ECOSUR

El Colegio de la Frontera Sur

Atributos de *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) como enemigo natural en el control biológico múltiple de moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae)

TESIS
presentada como requisito parcial para optar al grado de
Doctorado en Ciencias en Ecología y Desarrollo Sustentable

por

Jorge Luis Cancino Diaz

2012

Para Donaji, Lía y Rodrigo

Ayer soñé con los hambrientos, los locos,
con los esclavos, los que están en prisión,
Hoy desperté cantando esta canción…..
Es necesario cantarla de nuevo una vez más

Charly García

Agradecimientos

Gracias a los maestros del ECOSUR de quienes tuve la oportunidad de aprender cosas nuevas y tomar un sentido más critico para analizar la ecología de una nueva perspectiva más incluyente.

De igual manera mi extensivo agradecimiento al personal de ECOSUR quienes en su mayoría con amistad y sencillez apoyaron cualquier actividad relacionada con el proceso para obtener el grado.

Especial agradecimiento al M. C. Javier Valle Mora, quien siempre mostró interés y mucha amistad para resolver mis problemas estadísticos, al personal de la Biblioteca de la Unidad Tapachula quienes siempre estuvieron disponibles para conseguir cualquier información.

Es de reconocerse la siempre dedicada atención que me prestaron los encargados del Posgrado de la Unidad Tapachula durante mi estancia en esta institución, Dr. Jaime Gómez, Dr. Alfredo Castillo y Dr. Ricardo Bello.

Sin el apoyo de Melitón, Arely, Janeth y Angélica (compañeros de mi generación), el comienzo hubiera sido más difícil, creo que después de todo la pasamos bien. Los compañeros de la generación de Maestría 2006-2008 fueron también elementos importantes en el inicio.

A las encargadas de la oficina de posgrado de la Unidad Tapachula, Rosalba Morales y Bety Romero, de quienes obtuve soluciones muy atentas ante mis problemas administrativos.

Sin duda alguna la paciencia para aguantar todo este período, así como la responsabilidad que tomaron para justificar mi presencia en ECOSUR se lo debo al M. C. José Manuel Gutiérrez Ruelas (Director de la Campaña Nacional contra Moscas de la Fruta) y al Dr. Pablo Montoya (Subdirector de Desarrollo de Métodos).

A todo el personal del Departamento de Control Biológico de la Planta Moscafrut, de quienes recibí el apoyo incondicional para realizar gran parte de las actividades técnicas para cubrir esta tesis. En especial agradezco a la Ing. Gladis López, a la M. C. Patricia López y lo máximo para la M. C. Lía Ruiz. Me siento eternamente gratificado con la amistad de la Biol. Flor de María Moreno, el Biol. José Arredondo y el Dr. Sergio Ovruski quienes siempre se pusieron de mi lado, aunque muchas veces la razón no fue mi mejor compañera.

Algo para lucir a sido la gran oportunidad que he tenido en mi vida de tener Comités de lujo durante mis diferentes etapas, en esta ocasión no solamente no fue la excepción, si no que se presta para interpretar como un cierre con broche de oro.

En este caso invite al Dr. Juan Barrera Gaytán, quien muy amablemente aceptó y de quien recibí muy buenos comentarios para corregir y fortalecer mis posiciones.

El animo, apoyo y amistad del Dr. Pablo Montoya y sin duda alguna su atención tuvo un papel preponderante para estructura y darle la calidad necesaria al presente trabajo.

El Dr. Martín Aluja no dudó en apoyarme en cualquier momento, su simple presencia en el Comité exigió calidad y mucha fortaleza en el planteamiento de las investigaciones y su cumplimiento.

Por tercera vez recibo la tutoría del Dr. Pablo Liedo quien animosamente aceptó de nuevo entrar a otro proyecto para mi formación, aunque la endogamia intelectual puede ser un problema, analizar la ecología con simples parámetros demográficos lo convierte en una actividad inconcluyente. Bueno fuera tener otra cuarta oportunidad para seguir discutiendo los datos y admirarse de su increíble sencillez y amabilidad.

Un agradecimiento especial al Dr. John Sivinski (USDA-ARS, Gainsville, Florida), quien desinteresadamente apoyó parte de los trabajos presentados y parte medular de muchas de las ideas vertidas.

En la fase final del trabajo los Doctores Jorge Toledo, Jaime Gómez y Alfredo Castillo realizaron una revisión exhaustiva para darle el fino acabado a la tesis.

Gracias a el CONACYT por la beca recibida.

Ruego mis disculpas por omitir muchas gentes que durante estos años brindaron su amistad y cariño para seguir adelante.

Contenido

CAPITULO 1
1.1. Introducción 1
1.2. Objetivos 3
1.2.1 Objetivo general 3
1.2.2 Objetivos particulares 4
1.3. Marco teórico 4
1.3.1. Problemática de las moscas de la fruta 4
1.3.2. El manejo integrado de plagas y el control biológico de moscas de la fruta 6
1.3.3. Entre los mitos y la realidad del control biológico de moscas de la fruta 7
1.3.4. La necesidad de aplicar el control biológico en moscas de la fruta 10
1.3.5. Optimizar el control biológico 11
1.3.6. El dilema del control biológico múltiple 13
1.3.7. El nicho ecológico y la competitividad 15
1.3.8. La exclusión y los beneficios de la coexistencia 16
1.3.9. La discriminación de hospederos y su importancia en la coexistencia de parasitoides 17
1.3.10. La coexistencia como base del control biológico múltiple 19
1.3.11. El control biológico múltiple como factor de mortalidad 21
1.3.12. Los atributos de los parasitoides y la definición de una estrategia 22

