

El acondicionamiento de los parasitoides *Coptera haywardi* y *Eurytoma sivinskii* con olores de pupas de la Mosca Mexicana de la Fruta, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), no mejora su eficiencia de parasitoidismo

Kevin Fernando Jiménez Acosta

Universidad El Bosque
Facultad de Ciencias Naturales
Programa de Biología
Bogotá D.C., 2020

El acondicionamiento de los parasitoides *Coptera haywardi* y *Eurytoma sivinskii* con olores de pupas de la Mosca Mexicana de la Fruta, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), no mejora su eficiencia de parasitoidismo

Kevin Fernando Jiménez Acosta

Universidad El Bosque
Facultad de Ciencias Naturales
Programa de Biología

Director

Martín R. Aluja Schuneman Hofer, Ph.D.
Investigador Titular Honorífico E
Red de Manejo Biorracional de Plagas y Vectores
Instituto de Ecología, A.C.
Xalapa, Veracruz, México

Bogotá D.C., 2020

Agradecimientos

Agradezco a cada persona que durante mi formación ha sido un pilar de apoyo para poder terminar mis estudios, a mis padres y hermanos que durante muchas horas me sirvieron de inspiración y me dieron el valor para poder seguir adelante, a mis amigos Oscar M. Caicedo Garzón y Andrés Ayala Sarasty, que durante mi estancia en la Universidad me sirvieron de ejemplo, me ayudaron a formarme como persona y siempre me recordarán que ante la dificultad hay que ver lo positivo en cada uno de los problemas que nos agobian.

En el ámbito académico, agradezco enormemente al Dr. Martín R. Aluja Schuneman Hofer por haberme brindado la oportunidad de colaborar en una de sus líneas de investigación y de realizar un proyecto junto a él; gracias por haber sido una guía importante durante la realización de este proyecto, siempre será uno de mis modelos a seguir como profesional.

Agradezco a la M. C. Alma Rosa Altúzar Molina y al Dr. Carlos Pascacio Villafán por haber revisado esta tesis.

Agradezco también a la M. C. Alma Rosa Altúzar Molina y a la Dra. Larissa Guillén Conde, por toda la confianza que me brindaron durante mi estancia en México, por el apoyo y recomendaciones para realizar y escribir mi proyecto, por preocuparse por mi salud y estar siempre atentas ante cualquier inquietud o problema durante mi estadía y, a pesar de mis errores, gracias por siempre comprender y ayudarme a seguir adelante. Al Dr. Carlos Pascacio por su apoyo en los análisis estadísticos de mis resultados. Al Ing. Emilio Acosta por su apoyo en el muestreo del suelo y a la M.C. Sandra Rocha por su apoyo en el análisis químico del suelo usado para el desarrollo de mi proyecto. A la Ing. Agr. Jovita Martínez Tlapa, la Ing. Agr. Lorena Riveros García, la Biol. Lizbeth González Cobos, la Biol. Adriana Santos Ramiro y la Ing. Agr. Enedina Cruz Hernández, por apoyarme incondicionalmente de manera muy solidaria y profesional en todas las actividades vinculadas a mi proyecto de tesis,

por haberme cuidado durante toda mi estancia, por los almuerzos que siempre me brindaron, por haberme escuchado y enseñado un poco de la bella cultura mexicana, además de todas las risas que me brindaron. A la Sra. Violeta Navarro por su apoyo en todos los trámites administrativos.

A todas las personas que me recibieron con los brazos abiertos en México y me hicieron sentir en familia, muchas gracias.

Finalmente, pero de la manera más atenta, agradezco sinceramente a la Campaña Nacional Contra Moscas de la Fruta (SENASICA-SADER) vía el Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario (CONACOFI), y al Instituto de Ecología, A.C. (INECOL), por el financiamiento y las facilidades otorgadas para la realización de este estudio incluyendo el alojamiento en una de las casas de huéspedes del Clúster Científico y Tecnológico BioMimic®. Este apoyo hizo posible mi estancia en México y la realización de los experimentos que aquí reporto.

Dedicatoria

A mis padres por su apoyo en todos mis planes, a mis hermanos por su compañía durante todo mi desarrollo académico, a mis amigos que durante toda mi carrera fueron un punto de equilibrio en mi vida, y a cada persona que de muchas maneras me ayudaron a continuar y lograr mis sueños.

Aprobación

La tesis de grado titulada: “El acondicionamiento de los parasitoides *Coptera haywardi* y *Eurytoma sivinskii* con olores de pupas de la Mosca Mexicana de la Fruta, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), no mejora su eficiencia de parasitoidismo”, presentada por la alumna Kevin Fernando Jiménez Acosta, fue aprobada y aceptada por el jurado evaluador a los 25 días del mes de mayo de 2020.

Ph.D. Martín R. Aluja Schuneman Hofer
Director

MSc. Alma Rosa Altuzar Molina
Miembro del jurado

Ph. D. Carlos Andres Pascacio Villafán
Miembro del jurado

MSc. Fredy palacino
Miembro del jurado

Contenido

1. Introducción	1
2. Marco de referencia	5
2.1 <i>Moscas de la Fruta</i>	5
2.2 <i>Anastrepha ludens</i>	6
2.3 <i>Estrategias de control de Moscas de la Fruta</i>	9
2.4 <i>Generalidades del control biológico</i>	9
2.5 <i>Uso de parasitoides para el control biológico de Moscas de la fruta</i>	12
2.6 <i>Eurytoma sivinskii</i>	14
2.7 <i>Coptera haywardi</i>	16
2.8 <i>Acondicionamiento</i>	17
3. Pregunta de investigación	20
4. Justificación	21
5. Objetivos	23
5.1 <i>Objetivo general:</i>	23
5.2 <i>Objetivos específicos:</i>	23
6. Metodología	24
6.1 <i>Lugar de estudio</i>	24
6.2 <i>Insectos estudiados</i>	24
6.3 <i>Preparación del suelo</i>	25
6.4 <i>Medición de la humedad del suelo</i>	26
6.5 <i>Exposición de los parasitoides a pupas de A. ludens</i>	26
6.6 <i>Exposición de las pupas a los parasitoides acondicionados y no acondicionados para oviposición</i>	27
6.7 <i>Determinación del número de parasitoides emergidos</i>	28
6.8 <i>Análisis estadísticos.</i>	29
7. Resultados	30

7.1	<i>Análisis del suelo</i>	30
7.2	<i>Evaluación de la eficiencia de parasitoidismo de parasitoides Eurytoma sivinskii acondicionados y no acondicionados</i>	30
7.3	<i>Evaluación de la eficiencia de parasitoides Coptera haywardi acondicionados y no acondicionados</i>	34
8.	Discusión	39
8.1	<i>Acondicionamiento y no acondicionamiento</i>	42
8.2	<i>Efecto de la profundidad en el efecto de parasitoidismo</i>	42
8.3	<i>Proporción de emergencia de parasitoides hembras</i>	44
9.	Conclusiones	45
10.	Recomendaciones	46
11.	Bibliografía	47

Índice de figuras

Figura 1: Macho y hembra de <i>Anastrepha ludens</i> (vista dorsal).....	7
Figura 2: Etapas de desarrollo de <i>A. ludens</i> . Hembra adulta (a), huevo (b), larva de tercer estadio (c) y pupa (d).	8
Figura 3: Hembra y macho de <i>Eurytoma sivinskii</i> (vista dorsal).	14
Figura 4: Hembra y macho de <i>Coptera haywardi</i> (vista dorsal).....	17
Figura 5: Zonas de distribución de <i>A. ludens</i> en México (tomado de UASLP, 2010).	22
Figura 6: a) Jaulas Plexiglas recubiertas con plástico transparente y conteniendo los recipientes para exposición de volátiles y alimento, b) disposición de alimento para los parasitoides.....	25
Figura 7: a) Cámaras de crecimiento usadas para los ensayos de pre-acondicionamiento y eficiencia de parasitoidismo, b) jaulas usadas para el ensayo de exposición a olores, c) recipiente implementado para depositar las pupas y realizar la exposición de olores	27
Figura 8: Recipientes de plástico de 1 L dentro de las cámaras de crecimiento usados para la exposición de las pupas colocadas a diferentes profundidades.	28
Figura 9: a) Recipientes de 1 L con las pupas dispuestas a 0 cm, b) recipiente de 1 L con la profundidad establecida y alimento dispuesto ad libitum durante la exposición a los parasitoides, c) parasitoides emergiendo de las pupas 22-30 días después de la exposición.	29
Figura 10: Proporción de parasitoidismo de <i>Eurytoma sivinskii</i> a) acondicionados y b) no acondicionados en pupas a diferentes profundidades.	31
Figura 11: Emergencia de <i>E. sivinskii</i> en función de la profundidad de enterramiento de su hospedero y el tratamiento de acondicionamiento.	33
Figura 12: Proporción sexual de parasitoides emergidos en función del acondicionamiento de <i>E. sivinskii</i>	34
Figura 13: Proporción de parasitoidismo de parasitoides <i>C. haywardi</i> a) acondicionados y b) no acondicionados en pupas enterradas a diferentes profundidades (0, 1 y 3 cm).	35
Figura 14: Proporción de parasitoidismo de <i>C. haywardi</i> en función del acondicionamiento y la profundidad.	37

Figura 15: *Proporción sexual de parasitoides emergidos en función de la profundidad (0, 1, 3 cm) y el acondicionamiento en C. haywardi.....38*

Índice de cuadros

Cuadro 1: Clasificación taxonómica de <i>Anastrepha ludens</i>	7
Cuadro 2: Clasificación taxonómica de <i>Eurytoma sivinskii</i>	15
Cuadro 3: Clasificación taxonómica de <i>Coptera haywardi</i>	17
Cuadro 4: Resultados del análisis del suelo usado en el experimento.	30
Cuadro 5: Salida del software estadístico R con el modelo ajustado a los datos de parasitoidismo por <i>E. sivinskii</i> en pupas de <i>A. ludens</i> en función de tratamiento de acondicionamiento (Acondicionado y no acondicionado), la profundidad de exposición de las pupas (0, 1 y 3 cm de profundidad) y sus interacciones.	32
Cuadro 6: Salida del software estadístico R con el modelo ajustado a los datos de parasitoidismo por <i>E. sivinskii</i> en pupas de <i>A. ludens</i> en función de tratamiento de acondicionamiento (Acondicionado y no acondicionado), la profundidad de exposición de las pupas (0, 1 y 3 cm de profundidad) y sus interacciones.	33
Cuadro 7: Salida del software estadístico R con el modelo ajustado a los datos de parasitoidismo por <i>C. haywardi</i> en pupas de <i>A. ludens</i> en función del tratamiento de acondicionamiento (acondicionado y no-acondicionado), la profundidad de exposición de las pupas (0, 1 y 3 cm de profundidad) y sus interacciones.	36
Cuadro 8: Salida del software estadístico R con el modelo ajustado a los datos de parasitoidismo por <i>C. haywardi</i> en pupas de <i>A. ludens</i> en función del tratamiento de acondicionamiento (acondicionado y no-acondicionado), la profundidad de exposición de las pupas (0, 1 y 3 cm de profundidad) y sus interacciones.	38

Resumen

La Mosca Mexicana de la Fruta, *Anastrepha ludens*, es una especie plaga de importancia económica principalmente en México, pero también en el sur de EUA y diversos países en Centroamérica. *Anastrepha ludens* ataca diversos frutales con valor comercial, principalmente al mango y varias especies de cítricos. El control biológico con avispas parasitoides es una técnica de manejo biorracional efectiva para controlar poblaciones de Moscas de la Fruta plaga. El acondicionamiento de parasitoides previo a su liberación ha demostrado ser una buena técnica para mejorar el parasitoidismo en campo. Esta tesis se enfocó en la exposición de los parasitoides *Coptera haywardi* y *Eurytoma sivinskii* a olores de pupas de *A. ludens* con el fin de examinar experimentalmente si el acondicionamiento a estos olores podría aumentar su habilidad de parasitoidismo. La exposición a los olores se realizó con pupas de *A. ludens* que se encontraban en recipientes cubiertos con tapas de malla para evitar que los parasitoides tuvieran contacto físico con las pupas, pero permitiendo que cualquier olor de las pupas saliera de los recipientes y estuviera en contacto con los parasitoides. Los parasitoides se acondicionaron a los olores de pupas de *A. ludens* por 4 días. Después se evaluó el parasitoidismo en pupas de *A. ludens* colocadas sobre la superficie de suelo tipo arcilla o enterradas a profundidades de 1 o 3 cm. Se encontró que las pupas colocadas en la superficie del suelo (0 cm) fueron más parasitadas en comparación con las pupas enterradas a 1 y 3 cm. Entre ambas especies de parasitoides, *C. haywardi* presentó el mayor porcentaje de parasitoidismo y fue la única especie que atacó pupas enterradas (1 y 3 cm). El acondicionamiento de los parasitoides *C. haywardi* y *E. sivinskii* a los olores de pupas de *A. ludens*, no mejoró su capacidad de parasitoidismo.

Palabras clave: *Anastrepha ludens*, Moscas de la Fruta, Diptera: Tephritidae, *Coptera haywardi*, *Eurytoma sivinskii*, acondicionamiento, parasitoidismo, volátiles, parasitoides

Abstract

The Mexican Fruit Fly, *Anastrepha ludens*, is an important pest in Mexico, southern USA and several Central American countries. This pest oviposits directly in the fruit of several plant species of economic importance including mango and various species of citrus. Due to the high economic impact in the fruit growing industry, it is necessary to implement different biorational management techniques to control this pest with the minimum amount of side effects in the environment. Parasitoid insect conditioning has proven to be a good technique to improve parasitism in different species. Therefore, this experiment focused on the effects of the potential exposure of the pupal parasitoids *Coptera haywardi* and *Eurytoma sivinskii* to pupal odors of *A. ludens*, in their parasitism ability. Conditioning treatment was carried out by exposing the parasitoids to pupae of *A. ludens* that were in containers covered with mesh lids to prevent them from ovipositing, but at the same time, allowing any pupae smell to volatilize and make contact with parasitoids. Pupae of *A. ludens* were deposited in soil at three different depths (0, 1, 3 cm) next to the previously conditioned or unconditioned parasitoids. Pupae placed on the surface of the soil (0 cm) were found to be more parasitized compared to pupae buried at 1 and 3 cm. Among both parasitoid species tested, *C. haywardi* had the highest degree of parasitism and was the only species that attacked buried pupae (1 - 3 cm). The conditioning treatment to potential odors of *A. ludens*, did not improved percentage of parasitism of *C. haywardi* and *E. sivinskii*.

Keywords: *Anastrepha ludens*, Fruit Flies, Diptera: Tephritidae, *Coptera haywardi*, *Eurytoma sivinskii*, Conditioning, parasitoidism, volatile, parasitoids.

1. Introducción

Las Moscas de la Fruta (Diptera: Tephritidae) son una de las principales plagas en la agricultura a nivel mundial (Aluja, 1994; Malavasi, 2009), causando daño directo al fruto y generando costos monetarios importantes por restricciones en la venta y exportación (Carvalho *et al.*, 2000). En los tefrítidos, el género *Anastrepha*, nativo de América, tiene un gran impacto económico en la agricultura (Aluja, 1994). La Mosca Mexicana de la Fruta, *Anastrepha ludens* (Loew, 1873), es una de las especies plaga más importantes que afectan los frutales en México, principalmente a los cítricos y el mango (Aluja, 1993).

