,3 : 1	0,43
27	18	8	1 : 1	0,06
27	19	7	3 : 1	7,04*

* Indica diferencias significativas entre la relación esperada 1 parasitoide:1 hospedador y la observada de acuerdo a la prueba de Chi cuadrado (χ^2) ($P \leq 0,05$; g.l.= 1).n= Nº hospedadores parasitados

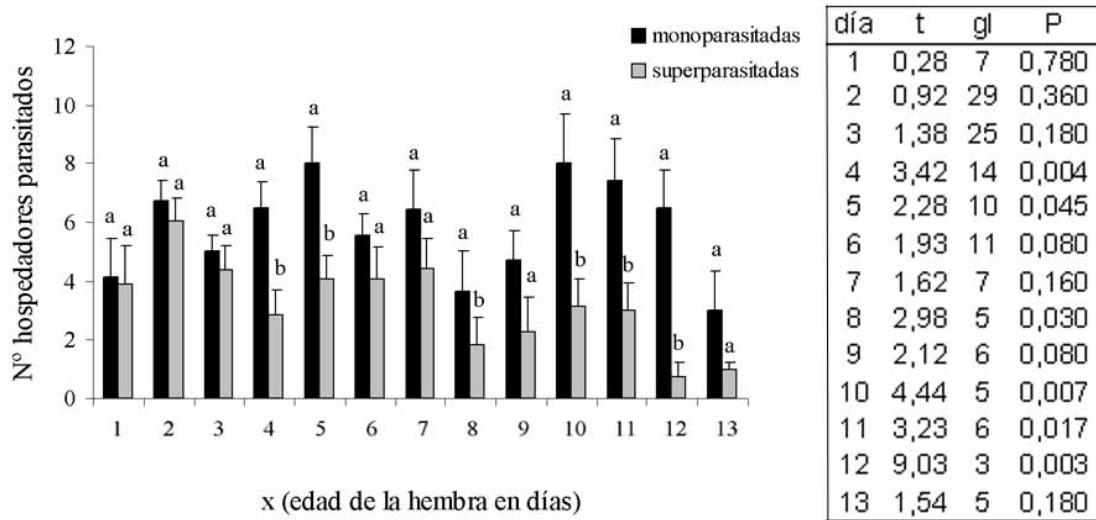


Figura 5.2. Promedio (\pm ES) de larvas de *T. absoluta* monoparasitadas y superparasitadas en cada día de vida de la hembra de *P. dignus*. Letras iguales para cada día indican que no hay diferencias significativas (*t* de Student, $P < 0,05$). A la derecha se presenta la tabla con los resultados de esta prueba.

El encapsulamiento de la larva 1 del parasitoide pareció ser una respuesta común de la larva de *T. absoluta*. En la Figura 5.3 se muestra el encapsulamiento hallado en larvas de *T. absoluta* con una, dos, y tres larvas del parasitoide *P. dignus* en su interior. Se encontraron casos de larvas encapsuladas (L_1 avanzada) dentro de un hospedador monoparasitado (Figura 5.3a), dos larvas (L_1 tempranas) con distinto grado de encapsulamiento dentro de un mismo hospedador (Figura 5.3b) y casos con tres larvas de *P. dignus* donde era muy frecuente ver dos larvas encapsuladas (L_1 tempranas) y una larva avanzada no encapsulada (Figura 5.3c).

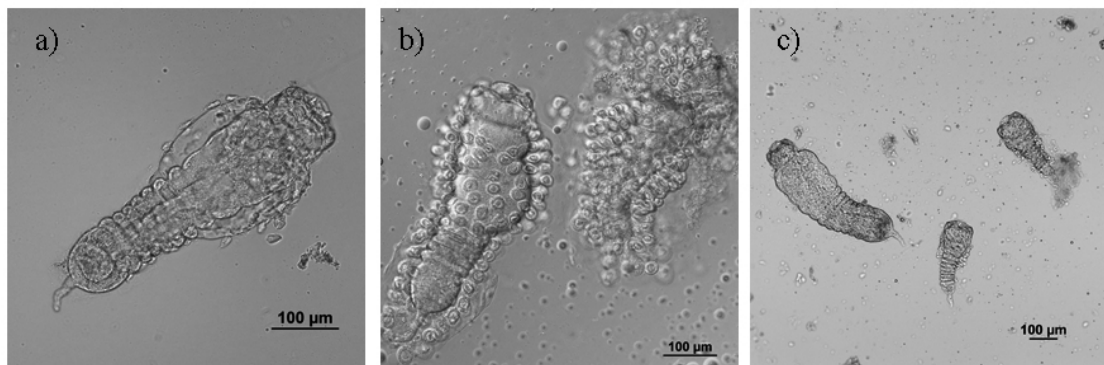


Figura 5.3. Encapsulamiento hallado en larvas de *T. absoluta* con a) una, b) dos, y c) tres larvas del parasitoide *P. dignus* en su interior

El encapsulamiento del parasitoide ocurrió en larvas mono y superparasitadas (Figura 5.4). La frecuencia de encapsulamiento (FE) por parte de las larvas de *T. absoluta* incrementó a medida que aumentó el número de huevos depositados por la hembra del parasitoide, desde un 28% en el caso de larvas monoparasitadas hasta alrededor del 91% cuando hubo cinco individuos del parasitoide por hospedador. La eficiencia de encapsulamiento (EE) aumentó levemente entre uno y tres parasitoides por larva hospedadora, y alcanzó el valor máximo (55,56%) cuando el número de parasitoides fue de cinco individuos. Esto nos indica, que si bien la frecuencia de encapsulamiento fue muy alta con cinco huevos y/o larvas del parasitoide por larva hospedadora, sólo el 55,56% de las mismas llegaron a encapsular a todos los individuos. No obstante, hay que destacar la bajísima probabilidad de ocurrencia de casos con más de cinco individuos del parasitoide en el interior de la larva hospedadora (< 1%) (ver Figura 5.1 presentada anteriormente).

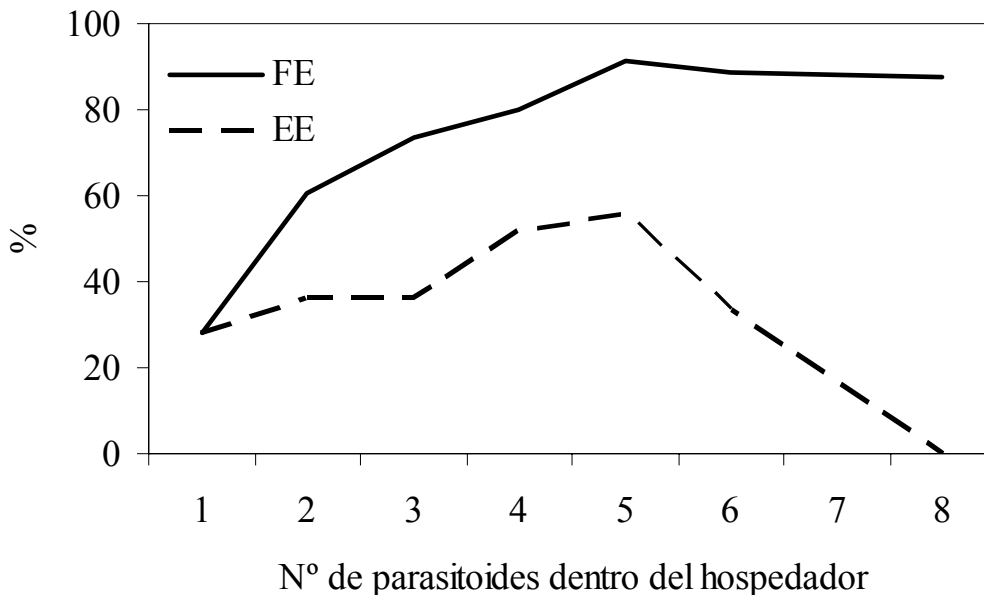


Figura 5.4. Encapsulamiento de *P. dignus* por larvas del hospedador *T. absoluta* en relación al superparasitismo que presentan las larvas criadas en laboratorio. FE: Frecuencia de encapsulamiento, EE: Eficiencia de encapsulamiento.

Capítulo 5. Superparasitismo

La hembra de *P. dignus*, en laboratorio, presentó una pérdida de descendientes del 42%. El 19,25% correspondió al encapsulamiento por parte de larvas monoparasitadas, y el 22,80% a encapsulamiento y competencia larval de las superparasitadas.

Del total de larvas de *T. absoluta* parasitadas, observadas en el laboratorio (n= 1522 larvas), los mayores porcentajes de superparasitismo se registraron en los estadios L_2 y L_3 , ($\chi^2= 9,92$; $p< 0,05$; g.l.= 3; n= 213), y a su vez, fueron los que exhibieron mayor capacidad de encapsulamiento ($\chi^2= 43,51$; $p< 0,05$; g.l.= 3; n= 217) (Figura 5.5)

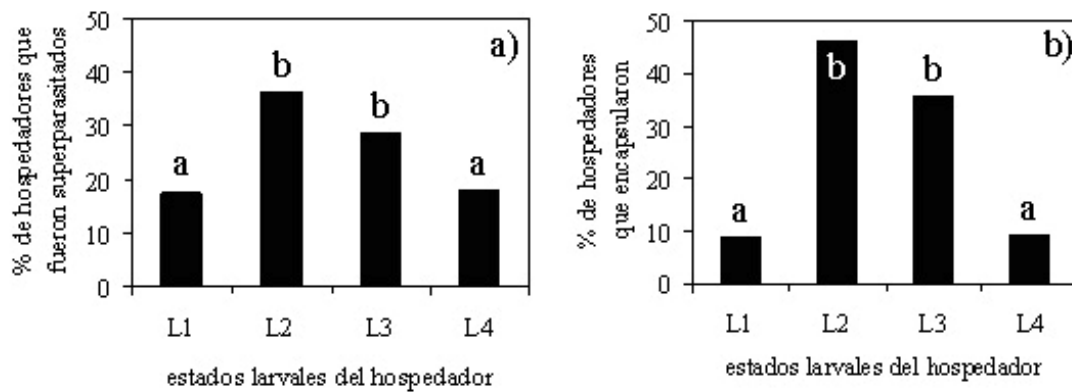


Figura 5.5. a) Porcentaje de hospedadores superparasitados en los distintos estadios larvales; b) Porcentaje de hospedadores que encapsularon al menos un huevo y/o larva del parasitoide en sus distintos estadios larvales. Las barras con letras iguales no difieren significativamente entre sí (comparación de a pares, χ^2 , $P< 0,05$).

Estudios en condiciones de campo

De un total de 526 larvas recolectadas en todos los sitios de muestreo, el 58,6% (n= 308) se encontraron parasitadas. En la Figura 5.6 pueden verse los porcentajes del total de larvas parasitadas que tenían entre uno y seis parasitoides. Al igual que en el laboratorio, pero aún más definido, dominó el monoparasitismo. El porcentaje de hospedadores con más de dos huevos fue extremadamente bajo. Como caso excepcional se encontró una sola larva de *T. absoluta* con 11 individuos de *P. dignus*.

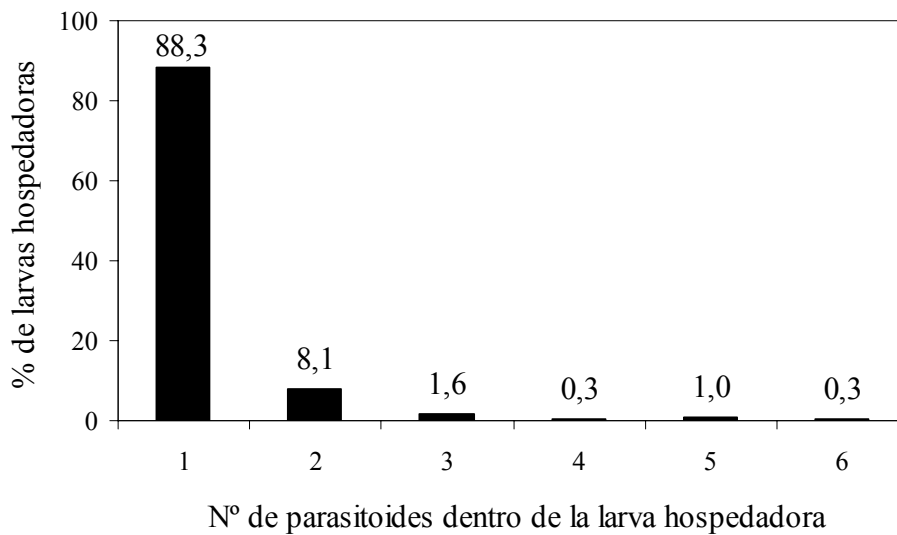


Figura 5.6. Porcentaje de larvas de *T. absoluta* con 1 a 6 individuos del parasitoide en su interior.

La cantidad de parasitoides encontrados dentro de los hospedadores no se alejó significativamente de la relación 1 parasitoide:1 hospedador (Tabla 5.3).

Capítulo 5. Superparasitismo

Tabla 5.3. Relación 1 parasitoide:1 hospedador encontrada en condiciones de campo para cada fecha de muestreo.