CAPITULO 2.
Discriminación de *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) de hospederos previamente atacados por el parasitoide de larvas *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae).
2.1. Introducción 25
2.2. Materiales y métodos 28
2.2.1. Arena de observación y colecta de datos de comportamiento 28
2.2.2. Discriminación de pupa parasitada 29
2.2.3. Discriminación de pupa superparasitada 29

2.2.4. Discriminación de acuerdo a la edad de la hembra 30
2.2.5. Disección de pupas y emergencia 31
2.2.6. Análisis de datos 31
2.3. Resultados 32
2.3.1. Discriminación de pupa parasitada 32
2.3.2. Discriminación de pupa superparasitada 35
2.3.3. Discriminación de acuerdo a la edad de la hembras 37
2.3.4. Disección de pupas y emergencia 37
2.4. Discusión 38

CAPITULO 3.
Parasitismo complementario de *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae y *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) para el control biológico de moscas de la fruta.
3.1. Introducción 43
3.2. Materiales y métodos 46
3.2.1. Condiciones experimentales 46
3.2.2. Exposición de hospederos a parasitoides 47
3.2.3. Parasitismo en unidades artificiales 47
3.2.4. Parasitismo en frutos 49
3.2.5. Parasitismo en frutos en jaulas de campo 50
3.2.6. Análisis estadístico 52
3.3. Resultados 53
3.3.1. Parasitismo en unidades artificiales 53
3.3.2. Parasitismo en frutos 56
3.3.3. Parasitismo en jaulas de campo 59
3.4. Discusión 61

CAPITULO 4.
Tabla de vida de decremento múltiple: Análisis de la mortalidad de moscas del género *Anastrepha* causadas por dos especies de parasitoides.
4.1. Introducción 69
4.2. Materiales y métodos 71
4.2.1. Material biológico 71

4.2.2. Infestación de frutas 72
4.2.3. Mantenimiento de las frutas infestadas y pupas 72
4.2.4. Tratamientos 72
4.2.5. Exposición a parasitoides 73
4.2.6. Muestreos para contabilizar mortalidad 73
4.2.7. Análisis de datos 75
4.3. Resultados 77
4.4. Discusión 84

CAPITULO 5.
Supervivencia, fecundidad y dispersión de *Diachasmimorpha longicaudata* y *Coptera haywardi* en un gradiente altitudinal.
5.1. Introducción 92
5.2. Materiales y métodos 93
5.2.1. Área de estudio 93
5.2.2. Supervivencia y fecundidad 94
5.2.3. Evaluaciones de dispersión 96
5.3. Resultados 97
5.3.1. Supervivencia y fecundidad 97
5.3.2. Dispersión 102
5.4. Discusión 105

CAPITULO 6
6.1. Discusión general 111
Literatura Citada 115

Figuras

Fig. 2.1. Número de hembras de *C. haywardi* que ovipositaron a pupa parasitada y a pupa no parasitada. 33
Fig. 2.2. Proporción de hembras de *C. haywardi* que no respondieron al hospedero potencial en 20 min de espera. 35
Fig. 2.3. Número de hembras de *C. haywardi* que ovipositaron a la pupa parasitada y a pupa no parasitada, presentando diferentes niveles de superparasitismo de *D. longicaudata*. 36
Fig. 2.4. Proporción de hembras de *C. haywardi* de diferente edad que respondieron a los puparios parasitados y no parasitados. 39
Fig. 3.1. Porcentajes de parasitoides emergidos de larvas expuestas a *D. longicaudat* y pupas expuestas a *C. haywardi* por separado o con exposición secuencial a ambos parasitoides. 55
Fig. 3.2. Relación entre parasitoides emergidos de hospederos expuestos secuencialmente a) *D. longicaudata* (como larva) y *C. haywardi* (como pupa). 55
Fig. 3.3. Modelo de árbol aplicado a los datos de largo, ancho, volumen y peso de fruta expuesta: a) *D. longicaudata* y b) *C. haywardi*. 58
Fig. 4.1. Curvas de supervivencia de *A. ludens* en mango criollo, mango Ataulfo y *A. serpentina* en chicozapote expuestas a *D. longicaudata* y *C. haywardi* por separado y con exposición secuencial. 83
Fig. 5.1. Curvas de supervivencia de *D. longicaudata* y *C. haywardi* a diferentes alturas. 99
Fig. 5.2. Curvas de fecundidad de *D. longicaudata* y *C. haywardi* a diferentes alturas. 100
Fig. 5.3. Relación de temperatura y mortalidad diaria (dx) de *D. longicaudata* y *C. haywardi.* 103
Fig. 5.4. Dispersión de *D. longicaudata* y *C. haywardi* medido a través de las emergencias de adultos en dispositivos con hospederos colocados a diferentes distancias. 104
Fig. 5.5. Dispersión de *D. longicaudata* de acuerdo al modelo geoestadístico. 104

Cuadros

Cuadro 2.1. Tiempos promedio (± E. S.) en minutos de diferentes componentes del comportamiento de búsqueda de hembras *C. haywardi* provistas con diferentes opciones de selección de hospederos. 34

Cuadro 2.2. Tiempos promedios (± E. S.) en minutos de los componentes del comportamiento de búsqueda de hembras de *C. haywardi* con hospederos teniendo diferentes niveles de superparasitismo de *D. longicaudata*. 36