El control de esta especie plaga se basa principalmente en la aplicación de pesticidas químicos que resultan riesgosos, ya que pueden generar resistencia en las plagas; además, el uso continuo de estos químicos tiene implicaciones en la salud humana y en el ambiente, así como restricciones de seguridad para la exportación de frutos (Lasa *et al.*, 2014). Además del control químico, otros métodos usados para el control de esta plaga son: control físico, control mecánico, control biológico, regulaciones de control (leyes emitidas por el gobierno para evitar la introducción de plagas o enfermedades), entre otros (Jiménez, 2009).

El control biológico con insectos es una técnica de manejo biorracional que tiene muchas ventajas en comparación con los pesticidas. Por ejemplo, los insectos usados como agentes de biocontrol suelen ser específicos en el rango de presas que atacan y la probabilidad de que un insecto blanco genere resistencia al agente de biocontrol es muy baja (Bale *et al.*, 2008). Además, en muchos casos, el control puede perpetuarse a sí mismo por amplios periodos una vez que el agente de biocontrol se ha establecido (Bale *et al.*, 2008). Aunque los costos iniciales de aplicar un programa de control biológico suelen ser elevados, los beneficios que un programa de este tipo genera es mucho mayor que si se implementaran

pesticidas (Bale *et al.*, 2008), y por supuesto, es una alternativa de control de plagas más amigable con el ambiente.

El control biológico se ha abordado con la introducción de enemigos naturales para controlar plagas exóticas, pero no se suele aprovechar el potencial adaptativo de estos (Van Lenteren, 2000a). Existen algunos géneros de parasitoides de Moscas de la Fruta, como *Coptera* y *Eurytoma*, que resultan de interés debido a su capacidad de forrajeo y su porcentaje y tipo de parasitoidismo (Sivinski *et al.*, 1998; Mena-Correa *et al.* 2010).

Coptera es un género de parasitoides que se encuentra en la zona neotropical y que suele parasitar a diversas familias de dípteros, entre ellas las Moscas de la Fruta (Tephritidae) (Muesebeck, 1980). Varios estudios han evidenciado que *Coptera haywardi* (Ogloblin) se puede desarrollar en *A. ludens*, *A. suspensa*, *A. curvicauda* y *Ceratitis capitata* (Wiedeman, 1824) (Sivinski *et al.*, 1998). El rango de hospederos de *C. haywardi* es limitado debido a que es un endoparasitoide de pupas y no suele atacar familias de otros dípteros como Drosophilidae, Muscidae, Tachinidae y Calliphoridae, por lo que se le considera ideal para la implementación como control biológico de Moscas de la Fruta plaga (Sivinski *et al.*, 1998).

Por otra parte, el género *Eurytoma* parasita a las familias Cynipidae y Diptera entre otras (Gibson, 1997). *Eurytoma sivinskii* Gates and Grissell es un ectoparasitoide de pupas que no ataca hospederos que se encuentran dentro de las estructuras de las plantas, sino que suele forrajear dentro o en la superficie del suelo para encontrar a su hospedero (Mena-Correa, 2005). Este parasitoide se descubrió atacando pupas de la Mosca del Mango, *A. obliqua* (Gates y Grissell, 2004), pero se sabe que ataca otras especies como *A. ludens*, *A. serpentina* (Wiedemann), *Musca domestica* (Linnaeus, 1758), y aunque en condiciones de laboratorio puede llegar a parasitar larvas, el éxito de parasitoidismo es muy bajo (Mena-

Correa *et al.*, 2010). Por su diversidad de hospederos se le considera como un parasitoide generalista (Mena-Correa *et al.*, 2010).

Los parasitoides utilizan diversos estímulos químicos que actúan como señales que les permiten localizar a sus hospederos, estos pueden ser los volátiles emitidos por las plantas atacadas, los desechos/secreciones producidos por los insectos hospederos, entre otros (Coaker y Cheach, 1993). Relacionado con lo anterior, en esta tesis el acondicionamiento se define como una técnica utilizada para generar una respuesta específica en los parasitoides aprovechando los procesos de búsqueda de estos, y se realiza con el fin de inducir una atracción a sus hospederos para lograr mejorar la capacidad de búsqueda, localización, o para mejorar las capacidades reproductivas de los parasitoides (Coaker y Cheach, 1993). Para poder llevar a cabo esta técnica es necesario lograr que los parasitoides identifiquen determinado olor (compuesto volátil) con un estímulo positivo (reproductivo o alimenticio) (Coaker y Cheach, 1993).

La técnica de acondicionamiento se ha llevado a cabo en estudios con el fin de mejorar la habilidad reproductiva de los parasitoides, como en el estudio realizado por Villagra *et al.* (2008) donde se expusieron parasitoides recién emergidos de *Aphidius ervi* a volátiles de plantas hospederas mientras realizaban su primera copula, para lograr que relacionaran el olor del volátil con una recompensa reproductiva. El resultado de este experimento fue medido a través de olfatometría, donde se observó que los individuos expuestos a los volátiles presentaron una mayor respuesta a estos estímulos (Villagra *et al.*, 2008).

Por todo lo anterior, y dada la creciente necesidad de implementar y optimizar soluciones biorracionales para el control de Moscas de la Fruta a través del uso de parasitoides, resulta interesante investigar si es posible acondicionar a los parasitoides *C.*

haywardi y *E. sivinskii* al olor de pupas de *A. ludens* con el fin de mejorar su eficiencia de parasitoidismo.

2. Marco de referencia

2.1 Moscas de la Fruta.

Existen más de cien familias del orden Diptera, y de ellas, la familia de mayor importancia económica es la familia Tephritidae, comúnmente llamadas Moscas de la Fruta (Christenson *et al.*, 1959). Con alrededor de 5000 especies distribuidas en zonas tropicales y subtropicales, las Moscas de la Fruta son bastante conocidas debido a su fuerte impacto económico en la fruticultura (Christenson *et al.*, 1959; Liquido *et al.*, 2019). Esta familia impacta negativamente la fruticultura debido a que el agusanamiento de los frutos produce limitantes para la exportación de las especies frutales que suelen atacar (Katiyar *et al.* 1995; Núñez-Bueno 1989; Muñoz y Marix, 2009). Destacan por su importancia económica los géneros *Bactrocera*, *Ceratitis*, *Anastrepha*, *Rhagoletis*, y *Dacus* (Gómez, 2005; Núñez-Bueno, 1989; Hernández, 1992).

La morfología de las Moscas de la Fruta es variable de acuerdo con la especie. En general, el tamaño de los insectos adultos puede variar entre 1 a 20 mm de longitud, las alas de la mayoría de las especies presentan franjas o manchas amarillas, marrones, negras, o una combinación de ambas en posiciones características; con manchas claras o hialinas sobre un color más oscuro (Christenson *et al.*, 1959; Vargas *et al.*, 2008).

Son insectos holometábolos, es decir, su ciclo de vida presenta una metamorfosis completa, pasando por cuatro etapas de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto (Gómez, 2005). El ciclo biológico inicia en el momento en que las moscas adultas ponen sus huevos directamente en los frutos, ahí los huevos eclosionan y las larvas se alimentan de la pulpa o semillas hasta completar el tercer estadio larval (Núñez-Bueno, 1989). En general, este proceso coincide con la caída del fruto al suelo, las larvas entonces salen del fruto para

enterrarse en el suelo a pupar (McPhail y Bliss, 1933). Posteriormente, los adultos emergerán aprovechando las grietas o hendiduras del suelo, especialmente si el suelo es duro y compacto (McPhail y Bliss, 1933; Aluja *et al.*, 2005).

Se sabe que algunas especies de Moscas de la Fruta como *A. ludens*, los adultos pueden emerger de frutas enterradas a una profundidad de hasta 15 cm de la superficie (McPhail y Bliss, 1933; Aluja *et al.*, 2005). Sin embargo, en condiciones normales requieren emerger de profundidades menores de 2 a 5 centímetros (Kaspi *et al.*, 2002). Una vez que los adultos han emergido, tardan alrededor de una a dos semanas en madurar sexualmente, se aparean y el ciclo vuelve a comenzar (Christenson *et al.*, 1960; Kaspi *et al.*, 2002).

2.2 Anastrepha ludens.

El género *Anastrepha* es uno de los más diversos dentro de los tefrítidos nativos de América, y se estima que comprende cerca de 216 especies válidas clasificadas en 18 grupos de especies (Hernández, 2008). En México se han reportado 37 especies de *Anastrepha*, de las cuales cinco son de mayor importancia económica: *A. ludens*, *A. obliqua* (Macquart), *A. striata* (Schiner), *A. serpentina* (Wiedemann) y *A. fraterculus* (Wiedemann) (Hernández, 2008).

Anastrepha ludens o la Mosca Mexicana de la Fruta (Diptera: Tephritidae) (Figura 1, Cuadro 1) es nativa de México y se distribuye desde el sur de Texas pasando por América Central hasta Costa Rica (Jirón y Soto, 1987; Weems *et al.*, 2001).



Fig. 1: Macho (izquierda) y hembra (derecha) de *A. ludens* (vista dorsal). Fotografía tomada por Erick Enciso, 2019 (Derechos de Autor de la Red de Manejo Biorracional de Plagas y Vectores, INECOL, por lo que las fotografías no deben ser reproducidas sin autorización explícita).

Cuadro 1: Clasificación taxonómica *A. ludens* (Agrocalidad, 2013).

Reino: Animal
Filo: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Díptera
Familia: Tephritidae
Género: <i>Anastrepha</i>
Especie: <i>Anastrepha ludens</i> Loew

Anastrepha ludens es considerada polífaga, ya que ataca a hospederos de diferentes familias de plantas, entre ellos destacan los cítricos (naranja y toronja) y el mango por su importancia comercial; dentro de los hospederos silvestres se encuentran el zapote blanco (*Casimiroa edulis* [Sapindales: Rutaceae]) y el chapote amarillo (*Casimiroa greggii* [Sapindales: Rutaceae]), también se ha reportado infestando duraznos (*Prunus persica* [Rosales: Rosaceae]), granada (*Punica granatum* [Myrtales: Lythraceae]), pera (*Pyrus*

communis [Rosales: Rosaceae]), chile manzano (*Capsicum pubescens* [Solanales: Solanaceae]), entre otros (Norrbom y Foote, 1989; Gallardo, 2010).

Las hembras ponen sus huevos en los frutos hospederos, ya sea atravesando la cáscara del fruto o a través de grietas (Baker *et al.*, 1944). En al menos tres días, los huevos eclosionan y las larvas continúan su desarrollo dentro del fruto (Baker *et al.*, 1944). La larva de *A. ludens* mide entre 9-11 mm de longitud y 1.5 mm de diámetro, tiene ganchos bucales con ocho áreas fusiformes (Weems *et al.*, 2001). Las pupas miden 5.5-7.5 mm de longitud y 2-3.25 mm de diámetro y son de coloración rojo-marrón pálido (Greene, 1929). La larva se desarrolla en alrededor de 9 - 11 días y la pupa de 14 - 16 días (Celedonio *et al.*, 1988; Figura 2).

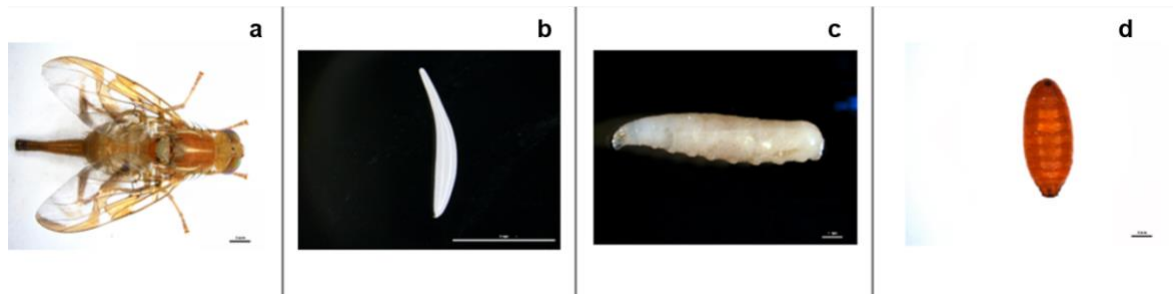


Fig. 2: Etapas de desarrollo de *A. ludens*. Hembra adulta (a), huevo (b), larva de tercer estadio (c) y pupa (d). Fotografías tomadas por Erick Enciso (2019). (Derechos de Autor de la Red de Manejo Biorracional de Plagas y Vectores, INECOL, por lo que las fotografías no deben ser reproducidas sin autorización explícita).

La transición entre las etapas de desarrollo puede afectarse por diversos factores, pudiendo extenderse hasta 15 días aproximadamente la eclosión de los huevos, hasta 35 días el desarrollo larvario y hasta más de 100 días la etapa de pupa (Gallardo, 2010). Pero, si las condiciones son controladas entre 23.8-26.6 °C, el huevo eclosionará entre 3.5 a 4.5 días, período larval será durante 10 a 12 días y el de pupa de 16 a 19 días (Gallardo, 2010). El adulto puede vivir más de un año dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentre (Gallardo, 2010).

2.3 Estrategias de control de Moscas de la Fruta.

Las Moscas de la Fruta generan daños a los frutos al ovipositar en ellos y agusanarlos (Gómez, 2005). Diversas estrategias de control de Moscas de la Fruta incluyen la supresión (reducción de la población), contención (prevención de la difusión), erradicación (eliminación de una población) y exclusión (prevención de la introducción) (IPPC, 2005). Uno de los mecanismos de control más efectivos contra las Moscas de la Fruta plaga es la Técnica de Insecto Estéril (TIE) (Sequeira *et al.*, 2001). La TIE es usada para mantener zonas libres de la plaga en México, Texas y California, realizando liberación de moscas estériles; sin embargo, se requiere de una fuerte inversión económica para la producción masiva de los insectos (Sequeira *et al.*, 2001). Adicionalmente se aplican tratamientos postcosecha como el tratamiento en frío que consiste en enfriar el fruto a 0.5-1.5 °C durante 18-22 días, o la exposición con vapor caliente a 43 °C durante 4-6 h (Sequeira *et al.*, 2001).

El control biológico es una estrategia de efectiva y amigable con el ambiente para el control de Moscas de la Fruta plaga, sobre la cual se hablará con detalle en la próxima sección.

2.4 Generalidades del control biológico.

Se denomina control biológico al uso de enemigos naturales para controlar las poblaciones de insectos plaga (Stern *et al.*, 1959; Greathead, 1983). En el control biológico se explota el “control natural” para reducir el número de especies plaga, por ejemplo, en las relaciones interespecíficas donde algunos organismos son consumidos por otros, reduciendo las poblaciones de la especie presa (Greathead, 1983). En general, el control biológico no erradica las plagas, si no que las mantiene a bajas densidades durante largos períodos, por

ejemplo, mediante liberaciones repetidas de los enemigos naturales (Stern *et al.*, 1959; Greathead, 1983).

La técnica de control biológico por aumento es una estrategia donde se libera un gran número de enemigos naturales de la plaga cuando la planta hospedera es más vulnerable, de esta manera la plaga es suprimida a corto plazo (Sivinski *et al.*, 1996; Greathead y Waage, 1983). Para lograr el objetivo de esta técnica (i.e., el control biológico) es necesario lograr la crianza y el sostenimiento artificial de las poblaciones de parasitoides y que los parasitoides sean competitivos en el campo (Montoya *et al.*, 2000; Phillips *et al.*, 2008).