<i>fecha de muestreo</i>	<i>n</i>	<i>Relación observada parasitoide:hospedador</i>	χ^2
<i>Sitio 1 (Manejo Convencional)</i>			
08/01/2009	9	1:1	0,06
24/02/2009	16	1:1	0,03
11/03/2009	17	1,2:1	0,45
19/03/2009	22	1,1:1	0,11
<i>Sitio 2 (Manejo Orgánico con aplicación de insecticidas permitidos)</i>			
08/01/2009	4	1,3:1	0,22
28/01/2009	19	1,1:1	0,05
24/02/2009	31	1,1:1	0,26
11/03/2009	24	1:1	0,04
19/03/2009	24	1,2:1	0,49
14/02/2011	11	1,2:1	0,21
<i>Sitio 3 (Manejo Orgánico sin aplicación de insecticidas)</i>			
28/01/2009	13	1:1	0,04
05/02/2009	19	1,7:1	0,24
06/03/2009	10	1,2:1	0,23
14/02/2011	9	1:1	0,06
14/02/2011	16	1:1	0,03
30/03/2011	15	1,1:1	0,16
29/04/2011	6	1,3:1	0,36
03/06/2011	23	2,4:1	13,14*
17/06/2011	16	1,2:1	0,29

* indica diferencias significativas en cuanto a la relación esperada 1 parasitoide:1 hospedador de acuerdo a la prueba de Chi cuadrado. $n = N^{\circ}$ hospedadores parasitados

La desviación de la relación esperada 1 parasitoide:1 hospedador sólo fue significativa en el sitio 3 en una fecha de muestreo (03/06/11), correspondiendo a un momento en que la densidad del hospedador fue baja y el porcentaje de parasitismo alto (Figura 5.7). Este momento coincidió con el hallazgo de un caso de 11 parasitoides en un hospedador. Se trató de un solo caso que presentó una L_1 de *T. absoluta* con 9

Capítulo 5. Superparasitismo

huevos en estadio temprano, un huevo en estadio avanzado y una L_1 temprana del parasitoide.

La relación parasitoide:hospedador total (suma de todas las fechas de muestreo para cada sitio) fue mayor en el sitio 3 (1,34:1) que en los sitios 1 y 2 (1,11:1 y 1,12:1), respectivamente. En general, en la mayoría de los casos de superparasitismo, se encontraron huevos y L_1 del parasitoide. Sólo dos larvas de *T. absoluta* presentaron dos L_2 y no se encontró ninguna superparasitada con L_3 del parasitoide.

Los resultados de los porcentajes de superparasitismo del sitio 3 se graficaron junto con el porcentaje de parasitismo y las densidades de *T. absoluta*, a fin de observar las variaciones a lo largo del tiempo. En el año 2009 el superparasitismo se registró en tres fechas de muestreo con valores que variaron entre 16 y 25% (Figura 5.7a). El porcentaje promedio de parasitismo fue 49,7% ($\pm 13,7$ DS) para los cuatro muestreos y presentó el pico máximo (66,7%) a finales del cultivo. La densidad promedio total de larvas de *T. absoluta* (parasitadas y no parasitadas) fue de 0,42 ($\pm 0,09$ DS) larvas por folíolo, manteniéndose relativamente constante a lo largo de dicho período.

En el año 2011 (Figura 5.7b) se muestreó en un cultivo de tomate de segunda temporada, plantado en el mismo invernáculo donde se encontraba un cultivo de tomate de primera temporada abandonado. El cultivo recién plantado, se infectó inmediatamente con la polilla de tomate proveniente del cultivo aledaño alcanzando densidades de 0,7 larvas/folíolo ($\pm 0,55$ DS). Junto con ella se registró la presencia del parasitoide *P. dignus*, con un porcentaje promedio de parasitismo de 61,4% ($\pm 9,46$ DS). De las cinco fechas de muestreo, se registró superparasitismo en cuatro.

Capítulo 5. Superparasitismo

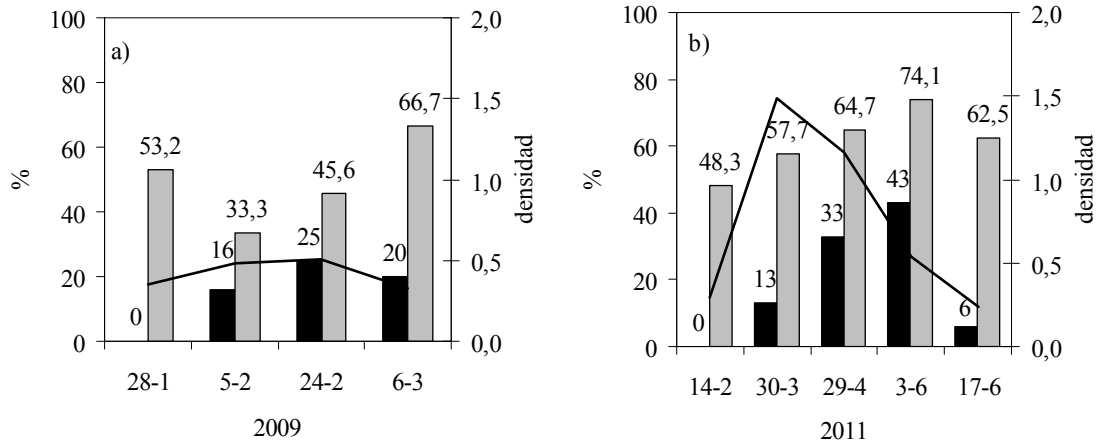


Figura 5.7. Porcentaje de superparasitismo (barras negras) comparado con el porcentaje de parasitismo (barras grises) y la densidad de larvas de *T. absoluta* por foliolo (línea negra), en el sitio 3. a) Período 2009 con tomate de primera temporada. b) Período 2011 con tomate de segunda temporada.

No existió relación significativa entre el superparasitismo de las dos temporadas analizadas en conjunto y la densidad de larvas de la polilla (pendiente de regresión $b (\pm ES)$: $0,32 \pm 0,35$; $P= 0,41$) (Figura 5.8)

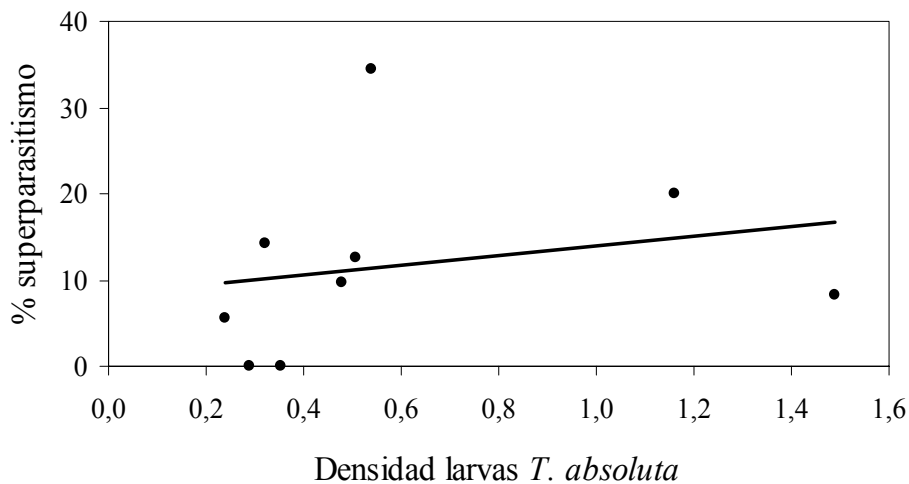


Figura 5.8. Regresión lineal entre el porcentaje de superparasitismo de *P. dignus* y la densidad de larvas de *T. absoluta* para el período 2009 y 2011 en el sitio 3 ($y= 8,52 + 0,32x$; $R^2= 0,10$). Los datos graficados son los originales, sin transformar.

Capítulo 5. Superparasitismo

Por otro lado, se analizó la relación entre superparasitismo y el grado de encapsulamiento del hospedador. En la Figura 5.9 se observa el porcentaje de huevos y/o larvas del parasitoide *P. dignus* que fueron encapsulados en hospedadores con distinto número de parasitoides en su interior (larvas monoparasitadas, y superparasitadas con 2, 3,..., 6 individuos). Cabe destacar que la larva con 11 individuos de *P. dignus* no presentó encapsulamiento al momento de la disección. Sólo el 11% de los individuos parasitados exhibió signos de encapsulamiento, de los cuales el 77,08% perteneció al estadio L_1 del parasitoide. Al igual que en el laboratorio, el encapsulamiento (FE) incrementó a medida que aumentó el número de huevos depositados en el hospedador, desde un 9% en el caso de larvas monoparasitadas hasta alrededor del 83% cuando hubo seis individuos del parasitoide por hospedador. Si bien la respuesta al encapsulamiento por parte de las larvas de *T. absoluta* fue aumentando a medida que aumentó el superparasitismo, su eficiencia cayó bruscamente cuando el número de parasitoides superó los tres individuos. El valor más alto de EE no superó el 20%, y correspondió a la presencia de 2 y 3 parasitoides/larva hospedadora.

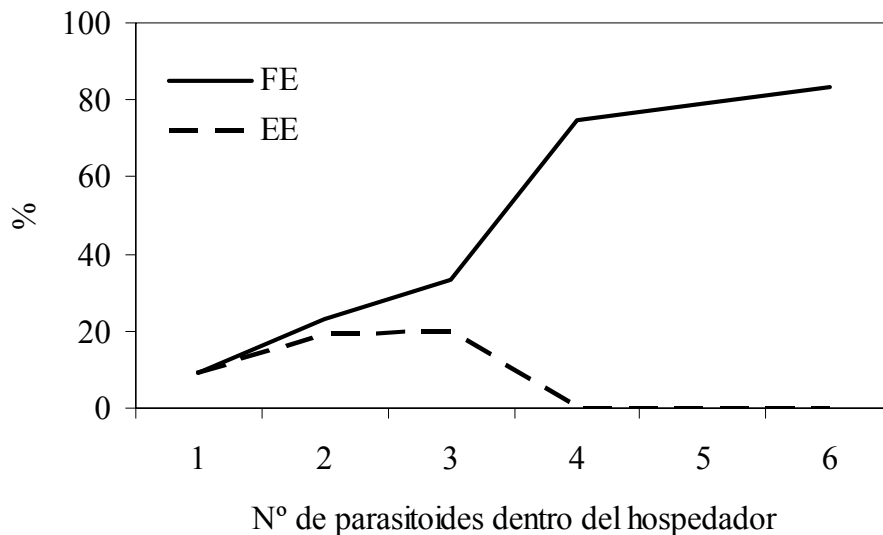


Figura 5.9. Encapsulamiento de *P. dignus* en larvas de *T. absoluta* en relación al grado de superparasitismo que presentan larvas recolectadas del campo. FE: Frecuencia de encapsulamiento, EE: Eficiencia de encapsulamiento.

La hembra de *P. dignus*, en el campo, presentó una pérdida de descendientes del 15,42%. El 7,69% correspondió al encapsulamiento de un único parasitoide (monoparasitadas) por parte de la larva de *T. absoluta*, y el 7,72% a encapsulamiento (más de una larva del parasitoide en su interior) y a competencia larval de las superparasitadas.

Del total de larvas parasitadas provenientes del campo (n= 317 larvas de *T. absoluta*), las *L*₄ fueron las menos parasitadas ($\chi^2= 18,12$; $p < 0,05$; g.l.= 3; n= 38) (Figura 5.10a). El porcentaje de hospedadores que encapsularon fue mayor en los estadios *L*₁-*L*₂ que en los *L*₃ y *L*₄ ($\chi^2= 37,06$; $p < 0,05$; g.l.= 3; n= 34) (Figura 5.10b).

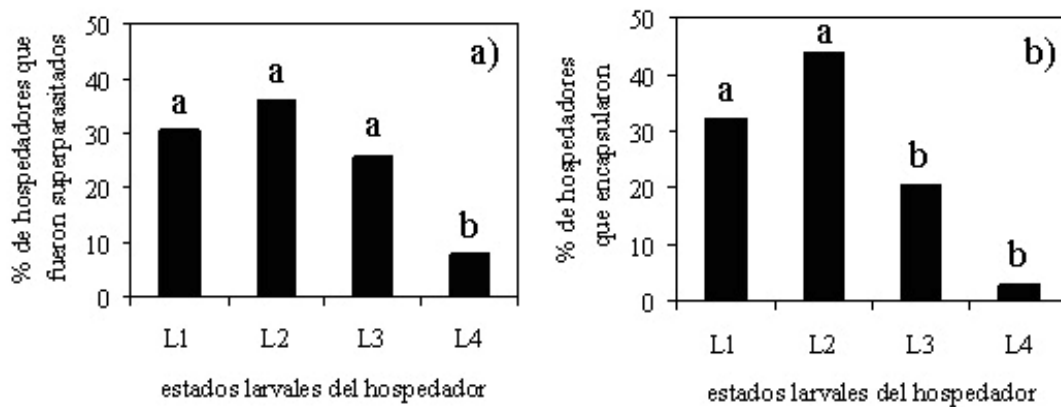


Figura 5.10. a) Porcentaje de hospedadores superparasitados en sus distintos estadios larvales en el campo. b) Porcentaje de hospedadores que encapsularon al menos un huevo y/o larva del parasitoide en sus distintos estadios larvales. Las barras con letras iguales no difieren estadísticamente entre sí (comparación de a pares, χ^2 ; $P \leq 0,05$)

En cuanto al multiparasitismo, sólo se encontraron dos casos en el sitio 3. Para la fecha 24/02/09 se disecó una *L*₄ de *T. absoluta* que contenía en su interior una larva de otra especie de parasitoide (Figura 5.11) junto a dos *L*₁ (una temprana y una avanzada) de *P. dignus*. Para la fecha 03/06/11 se disecó una *L*₂ de *T. absoluta* con un huevo de otra especie de parasitoide junto a una *L*₁ temprana de *P. dignus*. En ninguno de los casos se pudo determinar la especie a la que pertenecía el otro parasitoide presente.