Cuadro 3.1. Promedio de parasitoides emergidos y su proporción sexual y promedio y proporción de moscas emergidas de hospederos expuestos a *D. longicaudata* (como larvas) y *C. haywardi* (como pupas) por separado y con exposición secuencial. 54

Cuadro 3.2. Parasitoides y moscas (promedio ± E. S.) de dos tipos de mangos y chicozapote infestados con larvas de *Anastrepha* y expuestas en diferentes tratamientos a *D. longicaudata* y *C. haywardi* en condiciones de laboratorio. 57

Cuadro 3.3. Emergencia de parasitoides y moscas (promedio ± E. S.) empleando fruta de dos tipos de mango y chicozapote infestados con larvas de *Anastrepha* y expuestas a diferentes tratamientos con *D. longicaudata* y *C. haywardi* en jaulas de campo. 62

Cuadro 3.4. Comparación entre emergencias de *D. longicaudata* y *C. haywardi* obtenidas en campo y en laboratorio. 63

Cuadro 4.1. Promedios (± E. S.) de clutch, huevos, porcentaje de eclosión y mortalidad de huevos por fruta en los diferentes tratamientos con mango (criollo y var. Ataulfo) y chicozapote. 81

Cuadro 4.2. Promedios (± E. S.) del número y mortalidad de larvas de segundo y tercer estadio y pupa de moscas desarrolladas en mangos (criollo y var. Ataulfo) y chicozapote. 82

Cuadro 4.3. Tabla de vida de decremento múltiple de *A. ludens* desarrollada en mango criollo con exposición a los parasitoides: *D. longicaudata* y *C. haywardi* (expuestas por separado a cada especie de parasitoide y con exposición secuencial a ambos parasitoides). 87

Cuadro 4.4. Tabla de vida de decremento múltiple de *A. ludens* desarrollada en mango

var. Ataulfo con exposición a los parasitoides: *D. longicaudata* y *C. haywardi* (expuestas por separado a cada especie de parasitoide y con exposición secuencial a ambos parasitoides). 88

Cuadro 4.5. Tabla de vida de decremento múltiple de *A. serpentina* desarrollada en chicozapote con exposición a los parasitoides: *D. longicaudata* y *C. haywardi* (expuestas por separado a cada especie de parasitoide y con exposición secuencial a ambos parasitoides). 89

Cuadro 5.1. Parámetros poblacionales de *D. longicaudata* y *C. haywardi* obtenidos a diferentes alturas en condiciones climáticas secas y de lluvias, Región del Soconusco, Chiapas, México. 101

RESUMEN

El endoparasitoide solitario *Coptera haywardi* (Oglobin) (Hymenoptera: Diapriidae) tiene una relación muy específica hacia pupas de moscas del género *Anastrepha* (Schiner) (Diptera:Tephritidae). Esto le confiere especial atención para emplearlo como un parasitoide complementario en el control biológico de moscas de la fruta. Para lo cual se realizaron cuatro evaluaciones.

En la primera se demostró que *C. haywardi* tiene una alta capacidad de discriminar pupas que previamente fueron parasitadas por el parasitoide de larvas *Diachasmimorpha longicaudata* (Ahsmead) (Hymenoptera: Braconidae). En una segunda evaluación se obtuvo que tanto en unidades de oviposición aritificiales, como en diferentes frutos en condiciones de laboratorio y campo, el parasitismo de ambas especies incrementó la mortalidad de larvas. El mayor volumen de pulpa de los frutos sirvió a las larvas de *Anastrepha* spp. como refugio del parasitismo de *D. longicaudata*, lo que permitió que en estado de pupa la acción de *C. haywardi* fuera más evidente. En la tercera evaluación se tomaron los datos de la exposición secuencial de ambos parasitoides para conocer su efecto como factores de mortalidad en poblaciones de moscas. Se construyó una tabla de vida de decremento múltiple, para comprobar que la mortalidad que infringen las dos especies de parasitoides es mayor que la ocasionada por la acción de una sola especie. Finalmente en un estudio demográfico se encontró que *C. haywardi* tiene una tasa intrínseca de incremento negativa por debajo de lo 500 msnm, lo cual limita su acción a las condiciones ambientales características de altura superiores (menos cálidos y más húmedos), por su parte *D. longicaudata* tiene una rango acción efectiva más amplio. Bajo condiciones adecuadas, *C. haywardi* tiene un período de supervivencia promedio de 10 días que puede ser clave para dispersarse distancias cercanas a los 100 m.

Con base a los resultados se sugiere realizar liberaciones de múltiples especies de parasitoides para un control biológico de moscas de la fruta más eficiente.

Palabras claves: control biológico múltiple, discriminación interespecífica, parasitismo múltiple, tabla de vida de decremento múltiple, demografía de parasitoides, *C. haywardi*, *D. longicaudata*.

CAPITULO 1

1.1. Introducción

La fruticultura ha sido una importante impulsora del desarrollo regional, enmarcando su producción en un ambiente de alta competitividad en el comercio interno y externo. Esto implica que se tenga interés en el cuidado de la producción y la calidad, donde las plagas juegan un papel muy importante. Las moscas de la fruta del género *Anastrepha* (Schiner) (Diptera: Tephritidae) resultan ser las plagas de mayor interés de la fruticultura en América. En el ámbito comercial, la simple presencia de una especie en una zona de producción frutícola, puede implicar el establecimiento de barreras cuarentenarias o el cierre de la comercialización (Aluja, 1994).