El control biológico es considerado el mejor supresor de especies plaga a largo plazo; en todo el mundo se cuentan más de 80 especies de insectos plaga satisfactoriamente controlados comparado con otros tipos de control como el uso de plantas resistentes a plagas, la autoesterilización, el uso de feromonas, antialimentantes y/o antimetabolitos (inhiben o compiten contra un metabolito específico dentro del organismo plaga y así reducen su número) (Van Den Bosch, 1971; Akov *et al.*, 1963; Orr, 2009).

Para la implementación del control biológico clásico se requiere identificar el hábitat nativo de la plaga, obtener enemigos adaptados y trasladarlos al área afectada, esperando que prosperen y eliminen a los organismos plaga (Van Den Bosch, 1968). En ocasiones, los controladores de plagas no nativos usados para el control de plagas nativas tienen pocas posibilidades al competir efectivamente contra sus homólogos nativos (Van Den Bosch, 1968).

Los casos más exitosos del control biológico permanente de plagas incluyen a la polilla de invierno (*Opherophthera brumata*, Lepidoptera: Geometridae) en Canadá (Embree, 1966); la chinche verde del sur (*Nezara viridula*, Hemiptera: Pentatomidae) en Hawái

(Davis, 1967, 1984); la cochinilla del olivo (*Parlatoria oleae*, Hemiptera: Diaspididae) en California (Huffaker y Kennett, 1966); el pulgón de la nuez (*Chromaphis juglandicola*, Hemiptera: Aphididae) en California (Van Den Bosch, 1970), la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*, Hemiptera: Aleyrodidae), la araña roja (*Tetranychus urticae*, Prostigmata: Tetranychidae), y el minador del tomate (*Liriomyza bryoniae*, *Liriomyza huidobrensis*, *Liriomyza trifolii*; Diptera: Agromyzidae) en el norte de Europa (Van Lenteren, 2000b).

El control de plagas por control biológico presenta diversas ventajas: no presenta efectos nocivos a otros organismos circundantes, es efectivo por períodos prolongados, suele ser permanente, reduce el uso de insecticidas, su relación costo-beneficio es favorable, no presenta riesgos de intoxicación del humano u otros organismos benéficos, y las plagas no suelen generar resistencia a este tipo de control (Hajek, 2004; Guédez, 2008).

La liberación de diferentes especies de enemigos naturales para una misma plaga puede crear competencia interespecífica y reducir la eficiencia de control, por ejemplo en el control de las larvas de la polilla del pino (*Rhyacionia buoliana*, Lepidoptera: Tortricidae) parasitadas por *Temelucha interruptor* (Hymenoptera: Ichneumonidae) y *Orgilus obscurator* (Hymenoptera: Braconidae) (Arthur *et al.*, 1964; Turnbull, 1967); o el caso del control de la mariposa pasionaria moteada (*Agraulis vanillae*, Lepidoptera: Nymphalidae), la cual es parasitada por *Cotesia melitaeorum* (Hymenoptera: Braconidae) y *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae) (Van Nouhuys y Hanski, 2000), entre otros. Por lo que, si un agente de control biológico proporciona un control sobresaliente sobre la plaga, no es necesario implementar otras opciones de biocontrol, ya que podría resultar en una pérdida de dinero y esfuerzo (Tooke, 1953; Gerling *et al.*, 2001).

Se estima que el 15% de los insectos son parasíticos, lo que indicaría que en el mundo existen alrededor de 15 millones de especies potenciales para el control biológico de

plagas (Askew, 1971). En los programas de control biológico, cerca de dos tercios de los enemigos implementados han sido parasitoides, y de estos la mayoría pertenecen al orden Hymenoptera y Diptera, siendo las familias más usadas, Braconidae e Ichneumonidae, pero falta conocer el potencial de muchas otras familias (Anton, 2005).

2.5 Uso de parasitoides para el control biológico de Moscas de la Fruta.

Los parasitoides pueden atacar huevos, larvas o pupas de Moscas de la Fruta y de acuerdo con su sitio de alimentación en el hospedero, se clasifican como: ectoparasitoides, si ponen el huevo en la parte más externa del hospedero y las larvas se alimentan desde afuera y, endoparasitoides, si el huevo es puesto dentro del individuo y las larvas se alimentan en el interior del hospedero (Nicholls, 2008). Por el número de parasitoides que emergen por hospedero parasitado, se clasifican en: solitarios (un individuo por hospedero) o gregarios (dos o más individuos por hospedero) (Nicholls, 2008). Según el tipo de insecto hospedero, son primarios los que atacan a insectos no parasitados, o secundarios si atacan a los insectos previamente parasitados por un parasitoide primario (Nicholls, 2008). Según la cantidad de hospederos que tienen son monófagos (un hospedero), oligófagos (un número pequeño de especies hospederas) como el parasitoide *C. haywardi* y, polífagos (una gran cantidad de especies hospederas) por ejemplo, *E. sivinskii* (Nicholls, 2008).

En Moscas de la Fruta, el control mediante parasitoides es ampliamente utilizado, ya que tienen una fuerte influencia en la regulación de las poblaciones de tefrítidos (Aluja *et al.* 2012). Diversos estudios han mostrado la eficiencia del uso de parasitoides en el control de Moscas de la Fruta, como *C. capitata*, *Bactrocera latifrons* y *B. papayae* en distintos lugares evaluados (Purcell, 1998; Vargas *et al.*, 2008, 2009).

Para la reducción de las poblaciones de Moscas de la Fruta se han identificado enemigos naturales de las familias Braconidae y Figitidae (Daza y Nelson, 2000), y entre los géneros más relevantes se encuentran *Opius*, *Utetes*, *Doryctobracon*, *Aganaspis*, *Biosteres*, y *Diachasmimorpha* (Wharton, 1997). El control biológico con parasitoides resulta de gran utilidad para mitigar el daño producido por *A. ludens*. Los parasitoides ovipositan en las distintas etapas de desarrollo de la Mosca (huevo, larva o pupa) consumiendo el cuerpo de su hospedero (Sánchez *et al.*, 2014; Pimentel, 1963).

Entre las especies de parasitoides más ampliamente usados para el control de Moscas de la Fruta destaca *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) (Ovruski *et al.*, 2011). Este es un parasitoide de larvas de Moscas de la Fruta que ha sido ampliamente usado en programas de control biológico debido a su facilidad para criarlo, su adaptabilidad, su alta especificidad de sólo parasitar tefrítidos y sus altos índices de éxito en el parasitoidismo (Ovruski *et al.*, 2011; López *et al.*, 1999; Stuhl *et al.*, 2011). Otros parasitoides registrados atacando al género *Anastrepha* incluyen: *Doryctobracon areolatus* (Hymenoptera: Braconidae), *Doryctobracon crawfordi* (Hymenoptera: Braconidae), *Aganaspis pelleranoi* (Hymenoptera: Figitidae) y *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae) (Van Lenteren, 1997; Sánchez *et al.*, 2014).

Un parasitoide de pupas con buena capacidad como controlador biológico, pero con la desventaja de tener un amplio rango de hospederos y parasitar insectos benéficos es *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae). Este parasitoide ha sido liberado junto con individuos estériles de *Ceratitis capitata* (Guillén *et al.*, 2002).

En este estudio se utilizaron como modelo de estudio a los parasitoides *E. sivinskii* y *C. haywardi* que se describen a continuación.

2.6 *Eurytoma sivinskii*.

El género *Eurytoma* es muy diverso en cuanto al número de especies utilizadas como hospederos, lo conforman alrededor de 700 especies en el mundo, 204 de ellas se han reportado en América y 84 en la región neotropical (Noyes, 2003). Tres especies del género *Eurytoma* atacan tefrítidos (Gates y Grissell, 2004). Estas especies suelen poner sus huevos en pupas que se encuentran en el suelo o en las flores de plantas de la familia Asteraceae (Bugbee, 1975; Goeden, 2001).

Eurytoma sivinskii (Figura 3; Cuadro 2) es una especie ectoparasitaria que suele parasitar cinípidos (Hymenoptera: Cynipidae) y dípteros (Tephritidae y Cecidomyiidae) (Diguilio, 1997; Mena-Correa *et al.*, 2008). Esta especie se reportó por primera vez en pupas de *A. obliqua* en Tejería, Veracruz, México, y es un buen candidato para el control biológico, ya que presenta un comportamiento de forrajeo interesante que consiste en la búsqueda del hospedero que se encuentra oculto dentro del sustrato (Mena-Correa *et al.* 2005, 2010).



Fig. 3: Hembra (izquierda) y macho (derecha) de *E. sivinskii* (vista dorsal). Fotografías tomadas por Erick Enciso (2019). (Derechos de Autor de la Red de Manejo Biorracional de Plagas y Vectores, INECOL, por lo que las fotografías no deben ser reproducidas sin autorización explícita).

Las hembras de *E. sivinskii* depositan sus huevos en la región media y posterior del hospedero, la emergencia de adultos se da en mayor medida en el centro de la pupa hospedera (Mena-Correa *et al.* 2008). Su ciclo de vida (de huevo a adulto) es completado en 23 ± 2 días a una temperatura de 27 ± 2 °C. El tiempo estimado para que las larvas eclosionen es de 4 días. El estado de larva dura entre 9 y 18 días. Los parasitoides machos emergen al día 20 después de la oviposición, mientras que las hembras empiezan a emerger a partir del día 23 (Mena-Correa *et al.*, 2008).

Las hembras pueden superparasitar en condiciones de laboratorio, depositando hasta ocho huevos por hospedero y, aunque pueden parasitar pupas y larvas, los índices de parasitoidismo en larvas son significativamente inferiores a los presentados en pupas (Mena-Correa *et al.*, 2008).

Cuadro 2: Clasificación taxonómica de *E. sivinskii*.

Reino: Animal
Filo: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Hymenoptera
Familia: Eurytomidae
Subfamilia: Eurytominae
Género: <i>Eurytoma</i>
Especie: <i>Eurytoma sivinskii</i>

El uso de *E. sivinskii* en el control biológico puede presentar las siguientes limitantes: es un parasitoide generalista y atacan familias diferentes a las de los tefrítidos, tiene capacidad de hiperparasitar logrando depositar hasta ocho huevos por pupa, pero puede retrasar la emergencia del individuo adulto, y aunque presenta un comportamiento de

búsqueda de hospederos interesante, presentan una baja capacidad de forrajeo en hospederos enterrados (Mena-Correa *et al.* 2008, 2010).

2.7 Coptera haywardi.

Coptera haywardi es una especie endoparasitaria de pupas de la familia Tephritidae (Figura 4; Cuadro 3), su distribución es mundial y es considerado como una alternativa para el uso en programas de control biológico contra Moscas de la Fruta, debido a que presenta ventajas importantes como su especificidad para escoger hospederos (solo parasita tefrítidos) y su habilidad para buscar hospederos (Menezes *et al.*, 2003; Sivinski *et al.*, 1998). Su capacidad de discriminación del hospedero le permite identificar hospederos previamente parasitados por organismos de su misma especie o de otras especies (Menezes *et al.*, 2003; Sivinski *et al.*, 1998), y con su excelente habilidad de forrajeo logra parasitar individuos que están a 5 cm de la superficie del sustrato (Guillén *et al.*, 2002).

El hiperparasitoidismo ha sido un problema altamente discutido cuando se consideran liberaciones múltiples, evitando el uso de parasitoides de pupa junto a otros de larva, ya que puede eliminar todos los esfuerzos realizados por los parasitoides larvales (Frago, 2016). Sin embargo, *C. haywardi* presenta un nivel de hiperparasitoidismo bajo, por lo que es un buen candidato para realizar liberaciones masivas junto a otros parasitoides larvales (Cancino *et al.*, 2014).



Fig. 4: Hembra (izquierda) y macho (derecha) de *C. haywardii* (vista dorsal). Fotografía tomada por Erick Enciso Fotografía tomada por Erick Enciso, 2019. (Derechos de Autor de la Red de Manejo Biorracional de Plagas y Vectores, INECOL, por lo que las fotografías no deben ser reproducidas sin autorización explícita).

Se sabe que *C. haywardii* presenta un alto potencial para ser utilizado junto con otras especies de parasitoides para el control de Moscas de la Fruta (Aluja et al. 2009; Cancino et al., 2014; Galves y Montoya, 2018).

Cuadro 3: Clasificación taxonómica de *C. haywardii*.

Reino: Animal
Filo: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Hymenoptera
Familia: Diapriidae
Subfamilia: Diapriinae
Género: <i>Coptera</i>
Especie: <i>Coptera haywardii</i>

2.8 Acondicionamiento.

El acondicionamiento de parasitoides es un método que busca aumentar la eficiencia del parasitoidismo mediante la exposición a los compuestos volátiles provenientes de los insectos hospederos del parasitoide o de las plantas hospederas del insecto herbívoro (De Bruijin *et al.*, 2018). Las avispas parasitoides son modelos ideales para realizar estudios de

acondicionamiento, debido a su tamaño, flexibilidad en el comportamiento, diversidad ecológica, entre otros (De Bruijin *et al.*, 2018). Los ensayos de acondicionamiento se suelen enfocar en parámetros de aprendizaje, formación de memoria y la evaluación del comportamiento (De Bruijin *et al.*, 2018). Los insectos usan ampliamente su sistema olfativo para lograr sobrevivir en su entorno y muestran distintos comportamientos como el forrajeo, la localización de parejas, hospederos y depredadores, dependiendo de la información química captada (Sivinski y Calkins, 1986).

Insectos como polillas, abejas y avispas pueden asociar olores con alimentos de interés que no están involucrados en su entorno natural y “aprenden” a detectar el olor en el futuro (Van Oudenhove *et al.*, 2017).

La eficacia del uso de parasitoides en el control biológico puede limitarse por diversos factores ambientales, además de la tendencia natural de los parasitoides a dispersarse una vez que son liberados (Wilson y Wily, 2011). Los olores producidos por los hospederos de insectos parasitoides son esenciales para la búsqueda y localización del hospedero, por lo que un aprendizaje previo a la liberación puede mejorar las condiciones de los parasitoides para ubicar hospederos en condiciones de campo (Wilson y Wily, 2011).

Los parasitoides localizan a sus hospederos mediante un mecanismo de tres fases principales: 1) búsqueda amplia del hospedero, 2) detección de una planta infestada por el hospedero, y, 3) localización del hospedero (Vinson, 1976). Aunque con algunas excepciones, en general los parasitoides se guían por las señales emitidas (olores) por las plantas infestadas o atacadas por herbívoros para localizar a sus hospederos y pueden usar un aprendizaje asociativo para diferenciar los volátiles más confiables (Vet *et al.*, 1984). El aprendizaje basado en olores para la localización del hospedero, es de vital importancia para el control biológico de plagas por medio del uso de parasitoides, por lo que varios grupos de

investigación se dedican a buscar esas señales químicas que puedan precondicionar a los parasitoides para facilitar la localización de su hospedero e incrementar el parasitoidismo (De Rijk *et al.*, 2018; Wilson y Willy, 2011). Por ejemplo, compuestos derivados del metil eugenol son altamente atractivos para cuatro especies de parasitoides, pero pueden llegar a reducir los niveles de parasitoidismo si las concentraciones son muy altas (Gu *et al.*, 2018).