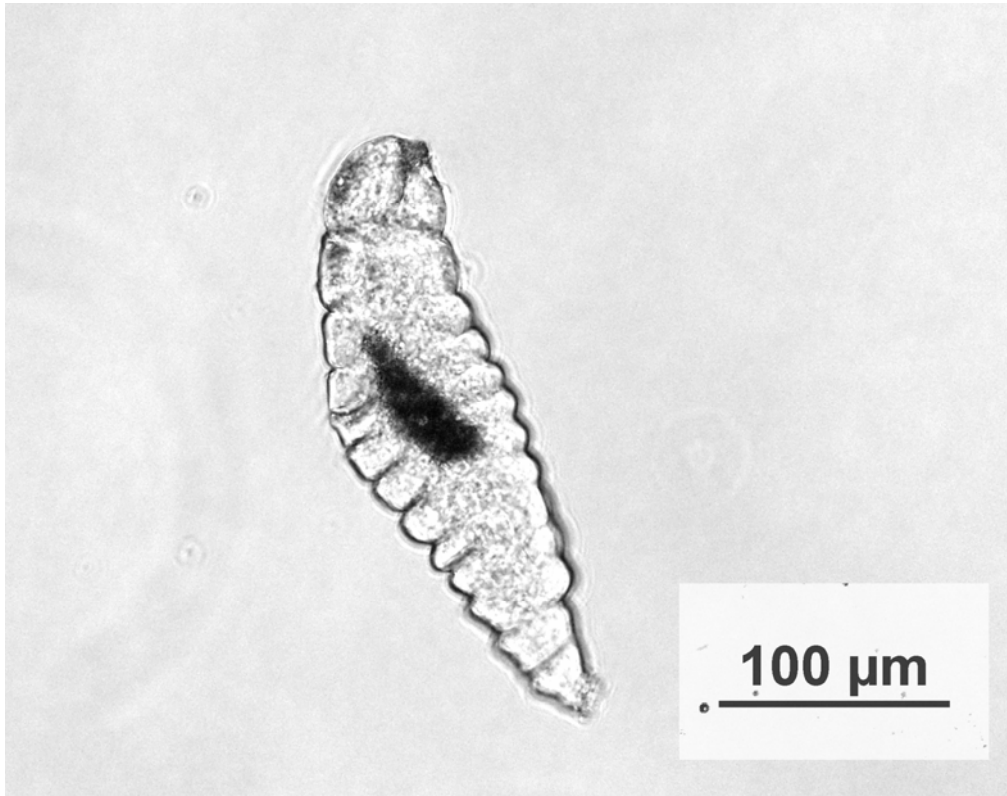


Figura 5.11. Larva de otra especie de parasitoide encontrada dentro de una larva de *T. absoluta* multiparasitada.

Discusión

La hipótesis central de este capítulo se vio confirmada por los resultados de esta investigación. Las hembras del parasitoide solitario *P. dignus* evitaron el superparasitismo tanto en el laboratorio como en el campo.

Los valores de superparasitismo a campo fueron mucho más bajos que los hallados en el laboratorio, y sólo se encontró una desviación significativa de la relación 1 parasitoide:1 hospedador en un sitio y en una sola fecha de muestreo. Esto sugeriría que el mayor porcentaje de superparasitismo observado en el laboratorio podría deberse al confinamiento de la hembra en un recipiente, a una cantidad limitada de hospedadores y a un tiempo acotado para oviponer. Estas condiciones harían que la

probabilidad de la hembra de encontrar a un hospedador no parasitado fuese menor en el laboratorio, y por lo tanto se viera obligada a superparasitar.

Los resultados obtenidos indican que el superparasitismo de *P. dignus* consistió mayoritariamente en la presencia de dos individuos del parasitoide, y en mucha menor medida en tres; siendo los valores más altos casi despreciables. Las larvas de *T. absoluta* superparasitadas presentaron, en general, un huevo y una L_1 del parasitoide. Bakker *et al.* (1985) en relación a *Leptopilina heterotoma* (Thompson) (Hymenoptera: Eucoilidae), un parasitoide solitario de larvas de *Drosophila*, plantearon que el segundo huevo puesto en un hospedador tiene una relación costo/beneficio (*pay-off*). Esta relación estaría vinculada al intervalo entre la oviposición del primer huevo y el segundo. En el caso de las especies solitarias donde sólo la larva de primer estadio tiene mandíbulas, los intervalos largos entre oviposiciones darían ventaja al segundo huevo, pues la L_1 ya mudó, por lo cual al eclosionar el segundo huevo, la L_1 podría competir con la primera larva y llegar a eliminarla. Intervalos más cortos que la duración de la L_1 , darían ventaja al primer huevo, ya que al eclosionar primero, la L_1 podría eliminar al huevo que fue puesto en segundo término. En el caso de *P. dignus* el autosuperparasitismo encontrado en el laboratorio fue de un huevo y una L_1 , o una L_1 temprana y una L_1 avanzada. Teniendo en cuenta que en esta especie todos los estadios larvales poseen mandíbulas, el primer huevo puesto tendría mayor ventaja competitiva que el segundo; al eclosionar antes, la L_1 podría matar al segundo huevo. No obstante, en las larvas colectadas a campo, es imposible discriminar si los dos individuos del parasitoide se deben a autosuperparasitismo o superparasitismo conespecífico.

El encapsulamiento representó un factor de mortalidad en la población del parasitoide. La proporción de larvas monoparasitadas encapsuladas en el laboratorio fue más del doble de las encapsuladas en el campo. Si bien la frecuencia de encapsulamiento aumentó con el número de individuos del parasitoide por hospedador, su eficiencia, es decir la capacidad de encapsular a todos los individuos, aumentó escasamente.

Para algunos autores el superparasitismo puede ser adaptativo siempre que un huevo puesto en un hospedador parasitado incremente la probabilidad de la hembra de obtener descendencia en ese hospedador (van Alphen & Nell 1981; Hubbard *et al.* 1987; Visser *et al.* 1990; van Alphen & Visser 1990). La oviposición en un hospedador parasitado puede ser adaptativa cuando el encapsulamiento del primer huevo ha agotado

el suministro de hemocitos y por consiguiente, el segundo huevo podría tener más probabilidad de sobrevivir que en un hospedador no parasitado. Esta situación fue observada al calcular la supervivencia de los huevos de *A. tabida* en larvas de *D. melanogaster* (Bakker 1979 citado por van Alphen & Visser 1990) donde, de los huevos puestos individualmente, sólo el 1% sobrevivió, mientras que de los puestos en hospedadores parasitados, sobrevivió el 7%. Sin embargo, este no parece ser el caso para *P. dignus*, ya que la eficiencia de encapsulamiento tanto en el laboratorio como en el campo fue levemente mayor para dos que para un huevo del parasitoide por hospedador.

Algunos autores (Sirot *et al.* 1997; Ueno 1999; Javois & Tammaru 2006) señalan que el comportamiento de superparasitismo, al igual que otros aspectos del comportamiento de oviposición de la hembra de un parasitoide, es “estado-dependiente”, es decir está afectado por la experiencia previa y por variables fisiológicas como la edad, el estado nutricional, la cantidad de reservas y la carga de huevos, así como también por la interferencia con otros individuos (Beddington 1975). El autosuperparasitismo pareciera ser poco ventajoso ya que la competencia entre hermanos provoca que solamente uno sobreviva. Sin embargo, según van Alphen & Visser (1990), existen situaciones en la cuales podría ser ventajoso. Esto es cuando dos o más huevos hermanos previenen el riesgo de que un hospedador sea atacado más tarde por un conespecífico, es decir, habría una mayor probabilidad de tener descendencia que cuando sólo hay un huevo para competir con los huevos de otros parasitoides.

El hecho de que la hembra de *P. dignus* en sus tres primeros días de vida no mostró diferencias entre el número de hospedadores mono y superparasitados podría interpretarse como la falta de experiencia previa de la hembra, al no saber discriminar entre hospedadores parasitados y no parasitados. Luego, a partir del día cuatro, la tendencia al monoparasitismo podría sugerir que ya aprendieron a discriminar el estado del hospedador, prefiriendo los no parasitados. Sin embargo, según van Alphen *et al.* (1986) y van Alphen & Visser (1990), los parasitoides inexpertos serían capaces de distinguir entre hospedadores parasitados y no parasitados, es decir, la discriminación del hospedador no tiene que ser aprendida, aunque la experiencia pueda influenciar la tendencia a superparasitar.

El superparasitismo y el encapsulamiento por parte del hospedador (Blumberg 1991) son dos procesos que pueden afectar la cría de un parasitoide. La elevada

Capítulo 5. Superparasitismo

competencia entre larvas, así como altas tasas de encapsulamiento puede obstaculizar la cría en masa de un enemigo natural en el laboratorio (Reed *et al.* 1968; Hart 1972; Blumberg & Swirski 1977). En el caso particular de *P. dignus* el superparasitismo parece ser un fenómeno poco frecuente en condiciones de campo, y controlable en el laboratorio mediante condiciones más apropiadas de cría. Esto permitiría reducir la frecuencia de encapsulamiento, y por consiguiente aumentar la supervivencia de los descendientes. Los conocimientos obtenidos con la presente investigación serán valiosos si se decide implementar el control biológico de *T. absoluta* mediante *P. dignus*, para lo cual se requerirá su cría masiva en el laboratorio y posteriores liberaciones aumentativas en el campo.

Capítulo 6

Impacto del parasitismo sobre poblaciones naturales
de *Tuta absoluta*



Introducción

Cuando se evalúa la potencialidad de un parasitoide como candidato para el control biológico por liberación aumentativa, o simplemente como un enemigo natural de presencia espontánea para controlar una plaga nativa, no sólo deben llevarse a cabo ensayos de laboratorio para conocer sus estrategias reproductivas y tasas de crecimiento bajo condiciones óptimas, sino que también debe evaluarse su impacto sobre la población plaga en condiciones naturales.

El impacto de un parasitoide sobre la población de un hospedador se puede medir de diversas maneras (Luck *et al.* 1988; Gould *et al.* 1989). Una forma directa de estimar la mortalidad causada por un parasitoide consiste en la exclusión de los mismos mediante el uso de plaguicidas (Lim *et al.* 1986). Otro método es el de reclutamiento (van Driesche & Bellows 1988; Gould *et al.* 1990), el cual incorpora la velocidad a la que los hospedadores entran a las etapas susceptibles y son parasitados, aunque es de difícil aplicación en hospedadores de hábito minador y con generaciones superpuestas.

Una forma relativamente precisa de medir el parasitismo a campo en un momento dado, es a través del muestreo de larvas hospedadoras y la cría y/o posterior disección para obtener parasitoides. No obstante, esta modalidad puede ser imprecisa, cuando se incluyen en la muestra individuos de todos los estados, si solamente algunos son susceptibles al parasitismo, o bien cuando no existen referencias concretas sobre la densidad del hospedador sobre el que actúa el parasitoide (Waage & Cherry 1990). A partir de esta forma de evaluar el parasitismo, y mediante un número repetido de muestras a lo largo del ciclo de desarrollo de la interacción parasitoide-hospedador, se pueden medir: 1) el impacto del parasitismo usando métodos gráficos como el trapezoidal (Southwood & Jepson 1962; Carey 1993) que estiman la densidad total de las larvas susceptibles y de parasitoides producidos en un intervalo seleccionado (Waage & Cherry 1990), y 2) el porcentaje de parasitismo, que es la proporción de hospedadores parasitados respecto del número que entran en el estado susceptible (van Driesche 1983; van Driesche *et al.* 1991).

Estos métodos constituyen indicadores pobres de la mortalidad generacional cuando los hospedadores tienen generaciones superpuestas (van Driesche & Taub 1983; Ruiz-Narváez & Castro-Webb 2003). Sin embargo, los porcentajes de parasitismo

medidos a lo largo de la temporada de un cultivo son de utilidad para el manejo de una plaga, ya que ese lapso podría ser un intervalo adecuado para cuantificar el impacto de un parasitoide (Waage & Cherry 1990).

Hawkins & Cornell (1994) encontraron que la probabilidad de un control exitoso aumenta significativamente con la tasa máxima de parasitismo en la región de origen, y señalan que es una medida de la capacidad de un parasitoide de disminuir la abundancia del hospedador por debajo del nivel de daño económico, que se traslada a casos de control biológico clásico, es decir cuando parasitoide y huésped son exóticos. Parasitoides con tasas máximas de parasitismo menores a 32% no resultaron exitosos.

El parasitoide *P. dignus* es de presencia espontánea en los cultivos de tomate del Cinturón Hortícola de La Plata, bajo cubierta y a cielo abierto (Polack 2008; Sánchez *et al.* 2009, Luna *et al.* 2006). Sánchez *et al.* (2009) registraron en esta zona poblaciones naturales parasitando a *T. absoluta*, en forma continua y bajo distintas condiciones de manejo del cultivo, es decir, tanto en cultivos orgánicos como en aquellos con alto uso de plaguicidas. Las tasas de parasitismo variaron entre 17 y 46% en los distintos sitios muestreados.