El control de esta plaga se lleva a cabo mediante la aplicación de un manejo integrado, donde confluyen diferentes técnicas para suprimir poblaciones y evitar la movilización de fruta infestada (Arauni *et al*., 1996; Barnes y Venter, 2006).

El control biológico es una de las técnicas que contribuye al manejo de esta plaga. Su efectividad por medio de liberaciones aumentativas de parasitoides ha sido demostrada (Wong *et al.*, 1991). Además tiene una amplia aceptación social debido a que se considera de bajo impacto ambiental.

En el caso de moscas del género *Anastrepha* las liberaciones aumentativas del endoparasitoide de larvas *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) ocasionan una sustancial reducción en las poblaciones plaga (Sivinski *et al*., 1996; Montoya *et al*., 2000). Los niveles de parasitismo que se han obtenido son de alrededor del 50%, los cuales podrían incrementarse con

la liberación de una segunda especie de parasitoide que complementara la acción de *D. longicaudata*.

Una de las alternativas es integrar un parasitoide de pupas, lo cual fue propuesto desde la década de los cincuentas del siglo pasado (Dresner, 1954). La idea no prosperó por no contar con una especie que discriminara las pupas parasitadas de manera eficiente. Esta propuesta retoma interés con *Coptera haywardi* (Oglobin), endoparasitoide con una asociación muy específica a pupas de moscas del género *Anastrepha* (Sivinski *et al*., 1998)

La integración de dos o más parasitoides para el control de una plaga se le ha denominado control biológico múltiple (DeBach, 1984; Pedersen y Miles, 2004). Cuando dos o más especies de parasitoides se emplean para el combate de una misma población de plaga se sugieren estudios previos que indiquen la conveniencia de esta integración. Normalmente la aplicación de un control biológico múltiple se ha desarrollado en base a aplicaciones directas con resultados prácticos que han indicado las ventajas de suprimir la población plaga con la combinación de parasitoides (Denoth *et al*., 2002).

El control biológico múltiple implica la consideración de diferentes conceptos ecológicos que ayuden a explicar la acción integrada de parasitoides sobre un hospedero. En donde resulta obligatoria la coexistencia de las especies de parasitoides. Esto significa que las relaciones biológicas antagónicas entre estas especies estén minimizadas (Hacket-Jones *et al*., 2009). La solida división de los nichos debe permitir que los recursos se compartan, especialmente los hospederos, por lo que debe haber una coexistencia basada en un traslape de nichos (Bonsall *et al*., 2002; Amarasekare, 2000).

En el presente trabajo se plantearon una serie de estudios para determinar la viabilidad de la aplicación conjunta de *D. longicaudata* y *C. haywardi* en el control biológico de moscas del género *Anastrepha*. Inicialmente se presenta el marco teórico que fundamenta y justifica los objetivos. En la primera evaluación se analizó la capacidad de *C. haywardi* para discriminar pupas que fueron parasitadas previamente como larvas por *D. longicaudata*. Después se evaluó las posibilidad de incrementar el parasitismo con la aplicación de *D. longicaudata* y *C. haywardi* secuencialmente. Los datos obtenidos fueron analizados por medio de la tabla de decremento múltiple (Carey, 1993), para estimar la mortalidad provocada por cada una de estas dos especies. Finalmente, se muestran datos indicadores de las capacidades de supervivencia, fecundidad y deplazamiento de ambas especies en diferentes condiciones ambientales.

El trabajo aporta los elementos básicos para conocer la viabilidad y conveniencia del uso conjunto de *D. longicaudata* y *C. haywardi* en el control biológico de moscas del género *Anastrepha*.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Evaluar atributos biológicos de *C. haywardi* como parasitoide complementario de la acción de *D. longicaudata*, así como conocer el efecto sinergico de estas dos especies de parasitoides en el control biológico de moscas de la fruta.

1.2.2. Objetivos particulares

Conocer la capacidad de *C. haywardi* de discriminar pupas parasitadas previamente por *D. longicaudata* en estado larvario.

Evaluar el parasitismo acumulado por la oviposición de *D. longicaudata* y *C. haywardi* en condiciones de laboratorio y en diferentes frutos hospederos de moscas *Anastrepha* spp.

Analizar por medio de la tabla de decremento múltiple la mortalidad de moscas causada por ambas especies de parasitoides individualmente y en forma conjunta.

Determinar las condiciones favorables para liberar *D. longicaudata* y *C. haywardi* y la capacidad de desplazamiento de cada especie.

1.3. Marco teórico

1.3.1 Problemática de las moscas de la fruta

La producción frutícola representa una de las actividades económicas de mayor importancia a nivel mundial. Diferentes regiones del mundo dependen prioritariamente de la producción frutícola para mantener su desarrollo local. El programa contra moscas de la fruta en México ha tenido un beneficio directo e indirecto de 45.87 y de 29.26 %, respectivamente con respecto a las inversiones realizadas durante treinta años (Salcedo-Baca et al., 2010).

El ámbito internacional, en el cual se lleva a cabo la comercialización de frutas es un medio altamente competitivo. La calidad más que la cantidad representa la mejor alternativa para el mejor negocio de los productos frutícolas. A la vez, las plagas y la inocuidad son factores determinantes para la elección de los productos. En diferentes regiones frutícolas se presentan determinados problemas que limitan o en ocasiones cierran totalmente la comercialización de los productos. Un caso típico es la formación de barreras cuarentenarias para la comercialización en una región específica.