El aprendizaje asociativo que poseen los organismos les permite asociar diferentes estímulos sensoriales con una recompensa (hospedero, alimento, reproducción, refugio, entre otros) (Kruidhof *et al.*, 2019). Por ejemplo, hembras del hiperparasitoide *Lysibia nana* (Hymenoptera: Ichneumonidae) pueden discriminar parcialmente entre orugas previamente parasitadas y no parasitadas, con base en la composición de los volátiles de plantas inducidos por herbívoros ya que éstos volátiles suelen variar su composición según el estado de la oruga, esto evidencia el importante rol que tienen los volátiles en la detección de hospederos para los parasitoides (Cusumano *et al.*, 2019).

Las hembras del parasitoide de Moscas de la Fruta, *Biosteres longicaudatus* (Hymenoptera: Braconidae), son fuertemente atraídas por el hongo *Monolinia fructicola* (Helotiales: Sclerotiniaceae) transmitido por las mismas moscas cuando infestan ciruelas, el hongo es atractivo al parasitoide incluso si es cultivado *in vitro* (Messing y Jang, 1992). Además, parasitoides hembras de *D. longicaudata* son atraídas por los olores producidos por frutos infestados (Greany *et al.*, 1977; Messing y Jang, 1992). Algunas especies de parasitoides como *Utetes canaliculatus* (Hymenoptera: Braconidae) pueden detectar feromonas marcadoras de hospederos en los frutos ovipositados por *Rhagoletis basiola* (Diptera: Tephritidae) que le permiten localizar a su hospedero (Roitberg y Lalonde, 1991).

La eficacia del parasitoidismo en este trabajo, sera evaluada mediante el numero de emergencias de parasitoides

3. Pregunta de investigación

¿Es posible acondicionar a los parasitoides *C. haywardi* y *E. sivinskii* con olores de pupas de *A. ludens* para mejorar su éxito de parasitoidismo?

4. Justificación

La fruticultura ha sido una importante impulsora del desarrollo en toda América, sin embargo, las Moscas de la Fruta son una de las principales plagas que se requiere controlar para producir frutos de calidad y tener acceso al mercado nacional e internacional (Aluja, 1994). En las regiones tropicales, las Moscas de la Fruta atacan un gran número de especies frutales y hortícolas y representa una de las principales limitantes en la exportación, debido a las medidas cuarentenarias que tratan de evitar la comercialización de frutas infestadas (Aluja, 1994).

En México, las Moscas de la Fruta son un problema de relevancia, ya que pueden ocasionar hasta un 25% de pérdidas en la cosecha (SAGARPA, 2015) concentrándose los daños en el Centro y sur de México (Figura 5; Loera-Gallardo, 2017).

El uso de parasitoides para el control de las poblaciones de Moscas de la Fruta plaga es una estrategia biorracional de alto interés que puede alcanzar mayor eficacia y aumentar los índices de parasitoidismo con el acondicionamiento previo de los parasitoides con olores del hospedero (Anton, 2005; Kruidhof *et al.*, 2019).

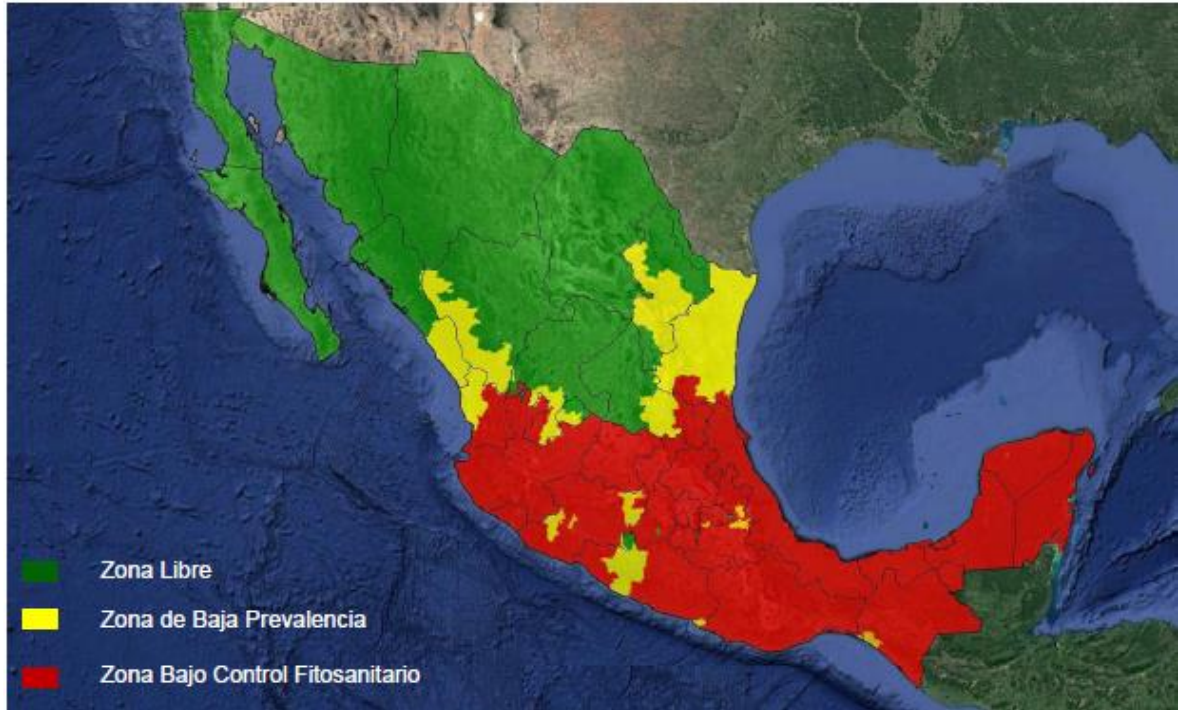


Fig. 5: Zonas de distribución de *A. ludens* en México (tomado de Loera-Gallardo, 2017).

Diferentes estudios han mostrado que el acondicionamiento previo de los parasitoides con compuestos producidos por los hospederos de los parasitoides tiene un efecto positivo en la búsqueda de parasitoides y en el éxito de parasitoidismo (Coaker y Cheah, 1993; Gu *et al.*, 2018; Kruidhof *et al.*, 2019). Por ejemplo, el parasitoide *D. longicaudata* acondicionado con volátiles de frutos infestados por Moscas de la Fruta mostró una mayor atracción a estos volátiles en ensayos posteriores (Greany *et al.*, 1977; Messing y Jang, 1992).

El trabajo de investigación con las especies de parasitoides *C. haywardi* y *E. sivinskii* permite el análisis comparativo del efecto del acondicionamiento en una especie generalista y una especialista en su actividad de parasitoidismo. El acondicionamiento podría mejorar la capacidad de parasitoidismo de estas especies de parasitoides, lo cual representaría una gran ventaja para los Programas de control biológico de Moscas de la Fruta plaga.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general:

Evaluar el efecto del acondicionamiento de *C. haywardi* y *E. sivinskii* a olores de pupas de *A. ludens* sobre su capacidad de parasitoidismo.

5.2 Objetivos específicos:

1. Evaluar la eficiencia de parasitoidismo de los parasitoides *E. sivinskii* y *C. haywardi*, expuestos o no a olores de pupas de *A. ludens*.
2. Evaluar la eficiencia de parasitoidismo de los parasitoides *E. sivinskii* y *C. haywardi* en pupas de *A. ludens* enterradas a distintas profundidades.
3. Evaluar el efecto del acondicionamiento de los parasitoides *C. haywardi* y *E. sivinskii* a olores de pupas de *A. ludens* en la proporción sexual de su progenie.

6. Metodología

6.1 Lugar de estudio.

El estudio fue llevado a cabo en las instalaciones de la Red de Manejo Biorracional de Plagas y Vectores (RMBPV) del Clúster Científico y Tecnológico BioMimic®, Instituto de Ecología A.C. (INECOL), ubicado en Xalapa, Veracruz, México.

6.2 Insectos estudiados.

Las pupas de la mosca *A. ludens* y los dos parasitoides de pupas *E. sivinskii* y *C. haywardi* se obtuvieron de colonias establecidas en la Planta Piloto de Parasitoides y Moscas de la Fruta de la RMBPV (Aluja *et al.* 2009). Parasitoides adultos recién emergidos se transfirieron a jaulas de Plexiglas de 20 x 20 x 20 cm, y se alimentaron *ad libitum* con agua y miel de abeja (Carlota®) administrada a través de papeles absorbentes dispuestos dentro de las jaulas (Figura 6). Los parasitoides usados en los ensayos experimentales se criaron en dos laboratorios con condiciones controladas de temperatura (27 ± 1 °C para *E. sivinskii* y 22 ± 1 °C y para *C. haywardi*), ambos con $70 \pm 5\%$ de humedad relativa y un fotoperíodo de 12:12 h luz:oscuridad.

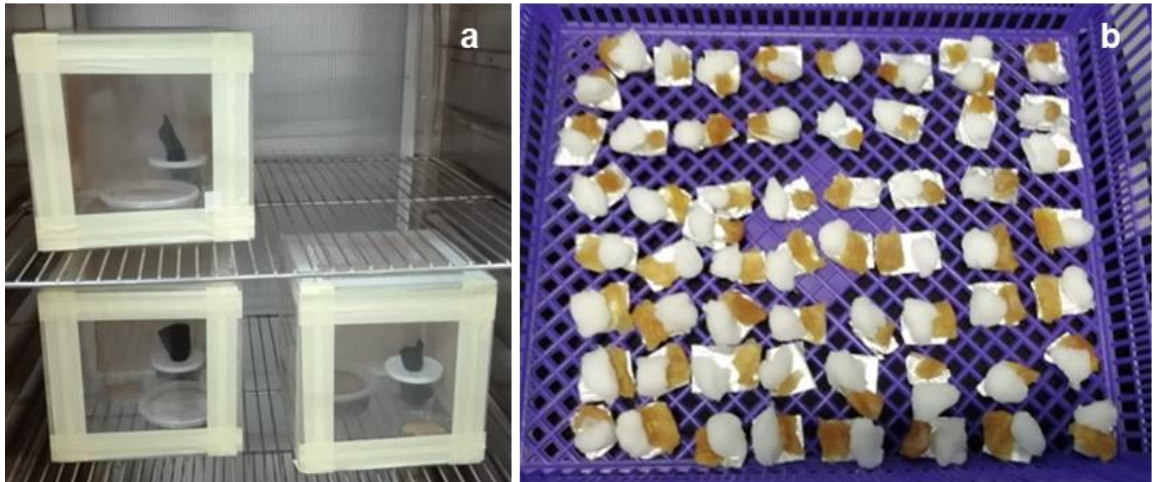


Fig. 6: a) Jaulas Plexiglas recubiertas con plástico transparente y conteniendo los recipientes para exposición de volátiles y alimento, b) disposición de alimento para los parasitoides.

6.3 Preparación del suelo.

Con el fin de evaluar el efecto de la profundidad a la que se encuentran enterradas las pupas de *A. ludens* en el éxito de parasitoidismo de *C. haywardi* y *E. sivinskii* acondicionados a olores de pupas de *A. ludens*, se usó suelo de tipo arcilloso procedente de la zona de Tejería, Veracruz, México.

Previo al ensayo, el suelo se trituró con una pala, se filtró con una malla para eliminar la materia orgánica, piedras y partículas grandes y se expuso al sol durante 5 h. Además, el suelo se analizó químicamente en el laboratorio de análisis de suelos del INECOL para conocer las condiciones como el pH, densidad aparente, carbono orgánico, así como la textura del suelo usado. Durante el ensayo, el suelo fue humedecido con agua destilada hasta lograr un rango de humedad entre el 18-22% para poder emular las condiciones ideales de los parasitoides y las pupas de acuerdo con Guillén et al., 2002.

6.4 Medición de la humedad del suelo.

La humedad del suelo se midió usando un método gravimétrico basado en Reynolds (1970), que consiste en calentar una muestra de 10 g de suelo hasta la evaporación del agua y lograr un peso constante y, mediante la diferencia de peso se determina el porcentaje de humedad inicial.

6.5 Exposición de los parasitoides a olores de pupas de *A. ludens*.

Para responder a los tres objetivos se diseñó un experimento general en donde la eficiencia del parasitoidismo se evaluó en ambas especies de parasitoides por separado, con individuos expuestos o no a olores de pupas de *A. ludens* y exponiéndoles por separado las pupas de *A. ludens* enterradas en tres profundidades diferentes. La eficiencia del parasitoidismo se midió mediante el conteo de número de individuos emergidos para cada uno de los ensayos.

La primera etapa del experimento consistió en acondicionar los parasitoides mediante exposición a pupas de *A. ludens* que se encontraban dentro de contenedores de plástico con tapa de malla. Se colocaron las dos especies de parasitoides (*E. sivinskii* y *C. haywardi*), por separado, en cámaras de incubación que mantuvieron las condiciones de temperatura requeridas para cada uno de los parasitoides y la exposición o no exposición (control) de los parasitoides a las pupas/olores de *A. ludens* se realizó en cámaras de incubación independientes, de tal forma que se mantuvieron separadas las especies y los individuos expuestos o no a las pupas (Figura 7). Los parasitoides se colocaron separados por especie, 150 hembras y 75 machos recién emergidos por cada jaula Plexiglas (Figura 6), en total se usaron 6 jaulas (3 para individuos acondicionados y 3 para individuos sin acondicionamiento) para cada especie. El acondicionamiento se llevó a cabo durante cuatro

días mediante la exposición a 100 mL de pupas (aprox. 1000 pupas) de 2 días de edad colocadas en un recipiente de plástico de 10.8 cm de diámetro x 4.2 cm de altura con una tapa implementada con una malla que permitía el intercambio de olores pero que evitaba el contacto directo de los parasitoides con las pupas de *A. ludens* (Figura 7). Se realizaron un total de 10 réplicas.



Fig. 7: a) Cámaras de crecimiento usadas para los ensayos de pre-acondicionamiento y eficiencia de parasitoidismo, b) jaulas usadas para el ensayo de exposición a olores, c) recipiente implementado para depositar las pupas y realizar la exposición de olores.

6.6 Exposición de las pupas a los parasitoides acondicionados y no acondicionados para oviposición

Una vez que los parasitoides se expusieron o no a los olores de las pupas se procedió a evaluar la eficiencia de parasitoidismo de los individuos acondicionados y no acondicionados. La evaluación de la eficiencia de parasitoidismo se realizó siguiendo el protocolo de Guillen *et al.* (2002), usando 10 recipientes de 1 L cubiertos con tela elástica que impidió el escape de los parasitoides (Figura 8), pero que permitía el intercambio de gases.



Fig. 8: Recipientes de plástico de 1L dentro de las cámaras de crecimiento usados para la exposición de las pupas colocadas a diferentes profundidades.

Se preparó una base de suelo arcilloso estéril de 3 cm en cada recipiente, sobre la cual se colocaron 10 pupas de *A. ludens* de 3 días de edad por cada recipiente. En total, 100 pupas (10 pupas/recipiente por 10 recipientes) se evaluaron para cada una de las profundidades (0, 1 y 3 cm), medidas a partir de la superficie de la base y rellenando con la cantidad de suelo necesaria para cada una de las profundidades a evaluar (Figura 9).