La hipótesis de este capítulo es que las poblaciones del parasitoide *P. dignus* producen un control natural, relativamente importante, de la plaga *T. absoluta* en tomate. El objetivo fue estimar el impacto de *P. dignus* sobre poblaciones de *T. absoluta*, en condiciones de campo sin uso de plaguicidas, a lo largo de varias estaciones del cultivo de tomate.

Materiales y Métodos

Los muestreos (Tabla 6.1) de larvas de *T. absoluta* se realizaron en un cultivo de tomate bajo invernáculo, sin uso de plaguicidas, localizado en el Cinturón Hortícola de La Plata (Sitio 3, ver detalles en Capítulo 2 – Materiales y Métodos Generales). Para estimar la densidad de ambas poblaciones (hospedador y parasitoide) la unidad de muestreo fue un folíolo con daño fresco de la polilla, ubicado en el tercio superior de cada planta (Polack 2008). En cada ocasión de muestreo, se tomaron folíolos de 100

Capítulo 6. Impacto del parasitismo sobre poblaciones naturales de *Tuta absoluta*

plantas elegidas al azar. Los mismos se guardaron en bolsas de polietileno y fueron llevados al laboratorio para ser revisados bajo lupa binocular.

Tabla 6.1. Muestreos de *T. absoluta* y *P. dignus* en las tres temporadas de estudio en el Sitio 3 (orgánico, sin uso de plaguicidas) del Cinturón Hortícola de La Plata

Temporada	Cultivo de tomate	Nº de muestreos	Meses de muestreo	Frecuencia de muestreos	Variedad de tomate	Fecha de transplante
2008-2009	primera	20	agosto a febrero	Quincenal Semanal*	Superman	15/08/08
2010-2011	primera	10	octubre a marzo	Quincenal	Griffith	28/08/10
2010-2011	segunda	8	marzo a junio	Quincenal	Griffith	01/01/11
2011-2012	primera	6	noviembre a enero	Quincenal	Elpida	15/08/11

*Quincenal los primeros tres meses (agosto a diciembre) y semanal hasta el fin de la temporada del cultivo en pie (febrero).

En todas las temporadas los cultivos fueron plantados en tres hileras dobles de 80 m de largo cada una, conjuntamente con otras especies de hortalizas como pimiento y acelga, intercalados con flores y vegetación de crecimiento espontáneo en el mismo invernáculo. En todos los casos, la tierra fue previamente preparada con cama de pollo (compost de aves de corral) y los cultivos de invierno precedentes fueron lechuga y apio. En cada año, los muestreos terminaron en el momento en que el cultivo de tomate fue levantado.

Para cuantificar la densidad de ambas poblaciones se contó, bajo lupa, el número de larvas de la polilla dentro de las galerías, en todos los folíolos colectados. Las larvas de *T. absoluta* dentro de sus folíolos fueron colocadas en cápsulas de Petri y alimentadas *ad libitum* con hojas frescas de tomate, hasta la formación de la pupa del hospedador o el cocón del parasitoide. Las larvas muertas fueron disecadas para determinar la presencia del endoparasitoide.

Capítulo 6. Impacto del parasitismo sobre poblaciones naturales de *Tuta absoluta*

Se calculó el porcentaje de parasitismo promedio por temporada y el porcentaje de parasitismo promedio para cada fecha de muestreo de la siguiente manera:

$$\% \text{ parasitismo promedio} = \frac{\text{N}^\circ \text{ larvas parasitadas}}{\text{N}^\circ \text{ total de larvas colectadas}} \times 100$$

A partir del número promedio de larvas hospedadoras y el número promedio de larvas parasitadas por *P. dignus* por folíolo, para cada fecha de muestreo y cada temporada, se construyeron las respectivas curvas de densidad. Para evaluar el impacto del parasitismo de *P. dignus* sobre *T. absoluta* se utilizó el método trapezoidal (Carey 1993). El promedio del número de individuos/folíolo de dos muestreos consecutivos, dividido por el intervalo de tiempo entre ellos da la superficie de un trapecio, y la suma de los trapecios correspondientes a todas las fechas de muestreo representa el área bajo la curva de densidad. El área bajo la curva de densidad del hospedador y del parasitoide constituye el tamaño poblacional de cada especie, también denominado número de insectos-día, a lo largo del ciclo del cultivo. El porcentaje del área del parasitoide respecto del área del hospedador es utilizado como indicador del impacto del parasitismo sobre la población de la polilla.

Se midió la relación entre el porcentaje de parasitismo (variable dependiente) y la densidad de larvas del hospedador (variable independiente) para las tres temporadas, previa transformación arcoseno de los porcentajes. Un valor de la pendiente no significativamente distinto de cero indica densoindependencia, mayor que cero densodependencia directa, y menor que cero densodependencia inversa.

Resultados

Existió parasitismo a todo lo largo del ciclo del cultivo en las tres temporadas, tanto en el tomate de primera como en el de segunda, lo que se traduce en una gran sincronía temporal entre la aparición de la plaga en el cultivo y la del parasitoide. Los porcentajes de parasitismo promedio (\pm DS) en el tomate de primera para cada

Capítulo 6. Impacto del parasitismo sobre poblaciones naturales de *Tuta absoluta*

temporada fueron: 39,05% ($\pm 14,07$) en 2008-2009, 38,37% ($\pm 12,71$) en 2010-2011 y 25,86 ($\pm 12,84$) en 2011-2012. A lo largo de las tres temporadas los porcentajes fueron aumentando progresivamente a lo largo de la estación, acompañando el crecimiento de la polilla (Figura 6.1). En la temporada 2008-2009 se alcanzaron cuatro picos crecientes en los meses de octubre, diciembre, enero, y marzo, alcanzando un máximo de 64,52% en enero. En el resto de las temporadas para tomate de primera los porcentajes máximos registrados fueron de 48,28% en el mes de febrero de 2010 y 38,89% en el mes de enero de 2012. Los porcentajes de parasitismo más altos se encontraron en el tomate de segunda en 2011-2012, con un promedio de 63,12% ($\pm 8,94$), variando entre un mínimo de 46,15% en el mes de marzo y alcanzando un máximo de 74,07% hacia junio, cuando el cultivo ya se encontraba abandonado.

En la temporada 2008-2009 los muestreos comenzaron hacia fines de agosto, pero recién a mediados de octubre aparecieron ambas poblaciones. La densidad de larvas de la polilla del tomate presentó un pico temprano, en noviembre de 0,38 larvas/foliolo y alcanzó un máximo hacia fines del ciclo del cultivo de alrededor de 0,5 larvas/foliolo. En la temporada 2010-2011 y 2011-2012 la densidad de *T. absoluta* fue baja en la mayor parte de la temporada y creció bruscamente hacia finales del ciclo del cultivo (febrero y enero respectivamente).

En la temporada 2010-2011, un cultivo de tomate de segunda fue plantado en el mismo invernáculo donde se encontraba el cultivo de primera abandonado. El cultivo de segunda recién plantado, se infectó inmediatamente con la polilla de tomate proveniente del cultivo de primera aledaño, alcanzando densidades de 1,49 larvas/foliolo en el mes de marzo. Junto con ella se registró la presencia del parasitoide *P. dignus*, con densidades de 0,86 individuos/foliolo para la misma fecha, alcanzando un máximo de 0,98 individuos/foliolo hacia finales del ciclo del cultivo (mayo).

Los valores de impacto de parasitismo hallados fueron: 38,97% en 2008-2009 (tomate de primera), 49,01% y 63,81% en 2010-2011 (tomate de primera y segunda, respectivamente), y 33,22% en 2011-2012 (tomate de primera) (Figura 6.1). Estos resultados indican una elevada mortalidad causada por la población del parasitoide sobre la de su hospedador.

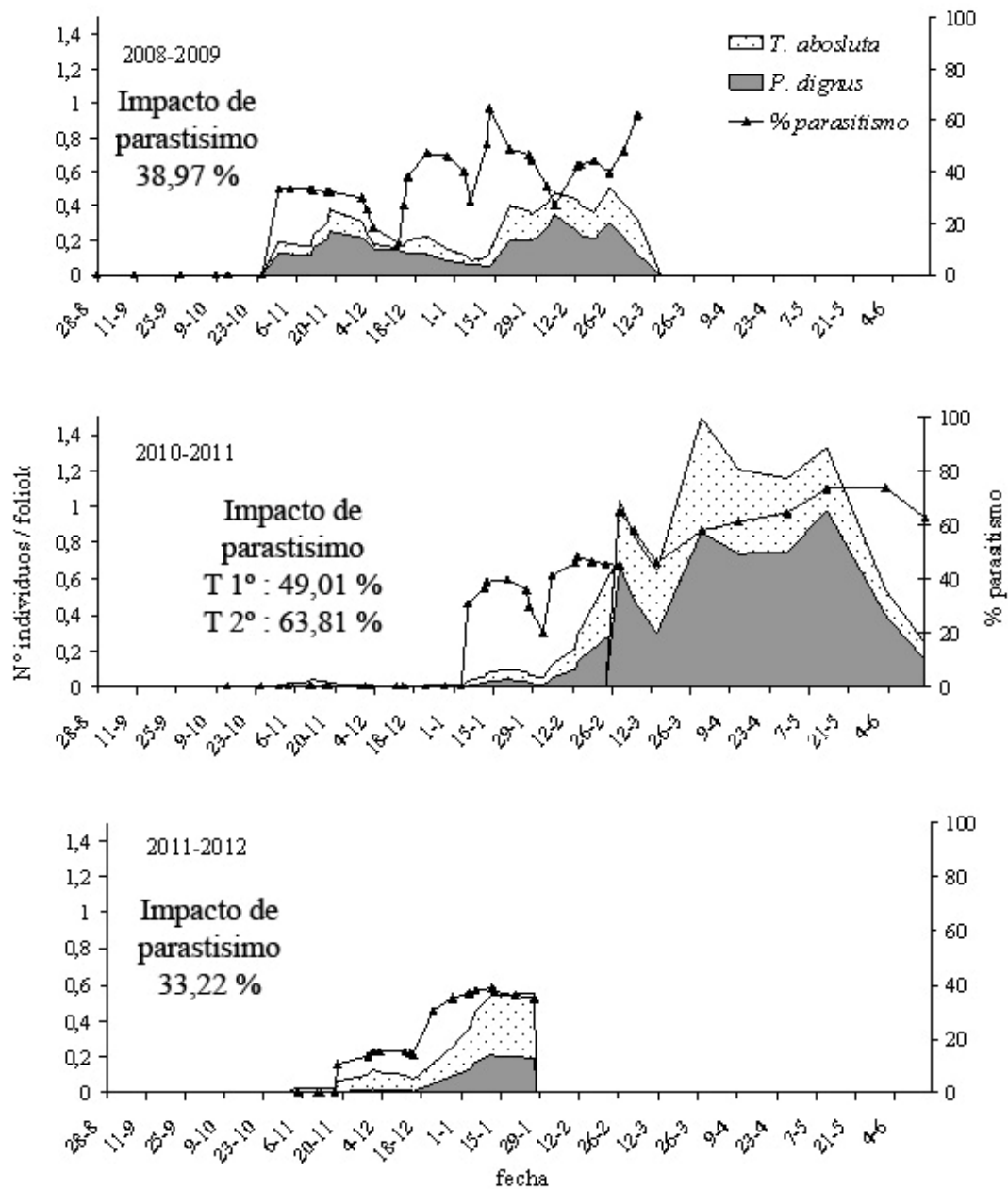


Figura.6.1. Curvas de porcentaje de parasitismo y áreas bajo las curvas de densidad de larvas de *T. absoluta* (número de larvas/foliolo) y de larvas parasitadas por *P. dignus*, en cultivos de tomate orgánico bajo invernáculo del Cinturón Hortícola de La Plata, durante las tres temporadas de muestreo.

Los datos de las tres temporadas analizados en conjunto indicaron una relación densodependiente directa entre el porcentaje de parasitismo causado por *P. dignus* y la densidad de larvas de *T. absoluta* (pendiente de la regresión $b (\pm ES)$: $0,60 \pm 0,15$; $P < 0,0001$) (Figura 6.2).