Las moscas de la familia Tephritidae son el referente más directo para establecer restricciones en las negociaciones de comercialización de frutas en una región determinada. Esta es una plaga que afecta directamente el producto final, es el resultado de la oviposición de una o diferentes especies de moscas sobre una especie de fruto. El desarrollo de la larva al interior del fruto provoca un daño directo y por lo tanto un rechazo total a la comercialización (Aluja y Mangan, 2008). Estas especies se encuentran ampliamente distribuidas, son un grupo muy diverso, presente en las regiones tropicales, subtropicales, así como templadas (Korneyev, 1999; Hernández-Ortíz *et al*., 2010). Presentan amplia polifágia y alta capacidad de adaptación (Liquido *et al*., 1990), lo que se manifiesta en un alto nivel de incremento poblacional, características que hacen de estas moscas un grupo de alto riesgo. Actualmente los métodos de control incluidos en un manejo integrado de estas especies plagas han permitido, en muchos casos, la apertura de la comercialización de frutas en diferentes regiones o países. En algunos casos, los avances han permitido la apertura de otras opciones de comercialización como las denominadas zonas de baja prevalencia o zona libre (Santiago, 2010). Con esto se ha ampliado la

apertura comercial de la fruticultura en diferentes partes, siendo en ocasiones un factor importante para el desarrollo regional.

1.3.2. El manejo integrado de plagas y el control biológico en moscas de la fruta

La conjunción de diferentes técnicas ha sido hasta ahora la mejor opción para el control de esta plaga y en algunos casos la manera más efectiva para lograr la erradicación de especies introducidas (Enkerlin, 2005). En algunos casos se ha logrado que regiones enteras se consideren libres de moscas de la fruta, facilitando la comercialización de los productos y dando opciones para alcanzar mejores precios en el mercado internacional (ISPM-FAO, 2010). Este objetivo se logra con un trabajo eficiente en el manejo del huerto, la aplicación de diversas técnicas de control, el establecimiento de tratamientos postcosecha y reforzado con una legislación fitosanitaria (Aluja y Mangan, 2008). En algunas regiones esta estrategia ha sido adoptada por programas gubernamentales, que en su mayoría utilizan la Técnica del Insecto Estéril (TIE) como fundamento de la estrategia con la liberación de moscas y en algunos casos la liberación de enemigos naturales.

Para la aplicación exitosa de la TIE es necesaria la reducción de poblaciones de moscas en las áreas bajo control. El control químico, utilizando cebos-insecticidas ha tenido un efecto notorio e impactante (Peck y McQuate, 2000). Este tipo de control gradualmente se ha mejorado, contando hoy con insecticidas de origen orgánico, de bajo impacto ambiental que aplicados con cebos alimenticios permiten una acción más selectiva (McQuate *et al*., 2005).

Sin embargo, se pueden enumerar tres aspectos negativos importantes: 1) su efecto es de corta duración, en menos de una generación en especies multivoltinas, la población se mantiene casi en los mismos niveles; 2) su aplicación es costosa, aunque sus facilidades de aplicación a nivel extensiva lo hacen ser preferidas y 3) su efecto negativo sobre el ambiente.

Como una alternativa al control químico se ha propuesto el control biológico, alternativa apreciada ampliamente pero discutida en cuanto a su efectividad y manejo (Sivinski, 1996). En la siguiente sección se hace una breve revisión y un balance sobre la fortaleza y las debilidades del control biológico de moscas de la fruta.

1.3.3 Entre los mitos y la realidad del control biológico de moscas de la fruta

El control biológico como otras técnicas de supresión de poblaciones de moscas debe aplicarse a nivel regional. Esto implica que un programa regional lo adopte como una opción; sin embargo, en diferentes programas de diferentes partes del mundo discuten su eficacia. Las principales controversias giran entre los costos de producción de parasitoides, la relación costo-beneficio y en otras ocasiones se exige la reducción sustancial de la población de moscas con indicadores como el MTD (Moscas por Trampa por Día). Estas opiniones al parecer están muy relacionadas con la percepción que se ha tenido durante el desarrollo del control biológico como propuesta para reducir poblaciones de moscas.

Por principio, la amplia diversidad de las especies de moscas de la fruta es una razón de la alta diversidad de enemigos naturales. Wharton y Gilstrap

(1983) consideran que existen alrededor de 100 especies de parasitoides que infligen un control natural sobre las poblaciones de moscas. Los trabajos con parasitoides para el control de moscas de la fruta se iniciaron en los primeros años del siglo veinte, esto permitió formular una gran cantidad de propuestas que posteriormente fueron valoradas (Purcell, 1998). Cuando *Bactrocera dorsalis* (Hendel) invadió Hawaii a mediados de los años cuarenta, se reforzaron los intentos de introducir parasitoides para regular sus poblaciones. En esta, que se puede considerar la segunda etapa del control biológico de moscas de la fruta, más de treinta especies de enemigos naturales, preponderantemente parasitoides fueron liberados (Bess *et al*., 1961). Fue en este período que se lograron tener avances concretos en la cría masiva, manejo y evaluación de parasitoides en campo. Los resultados obtenidos en esta fase se pueden considerar altamente optimistas, pero se enfrentaron a la cruda realidad, la baja trascendencia que tenían para el control efectivo de poblaciones de moscas de la fruta, debido al bajo o nulo nivel de tolerancia que se requiere en el manejo de estas plagas (Wharton, 1989).