Por cada unidad experimental (recipiente) se colocaron 100 hembras y 50 machos, por lo que 150 parasitoides por unidad experimental x tres profundidades (0, 1 y 3 cm) x dos condiciones (expuestos y no expuestos) x dos especies de parasitoides, dieron un total de 1,800 parasitoides por réplica evaluada (900 por especie). En total se analizaron 10 unidades experimentales. La exposición de los parasitoides a los olores de las pupas se realizó durante cuatro días. Durante esos cuatro días, los parasitoides se alimentaron *ad libitum* con agua y miel como se mencionó previamente.

6.7 Determinación del número de parasitoides emergidos.

Una vez terminado el período de exposición de las pupas a los parasitoides acondicionados y no acondicionados, las pupas de los diferentes tratamientos se transfirieron a laboratorios

con condiciones controladas de acuerdo con los requerimientos de cada especie y la eficiencia de parasitoidismo se evaluó con base en la proporción de parasitoides eclosionados a partir del día 22 y hasta los 30 días transcurridos (Figura 9).

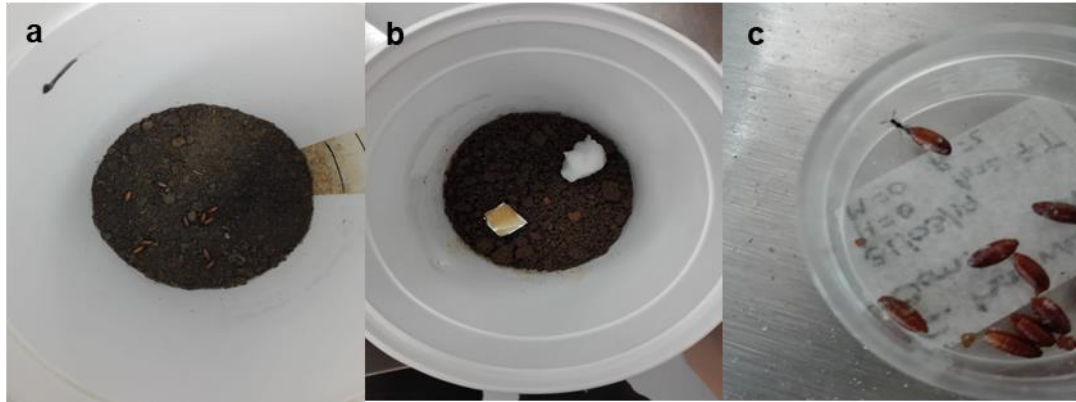


Fig. 9: a) Recipientes de 1 L con las pupas dispuestas a 0 cm, b) recipiente de 1 L con la profundidad establecida y alimento dispuesto *ad libitum* durante la exposición a los parasitoides, c) parasitoides emergiendo de las pupas 22-30 días después de la exposición.

6.8 Análisis estadísticos.

Se ajustaron modelos lineales generalizados a los datos de parasitoidismo y proporción sexual de *C. haywardi* y *E. sivinskii* en función del tratamiento de acondicionamiento (acondicionado y no acondicionado), la profundidad de exposición de las pupas hospederas (0, 1 y 3 cm) y sus interacciones. El análisis se realizó con el software estadístico R (R Development Core Team).

7. Resultados

7.1 Análisis del suelo

El análisis de suelo usado para el ensayo indicó que presenta una textura constituida por arcilla 59.28%, limo 22% y arena 18.72% con un 3.86% de materia orgánica. Los resultados del pH del suelo y del contenido de N, P, K, Ca, Mg, C y N se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4: Resultados del análisis de suelo usado en el experimento.

pH	N-NO₃	N- NH₄	P disp.	C.E.		
1:2 H₂O	mg/kg		mg/Kg	mS/cm	C/N	
4.23	22.977	12.533	41.19	0.038	10	
Densidad aparente						
g/cm³	K int	Ca int	Mg int	C	N	Carbono orgánico
	cmol/kg			%		
1.039	0.2251	3.124	1.802	2.99	0.31	2.24

7.2 Evaluación de la eficiencia de parasitoidismo de parasitoides *E. sivinskii* acondicionados y no acondicionados.

El parasitoidismo de pupas en la superficie del suelo osciló entre una proporción de cero a uno, con una proporción promedio (\pm error estándar) de 0.2 (\pm 0.05) en el caso de los parasitoides acondicionados y de 0.21 (\pm 0.05) en el caso de los no acondicionados (Figura 10a y b). En el caso de los parasitoides acondicionados y no acondicionados, se observa que las proporciones de emergencia fueron similares en los tratamientos de 1 cm y 3 cm para ambos tratamientos, no se presentaron proporciones de emergencia superiores a 0.2,

mientras que para el tratamiento de 0 cm las proporciones de emergencia fueron mayores, pero siguen sin presentar una diferencia significativa entre los tratamientos de acondicionamiento y no acondicionamiento, en el tratamiento de profundidad si se presentó una diferencia significativa en la profundidad 0 cm para el tratamiento de acondicionamiento y no acondicionamiento (Figura 10).

Profundidad (cm)

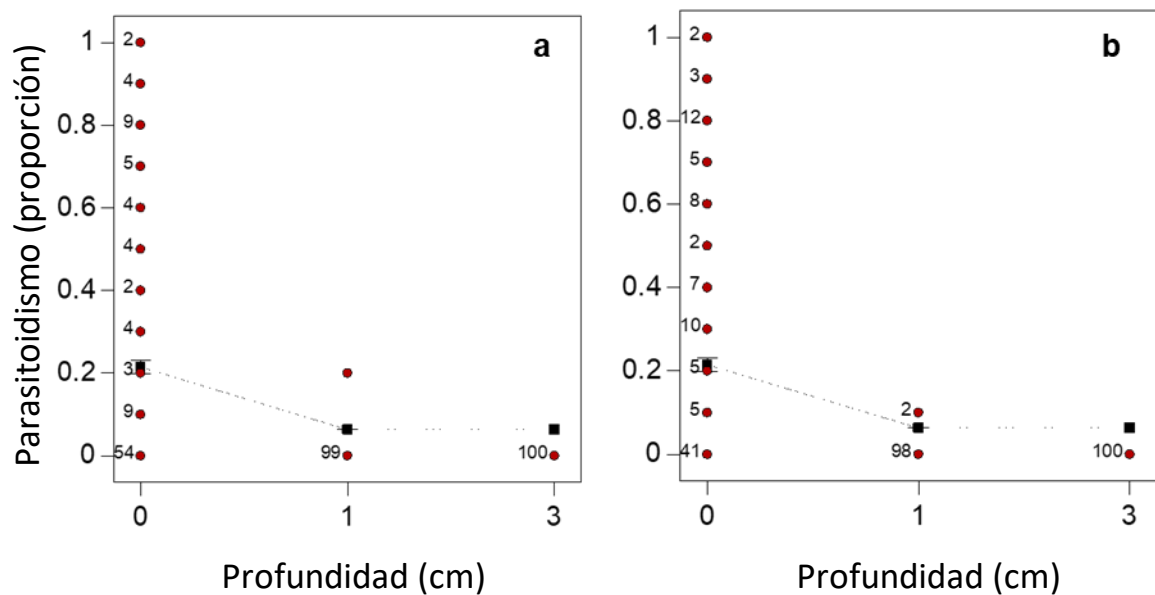


Fig. 10: Proporción de parasitoidismo de *E. sivinskii* a) acondicionados y b) no acondicionados en pupas a diferentes profundidades (0, 1 y 3 cm).

El modelo ajustado a los datos de emergencias de parasitoides de *E. sivinskii* en función del tratamiento de acondicionamiento (acondicionado y no acondicionado), la profundidad de pupas hospederas en el sustrato (0, 1, 3 cm de profundidad) y sus interacciones, mostró que solo la profundidad de las pupas tuvo un efecto estadísticamente

significativo en la proporción de parasitoides que emergieron (Cuadro 5). Es decir, independientemente del acondicionamiento de las hembras de *E. sivinskii*, el parasitoidismo fue mayor cuando las pupas fueron expuestas a los parasitoides en la superficie del sustrato (0 cm), y el parasitoidismo disminuyó conforme a la profundidad de exposición de las pupas aumentó (Figura 11). En promedio, e independientemente del tratamiento de acondicionamiento, la proporción de parasitoidismo en las profundidades de 0, 1 y 3 cm, fue de 0.15, 0 y 0, respectivamente.

Cuadro 5: Salida del software estadístico R con el modelo ajustado a los datos de parasitoidismo por *E. sivinskii* en pupas de *A. ludens* en función del tratamiento de acondicionamiento (acondicionado y no-acondicionado), la profundidad de exposición de las pupas (0, 1 y 3 cm de profundidad) y sus interacciones VR1 se refiere a un vector binario con el número de parasitoides que emergieron y el número de pupas que no emergieron parasitoides.

Call: glm (formula = VR1 ~ Profundidad * Condicionamiento, family = quasibinomial)						
Analysis of Deviance Table						
Model: quasibinomial, link: logit						
Response: VR1						
Terms added sequentially (first to last)						
	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	F	Pr(>F)
NULL			599	2590.6		
Profundidad	1	8.93	598	2581.6	3.8133	0.05132
Condicionamiento	2	1289.31	596	1292.3	275.2018	< 2e-16 ***
Profundidad: Condicionamiento	2	0.11	594	1292.3	0.0238	0.97645
Signif. Codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						

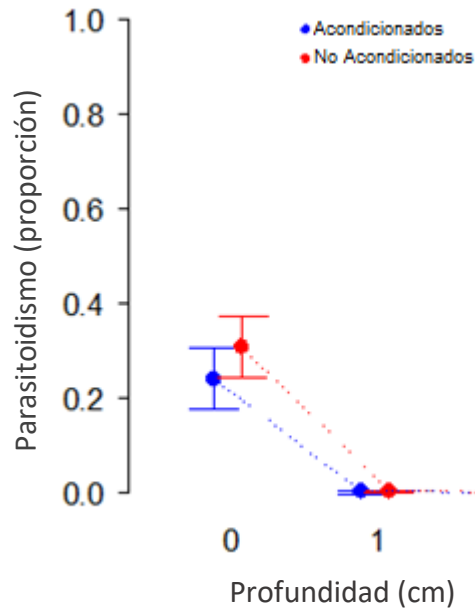


Fig. 11: Emergencia de *E. sivinskii*, en función de la profundidad de enterramiento de su hospedero y el tratamiento de acondicionamiento.

El modelo ajustado a los datos de la proporción sexual de *E. sivinskii* en función del tratamiento de acondicionamiento, la profundidad de las pupas hospederas en el sustrato y sus interacciones, no reveló ningún efecto estadísticamente significativo en la proporción de hembras que emergieron (Cuadro 6). En la figura 12 se observa que en general, la proporción sexual estuvo sesgada a las hembras con proporciones promedio entre **0.61** y **0.62**.

Cuadro 6: Salida del software estadístico R con el modelo ajustado a los datos de parasitoidismo por *E. sivinskii* en pupas de *A. ludens* en función de tratamiento de acondicionamiento (Acondicionado y no acondicionado), la proporción de hembras emergidas y sus interacciones.

Call: glm (formula = VR1 ~ Profundidad * Condicionamiento, family = quasibinomial)						
Analysis of Deviance Table						
Model: quasibinomial, link: logit						
Response: VR1						
Terms added sequentially (first to last)						
	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	F	Pr(>F)
NULL			107	106.83		
Condicionamiento	1	0.030927	106	106.80	275.2018	0.8604

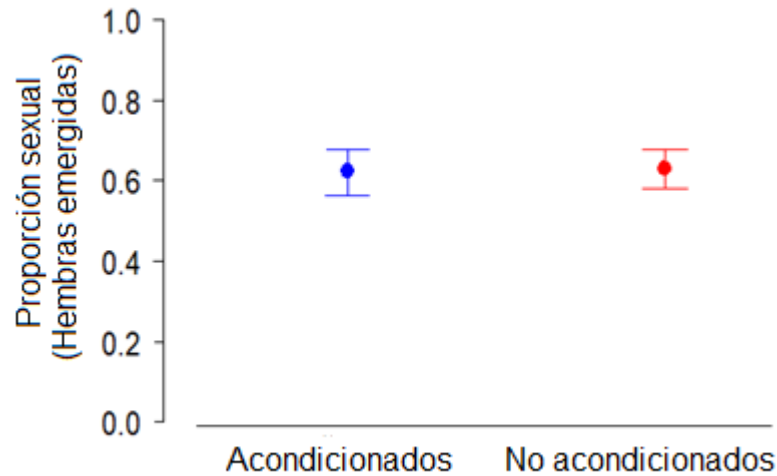


Fig. 12: Proporción sexual de parasitoides emergidos en función del acondicionamiento de *E. sivinskii*.

7.3 Evaluación de la eficiencia de parasitoidismo de parasitoides C. haywardi acondicionados y no acondicionados.

Con parasitoides acondicionados, la profundidad en la que se presentaron mayores casos de emergencia de parasitoides fue en la de 0 cm, donde sólo en una unidad experimental no emergió ningún parasitoide (Figura 13). En la profundidad de 3 cm, existieron 48 casos en los que no emergió ningún parasitoide (Figura 13).

En parasitoides no acondicionados, la profundidad en la cual se presentaron unidades experimentales con mayores emergencias de parasitoides fue en la de 0 cm, en ésta no se dieron casos en los cuales no emergiera ningún parasitoide. En la superficie del suelo (0 cm) se observaron tres unidades experimentales en las que lograron emerger los 10 parasitoides. La emergencia de 10 parasitoides sólo se observó en una unidad experimental en la profundidad de 0 cm, y en la profundidad de 1 cm se observó en dos casos. En la profundidad de 1 cm se encontró que en 18 unidades experimentales no emergió ningún parasitoide, y en

la profundidad de 3 cm no emergió ningún parasitoide de las 53 unidades experimentales (Figura 13).

Entre los tratamientos de acondicionamiento y no acondicionamiento, no se presentó ninguna diferencia significativa, presentando una proporción de emergencia de parasitoides similar en cada uno de los tratamientos de profundidad; entre los tratamientos de profundidad de enterramiento solo se presentaron diferencias significativas en la profundidad de 1 cm, para los tratamientos de acondicionamiento y no acondicionamiento.

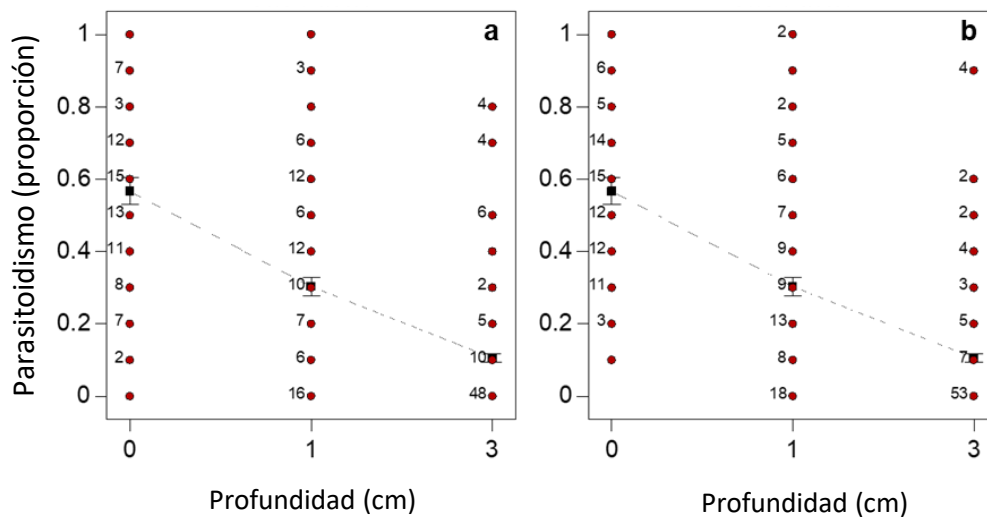


Fig. 13: Proporción de parasitoidismo de parasitoides *C. haywardi* a) acondicionados y b) no acondicionados en pupas a diferentes profundidades (0, 1 y 3 cm).