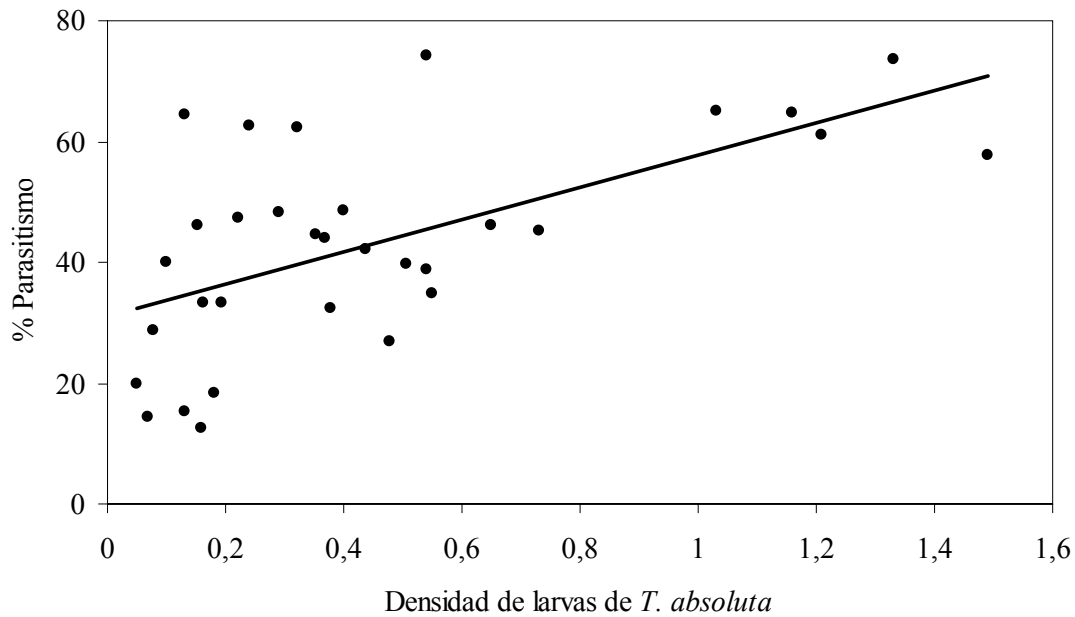


Figura 6.2. Regresión lineal entre el porcentaje de parasitismo de *P. dignus* y la densidad de larvas/foliolo de *T. absoluta* para tres temporadas de estudio en condiciones de campo ($y = 16,20 + 0,60x$; $R^2 = 0,36$). Los datos graficados son los originales, sin transformar.

Discusión

La hipótesis planteada en este estudio acerca de que las poblaciones naturales del parasitoide *P. dignus* producen un control natural relativamente importante de la principal plaga del cultivo de tomate en la zona del Cinturón Hortícola de La Plata, *T. absoluta*, se vio confirmada con los resultados obtenidos. Este parasitoide mostró la capacidad de atacar hospedadores tanto a bajas como a altas densidades de *T. absoluta*,

por lo tanto brinda un relevante servicio ecosistémico, al limitar el tamaño de las poblaciones de la plaga.

Resulta difícil medir el impacto del parasitismo de *P. dignus* por generación, ya que las poblaciones de la polilla pueden tener entre 4 y 6 generaciones superpuestas (Riquelme 1993; Lietti *et al.* 2005). Sin embargo, el método trapezoidal utilizado, resulta ser un procedimiento muy simple, y a pesar de ser cuestionado por algunos autores (Bellows *et al.* 1989; Groden *et al.* 1990), tiene la bondad de cuantificar el impacto del parasitismo y estimar la mortalidad producida por un parasitoide en un intervalo de tiempo particular (Waage & Cherry 1990).

El impacto de parasitismo causado en las temporadas estudiadas se tradujo en una mortalidad total de la población de su hospedador que varió entre un 33% y un 49% en tomate de primera y un 64% en tomate de segunda. Estos valores se encuentran por encima del umbral indicado por Hawkins & Cornell (1994), quienes señalan que no hay control exitoso cuando un hospedador sufre menos del 32% de parasitismo si es nativo, como este caso; o un umbral de entre 33 y 36% de parasitismo cuando el hospedador es exótico, es decir en situaciones de control biológico clásico. Estas cifras deberían ser tenidas en cuenta en Europa y África a la hora de implementar un control biológico de la polilla del tomate por medio de *P. dignus*.

Las diferencias encontradas en los porcentajes e impacto de parasitismo entre años pudieron deberse a distintas causas, entre ellas, las diferentes condiciones climáticas o al uso de distintas variedades del cultivo por parte del productor. El mayor impacto de parasitismo registrado en la temporada 2010-2011 en el tomate de segunda se atribuye a la existencia de un cultivo previo en el mismo lote, lo cual permitió que la población de la plaga y el parasitoide experimentaran un importante crecimiento numérico.

Los resultados del presente estudio difieren de lo hallado por Sánchez *et al.* (2009) en el campo usando la misma unidad de muestreo. Estos autores registraron una mortalidad densodependiente inversa cuando analizaron un conjunto de sitios muestreados. Sin embargo, si se tiene en cuenta que las densidades del hospedador con que trabajaron fueron sustancialmente más elevadas que las de esta investigación, se podría interpretar que este parasitoide actuaría de manera densodependiente directa a bajas densidades del hospedador y densodependiente inversa a más altas densidades. Este patrón de comportamiento de oviposición sería coincidente con una respuesta funcional tipo III (Holling 1959), la cual a bajas densidades del hospedador tiene una

fase de aceleración con el aumento de la densidad de éste, hasta que el tiempo de manipulación comienza a limitar el consumo. A altas densidades de la polilla, el parasitoide se vería limitado en su tasa de oviposición debido al tiempo de manipuleo, ya que la manipulación total de hospedadores ocupa una proporción creciente del tiempo disponible (Holling 1959), lo cual resulta en una densodependencia inversa.

Valores elevados de parasitismo (46%) de *P. dignus* sobre *T. absoluta*, en la misma zona y sin uso de plaguicidas, también fueron reportados por Sánchez *et al.* (2009), mientras que en cultivos de tomate con manejo convencional y aplicaciones frecuentes de plaguicidas hallaron valores entre un 17% y 26%. Coincidentemente, Polack (2008) encontró que el porcentaje de parasitismo de *P. dignus* sobre *T. absoluta* en un tomate bajo invernáculo sin plaguicidas, aumentó de un 25% a un 90% entre mediados de marzo y fines de abril, en el NE de la provincia de Buenos Aires.

Las particulares características del predio orgánico donde se realizó esta investigación pueden haber influenciado la presencia y abundancia de las poblaciones del parasitoide *P. dignus*. En particular, la alta diversidad vegetal dentro del invernáculo y la presencia de plantas con flores que constituyen una fuente de polen y néctar para las hembras de *P. dignus* (Polack 2008).

En conclusión, *P. dignus* muestra efectividad para limitar las poblaciones de *T. absoluta* en cultivos de tomate bajo invernáculo. La presencia de sus poblaciones naturales debería ser propiciada a través de la disminución y/o eliminación del uso de plaguicidas no selectivos y de la búsqueda de otras alternativas de manejo que favorezcan su persistencia. Si el servicio ecológico que presta este parasitoide por sí sólo no fuera suficiente para mantener a las poblaciones de la plaga por debajo de los niveles de daño económico, se podría complementar con un control biológico mediante liberaciones aumentativas de este parasitoide.

Capítulo 7

Consideraciones finales

En el Cinturón Hortícola de La Plata y del gran Buenos Aires (provincia de Buenos Aires), el cultivo de tomate es una actividad productiva relevante, tanto en invernáculo como al aire libre, que alcanza una producción de 70.000 t anuales. La “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae), es una plaga fundamental de este cultivo en la Argentina y en varios países de América del Sur. Si bien es de origen Neotropical, debido a su elevado potencial biótico, recientemente ha invadido varios países de Europa, del norte de África y del oeste de Asia. Esto constituye una grave amenaza para los países de la cuenca mediterránea, quienes producen tomate en forma intensiva en invernáculo. El daño lo provoca al comer el mesófilo de las hojas haciendo minas que restan capacidad fotosintética al cultivo, y al penetrar directamente en los frutos deja marcas indeseables que disminuyen su valor comercial.

En la Argentina, el control de *T. absoluta* se basa casi exclusivamente en el uso de plaguicidas de síntesis, los cuales, la mayor parte de las veces tienen poca efectividad. Por estas razones, la presente investigación se propuso explorar otros enfoques para el manejo de *T. absoluta* basados en principios ecológicos, como es el control biológico de la plaga.

Entre los enemigos naturales que atacan a *T. absoluta* en la provincia de Buenos Aires, el endoparásitoide larval *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera, Braconidae) es el dominante. Es un endoparásitoide solitario, nativo, y sus hospedadores son larvas de lepidópteros Gelechiidae minadores de hojas y tallos. De acuerdo a estudios previos, este parasitoide tendría potencialidad para el control de esta plaga. Sin embargo, el conocimiento existente sobre la interacción entre este parasitoide con *T. absoluta* no era suficiente para concluir si el mismo constituía un buen agente de control biológico.

Capítulo 7. Consideraciones finales

Los países recientemente invadidos por *T. absoluta*, principalmente los europeos, exploran la posibilidad de importar enemigos naturales de la polilla desde sus lugares de origen. En los países neotropicales, por otra parte, es necesario propiciar el control biológico por conservación, a través del mantenimiento de hábitat adecuados para los enemigos naturales, y también las crías masivas para el control biológico por liberaciones aumentativas, en aquellos sitios donde el control natural no resultara suficiente. Por estas razones, *P. dignus* es un candidato importante para ser tenido en cuenta en el control biológico por importación en esos países, y en la implementación de crías masivas y liberaciones aumentativas posteriores, tanto en el viejo como en el nuevo continente.

Esta investigación se planteó como objetivo general estudiar aspectos fundamentales de las estrategias de su historia de vida y de su demografía, a campo y en laboratorio, con el fin de aportar bases más sólidas para evaluar su viabilidad en el control biológico.

Poder desarrollar con éxito programas de control biológico de *T. absoluta* por medio de *P. dignus*, tiene una serie de ventajas para los productores y consumidores de este cultivo. Entre ellos pueden mencionarse: 1) reducción en el uso de plaguicidas tóxicos, 2) carencia de residuos de plaguicidas en un producto que se consume fresco, 3) la liberación de enemigos naturales requiere una forma de aplicación menos agresiva que la de productos químicos en invernaderos cálidos y húmedos, 4) bajo riesgo de contaminación del suelo, el agua y el medio ambiente.

Esta investigación se llevó a cabo mediante estudios en el laboratorio y en cultivos de tomate, con distinto tipo de manejo, en varios sitios del Cinturón Hortícola de La Plata. Sus resultados han permitido conocer aspectos relevantes de la biología y demografía de este parasitoide.

Pseudapanteles dignus puede parasitar todos los estadios larvales de *T. absoluta*, y tiene la habilidad de ajustar su tiempo de desarrollo al del hospedador. El estadio larval del hospedador en el cual se desarrolló el parasitoide afectó el tiempo de desarrollo y el número de cocones producidos por la hembra. Cuando se desarrolló sobre L_1 - L_2 del hospedador la hembra tuvo menor longevidad y una proporción de sexos a favor de las hembras. La mayor mortalidad ocurre en las primeras etapas del desarrollo (L_1) cuando tiene que enfrentar la reacción de encapsulamiento por parte del

hospedador. La hembra no posee periodo de preoviposición y generalmente ovipone el 50% de sus huevos antes de completar la primera semana de vida como adulto.

Este estudio es el primero en determinar los parámetros demográficos del parasitoide *P. dignus* sobre el hospedador *T. absoluta* a partir de tablas de vida de laboratorio en las cuales se calculó la supervivencia de los estados preimaginales, aspecto muy difícil de determinar en especies de endoparasitoides koinobiontes.

Sus parámetros demográficos indican una elevada capacidad potencial de crecimiento poblacional. Exhibió una r_m levemente mayor al hallado para su hospedador, característica que es considerada valiosa para un parasitoide.

En cuanto a su estrategia reproductiva, este trabajo demostró que *P. dignus* es una especie sinovigénica moderada y que además, privar a las hembras de hospedadores durante los primeros días, les permitirá alcanzar la máxima carga de huevos al momento de la liberación, optimizando el control biológico.

Otra característica importante es que las hembras del parasitoide evitaron el superparasitismo tanto en el laboratorio como en el campo. Teniendo en cuenta que éste es un parasitoide solitario, esto podría representar una elevada eficiencia en la producción de su futura descendencia. El encapsulamiento del parasitoide por parte de la larva hospedadora representó un factor de mortalidad en la población del parasitoide. No obstante, la proporción de larvas monoparasitadas encapsuladas en el laboratorio fue más del doble de las encapsuladas en el campo. Este es un aspecto que debería ser estudiado en mayor profundidad a fin de poder hacer más eficiente la cría masiva en laboratorio.

En el caso particular de *P. dignus* el superparasitismo parece ser un fenómeno poco frecuente en condiciones de campo, y posible de disminuir en el laboratorio mediante condiciones apropiadas de cría. Esto permitiría reducir la frecuencia de encapsulamiento y por consiguiente aumentar la supervivencia de los descendientes.

La potencialidad de este parasitoide como candidato para el control biológico por liberación aumentativa, o simplemente como un enemigo natural de presencia espontánea, se evaluó en condiciones naturales en cultivos bajo invernáculo. El mismo mostró una elevada capacidad de atacar hospedadores tanto a bajas como a altas densidades de *T. absoluta*, causando un impacto de parasitismo que se tradujo en una

Capítulo 7. Consideraciones finales

mortalidad total de la población de su huésped que varió entre un 33% y un 49% en tomate de primera y un 64% en tomate de segunda.

En conclusión, *P. dignus* presta un importante servicio ecosistémico al limitar el tamaño de las poblaciones de la plaga en cultivos de tomate bajo invernáculo de manera considerable. La presencia de sus poblaciones naturales debería ser propiciada a través de la disminución y/o eliminación del uso de plaguicidas no selectivos y de la búsqueda de diversas prácticas de manejo del hábitat que favorezcan su persistencia.

Si el servicio ecológico que presta este parasitoide por sí sólo, no fuera suficiente para mantener a las poblaciones de la plaga por debajo de los niveles de daño económico, se podría complementar con un control biológico mediante liberaciones aumentativas. En este sentido, los resultados de este trabajo permitirán optimizar la cría masiva y las liberaciones del parasitoide, para ser usado como agente de control biológico en programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) en los cultivos de tomate.