Una tercera etapa consistió en el desarrollo del Control Biológico por Aumento (CBA), partiendo de los avances técnicos logrados en la cría masiva de insectos. Este concepto fue modelado de manera convincente por Knipling (1993). La necesidad de hacer liberaciones masivas y periódicas de enemigos naturales en un área extensa, se debe a que las poblaciones plaga tienen mayor capacidad de dispersión y una alta fecundidad y supervivencia, atributos que se encuentran por encima de la capacidad de sus enemigos naturales para regular poblaciones a los niveles requeridos (Messing *et al*., 1994). La baja tasa de incremento natural de las poblaciones de enemigos naturales hacen que el

control exigido para las poblaciones plaga sea ineficiente (Grasman *et al*, 2001).

Bajo el concepto del CBA diferentes experimentos se llevaron a cabo para la supresión de la mosca del Mediterraneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), y la mosca del melón, *Bactrocera cucurbitae* (Wong *et al*., 1991, Wong *et al*., 1992, Vargas *et al*., 2001) en Hawaii. Posteriormente se evaluaron con poblaciones de moscas del género *Anastrepha* en Florida y en el Sureste de México (Sivinski *et al*., 1996; Montoya *et al*., 2000). En todos los casos la conclusión fue que las liberaciones aumentativas de parasitoides suprimían el crecimiento poblacional de las moscas, reflejándose en la captura de adultos en trampas y en el porcentaje de infestación de frutos. Estos decrementos estuvieron acompañados del incremento en los niveles de parasitismo de las especies liberadas.

En los últimos años las liberaciones aumentativas de parasitoides no es la única opción dentro del control biológico de moscas de la fruta. La alta disponibilidad de nuevas crías de otras especies, actualmente, ha permitido que se retome el uso de parasitoides bajo el concepto del control biológico clásico. En este caso, Vargas *et al*. (2007) llevaron a cabo la introducción de *Fopius arisanus* (Sonan), un parasitoide muy eficiente en poblaciones de moscas del género *Bactrocera* spp., en la Polinesia Francesa. Esta estrategia permitió resultados favorables en la reducción de poblaciones plaga. Diferentes experimentos en campo han presentado resultados muy similares; sin embargo, es concluyente que la aplicación unica del control biológico no trasciende en los indicadores poblacionales de moscas, para lo cual es necesario recurrir el manejo integrado regional de la plaga. No obstante, queda

pendiente de manera muy necesaria llevar a cabo un estudio de la relación costo-beneficio.

1.3.4. La necesidad de aplicar el control biológico en moscas de la fruta

El uso exclusivo del CBA para el control de poblaciones de moscas de la fruta es difícil considerarlo eficiente. Esto conlleva a plantear la siguiente pregunta: ¿Cuál sería la importancia de incluir el control biológico dentro del manejo integrado regional? La respuesta no es sencilla, pero se pueden tomar diferentes elementos que permitan deducir su efecto.

En el aspecto sinérgico, las liberaciones masivas de parasitoides pueden tener un efecto integral con las liberaciones de moscas estériles en la reducción de poblaciones de moscas. Wong *et al.* (1992), reportan que la reducción de las poblaciones pueden multiplicarse hasta cinco veces comparado con el uso de una sola de las dos técnicas. De igual manera Vargas *et al*. (2001), concluyeron que el CBA permite cubrir espacios y tiempos que dejan libres otros métodos de control.

Un caso son las especies de plaga nativas (p. e. género *Anastrepha*), en donde los frutos silvestres, que en muchas ocasiones son los hospederos nativos de moscas. Estos frutos se ubican en áreas aledañas a las zonas comerciales con control y representan una fuente de reintroducción de la plaga. La liberación de parasitoides en estas áreas silvestres con alta infestación representa una opción en donde el control biológico retoma alta importancia.

Otros escenarios en donde el CBA puede representar una alternativa son: 1) la liberación de parasitoides en zonas marginales (cañones, vegetación silvestre densa) o de difícil acceso, 2) después del período de aplicación de

otras acciones de control, cuando los huertos con fruta no comercializable se puede convertir en un foco de infestación regional y 3) en áreas protegidas (áreas con producción orgánica o reservas ecológicas) con abundancia de hospederos silvestres, en donde las poblaciones de moscas están adaptadas para incrementar sus niveles poblacionales. (Aluja y Birke, 1993; Montoya y Cancino, 2004). En general, el empleo del CBA, como elemento del manejo integrado se ha observado que aporta beneficios. Un diseño adecuado permite que sea una técnica que contribuyen a lograr niveles de baja prevalencia o en su momento mantener barreras para cuidar áreas libres (Montoya y Cancino, 2004). México es uno de los países que ha liderado la aplicación de parasitoides para el control de moscas, en particular del género *Anastrepha* (Montoya *et al*., 2007). Conjuntamente con la aplicación de un manejo integrado en muchas áreas de interés comercial, se han logrado establecer niveles de baja prevalencia y área libres de moscas de la fruta. Estos resultados representan una aportación tangible y con posibilidades de evaluar el costo de inversión y los beneficios generados. No obstante, la respuesta ante un cuestionamiento general requiere fortalecerse, quedando espacios que en ocasiones son una fuente, tal vez poco justificada de dudas.

1.3.5. Optimizar el control biológico

Existen diferentes avances técnicos que permiten generar propuestas para hacer más eficiente el control biológico de moscas de la fruta con parasitoides. Desde, la exigente reducción de costos de producción de parasitoides, hasta la definición de estrategias para la aplicación y evaluación en campo, planteandose diferentes opciones.