El modelo ajustado a los datos de parasitoidismo por *C. haywardi* en función del tratamiento de acondicionamiento (acondicionado y no-acondicionado), la profundidad de las pupas hospederas en el sustrato (0, 1 y 3 cm de profundidad) y sus interacciones, mostró que sólo la profundidad de las pupas tuvo un efecto estadísticamente significativo en la proporción de parasitoides que emergieron (Cuadro 7). Es decir, independientemente del

acondicionamiento de las hembras de *C. haywardi*, el parasitoidismo fue mayor cuando las pupas fueron expuestas a los parasitoides en la superficie del sustrato (0 cm), y el parasitoidismo disminuyó conforme la profundidad de exposición de las pupas aumentó (Figura 14). En promedio, e independientemente del tratamiento de acondicionamiento, la proporción de parasitoidismo en las profundidades de 0, 1, y 3 cm, fue de **0.55**, **0.38** y **0.18**, respectivamente.

Cuadro 7: Salida del software estadístico R con el modelo ajustado a los datos de parasitoidismo por *C. haywardi* en pupas de *A. ludens* en función del tratamiento de acondicionamiento (acondicionado y no-acondicionado), la profundidad de exposición de las pupas (0, 1 y 3 cm de profundidad) y sus interacciones. VR1 se refiere a un vector binario con el número de parasitoides que emergieron y el número de pupas de las que no emergieron parasitoides.

Call: glm (formula = VR1 ~ Profundidad * Condicionamiento, family = quasibinomial)						
Analysis of Deviance Table						
Model: quasibinomial, link: logit						
Response: VR1						
Terms added sequentially (first to last)						
	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	F	Pr(>F)
NULL			479	2226.6		
Profundidad	2	601.63	477	1624.9	90.5610	<2e-16 ***
Condicionamiento	1	1.61	476	1623.3	0.4853	0.4864
Profundidad: Condicionamiento	2	5.78	474	1617.5	0.8698	0.4197
Signif. Codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						

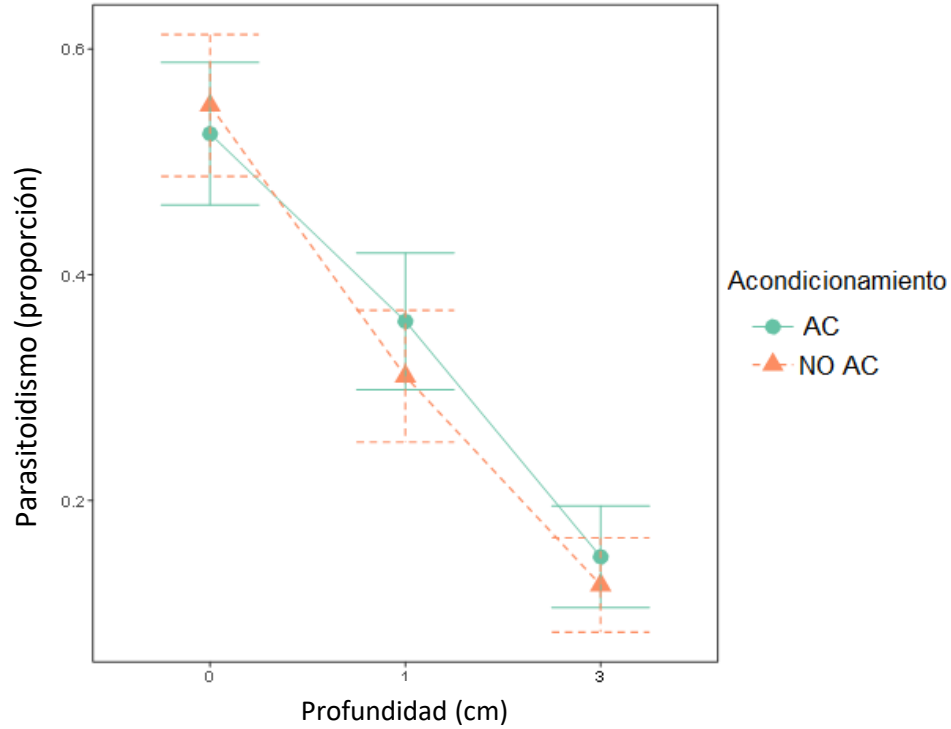


Fig. 14: Proporción de parasitoidismo de *C. haywardi* en función del acondicionamiento y la profundidad (0, 1, 3 cm) en *C. haywardi*.

El modelo ajustado a los datos de la proporción sexual de *C. haywardi* en función del tratamiento de acondicionamiento, la profundidad de las pupas hospederas en el sustrato y sus interacciones, no reveló ningún efecto estadísticamente significativo en la proporción de hembras que emergieron (Cuadro 8). En la Figura 15 se observa que en general la proporción sexual estuvo sesgada a las hembras con proporciones promedio de entre 0.72 y 0.71.

Cuadro 8: Salida del software estadístico R con el modelo ajustado a los datos de parasitoidismo por *C. haywardi* en pupas de *A. ludens* en función del tratamiento de acondicionamiento (acondicionado y no-acondicionado), la profundidad de exposición de las pupas (0, 1 y 3 cm de profundidad) y sus interacciones. VR2 se refiere a un vector binario con el número de parasitoides hembra que emergieron y el número de parasitoides macho que emergieron.

Call: glm (formula = VR1 ~ Profundidad * Condicionamiento, family = quasibinomial)						
Analysis of Deviance Table						
Model: quasibinomial, link: logit						
Response: VR2						
Terms added sequentially (first to last)						
	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	F	Pr(>F)
NULL			343	422.93		
Profundidad	2	0.1874	341	422.74	0.0889	0.9149
Condicionamiento	1	0.0280	340	422.72	0.0266	0.8706
Profundidad: Condicionamiento	2	3.2050	338	419.51	1.5210	0.2200

Signif. Codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

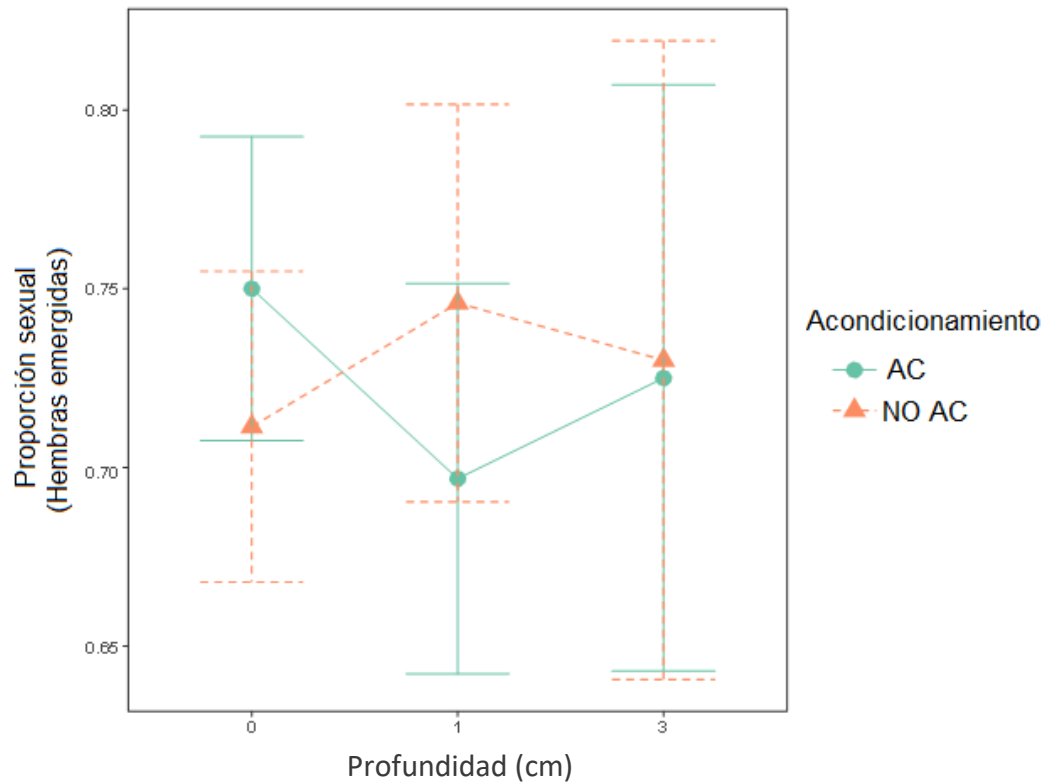


Fig. 15: Proporción sexual de parasitoides emergidos en función de la profundidad (0, 1, 3 cm) y el acondicionamiento en *C. haywardi*.

8. Discusión

8.1 Acondicionamiento y no acondicionamiento

En los resultados obtenidos de la evaluación del acondicionamiento, se observó que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos de acondicionamiento y no acondicionamiento tanto en *E. sivinskii*, como en *C. haywardi*. Este resultado podría deberse a que, al haberse implementado en este estudio un método en el cual los parasitoides no pudieron asociar la exposición a los olores de pupas con un estímulo positivo o a alguna recompensa (e.g., alimenticia o reproductiva), no se logró un acondicionamiento efectivo. Esta podría ser una razón por la cual ninguno de los parasitoides en los dos tratamientos presentara una diferencia en la cantidad de parasitoides emergidos.

En el estudio de Vet y Opzeeland (1984) se encontró que las hembras de *Asobara tabida* (Hymenoptera: Braconidae) que no tuvieron experiencia previa en búsqueda y parasitoidismo de hospederos, no fueron capaces de diferenciar los olores producidos por los hospederos, estos son resultados similares a los obtenidos durante este trabajo, ya que los individuos utilizados en este experimento no tenían experiencia previa en la búsqueda y parasitoidismo de hospederos. Por lo tanto, un estudio futuro tendrá que incluir nuevos tratamientos (detalles más adelante) para poder descartar de manera definitiva el efecto de los olores de pupas en el acondicionamiento de los parasitoides.

En otros estudios se ha encontrado que los parasitoides suelen utilizar diversos compuestos volátiles producidos por plantas con frutos parasitados como guía para poder encontrar a sus hospederos, y en estudios como en los realizados por De Moraes y Mescher (1999) se demostró que los parasitoides utilizan estos volátiles como la primera pista para la localización del hospedero. Las hembras sin experiencia previa de oviposición reaccionan

de igual manera que las experimentadas a estas pistas, por lo que estos volátiles juegan un papel importante en la búsqueda de hospederos por parasitoides jóvenes (Fürstenberg *et al.* 2013).

En este estudio los parasitoides sólo fueron expuestos a los olores que emanaron de las pupas de *A. ludens* dentro de contenedores con tapa de malla (para evitar un contacto físico con las pupas, pero permitiendo que los olores de estas salieran de los contenedores y entraran en contacto con los parasitoides), pero no se usó ningún compuesto volátil (como estándar sintético) producido por plantas infestadas como en los experimentos anteriormente mencionados. En el futuro sería interesante evaluar si el acondicionamiento a volátiles de frutos infestados mejora la capacidad de parasitoidismo de *C. haywardi* y *E. sivinskii*. Igualmente importante, sería evaluar el acondicionamiento a compuestos volátiles emitidos por las larvas, pensando que la larva de *A. ludens* deje un rastro de olores en el suelo antes de enterrarse a pupar y que este rastro pueda ser identificado por los parasitoides.

Faraone *et al.* (2017) lograron incrementar la atracción del parasitoide larvario *Spintherus dubius* (Hymenoptera: Pteromalidae) hacia su hospedero, el picudo *Apion* spp., usando los volátiles de las heces del picudo adulto. Comparándolo con estudios anteriores, en este experimento las pupas utilizadas no estaban impregnadas con ningún tipo de residuo vegetal o de heces del individuo adulto que ayudaran a los parasitoides a localizarlas, por lo que lo anterior pudo haber afectado negativamente el proceso de localización de los hospederos, afectando así en gran medida el porcentaje de parasitoidismo.

Otra causa que pudo haber afectado en la localización de los hospederos, es la ausencia de volátiles de hojas de las plantas; como se ha demostrado con hembras del parasitoide *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae) que son atraídas por los olores de

las hojas de mango (Rousse *et al.*, 2007; Cai *et al.*, 2017), es recomendable realizar acondicionamientos con heces de los hospederos para evaluar la influencia de estos en el parasitoidismo de estos dos parasitoides, así como utilizar hojas de plantas hospederas de *A. ludens* como acondicionador, para evaluar el efecto en los parasitoides.

En los resultados obtenidos en este estudio no se presentó una diferencia significativa entre los individuos acondicionados y no acondicionados de las dos especies, presentando emergencias muy similares para cada una de las dos especies con los dos tratamientos implementados. Independientemente del tratamiento de acondicionamiento, *C. haywardi* logró un mayor parasitoidismo que *E. sivinskii*. Esto se podría explicar por los experimentos llevados a cabo por Baeza-Larios *et al.* (2002) quienes evidenciaron que *C. haywardi* es un endoparásitoide que prefiere atacar pupas del género *Anastrepha* spp., mientras que *E. sivinskii* es un ectoparásitoide generalista que no tiene una asociación tan íntima con su hospedero (Mena-Correa *et al.* 2008; 2010). Por lo que *C. haywardi* podría tener receptores antenales específicos para volátiles de pupas de *Anastrepha* spp. permitiéndoles encontrar con mayor facilidad a esos hospederos y podría ser una de las razones por las que se encontró mayor parasitoidismo en pupas de *A. ludens* usando *C. haywardi* que *E. sivinskii*.

Los parasitoides siguen varios pasos para parasitar al hospedero, el primer paso es la búsqueda del hábitat, el segundo es la ubicación de la población anfitriona, el tercer es la ubicación del huésped, el cuarto es el examen del anfitrión, y el quinto es la aceptación y posterior oviposición en el hospedero (Vinson, 1985; Van Lenteren *et al.*, 2007). Los parasitoides utilizados en este estudio han estado durante tantas generaciones en condiciones de laboratorio, en donde los hospederos son fácilmente localizados, la competencia intraespecífica por alimentos se reduce, así como la competencia por hospederos. Por lo

que, la larga permanencia en condiciones de laboratorio pudo haber reducido la eficiencia de búsqueda de hospedero, dificultando la localización del hospedero por parte de las hembras.

Por ejemplo, en el caso de los parasitoides, se ha demostrado que sus “cantos nupciales” cambian con el tiempo y hace que los machos ya no sean reconocidos por hembras silvestres (Joyce *et al.* 2010). Por lo tanto, valdría la pena evaluar el acondicionamiento en parasitoides recién venidos de campo.