Referencias

- Antolin, M.F. 1999. A genetic perspective on mating systems and sex ratios of parasitoid wasps. *Researches on Population Ecology* 41: 29-37.
- Argerich, C. 2011. La importancia del cultivo de tomate en Argentina. Libro de Resúmenes del Taller: La polilla del tomate en la Argentina: Estado actual del conocimiento y prospectiva para un manejo integrado de plagas. FCNyM, UNLP.
- Arthur, A.P. 1966. Associative learning in *Itopectis conquisitor* (Say) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Canadian Entomologist* 98: 213-223.
- Arthur, A.P. 1971. Associative learning by *Nemeritis canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Canadian Entomologist* 103: 1137-1141.
- Askew, R.R. 1975. The organisation of chalcid-dominated parasitoid communities centred upon endophytic hosts. *Evolutionary Strategies of Parasitic Insects and Mites* 130-153.
- Askew, R.R. & Shaw, M.R. 1986. Parasitoid communities: Their size, structure and development. *Insect Parasitoids* 225-264.
- Baaren, J. 1996. Intraspecific larval competition in two solitary parasitoids, *Apoanagyrus* (Epidinocarsis) *lopezi* and *Leptomastix dactylopii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 81: 325-333.
- Bakker, K.; van Alphen, J.J.M.; van Batenburg, F.H.D.; van der Hoeven, N.; Nell, H.W.; Strien-van Liempt, W.T.F.H. & Turlings, T.C.J. 1985. The function of host discrimination and superparasitization in parasitoids. *Oecologia* 67: 572-576.
- Beddington, J.R. 1975. Mutual interference between parasites or predators and its effect on searching efficiency. *Journal of Animal Ecology* 44: 331-340.
- Bellows, T.S.Jr. & Fisher, T.W. 1999. Handbook of biological control. Principles and applications of biological control. Academic Press. London, UK. 1046 pp.
- Bellows, T.S.Jr. & van Driesche, R.G. 1999. Life Table Construction and Analysis for Evaluating Biological Control Agents. IN: Handbook of Biological Control. Bellows, T.S.; Fisher, T.W.; Caltagirone, L.E.; Dahlsten, D.L.; Gordh, G. & Huffaker, C.B. (Eds.). Academic Press. London, UK. 199-223 pp.
- Bellows, T.S.Jr.; van Driesche, R.G. & Elkinton, J.S. 1989. Extensions to Southwood and Jepson's graphical method of estimating numbers entering a stage for calculating mortality due to parasitism. *Researches on Population Ecology* 31: 169-184.
- Bellows, T.S.Jr.; van Driesche, R.G. & Elkinton, J.S. 1992. Life-table construction and analysis in the evaluation of natural enemies. *Annual Review of Entomology* 37: 587-614.
- Bigler, F. 1989. Quality assessment and control in entomophagous insects used for biological control. *Journal of Applied Entomology* 108: 390-400.
- Blackburn, T.M. 1991a. A comparative examination of life-span and fecundity in parasitoid Hymenoptera. *Journal of Animal Ecology* 60: 151-164.
- Blackburn, T.M. 1991b. Evidence for a "fast-slow" continuum of life-history traits among parasitoid Hymenoptera. *Functional Ecology* 5: 65-74.

- Blumberg, D. 1991. Seasonal variations in the encapsulation of eggs of the encyrtid parasitoid *Metaphycus stanleyi* by the pyriform scale, *Protopulvinaria pyriformis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 58: 231-237.
- Blumberg, D. 1997. Parasitoid encapsulation as a defense mechanism in the Coccoidea (Homoptera) and its importance in biological control. *Biological Control* 8: 225-236.
- Blumberg, D. & Swirski, E. 1977. Mass breeding of two species of *Saissetia* [Hom.: Coccidae] for propagation of their parasitoids. *Entomophaga* 22: 147-150.
- Botto, E.; Ceriani, S.; López, S.; Saini, E.; Cédola, C.; Segade, G. y Viscarret, M. 1998. Control biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. La experiencia hasta el presente. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 29: 83-98.
- Brodeur, J. & Boivin, G. 2004. Functional Ecology of Immature Parasitoids. *Annual Review of Entomology* 49: 27-49.
- Brodeur, J.; Geervliet, J.B.F. & Vet, L.E.M. 1998. Effect of *Pieris* host species on life history parameters in a solitary specialist and gregarious generalist parasitoid (*Cotesia* species). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86: 145-152.
- Cardona, C. & Oatman, E.R. 1971. Biology of *Apanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae), a primary parasite of the tomato pinworm. *Annals of the Entomological Society of America* 64: 996-1007.
- Carey, J.R. 1993. *Applied Demography for Biologists with Special Emphasis on Insects*. Oxford University Press. New York. 224 pp.
- Colinet, H.; Salin, C.; Boivin, G. & Hance, T. 2005. Host age and fitness related traits in a koinobiont aphid parasitoid. *Ecological Entomology* 30: 473-479.
- Collier, T.R. 1995. Host feeding, egg maturation, resorption, and longevity in the parasitoid *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Annals of the Entomological Society of America* 88: 206-214.
- Collier, T.R.; Murdoch, W.W. & Nisbet, R.M. 1994. Egg load and the decision to host-feed in the parasitoid, *Aphytis melinus*. *Journal of Animal Ecology* 63: 299-306.
- Colomo, M.V.; Berta, D.C. y Chocobar, M.J. 2002. El complejo de himenópteros parasitoides que atacan a la "polilla del tomate" *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en la Argentina. *Acta zoológica lilloana* 46: 81-92.
- Consoli, F.L.; Parra, J.R.P. & Hassan, S.A. 1998. Side-effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology* 122: 43-47.
- Corvo Dolcet, S. 2005. Zonas de producción del cultivo del tomate en la Argentina. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Forestación. Dirección de Agricultura. <http://www.seedquest.com/News/releases/2005/pdf/13528.pdf>. [Acceso: 23/05/2006]
- Dannon, E.A.; Tamò, M.; van Huis, A. & Dicke, M. 2010. Functional response and life history parameters of *Apanteles taragamae*, a larval parasitoid of *Maruca vitrata*. *BioControl* 55: 363-378.
- De Santis, L. 1983. Un nuevo género y dos nuevas especies de eulófidos neotropicales (Insecta, Hymenoptera). *Revista Peruana de Entomología* 26: 1-4.
- Debach, P. & Rosen, D. 1991. The Natural Enemies. IN: *Biological control by natural enemies*. Debach, P. & Rosen, D. (Eds.). Cambridge University Press. 35-87 pp.
- Deevey, E.S.Jr. 1947. Life Tables for Natural Populations of Animals. *The Quarterly Review of Biology* 22: 283-314.

- Deputación Pontevedra. 2012. Areeiro. Estación Fitosanitaria. http://www.efa-dip.org/es/servicios/Info_Fitosanitaria/Avisos/Aviso_2010-08-27.htm. [Acceso: 11/12/2012].
- Desneux, N.; Wajnberg, E.; Wyckhuys, K.A.G.; Burgio, G.; Arpaia, S.; Narváez-Vasquez, C.A.; González-Cabrera, J.; Ruescas, D.C.; Tabone, E.; Frandon, J.; Pizzol, J.; Poncet, C.; Cabello, T. & Urbaneja, A. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: Ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science* 83: 197-215.
- Djambong, J. & Lauge, G. 1977. Activite ovarienne de *Tetrastichus atriclavus* (Chalcidien, Eulophide). Effets de l'accouplement et de la presence de l'hote. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 22: 161-170.
- Donaldson, J.S. & Walter, G.H. 1988. Effects of egg availability and egg maturity on the ovipositional activity of the parasitic wasp, *Coccophagus atratus*. *Physiological Entomology* 13: 407-417.
- Driessen, G. & Hemerik, L. 1991. Aggregative responses of parasitoids and parasitism in populations of *Drosophila* breeding in fungi. *Oikos* 61: 96-107.
- Ecole, C.C.; Picanco, M.C.; Guedes, R.N.C. & Brommonschenkel, S.H. 2001. Effect of cropping season and possible compounds involved in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *typicum* to *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology* 125: 193-200.
- Eliopoulos, P.A.; Harvey, J.A.; Athanassiou, C.G. & Stathas, G.J. 2003. Effect of biotic and abiotic factors on reproductive parameters of the synovigenic endoparasitoid *Venturia canescens*. *Physiological Entomology* 28: 268-275.
- Ellers, J. & van Alphen, J.J.M. 1997. Life history evolution in *Asobara tabida*: Plasticity in allocation of fat reserves to survival and reproduction. *Journal of Evolutionary Biology* 10: 771-785.
- Faria, C.A.; Torres, J.B. e Farias, A.M.I. 2000. Resposta funtional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): efeito da idade do hospedeiro. *Anais Da Sociedade Entomológica Do Brasil* 29: 85-93.
- Fernández, S. y Montagne, A. 1990. Biología del minador del tomate *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Boletín de Entomología Venezolana* 5: 89-99.
- Flanders, S.E. 1950. Regulation of ovulation and egg disposal in the parasitic Hymenoptera. *Canadian Entomologist* 82: 134-140.
- Force, D.C. 1975. Succession of *r* and *K* strategists in parasitoids. *Evolutionary Strategies of Parasitic Insects and Mites* 112-129.
- Fox, G.A. 2001. Failure-time analysis: studying time to events and rate at which events occur. IN: *Design and Analysis of Ecological Experiments*. Scheiner, S.M. & Gurevitch, J. (Eds.). Oxford University Press. New York. 235-266 pp.
- Gandon, S.; Rivero, A. & Varaldi, J. 2006. Superparasitism evolution: adaptation or manipulation? *The American naturalist* 167: E1-E22.
- García, M. 2012. El Cinturón Hortícola Platense: Ahogándonos en un Mar de Plásticos. Un ensayo acerca de la tecnología, el ambiente y la política. *THEOMAI* 23: 35-53.
- García, M.; Strassera, M.E.; Luna, M.G.; Polack, L.A. & Mezquiriz, N. 2005. Monitoreo de plagas. *Boletín Hortícola* 10: 31-37.
- Godfray, H.C.J. 1994. *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press. Princeton, N.J. 473pp.

- Gordh, G.; Legner, E.F. & Caltagirone, L.E. 1999. Biology of parasitic Hymenoptera. IN: Handbook of Biological Control: Principles and Applications of Biological Control. Bellows, T.S. & Fisher, T.W. (Eds.). Academic Press. London, UK. 355-381 pp.
- Gould, J.R.; Elkinton, J.S. & Wallner, W.E. 1990. Density-dependent suppression of experimentally created gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae), populations by natural enemies. *Journal of Animal Ecology* 59: 213-233.
- Gould, J.R.; van Driesche, R.G.; Elkington, J.S. & Odell, T.M. 1989. A review of techniques for measuring the impact of parasitoids of Lymantriids. P517-531 In: Proc., Lymantria: A comparison of features of New and Old World tussock moths, Wallner WE and McManus KA (tech cords) USDA For.Serv.Gen.Tech.Rep.NE-123.
- Green, R.F.; Gordh, G. & Hawkins, B.A. 1982. Precise Sex Ratios in Highly Inbred Parasitic Wasps. *The American naturalist* 120: 653-665.
- Groden, E., Drummond, F.A., Casagrande, R.A. & Haynes, D.L., 1990. *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae): its predation upon the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and its incidence in potatoes and surrounding crops. *Journal of Economic Entomology* 83: 1306-1315.
- Hamelin, F.; Bernhard, P. & Wajnberg, E. 2007. Superparasitism as a differential game. *Theoretical Population Biology* 72: 366-378.
- Hart, W.G. 1972. Compensatory releases of *Microterys flavus* as a biological control agent against brown soft scale. *Environmental Entomology* 1: 414-419.
- Harvey, J.A., Harvey, I.F. & Thompson, D.J. 1994. Flexible Larval Growth Allows Use of a Range of Host Sizes by a Parasitoid Wasp. *Ecology* 75:1420-1428.
- Harvey, J.A.; Harvey, I.F. & Thompson, D.J. 2001. Lifetime reproductive success in the solitary endoparasitoid, *Venturia canescens*. *Journal of Insect Behavior* 14: 573-593.
- Harvey, J.A.; Kadash, K. & Strand, M.R. 2000. Differences in larval feeding behavior correlate with altered developmental strategies in parasitoid wasps: Implications for the size-fitness hypothesis. *Oikos* 88: 621-629.
- Hawkins, B.A. 1994. Pattern and process in host-parasitoid interactions. Pattern and process in host-parasitoid interactions. Cambridge University Press. UK. 204pp.
- Heather, J.H. 2003. Inbreeding Depression and Haplodiploidy: Experimental Measures in a Parasitoid and Comparisons Across Diploid and Haplodiploid Insect Taxa. *Evolution* 57: 1793-1803.
- Heimpel, G.E. & Rosenheim, J.A. 1995. Dynamic host feeding by the parasitoid *Aphytis melinus*: The balance between current and future reproduction. *Journal of Animal Ecology* 64: 153-167.
- Heimpel, G.E. & Rosenheim, J.A. 1998. Egg limitation in parasitoids: A review of the evidence and a case study. *Biological Control* 11: 160-168.
- Heimpel, G.E.; Rosenheim, J.A. & Mangel, M. 1996. Egg limitation, host quality, and dynamic behavior by a parasitoid in the field. *Ecology* 77: 2410-2420.
- Holling, C.S. 1959. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Canadian Entomologist* 91: 385-398.
- Hubbard, S.F.; Marris, G.; Reynolds, A. & Rowe, G.W. 1987. Adaptive patterns in the avoidance of superparasitism by solitary parasitic wasps. *Journal of Animal Ecology* 56: 387-401.