La liberación conjunta de diferentes especies de parasitoides que permitan hacer una acción más complementaria parece ser una propuesta con buenas perspectivas. Desde, la que se puede considerar una segunda etapa en la historia del control biológico de moscas de la fruta, se planteo concretamente el uso de parasitoides de pupas, conjuntamente con parasitoides de larva, lo que pudieran incrementar el parasitismo. Desafortunadamente la propuesta no tuvo mayor impulso debido a la falta de especificidad de los parasitoides de pupa y por que muchas de estas especies actuan como hiperparasitoides (Dresner, 1954). Aunque posteriormente Wang y Messing (2004a, 2004c) plantearon diferentes ventajas con la aplicación de parasitoides de pupas, incluyendo su combinación con parasitoides de larva.

El conocimiento de los atributos de “nuevas” especies de parasitoides que atacan diferentes estados de moscas hace renacer constantemente esta propuesta. Cuando se pretendió aplicar el parasitoide de huevos *Fopius arisanus* (Sonan) se evaluó la factibilidad de integrarlo con parasitoides de larva. Desafortunadamente, los estados inmaduros de un segundo parasitoide fueron eliminadas por las larvas de *F. arisanus* (Wang y Messing, 2003; Wang y Messing, 2004a).

La competencia intrínseca que se da al interior del hospedero entre dos especies de parasitoides, se ha reconocido como el principal factor antagónico que no permite combinar parasitoides para el control de plagas (Darrouzet et al., 2008). Poco se conoce acerca de la competencia extrínseca que se da a nivel de adultos, aunque a partir de las interacciones entre varias especies de parasitoides de larvas del género *Anastrepha* se puede estructurar un gremio de parasitoides (García-Medel et al., 2007). La propuesta de integrar diferentes

especies parece ser viable, pero requiere como condición que las especies empleadas tengan mecanismos de exclusión mutua que disminuyan la competencia antagónica (De Moraes *et al*., 1999).

1.3.6. El dilema del control biológico múltiple

Existe controversia sobre la mejor propuesta, entre usar solo una especie de parasitoide o hacer un uso integral de diferentes especies (Kakehashi *et al*., 1984; Pedersen y Mills, 2004). El uso de especies múltiples en el control biológico requiere que estas tengan la capacidad de excluirse. De acuerdo a Denoth *et al*. (2002), el empleo de diferentes especies de parasitoides contra una especie plaga tiene un riesgo muy alto de provocar competencia interespecífica. Diferentes resultados obtenidos en campo indican que los mayores éxitos en el control biológico de plagas han sido obtenidos usando una sola especie de parasitoide.

Para el control biológico de moscas de la fruta, los mejores parasitoides han resultado ser, *F. arisanus,* parasitoide de huevos, para moscas del género *Bactrocera* y *D. longicaudata*, parasitoide de larvas, para el control de moscas del género *Anastrepha* (Montoya *et al*., 2000; Vargas *et al*., 2001). Ambas especies tienen una limitante común, que no alcanzan a cubrir el total de la población de moscas. Alrededor de un 50% de la población de hospederos escapa del ataque de los parasitoides (Sivinski et al., 1996; Montoya et al., 2000). Considerando el alto potencial de recuperación que tienen las poblaciones de moscas de la fruta, es necesario pensar en el empleo de una segunda especie que permita reducir aún más a las poblaciones.

En el presente trabajo se retoma esta idea, aplicando el caso de *Coptera haywardi* (Oglobin) un parasitoide de pupa, específico para moscas de la fruta y del género *Anastrepha* (Sivinski *et al*., 1998). Un atributo adicional requerido para considerar a esta especie como un enemigo natural efectivo, es su capacidad para la discriminación de pupas que fueron previamente parasitadas por *D. longicaudata* en estado de larvas. En consecuencia, la primera pregunta que se plantea en esta tesis es: ¿Qué capacidad tiene *C. haywardi* de discriminar pupas parasitadas que fueron parasitadas como larva?

Respondiendo a esta pregunta, podremos evaluar la integración de este parasitoide con otro de larvas. Esto implicaría partir de un principio más completo que es el control biológico múltiple. La idea del control biológico múltiple se ha propuesto a raíz del concepto general de que el equilibrio poblacional de una especie se gobierna por la influencia de diferentes factores, que incluyen múltiples enemigos naturales (Hackett-Jones *et al*., 2009).

Diferentes especies plagas han sido suprimidas bajo este principio, por ejemplo, *Phoracantha semipunctata* (F.) (Coleoptera: Cerambycidae) una plaga de la corteza de los árboles han sido controlados con el empleo de tres especies de parasitoides (Paine *et al*., 2000). Otro caso es la reducción de poblaciones de *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidrae), una plaga forestal, debida a la acción conjunta de dos especies de parasitoides (Cusson *et al*., 2002). El ataque del parasitoide *Aphelinus asychis* Walker (Hymenoptera: Aphelinidae) para controlar a los afídos que afectan plantas de jardinería, fue complementado efectivamente con el depredador *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) (Snyder *et al*., 2004).

1.3.7. El nicho ecológico y la competitividad

La dinámica de un ecosistema se puede apreciar como el resultado de las interacciones inter e intraespecíficas. Según Carrol *et al*., (2011), estas interacciones producen un equilibrio momentáneo resultado de la competencia y la coexistencia. En general se ha concluido que la alta actividad competitiva es parte de la evolución hacia la coexistencia (vanDijken y vanAlphen, 1998; Edwards y Schreiber, 2010).