Un efecto importante en la localización de los hospederos por parte de los parasitoides es la edad de las pupas, ya que como se ha demostrado en estudios con *Tamarixia radiata*, esta especie de avispas parasitoides mostraron mayor atracción hacia pupas de mayor edad (4-5 días), mientras la respuesta fue menor con pupas más jóvenes (>4-5 días) (Liu *et al.*, 2019). En nuestro experimento se utilizaron pupas de tres días (edad en la que generalmente se exponen las pupas para parasitación en la colonia de laboratorio), sin embargo, sería importante determinar a qué edad de la pupa prefieren atacar los parasitoides, para esto es recomendable realizar experimentos de acondicionamiento con pupas de diferentes edades, para evaluar el efecto sobre el parasitoidismo.

8.2 Efecto de la profundidad de enterramiento de pupas en el porcentaje de parasitoidismo

No se presentaron diferencias significativas en el parasitoidismo en las profundidades de 1 y 3 cm, las mayores emergencias de parasitoides se dieron en la profundidad de 0 cm (Figuras 10, 13), esto puede deberse a que los parasitoides al explorar el sustrato podían

encontrar las pupas fácilmente; sin embargo, se sabe que los parasitoides suelen guiarse por los canales dejados por las larvas al ingresar en el sustrato para pupar, esto pudo haber afectado negativamente el parasitoidismo en profundidades de enterramiento de 1 cm y 3 cm, ya que la ausencia de estos canales dificulta la localización de los huéspedes (Geden, 2002), por lo que es recomendable simular este efecto en futuros experimentos para observar la eficiencia de un acondicionamiento a mayores profundidades.

En los resultados obtenidos se observó un mayor número de emergencias en *C. haywardi*, esto se puede explicar ya que las larvas de *A. ludens* suelen enterrarse dentro del suelo para poder pupar lo que representa una ventaja para *C. haywardi*, ya que se ha confirmado por estudios previos que las hembras de esta especie a diferencia de *E. sivinskii* son capaces de localizar y parasitar pupas enterradas en profundidades de hasta 5 cm (Guillen *et al.* 2002) presentando una alta capacidad de buscar sus hospederos dentro del sustrato, mientras que *E. sivinskii* tiene hábitos forrajeros diferentes y es más competente al buscar dentro de las cabezas de flores o dentro de frutos, pero no tanto en localizar pupas enterradas (Baeza-Larios *et al.* 2002). Lo anterior se puede comparar con los resultados obtenidos en este estudio, donde se presentaron casos de parasitoidismo en profundidades de enterramiento de 1 y 3 cm por parte de *C. haywardi*.

Otra posible explicación al mayor número de emergencias en *C. haywardi* se puede obtener contrastando con otros estudios en donde se ha evidenciado que algunas especies de parasitoides pertenecientes al género *Muscidifurax* spp. prefieren atacar a las pupas que se encuentran en menores profundidades de enterramiento, ya que en algunos tipos de sustrato puede presentarse mayor dificultad a la hora de escavar en busca del huésped, en este estudio

E. sivinskii se pudo haber visto afectado por el tipo de sustrato implementado afectando así su parasitoidismo (King, 1997).

8.3 Proporción de emergencia de parasitoides hembras

En los resultados obtenidos en este estudio con respecto a la proporción de hembras emergidas en función del tratamiento de acondicionamiento, no se observó ninguna diferencia significativa.

Se sabe que las hembras parasitoides tienen diferentes mecanismos para controlar la proporción sexual de la descendencia y entre los factores que pueden afectar la proporción de sexos que emergerán se incluyen: 1) calidad de los progenitores, 2) características ambientales, 3) características del hospedero y 4) la competencia por parejas (Caltagirone, 1981; Kido *et al.*, 1983), se puede corroborar con otros estudios, que en algunas especies de parasitoides como *Aphidius ervi* el mecanismo que más influye para controlar la proporción sexual de la descendencia, es el tamaño de los hospederos, en los hospederos de mayor tamaño se presentan mayores emergencias de hembras, y en los de menor tamaño mayores emergencias de machos (Wellings *et al.*, 1986).

Las pupas que se depositaron en cada uno de los recipientes durante el experimento presentaron tamaños similares, lo que indicaría que el tamaño de las pupas presenta una mayor influencia que el acondicionamiento previo sobre el control de la proporción sexual en las dos especies trabajadas, o que el acondicionamiento no presenta ninguna influencia sobre la selección de descendencia en los parasitoides.

Sin embargo, la emergencia de parasitoides para cada uno de los tratamientos fue baja, esto se podría explicar con el estudio llevado a cabo por Warren (1983) en donde los parasitoides confinados o con poca abundancia de hospederos pueden presentar altos niveles de súperparasitoidismo evitando que se desarrolle el hospedero y el parasitoide, debido a que la proporción de hembras y pupas durante la evaluación de parasitoidismo fue de 1:1, se pudieron presentar casos de súperparasitoidismo.

9. Conclusiones

- De acuerdo con los resultados obtenidos y con base en las condiciones del experimento utilizadas se concluye que *E. sivinskii* y *C. haywardi* no presentan una mejora en el parasitoidismo al ser acondicionados con olores emanados de pupas de *A. ludens*.
- Considerando la diferencia entre parasitoidismo en las tres profundidades de cada una de las especies trabajadas, se sugiere que *C. haywardi* podría ser implementado en liberaciones conjuntas con parasitoides que atacan larvas, ya que sus hábitos de forrajeo complementarían la actividad de parasitoidismo de otros parasitoides y podría lograrse un control más efectivo de *A. ludens*.
- Los bajos porcentajes de parasitoidismo observados en *E. sivinskii* indican que esta especie de parasitoide no sería efectiva en programas de liberación masiva para el control biológico de especies de Moscas de la Fruta plaga.

10. Recomendaciones

- En futuros estudios será necesario considerar que los parasitoides suelen aprender cuando el estímulo genera una recompensa, por lo que para poder evidenciar cambios en los porcentajes de parasitoidismo a partir del condicionamiento hay que usar métodos que permitan al parasitoide poder ovipositar en el hospedero.
- Se deben realizar experimentos intentando imitar algunas condiciones de campo, como permitir que las larvas se entierren por sí solas, ya que podrán dejar alguna señal en el suelo que pudiera ser percibida por la hembra parasitoide.
- Se podría adecuar el número de parasitoides y/o el número de hospederos disponibles para evitar potencial confinamiento o súperparasitoidismo.
- Se podría exponer los olores de las pupas, en forma de estándares sintéticos y a diferentes concentraciones, directamente a los parasitoides para comparar si se obtienen resultados diferentes a los de este estudio.

11. Bibliografía

- Akov S., & Guggenheim K. (1963). Antimetabolites in the nutrition of *Aedes aegypti* L. larvae. Pyridoxine antagonists. *Comparative Biochemistry and Physiology* 9: 61-68.
- Aluja M. (1993). Manejo Integrado de la mosca de la fruta. México: Trillas, 251p.
- Aluja M. (1994). Bionomics and management of *Anastrepha*. *Annual Review of Entomology* 39: 155-178.
- Aluja M. (2012). Supplementary data for: Understanding Long-Term Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Population Dynamics: Implications for Areawide Management. *Journal of Economic Entomology* 105: 823-836.
- Aluja M., Rull J., Prez-Staples D., Díaz-Fleischer F. & Sivinski, J. (2009). Random mating among *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) adults of geographically distant and ecologically distinct populations in Mexico. *Bulletin of Entomological Research* 99: 207–214.
- Aluja M., Sivinski J., Ovruski S., Guillen L., Lopez M., Cancino J., Torres-Anaya A., Gallegos-Chan G & Ruiz L. (2009). Colonization and domestication of seven species of native New World hymenopterous larval-prepupal and pupal fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids. *Biocontrol Science and Technology* 19: 49-79.
- Aluja M., Sivinski J., Rull J. & Hodgson P.J. (2005). Behavior and predation of fruit fly larvae (*Anastrepha* spp.) (Diptera: Tephritidae) after exiting fruit in four types of habitats in tropical Veracruz, Mexico. *Environmental Entomology* 34: 1507-1516.
- Amante M., Russo A., Schöller M. & Steidle J.L.M. (2017). Olfactory host location in the rusty grain beetle parasitoid *Cephalonomia waterstoni* (Gahan) (Hymenoptera: Bethyridae). *Journal of Stored Products Research*, 71: 1–4.
- Anton J. (2005). El control biológico de plagas y enfermedades. In Jacas, J., Caballero-Primitivo., Ávila, J (eds). *El control biológico de plagas y enfermedades*.
- Arthur A., Steiner J. & Turnbull A. (1964). The interaction between *Orgilus obscurator* (Nees) (Hymenoptera: Braconidae) and *Temelucha interruptor* (Grav.) (Hymenoptera: Ichneumonidae) parasites of the pine shoot moth *Rhyacionia buoliana* (Schiff.) (Lepidoptera: Olethreutidae). *Canadian Entomologist* 96: 1030-1034.
- Askew R. (1971). Parasitic insects. *American Elsevier Publishing Co.*, New York.
- Baeza-Larios G., Sivinski J., Holler T. & Aluja M. (2002). The ability of *Coptera haywardi* (Ogloblin) (Hymenoptera: Diapriidae) to locate and attack the pupae of the

- Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), under seminatural conditions. *Biological Control* 23: 213-218.
- Baker A., Stone W., Plummer, C., & McPhail, M. (1944). A review of studies on the Mexican Fruitfly and related Mexican species. U.S.D.A. Miscellaneous Publications, 155.
- Bale J.S., Van Lenteren J.C. & Bigler F. (2008). Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363: 761-776.
- Bugbee R.E. (2012). New Species of the Genus *Eurytoma* (Hymenoptera: Eurytomidae) from Galls on *Rubus* and *Chrysothamnus*. *Journal of the Kansas Entomological Society* 48: 580–584.
- Cai P., Gu X., Yao M., Zhang H., Huang J., Idress A., Ji Q., Chen j. & Yang, J. (2017). The optimal age and radiation dose for *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) eggs as hosts for mass-reared *Fopius arisanus* (Sonan) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control* 108: 89-97.
- Caltagirone L.E. (1981). Landmark Examples in Classical Biological Control. *Annual Review of Entomology* 26: 213-232.
- Cancino J., Montoya P., Barrera J.F., Aluja M. & Liedo P. (2014). Parasitism by *Coptera haywardi* and *Diachasmimorpha longicaudata* on *Anastrepha* flies with different fruits under laboratory and field cage conditions. *BioControl* 59: 287-295.
- Celedonio-Hurtado H., Liedo P., Aluja M., Guillen J., Berrigan D. & Carey J. (1988). Demography of *Anastrepha ludens*, *A. obliqua* and *A. serpentina* (Diptera: Tephritidae) in Mexico. *The Florida Entomologist* 71: 111-120.
- Christenson L.D. & Foote R.H. (1959). Biology of Fruit Flies. *Annal Review Entomology* 5: 171-192.
- Coaker T.H., & Cheah C.A. (1993). Conditioning as a factor in parasitoid host plant preference. *Biocontrol Science and Technology* 3: 277-283.
- Cusumano A., Harvey J.A., Dicke M. & Poelman E.H. (2019). Hyperparasitoids exploit herbivore-induced plant volatiles during host location to assess host quality and non-host identity. *Oecologia* 189: 699-709.
- Davis J.C., Agee H.R., Chambers D.L. (1984). Trap Features that promote capture of the Caribbean Fruit Fly. *Journal Agriculture Entomology* 1: 236-248.

- Davis C. (1967). Progress in the biological control of the southern green stink bug *Nezara viridula* variety smaragdula (Fabricius) in Hawaii (Heteroptera: Pentatomidae). *Mushi* 9-16.
- Daza C. & Nelson Zucchi R. (2000). Parasitoides-Braconidae. Moscas das frutas de importancia económica no Brasil: Conhecimento básico e aplicado.
- De Bach P. (1964). *Biological Control of Insect Pests and Weeds*. Londres: Chapman & Hall, 1964p.
- De Bruijn J.A.C., Vet L.E.M. & Smid H.M. (2018). Costs of persisting unreliable memory: Reduced foraging efficiency for free-flying parasitic wasps in a wind tunnel. *Frontiers in Ecology and Evolution* 6: 1-9.
- De Moraes C. & Mescher M. (1999). Interactions in entomology: Plant-parasitoid interaction in tritrophic systems. *Journal of Entomology Science* 34: 31-39.
- De Rijk M., Cegarra-Sánchez V., Smid H.M., Engel B., Vet L.E.M. & Poelman E.H. (2018). Associative learning of host presence in non-host environments influences parasitoid foraging. *Ecological Entomology* 43: 318-325.
- Digiulio J.A. (1997). Eurytomidae. pp. 477-497 In Gibson G.A.P., Huber J.T. & Woolley J.B. [eds.], *Annotated Keys to the Genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera)*. NRC-CNRC.
- Embree D. (1966). The role of introduced parasites in the control of the winter moth in Nova Scotia. *Canada Entomology* 98: 1159-1168.
- Faraone N., Svensson G.P. & Anderbrant O. (2017). Attraction of the larval parasitoid *Spintherus dubius* (Hymenoptera: Pteromalidae) to feces volatiles from the adult apion weevil host. *Journal of Insect Behavior* 30: 119-129.
- Frago E. (2016). Interactions between parasitoids and higher order natural enemies: Intraguild predation and hyperparasitoids. *Current Opinion in Insect Science* 14: 81-86.
- Fürstenberg-Hägg J., Zagobelny M. & Bak S. (2013). Plant defense against insect herbivores. *International Journal of Molecular Sciences* 14: 10242-10297.
- Galves-Morales C. & Montoya P. (2018). Desempeño de *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) ante pupas de *Anastrepha ludens* (Tephritidae) parasitadas por *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). Consultado en: <http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2012/CB/233-238.pdf>
- Gates M.W. & Grissell E.E. (2004). A new species of *Eurytoma* (Hymenoptera: Eurytomidae) attacking the Mango Fruit Fly, *Anastrepha obliqua* (Macquart)

- (Diptera: Tephritidae). pp. 147-159. En *Perspectives on Biosystematics and Biodiversity*. Taxapad and The Natural History Museum.
- Geden C.J. (2002). Effect of habitat depth on host location by five species of parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae, Chalcididae) of house flies (Diptera: Muscidae) in three types of substrates. *Environmental Entomology* 31: 411-417.
- Gerling D., Alomar Ò. & Arnò J. (2001). Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids. *Crop Protection* 20: 779-799.
- Gibson G., Huber J. & Woolley J. (1997). Annotated keys to the genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). NRC Research Press.
- Goeden R. (2001). Life history and description of immature stages of *Neaspilota achilleae* Johnson (Diptera: Tephritidae) on *Stephanomeria spp.* (Asteraceae) in southern California. *Entomological Society Washington* 103: 60-73.
- Gómez G. (2005). Las Moscas de la Fruta. de Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Consultado en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/f2cd7a85-e934-418a-b294-ef04f1bbac0/Publicacion-4.aspx> Marzo 16, 2018.
- Greene C. (1929). Characters of the larvae and pupae of certain fruit flies. *Journal of Agricultural Research* 38: 489-504.
- Greany P.D., Tumlinson J.H., Chambers D.L. & Boush G.M. (1977). Chemically mediated host finding by *Biosteres* (Opius) *longicaudatus*, a parasitoid of tephritid fruit fly larvae. *Journal of Chemical Ecology* 3: 189-195.
- Greathead D.J. & Waage J.K. (1983). Opportunities for biological control of agricultural pests in developing countries. In *World Bank Technical Paper 1: WTP11*.
- Gu X., Cai P., Yang Y., Yang Q., Yao M., Idrees A., Ji Q., Yang J. & Chen J. (2018). The response of four braconid parasitoid species to methyl eugenol: Optimization of a biocontrol tactic to suppress *Bactrocera dorsalis*. *Biological Control* 122: 101-108.
- Guédez C., Castillo C., Cañizales L., Olivar R. & Coronado A. (2008). Control Biológico: Una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Control Biológico* 13: 2008-2050.
- Guillén L., Aluja M., Equihua M. & Sivinski J. (2002). Performance of two fruit fly (Diptera: Tephritidae) pupal parasitoids (*Coptera haywardi* [Hymenoptera: Diapriidae] and *Pachycrepoideus vindemiae* [Hymenoptera: Pteromalidae]) under different environmental soil conditions. *Biological Control* 23: 219-227.
- Hajek A. (2004). *Natural enemies*. (2a ed.). Cambridge University: Kindle, 407 p.
- Hassell M. (1978). *The Dynamics of Arthropod Predator- Prey Systems*. Princeton, NJ: Princeton University Press 248 p.