- Huffaker, C.B.; Simmonds, F.J. & Laing, J.E. 1976. The theoretical and empirical basis of biological control. IN: Theory and Practice of Biological Control. Huffaker, C.B. & Messenger, P.S. (Eds.). Academic Press. New York. 41-78 pp.
- Iwasa, Y.; Suzuki, Y. & Matsuda, H. 1984. Theory of oviposition strategy of parasitoids. I. Effect of mortality and limited egg number. *Theoretical Population Biology* 26: 205-227.
- Jarosik, V.; Holy, I.; Lapchin, L. & Havelka, J. 2003. Sex ratio in the aphid parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae) in relation to host size. *Bull. Entomol. Res* 93: 255-258.
- Javois, J. & Tammaru, T. 2006. The effect of egg load on readiness to accept a low-quality host plant is weak and age dependent in a geometrid moth. *Ecological Entomology* 31: 597-600.
- Jervis, M.A. & Copland, M.J.W. 1996. The life cycle. IN: Insect natural enemies practical approaches to their study and evaluation. Jervis, M.A. & Kidd, N.A.C. (Eds.). Chapman and Hall. Oxford, UK. 63-160 pp.
- Jervis, M.A. & Kidd, N.A.C. 1986. Host-feeding strategies in hymenopteran parasitoids. *Biological Reviews* 61: 395-434.
- Jervis, M.A.; Ellers, J. & Harvey, J.A. 2008. Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. *Annual Review of Entomology* 53: 361-385.
- Jervis, M.A.; Heimpel, G.E.; Ferns, P.N.; Harvey, J.A. & Kidd, N.A.C. 2001. Life-history strategies in parasitoid wasps: A comparative analysis of 'ovigeny'. *Journal of Animal Ecology* 70: 442-458.
- Jones, W.T. 1982. Sex ratio and host size in a parasitoid wasp. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 10: 207-210.
- King, B.H. 1987. Offspring Sex Ratios in Parasitoid Wasps. *The Quarterly Review of Biology* 62: 367-396.
- King, B.H. 1988. Sex-Ratio Manipulation in Response to Host Size by the Parasitoid Wasp *Spalangia cameroni*: A laboratory Study. *Evolution* 42: 1190-1198.
- Klomp, H.; Teering, B.J. & Ma, W.C. 1980. Discrimination between parasitized and unparasitized hosts in the egg parasite *Trichogramma embryophagum* (Hym.: Trichogrammatidae): a matter learning and forgetting. *Netherlands Journal of Zoology* 30: 254-277.
- Kogan, M. 1986. *Ecological theory and integrated management practice*. John Wiley & Sons. New York, USA. 362 pp.
- Lane, S.D.; Mills, N.J. & Getz, W.M. 1999. The effects of parasitoid fecundity and host taxon on the biological control of insect pests: The relationship between theory and data. *Ecological Entomology* 24: 181-190.
- Lange, W.H. & Bronson, L. 1981. Insect pests of tomatoes. *Annual Review of Entomology* 26: 345-371.
- Larrain, S.P. 1986. Total mortality and parasitism of *Dineulophus pthorimaeae* (De Santis) in tomato moth larvae, *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick). *Revista Agricultura Técnica (Chile)* 46: 227-228.
- Le Masurier, A.D. 1991. Effect of host size on clutch size in *Cotesia glomerata*. *Journal of Animal Ecology* 60: 107-118.
- Lessells, C.M. 1985. Parasitoid foraging: should parasitism be density dependent? *Journal of Animal Ecology* 54: 27-41.
- Lietti, M.M.M.; Botto, E. & Alzogaray, R.A. 2005. Insecticide resistance in Argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology* 34: 113-119.

- Lim, G.S.; Sivapragasam, A. & Ruwaida, M. 1986. Impact assessment of *Apanteles plutellae* on diamondback moth using an insecticide-check method. IN: Diamondback Moth Management. Talekar, N.S. & Griggs, T.D. (Eds.). AVRDC. Tainan. 423-436 pp.
- Lins, J.C.; Bueno, V.H.P.; Silva, D.B.; Sampaio, M.V. & van Lenteren, J.C. 2011. *Praon volucre* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae), a natural enemy of *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae): Life table and intrinsic rate of population increase. *European Journal of Entomology* 108: 575-580.
- Lize, A.; Carval, D.; Cortesero, A.M.; Fournet, S. & Poinot, D. 2006. Kin discrimination and altruism in the larvae of a solitary insect. *Proceeding Of the Royal Society London* 243: 2381-2386.
- Luck, R.F.; Shepard, B.M. & Kenmore, P.E. 1988. Experimental methods for evaluating arthropod natural enemies. *Annual Review of Entomology* 33: 367-391.
- Luck, R.F.; Shepard, B.M. & Kenmore, P.E. 1999. Evaluation of biological control with experimental methods. IN: *Handbook of Biological Control*. Bellows, T.S. & Fisher, T.W. (Eds.). Academic Press. London, UK. 225-242 pp.
- Luna, M.G.; Sánchez, N.E. & Pereyra, P.C. 2007. Parasitism of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) by *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae) under laboratory conditions. *Environmental Entomology* 36: 887-893.
- Luna, M.G.; Schneider, M.I. & Wada, V.I. 2006. Comportamiento de oviposición del endoparásitoide *Pseudoapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) y encapsulación de larvas por la "polilla del tomate", *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Libro de Resúmenes de la I Reunión Argentina de Parasitoidólogos. Bariloche, Argentina.
- Luna, M.G.; Wada, V.I. & Sánchez, N.E. 2010. Biology of *Dineulophus phthorimaeae* (Hymenoptera: Eulophidae) and field interaction with *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato. *Annals of the Entomological Society of America* 103: 936-942.
- Luna, M.G.; Pereyra, P.C.; Sánchez, N.E.; Nieves, E.L.; Guzmán, M. & Wada, V.I. 2004. Análisis del complejo de parasitoides larvales de la polilla del tomate, *Tuta absoluta*, a diferentes escalas en el cultivo de tomate. II Reunión Binacional de Ecología, Mendoza, Argentina.
- Luna, M.G.; Sánchez, N.E.; Pereyra, P.C.; Nieves, E.L.; Savino, V.; Luft, E.; Virla, E. & Speranza, S. 2012. Biological control of *Tuta absoluta* in Argentina and Italy: evaluation of indigenous insects as natural enemies. *Bulletin OEPP/EPPO* Bulletin 42: 260-267.
- Mangel, M. & Heimpel, G.E. 1998. Reproductive senescence and dynamic oviposition behaviour in insects. *Evolutionary Ecology* 12: 871-879.
- Marris, G.C.; Hubbard, S.F. & Scrimgeour, C. 1996. The perception of genetic similarity by the solitary parthenogenetic parasitoid *Venturia canescens*, and its effects on the occurrence of superparasitism. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78: 167-174.
- Mayhew, P.J. & Blackburn, T.M. 1999. Does development mode organize life-history traits in the parasitoid Hymenoptera? *Journal of Animal Ecology* 68: 906-916.
- Messenger, P.S. 1964. Use of life-tables in a bioclimatic study of an experimental aphid-braconid wasp host-parasite system. *Ecology* 45: 119-131.
- Mills, N.J. 1994. Parasitoid guilds: Defining the structure of the parasitoid communities of endopterygote insect hosts. *Environmental Entomology* 23: 1066-1083.

- Núñez-Campero, S.R.; Ovruski, S.M. & Aluja, M. 2012. Survival analysis and demographic parameters of the pupal parasitoid *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae), reared on *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 61: 40-46.
- Odebiyi, J.A. & Oatman, E.R. 1977. Biology of *Agathis unicolor* (Schrottky) and *Agathis gibbosa* (Say) (Hymenoptera: Braconidae), primary parasites of the potato tuberworm *Phthorimaea operculella*. *Hilgardia* 45: 123-151.
- Olson, D.M.; Fadamiro, H.; Lundgren, J.G. & Heimpel, G.E. 2000. Effects of sugar feeding on carbohydrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp. *Physiological Entomology* 25: 17-26.
- Parker, G.A. & Courtney, S.P. 1984. Models of clutch size in insect oviposition. *Theoretical Population Biology* 26: 27-48.
- Pereyra, P.C. & Sánchez, N.E. 2006. Effect of two solanaceous plants on developmental and population parameters of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology* 35: 671-676.
- Pereyra, P.C.; Sánchez, N.E.; Luna, M.G.; Guzmán, M.; Wada, V.I.; Nieves, E.L. & Oliveira, D. 2004. Disposición espacial de la "polilla del tomate" *Tuta absoluta* y del parasitoide larval *Pseudopanteles dignus*, a diferentes escalas espaciales. II Reunión Binacional de Ecología, Mendoza, Argentina.
- Pianka, E.R. 1983. *Evolutionary Ecology*. Third Edition. Harper and Row, New York. 416 pp.
- Picanco, M.C.; Guedes, R.N.C.; Leite, G.L.D.; Fontes, P.C.R. & Silva, E.A. 1995. Incidencia de *Scrobipalpuloides absoluta* em tomateiro sob diferentes sistemas de tutoramento e de controle químico. *Horticultura Brasileira* 13: 180-183.
- Pimentel, D. & Lehman, H. 1993. *The Pesticide Question: Environment, Economics and Ethics*. Chapman and Hall, New York. 441 pp.
- Polack, L.A. 1997. El control químico en el contexto del manejo integrado de plagas. En: 7a Jornadas sobre Cultivos Protegidos. UEEA INTA, Gran Buenos Aires – FCAYF, UNLP. 5p.
- Polack, L.A. 2008. Interacciones tritróficas involucradas en el control de plagas de cultivos hortícolas. Disertación de Tesis Doctoral FCNyM, UNLP.
- Polack, L.A. y Brambilla, R.J. 2000. Evaluación de un sistema de manejo integrado de la polilla del tomate en un cultivo de tomate cherry bajo invernáculo. En XXIII Congreso Argentino de Horticultura. ASAHO. Mendoza N° 207.
- Polack, L.A.; Saini, E. y García, C. 2002. Guía de monitoreo y reconocimiento de plagas y enemigos naturales de tomate y pimiento. Boletín de Divulgación Técnica n° 13. INTA.
- Potting, R.P.J.; Overholt, W.A.; Danso, F.O. & Takasu, K. 1997. Foraging behavior and Life History of the Stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior* 10: 13-29.
- Price, P.W. 1977. General concepts on the evolutionary biology of parasites. *Evolution* 31: 405-420.
- Puttler, B. 1967. Interrelationship of *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae) and *Bathyplectes curculionis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) in the eastern United States with particular reference to encapsulation of the parasite eggs by the weevil larvae. *Annals of the Entomological Society of America* 60: 1031-1038.
- Puttler, B. 1974. *Hypera postica* and *Bathyplectes curculionis*: encapsulation of parasite eggs by host larvae in Missouri and Arkansas. *Environmental Entomology* 3: 881-882.

- Puttler, B. & van den Bosch, R. 1959. Partial immunity of *Laphygma exigua* (Hubner) to the parasite *Hyposoter exiguae* (Viereck). *Journal of Economic Entomology* 52: 327-329.
- Qiu, B.; Zhou, Z.S.; Luo, S.P. & Xu, Z.F. 2012. Effect of temperature on development, survival, and fecundity of *Microplitis manilae* (Hymenoptera: Braconidae). *Environmental Entomology* 41: 657-664.
- Quicke, D.L.J. 1997. Life history strategy: idiobionts and koinobionts. IN: Parasitic Wasps. Quicke, D.L.J. (Ed.). Chapman & Hall. London, UK. 67-75.
- Rabinovich, J.E. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales. Compañía Editorial Continental, S.A., México. 313pp.
- Ramadan, M.M.; Wong, T.T. & Messing, R.H. 1995. Reproductive biology of *Biosteres vandenboschi* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of early-instar Oriental fruit fly. *Annals of the Entomological Society of America* 88: 189-195.
- Reed, D.K.; Hart, W.G. & Ingle, S.I. 1968. Laboratory rearing of brown soft scale and its hymenopterous parasites. *Annals of the Entomological Society of America* 61: 1443-1446.
- Reynolds, T.K. & Hardy, I.C.W. 2004. Superparasitism: a non-adaptive strategy? *Trends in Ecology and Evolution* 19: 347-348.
- Riquelme, A.H. 1993. Control integrado de plagas en tomate. Editar. San Juan. 34pp.
- Rivero-Lynch, A.P. & Godfray, H.C.J. 1997. The dynamics of egg production, oviposition and resorption in a parasitoid wasp. *Functional Ecology* 11: 184-188.
- Rodrigues, S.M.M.; Bueno, V.H.P. e Sampaio, M.V. 2003. Tabela de vida de fertilidade de *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880) (Hymenoptera, Aphidiidae) em *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852) (Hemiptera, Aphididae). *Revista Brasileira de Entomologia* 47: 637-642.
- Rodrigues, S.M.M.; Bueno, V.H.P.; Sampaio, M.V. & Soglia, M.C.M. 2004. Influence of the temperature on the development and parasitism of *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) reared on *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Neotropical Entomology* 33: 341-346.
- Roitberg, B.D. & Mangel, M. 1988. On the evolutionary ecology of marking pheromones. *Evolutionary Ecology* 2: 289-315.
- Roitberg, B.D.; Boivin, G. & Vet, L.E.M. 2001. Fitness, parasitoids, and biological control: An opinion. *Canadian Entomologist* 133: 429-438.
- Rojas, P.S. 1981. Control de la polilla del tomate: Enemigos naturales y patógenos. *IPA-La Platina (Chile)* 8: 18-20.
- Rosenheim, J.A. 1999. The relative contributions of time and eggs to the cost of reproduction. *Evolution* 53: 376-385.
- Ruiz-Narváez, E. & Castro-Webb, N. 2003. A simple method to estimate percentage parasitism when the host and parasitoid phenologies are unknown: A statistical approach. *BioControl* 48: 87-100.
- Salt, G. 1934. Experimental Studies in Insect Parasitism. III. Host Selection. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 117: 413-435.
- Salt, G. 1959. Experimental studies in insect parasitism. XI. The haemocytic reaction of a caterpillar under varied conditions. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 151: 446-467.
- Salt, G. 1961. Competition among insect parasitoids. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 15: 96-119.