- Hernández V. (1992). El género *Anastrepha* Schiner en Mexico (Diptera: Tephritidae), Taxonomía, distribución y sus plantas huéspedes. Universidad de Texas: Instituto de Ecología, 162 p.
- Hernández V. (2007). Moscas de la fruta en Latinoamérica (Diptera: Tephritidae): Diversidad, biología y manejo. S y G Editores, 168 p.
- Hernández V. (2008). Estado actual de la taxonomía del género *Anastrepha* schiner. En 7 Reunión del grupo de trabajo en moscas de la fruta del hemisferio occidental. Mazatlán, Sinaloa, 182 p.
- Huffaker C. & Kennett C. (1966). Studies of two parasites of olive scale, *Parlatoria oleae* (Colvée): IV. Biological control of *Parlatoria oleae* (Colvée) through the compensatory action of two introduced parasites. *Hilgardia* 37: 283-335.
- Jiménez E. (2009). Métodos de Control de Plagas (Tesis doctoral). Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.
- Jirón L.F. & Soto-Manitui J. (1987). Las Moscas de las Frutas (Diptera: Tephritidae) en Costa Rica: situación actual. *Agronomía Costaricense* 11: 255-261.
- Joyce A., Aluja M., Sivinski J., Bradleigh V., Ramirez-Romero R., Bernal J. & Guillén L. (2010). Effect of continuous rearing on courtship acoustics of five braconid parasitoids, candidates for augmentative biological control of *Anastrepha* species. *Biological Control* 55: 573-582.
- Kaspi R., Mossinson S., Drezner T., Kamensky B. & Yuval B. (2002). Effects of larval diet on development rates and reproductive maturation of male and female Mediterranean fruit flies. *Physiological Entomology* 27: 29-38.
- Katiyar K.P., J. Camacho, F. Geraud & R. Matheus. 1995. Parasitoides himenópteros de moscas de las frutas (Diptera: Tephritidae) en la región occidental de Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía* 12: 303-312.
- Kido H., Flaherty D., Bosch D. & Valero K. (1983). Biological control of grape leafhopper. *California Agriculture* 4-6.
- King B.H. 1997. Effects of age and burial of house fly (Diptera: Muscidae) pupae on parasitism by *Spalangia cameroni* and *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environmental Entomology* 26: 410-415.
- Kruidhof H.M., Kostenko O., Smid H.M. & Vet L.E.M. (2019). Integrating parasitoid olfactory conditioning in augmentative biological control: Potential impact, possibilities, and challenges. *Frontiers in Ecology and Evolution* <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00084>

- Lasa R., Toxtega Y., Herrera F., Cruz A., Navarrete M. A. & Antonio S. (2014). Inexpensive Traps for use in Mass Trapping *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 97: 1123–1130.
- Liquido N.J., McQuate G.T., Suiter K.A., Norrbom A.L., Yee W.L., Chang C.L. (2019) Compendium of fruit fly host plant information. The USDA primary reference in establishing fruit fly regulated host plants. In: Pérez-Staples D, Díaz-Fleischer F, Montoya P, Vera MT (eds) *Areawide management of fruit fly pests*. CRC Press, Boca Raton, pp 363–368.
- Liu Y., Guo S., Wang F., Zhang L., Guo C. & Cuthbertson A. (2019). *Tamarixia radiata* behaviour is influenced by volatiles from both plants and *Diaphorina citri* Nymphs. *Insects* 10, 141.
- Loera Gallardo J.J. (2017). Ficha Técnica *Anastrepha ludens* (Loew.). *Ficha Técnica*, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Consultado en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/249395/Anastrepha_ludens_Loew.pdf
- López M., Aluja M. & Sivinski J. (1999). Hymenopterous larval-pupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera: Tephritidae) in Mexico. *Biological Control* 15: 119-129.
- Malavasi A. (2009). Biología, ciclo de vida, relação com o hospedeiro, especies importantes e bioecologia de tefritídeos. pp. 1-5. In: Malavasi, A.; Virgínio, J. (Eds.). *Biología, monitoramento e controle: V Curso Internacional de Capacitação em Moscas-das-Frutas*. MoscaMed Brasil. Juazeiro, Brasil 96 p.
- Mann R.S., Qureshi J.A., Stansly P.A. & Stelinski L.L. (2010). Behavioral response of *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) to volatiles emanating from *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae) and citrus. *Journal of Insect Behavior* 23: 447-458.
- McPhail M. & Bliss C. (1933). Observations on the Mexican Fruit Fly and Some Related Species in Cuernavaca, Mexico, in 1928 and 1929. Mexico: US Department of Agriculture, 24 p.
- Mena-Correa J. (2005). *Biología Básica de Eurytoma sivinskii* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eurytomidae). (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., México.
- Mena-Correa A.J., Sivinski J., Gates M.W, Ramírez-Romero R. & Aluja M. (2008). Biology of *Eurytoma Sivinskii*, an unusual eurytomid (Hymenoptera) parasitoid of fruit fly (Diptera: Tephritidae) pupae. *Florida Entomologist* 97: 598-603.

- Mena-Correa J., Sivinski J., Anzures-Dadda A., Ramírez-Romero R., Gates M. & Aluja M. (2010). Consideration of *Eurytoma sivinskii* Gates and Grissell, a eurytomid (Hymenoptera) with unusual foraging behaviors, as a biological control agent of tephritid (Diptera) fruit flies. *Biological Control* 53: 9-17.
- Menezes E., Menezes B. & Loiacono M. (2003). First record of *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) as a parasitoid of fruit-infesting tephritidae (Diptera) in Brazil. *Neotropical Entomology* 32: 355-358.
- Messing R.H. & Jang E.B. (1992). Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) to host-fruit stimuli. *Environmental Entomology* 21: 1189-1195.
- Montoya P., Liedo P., Benrey B., Cancino J., Barrera J. F., Sivinski J. & Aluja M. (2000). Biological control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in mango orchards through augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control* 18: 216-224.
- Muñoz A. & Marix G. (2009). Daños causados por *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) en parcelas de cítricos: Comparación de ataque a frutos del árbol y frutos en el suelo. *Boletín de sanidad vegetal* 35: 543-557.
- Muesebeck C. (1980). The Nearctic parasitic wasps of the genera *Psilus* Panzer and *Coptera* Say (Hymenoptera, Proctotrupoidea, Diapriidae). Washington U.S. Department of Agriculture 71.
- Nocholls- Estrada C.I. (2007). Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Medellín: Universidad de Antioquia, 282p.
- Norrbom A. & Foote R. (1989). The taxonomy of the genus *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). The fruit flies: their biology natural enemies and control. Elsevier Science 372.
- Noyes J. (2003). Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. www.nhm.ac.uk/entomology/chalcidoids/index.html.
- Núñez-Bueno L. (1989). Curso sobre Moscas de la Fruta. Instituto Colombiano Agropecuario (Ligia Nuñez Bueno). Colombia: Instituto interamericano de Cooperación para la Agricultura, Colombia.
- Orr D. (2009). Biological control and integrated pest management, pp. 207-239. En Rajinder P. & Ashok, K.D. (eds). *Integrated Pest Management: Innovation-Development Process* Springer, Dordrecht.
- Ovruski S.M., Bezdjian L.P., Van Nieuwenhove G.A., Albornoz-Medina P. & Schliserman P. (2011). Host preference by *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera:

- Braconidae) reared on larvae of *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist 94: 195-200.
- Phillips C.B., Baird D.B., Iline I.I., McNeill M.R., Proffitt J.R., Goldson S.L. & Kean J.M. (2008). East meets west: Adaptive evolution of an insect introduced for biological control. Journal of Applied Ecology 45: 948-956.
- Pimentel D. (1963). Introducing parasites and predators to control native pests. The Canadian Entomologist 95: 785-792.
- Purcell M.F. (1998). Contribution of biological control to integrated pest management of tephritid fruit flies in the tropics and subtropics. Integrated Pest Management Reviews 3: 63-83.
- R Development Core Team. (2011) R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0
- Roitberg B.D. & Lalonde R.G. (1991). Host marking enhances parasitism risk for a fruit-infesting fly *Rhagoletis basiola*. Oikos, 61(3), 389-393.
- Rousse P., Chiroleu F., Veslot J. & Quilici S. (2007). The host- and microhabitat olfactory location by *Fopius arisanus* suggests a broad potential host range. Physiological Entomology 32: 313-321.
- SAGARPA (2015). La Campaña Nacional contra Moscas de la Fruta. Consultado en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/372664/Programa_de_Sanidad_e_Inocuidad_Agroalimentaria_Campa_a_Moscas_de_la_Fruta_Presentaci_n_Ejecutiva.pdf.
- Sánchez-García J.A., Avendaño-Flores S., Martínez-Martínez L., Figueroa-de Rosa J.I. & López R.S. (2014). Parasitoides asociados a moscas de la fruta del género *Anastrepha* Schiner (Diptera: tephritidae) en Oaxaca, México. Parasitoids associated with fruit flies of genus *Anastrepha* Schiner (Diptera: Tephritidae) in Oaxaca, Mexico. Naturaleza y Desarrollo 12: 46-58.
- Sequeira R., Millar L., & Bartels D. (2001). Identification of susceptible areas for the establishment of *Anastrepha spp.* Fruit flies in the United States and analysis of selected pathways. Consultado en: https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/fruit_flies/downloads/is_a.pdf
- Sivinski J., & Calkins C. (1986). Pheromones and Parapheromones in the Control of Tephritids. The Florida Entomologist 69: 157-168.
- Sivinski J.M., Calkins C.O., Baranowski R., Harris D., Brambila J., Diaz J., ... Dodson, G. (1996). Suppression of a Caribbean fruit fly (*Anastrepha suspensa* (Loew) Diptera:

- Tephritidae) population through augmented releases of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control* 6: 177-185.
- Sivinski J., Vulinec K., Menezes E. & Aluja M. (1998). The bionomics of *Coptera haywardi* (Ogloblin) (Hymenoptera: Diapriidae) and other pupal parasitoids of Tephritid fruit flies (Diptera). *Biological Control* 11: 193-202.
- Stern V., Smith R., Van Den Bosch R. & Hagen K. (1959). The integration of chemical and biological control of the spotted alfalfa aphid he integrated control concept. *Hilgardia* 29: 81-101.
- Stuhl C., Sivinski J., Teal P., Paranhos B. & Aluja M. (2011). A compound produced by frugivorous tephritidae (Diptera) larvae promotes oviposition behavior by the biological control agent *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Environmental Entomology* 40: 727-736.
- Tooke F. (1953). The eucalyptus snout-beetle, *Gonipterus scutellatus* Gyll. A study of its ecology and control by biological means. Department of Agriculture and Forestry 282p.
- Turnbull A. (1967). Population dynamics of exotic insects. *Bulletin of the Entomological Society of America* 13: 333-337.
- Van Den Bosch R. (1968). Comments on population dynamics of exotic insects. *Bulletin of Entomological Society of America* 14: 112-115.
- Van Den Bosch R. (1971). Biological Control of Insects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 2: 45-66.
- Van Den Bosch R., Frazer B., Davis C., Messenger P., & Hom R. (1970). *Trioxys pallidus* an effective new walnut aphid parasite from Iran. *Californian Agriculture* 24: 8-10.
- Van Lenteren J.C. (2000). A greenhouse without pesticides: Fact or fantasy? *Crop Protection* 19: 375-384.
- Van Lenteren J.C., Roskam M.M. & Timmer R. (1997). Commercial mass production and pricing of organisms for biological control of pests in Europe. *Biological Control* 10: 143-149.
- Van Lenteren J.C., Ruschioni S., Romani R., van Loon J.J.A., Qiu Y.T., Smid H.M., Isidoro N., Bin, F. (2007). Structure and electrophysiological responses of gustatory organs on the ovipositor of the parasitoid *Leptopilina heterotoma*. *Arthropod Structure and Development* 36: 271-276.
- Van Nouhuys S. & Hanski I. (2000). Apparent competition between parasitoids mediated by a shared hyperparasitoid. *Ecology Letters* 3: 82-84.

- Van Oudenhove L., Mailleret L. & Fauvergue X. (2017). Infochemical use and dietary specialization in parasitoids: a meta-analysis. *Ecology and Evolution* 7: 4804–4811.
- Vargas R.; Mau R.F.L.; Jang E.B., Faust R.M. & Wong L. (2008). The Hawaii fruit fly areawide pest management programme publications from USDA-ARS / UNL Faculty. 656. <https://digitalcommons.unl.edu/usdaarsfacpub/656>
- Vargas R.I., Peck S.L., McQuate G.T., Jackson C.G., Stark J.D. & Armstrong J.W. (2009). Potential for areawide integrated management of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) with a braconid parasitoid and a novel bait spray. *Journal of Economic Entomology* 94: 817-825.
- Vet L.E. & van Opzeeland K. (1984) The influence of conditioning on olfactory microhabitat and host location in *Asobara tabida* (Nees) and *A. rufescens* (Foerster) (Braconidae: Alysiinae) larval parasitoids of Drosophilidae. *Oecologia* 63:171-177.
- Villagra, C. A., Vasquez, R. A., & Niemeyer, H. M. (2008). Olfactory conditioning in mate searching by the parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). *Bulletin of Entomological Research* 98: 371-377.
- Vinson S. (1985). The behaviour of parasitoids. *Comprehensive insect physiology, Biochemistry and Pharmacology* 9: 417-469.
- Warren J. (1983). Sex ratio evolution under local mate competition in a parasitic wasp. *Evolution* 37: 116-124.
- Weems H., Heppner J., Steck G., Fasulo T. & Nation J. (2001). Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Loew)) (Diptera: Tephritidae). Florida Department of Agriculture and Consumer Services 5.
- Wellings, P. W., Morton, R., & Hart, P. J. (1986). Primary sex-ratio and differential progeny survivorship in solitary haplo-diploid parasitoids 11: 341-348.
- Wharton R. (1997). Subfamily Opiinae. *Manual of the New World Genera of the Family Braconidae* (Hymenoptera). The International Society of Hymenopterists Eds. 1997: 378-395.
- Wilson L & Willy M. (2011). Infección de *Anastrepha ludens* (Loew) con el hongo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. aplicado en suelo con diferente humedad y temperatura. Facultad de Ciencias Agrícolas, Chiapas, México D.F.