- Salt, G. 1963. The defence reactions of insects to metazoan parasites. *Parasitology* 53: 527-642.
- Salt, G. 1968. The resistance of insect parasitoids to the defence reactions of their hosts. *Biological Reviews* 43: 200-233.
- Sánchez, N.E.; Pereyra, P.C. & Luna, M.G. 2009. Spatial patterns of parasitism of the solitary parasitoid *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Environmental Entomology* 38: 365-374.
- Sánchez, N.E.; Luna, M.G.; Pereyra, P.C.; Wada, V.I.; Nieves, E.L.; Oliveira, D.; Theiller, M. y Saldúa, L. 2005. Respuesta funcional de *Pseudopanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae), parasitoide de la "polilla del tomate", *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). VI Congreso Argentino de Entomología. Tucumán, Argentina, 268p.
- Scheiner, S.M. & Gurevitch, J. 2001. Design and Analysis of Ecological Experiments. Oxford University Press. Oxford, NY. 432 pp.
- Schlinger, E.I. & Hall, J.C. 1960. The biology, behavior, and morphology of *Praon palitans* Muesebeck, an internal parasite of the spotted alfalfa aphid, *Therioaphis maculata* (Buckton) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae). *Annals of the Entomological Society of America* 53: 144-160.
- Schröder, D. 1971. A study of the interactions between the internal larval parasites of *Rhyacionia buoliana* (Lep., Olethreutidae). *Entomophaga* 19: 145-171.
- Shaw, M.R. & Huddleston, T. 1991. Classification and biology of braconid wasp (Hymenoptera: Braconidae). Handbooks for the identification of British insects 7: 1-126.
- Shea, K.; Nisbet, R.M.; Murdoch, W.W. & Yoo, H.J.S. 1996. The effect of egg limitation on stability in insect host-parasitoid population models. *Journal of Animal Ecology* 65: 743-755.
- Shukla, A.N. & Tripathi, C.P.M. 1993. Effect of food plants on the offspring sex ratio of *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae), a parasitoid of *Lipaphis erysimi* Kalt. (Hemiptera: Aphididae). *Biology, Agriculture and Horticulture* 9: 137-146.
- Sidney, L.A.; Bueno, V.H.P.; Lins, J.; Silva, D.B. & Sampaio, M.V. 2010. Quality of different aphids species as hosts for the parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Neotropical Entomology* 39: 709-713.
- Silva, R.J.; Bueno, V.H.P. & Sampaio, M.V. 2008a. Quality of different aphids as hosts of the parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae). *Neotropical Entomology* 37: 173-179.
- Silva, R.J.; Bueno, V.H.P.; Silva, D.B. & Sampaio, M.V. 2008b. Fertility life table of *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) in *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) and *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Revista Brasileira de Entomologia* 52: 124-130.
- Siqueira, H.A.A.; Guedes, R.N.C. & Picanco, M.C. 2000. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agricultural and Forest Entomology* 2: 147-153.
- Sirot, E. & Krivan, V. 1997. Adaptive superparasitism and host-parasitoid dynamics. *Bulletin of Mathematical Biology* 59: 23-41.
- Sirot, E.; Ploye, H. & Bernstein, C. 1997. State dependent superparasitism in a solitary parasitoid: Egg load and survival. *Behavioral Ecology* 8: 226-232.
- Skinner, S.W. 1985. Clutch size as an optimal foraging problem for insects. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 17: 231-238.

- Smith, O.J. 1952. Biology and behaviour of *Microctonus vittatae* Muesebeck (Braconidae) with description of its immature stages. University of California Publications in Entomology 9: 315-343.
- Southwood, T.R.E. & Jepson, W.F. 1962. Studies on the populations of *Oscinella frit* L. (Diptera: Chloropidae) in the oat crop. Journal of Animal Ecology 31: 481-495.
- Speirs, D.C.; Sherratt, T.N. & Hubbard, S.F. 1991. Parasitoid diets: Does superparasitism pay? Trends in Ecology and Evolution 6: 22-25.
- Stupino, S.A.; Frangi, J.L. y Sarandón, S.J. 2012. Caracterización de fincas hortícolas según el manejo de los cultivos, La Plata, Argentina. Actas 7mo Congreso de Medio Ambiente AUGM.UNLP. La Plata, Argentina. 25 pp.
- Suzuki, Y.; Tsuji, H. & Sasakawa, M. 1984. Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Animal Behaviour 32: 478-484.
- Thompson, S.N. & Hagen, K.S. 1999. Nutrition of entomophagous insects and other arthropods. Handbook of Biological Control. IN: Bellows T.S. & Fisher, T.W. (Eds.). Academic Press. London, UK. 594-652 pp.
- Thorpe, W.H. 1956. Learning and instinct in animals. Harvard University Press. Cambridge, MA, US. 493 pp.
- Torres, A.D.F.; Bueno, V.H.P.; Sampaio, M.V. & de Conti, B.F. 2007. Fertility life table of *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) on *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Neotropical Entomology 36: 532-536.
- Uchoa-Fernandes, M.A. & De Campos, W.G. 1993. Parasitoids of larvae and pupae of the tomato worm *Scrobipalpaloides absoluta* Meyrick, 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae). Revista Brasileira de Entomologia 37: 399-402.
- Ueno, T. 1999. Reproduction and host-feeding in the solitary parasitoid wasp *Pimpla nipponica* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Invertebrate Reproduction and Development 35: 231-237.
- van Alphen, J.J.M. & Nell, H.W. 1981. Superparasitism and host discrimination by *Asobara tabida* Nees (Braconidae: Alysiinae), a larval parasitoid of Drosophilidae. Netherlands Journal of Zoology 32: 232-260.
- van Alphen, J.J.M. & Visser, M.E. 1990. Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. Annual Review of Entomology 35: 59-79.
- van Alphen, J.J.M.; van Dijken, M.J. & Waage, J.K. 1986. A functional approach to superparasitism: Host discrimination needs not be learnt by. Netherlands Journal of Zoology 37: 167-179.
- van Baalen, M. 2000. The evolution of parasitoid egg load. Parasitoid Population Biology 103-120.
- van Baaren, J. & Boivin, G. 1998. Learning affects host discrimination behavior in a parasitoid wasp. Behavioral Ecology and Sociobiology 42: 9-16.
- van den Bosch, R. & Dietrick, E.J. 1959. The interrelationships of *Hypera brunneipennis* (Coleoptera: Curculionidae) and *Bathyplectes curculionis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) in southern California. Annals of the Entomological Society of America 52: 609-616.
- van Dijken, M.J. & Waage, J.K. 1987. Self and conspecific superparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma evanescens*. Entomologia Experimentalis et Applicata 43: 183-192.

- van Dijken, M.J.; Kole, M.; van Lenteren, J.C. & Brand, A.M. 1986. Host-preference studies with *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym., Trichogrammatidae) for *Mamestra brassicae*, *Pieris brassicae* and *Pieris rapae*. *Journal of Applied Entomology* 101: 64-85.
- van Driesche, R.G. 1983. Meaning of "percent parasitism" in studies of insect parasitoids. *Environmental Entomology* 12: 1611-1622.
- van Driesche, R.G. & Bellows, T.S.Jr. 1988. Host and parasitoid recruitment for quantifying losses from parasitism, with reference to *Pieris rapae* and *Cotesia glomerata*. *Ecological Entomology* 13: 215-222.
- van Driesche, R.G. & Taub, G. 1983. Impact of parasitoids on *Phyllonorycter* leafminers infesting apple in Massachusetts, USA. *Protection Ecology* 5: 303-317.
- van Driesche, R.G.; Elkington, J.S.; Bellows T.S.Jr.; Ferro, D.N. & Gould, J.R. 1991. The meaning of percentage parasitism revisited: solutions to the problem of accurately estimating total losses from parasitism. *Environmental Entomology* 20: 1-7.
- van Lenteren, J.C. 1976. The development of host discrimination and the prevention of superparasitism in the parasite *Pseudeucoila bochei* Weld (Hym.: Cynipidae). *Netherlands Journal of Zoology* 26: 1-83.
- van Lenteren, J.C. 1981. Host discrimination by parasitoids. IN: *Semiochemicals: Their Role in Pest Control*. Nordlund, D.A.; Jones, R.L. & Lewis, W.J. (Eds.). Wiley and Sons. New York. 153-173 pp.
- van Lenteren, J.C. 1983. The potential of entomophagous parasites for pest control. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 10: 143-158.
- van Lenteren, J.C. 1986. Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. *Biological Plant and Health Protection* 32: 31-56.
- van Lenteren, J.C. & Bueno, V.H.P. 2003. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *BioControl* 48: 123-139.
- van Lenteren, J.C. & Manzaroli, G. 1999. Evaluation and use of predators and parasitoids for biological control of pests in greenhouses. *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops* 183-201.
- van Lenteren, J.C. & Woets, J. 1988. Biological and integrated pest control in greenhouses. *Annual Review of Entomology* 33: 239-269.
- van Steenis, M.J. 1994. Intrinsic rate of increase of *Lysiphlebus testaceipes* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae), at different temperatures. *Journal of Applied Entomology* 118: 388-406.
- van Strien-van Liempt, W.T.F.H. 1983. The competition between *Asobara tabida* Nees Von Esenbeck, 1834 and *Leptopilina heterotoma* (Thomson, 1862) in multiparasitized hosts. *Netherlands Journal of Zoology* 33: 125-163.
- van Vianen, A. & van Lenteren, J.C. 1986. The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). XV. Oogenesis and oviposition of *Encarsia formosa*. *Journal of Applied Entomology* 180: 234-244.
- Varaldi, J.; Fouillet, P.; Ravallec, M.; López-Ferber, M.; Boulétreau, M. & Fleury, F. 2003. Infectious Behavior in a Parasitoid. *Science* 302: 1930.
- Vargas, H.C. 1970. Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *Idesia* 1: 75-110.

- Vercosa de Magalhaes, S.T.; Jham, G.N.; Picanco, M.C. & Magalhaes, G. 2001. Mortality of second-instar larvae of *Tuta absoluta* produced by the hexane extract of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) leaves. *Agricultural and Forest Entomology* 3: 297-303.
- Vinson, S.B. 1990. How parasitoids deal with the immune system of their host: An overview. *Archives of insect biochemistry and physiology* 13: 3-27.
- Visser, M.E.; van Alphen, J.J.M. & Nell, H.W. 1990. Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: the influence of the number of parasitoids depleting a patch. *Behaviour* 114: 21-36.
- Waage, J.K. 1986. Family planning in parasitoids: Adaptive patterns of progeny and sex allocation. IN: *Insect Parasitoids*. Waage, J.K. & Greathead D.J. (Eds.). Academic Press, London. 63-95 pp.
- Waage, J. & Cherry, A. 1990. Quantifying the impact of parasitoids on diamondback moth. *Proceedings of the Second International Workshop*, 10-14 December, 1990, Tainan, Taiwan. 245-253 pp.
- Wajnberg, E.; Bernstein, C. & van Alphen, J. 2008. *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids*. From theoretical approaches to field applications. Blackwell Publ. 464 pp.
- Wellings, P.W.; Morton, R. & Hart, P.J. 2008. Primary sex-ratio and differential progeny survivorship in solitary haplo-diploid parasitoids. *Ecological Entomology* 11: 341-348.
- Wilkesa, A. 1963. Environmental causes of variation in the sex ratio of an arrhenotokous insect, *Dahlbominus fuliginosus* (Nees) (Hymenoptera: Eulophidae). *The Canadian Entomologist* 95: 183-202.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. 942 pp.

Fuente de Figuras ilustrativas:

Capítulo 3.....Braconidae.

<http://www.flickr.com/photos/21978338@N06/7307089608/in/photostream/>

Capítulo 4.....Braconidae

<http://www.flickr.com/photos/21978338@N06/7307090314/in/photostream/>

Capítulo 5.....Braconidae

<http://www.flickr.com/photos/21978338@N06/7307090674/in/photostream/>

Capítulo 6.....Gelechiidae – *Tuta absoluta*

<http://www.infojardin.com/foro/showthread.php?t=144460>