Para entender la coexistencia se deben delimitar los espacios multifacéticos que definen a una especie. Este espacio es dinámico, sus cambios están acordes a su inserción en el ecosistema, y depende de sus entradas y salidas de energia. De esta manera se puede explicar lo que es el nicho para una especie (Godsoe, 2010). Este término ha sido discutido en muchas ocasiones por su falta de concretización, pero permite entender la dinámica de diferentes procesos ecológicos.

Un nicho caracteriza a una especie en sus aspectos de hábitat, comportamiento, dispersión, alimentación y las diversas actividades que realiza en su medio (Naeem y Hawkins, 1994). Esta delimitación es propia de la especie y no debe ser invadida o impedida, de lo contrario se entrará a un proceso de competencia (Godsoe. 2010). Esta competencia llevará a la exclusión de un ecosistema a una especie (Feng y Velasco-Hernández, 1997).

Anteponiendo la rectitud que exige la definición de nicho, diferentes estudios ecológicos se han realizado sobre un modelo de coexistencia dominante en la naturaleza. Los modelos se han podido explicar gracias al empleo de dos conceptos, la división de los recursos y el traslape de nichos (Amarasekare, 2000; Gilbert *et al*., 2008; Griffin y Sullivan, 2011). En el

primero se hace alusión mas a los recursos de alimentación y espacio requeridos por una especie que pueden ser compartidos por otra especie, en el segundo es algo más completo e implica la sobreposición de diferentes factores entre dos espacios multifactoriales separados (Schoner, 1974; Redborg y Redborg, 2000; Pledger y Greany, 2009).

La coexistencia puede ser una relación que explique de manera convincente la presencia de muchas relaciones bióticas en los ecosistemas. Puede ser muy útil para entender las interacciones en un gremio de parasitoides con un hospedero (Hackett *et al*., 2009). Esto implica que un recurso limitado como es el hospedero puede ser dividido de manera adecuada, reduciendo la competencia, lo cual es una base para fundamentar la utilidad del control biológico múltiple de una plaga.

1.3.8. La exclusión y los beneficios de la coexistencia

La competencia se da principalmente cuando un recurso es limitado, sin embargo se pueden presentar temporalmente mecanismos de exclusión que permitan la coexistencia (Holf, 1987). Estos mecanismos pueden actuar parcialmente en tiempo o en espacio (Valeiy *et al*., 2007). Como resultado de este proceso parcialmente excluyente, en el cual los recursos se dividen, se puede explicar el mantenimiento de dos o más especies con un recurso compartido (Plantard *et al*, 1996). Esto último puede ser entendido bajo el contexto del concepto del nicho cambiante (Brew, 1982). Así también las estrategias de vida de cada especie pueden permitir la coexistencia, por ejemplo se ha observado que especies generalistas recurren a otros recursos

alternos, cuando una especie especialista con la cual coexiste explota un rango más limitado de recursos (Egas *et al*., 2004; vanVelzen y Etienne, 2012).

Los mecanismos de exclusión son muy variados y depende del factor en disputa, su importancia es vital para la estructuración de la comunidad (Wilson, 1994). Lo anterior se explica partiendo del principio de que un ecosistema esta saturado y su optimización requiere de una división adecuada de los recursos, por lo que la exclusión del uso de un recurso es importante para mantener diferentes poblaciones en una estructura de comunidad (Finke y Snyder, 2008).

Estos conceptos son fundamentales para apoyar la aplicación exitosa de dos especies de parasitoides para el control biológico de una determinada plaga. Se han encontrado diferentes ejemplos en donde la coloración de un hospedero puede ser el factor indicador para que un enemigo natural explote de una manera y el otro emplee otra estrategia para aprovecharlo como recurso (Jean-Yves y Hochberg, 1996; Paine *et al*., 2000). Paradójicamente, la coexistencia permite que se desarrollen de manera óptima otras relaciones bióticas antagónicas como la depredadación o el parasitismo (Carroll *et al*., 2011).

1.3.9. La discriminación de hospederos y su importancia en la coexistencia de parasitoides

Los gremios de parasitoides se establecen gracias a diferentes mecanismos de exclusión que permiten que se mantengan exitosamente en base a una población de hospederos (Wang *et al*., 2008). Uno de los mecanismos más importantes en la exclusión interespecífica es la

discriminación de hospederos, la cual se puede definir simplemente como la capacidad que tiene una especie de reconocer y evitar la oviposición en un hospedero previamente parasitado (Pijls *et al*., 1995).

La exclusión de hospederos parasitados se puede presentar a lo largo del proceso de búsqueda de los parasitoides (Vinson, 1997). Es en el momento más cercano a la oviposición cuando la discriminación toma alta preponderancia, es cuando los mecanismos más específicos de exclusión son activados. Diferentes indicadores como semioquímicos, formas, colores o vibraciones, entre otros, son importantes para detectar la disponibilidad de un hospedero (Lebreton *et al*., 2008).

La importancia de la discriminación radica en que puede ser el mecanismo más determinante de la coexistencia de poblaciones de diferentes especies de parasitoides que comparten un hospedero (Rehman and Powell, 2010). La carencia parcial o total de la capacidad de discriminación en una especie de parasitoide es la responsable del superparatismo o el hiperparasitismo, que puede resultar en una mala inversión de un recurso por parte de un parasitoide (Roseheim y Mangel, 1994).

Con la excepción del hiperparasitismo obligado, el cleptoparasitismo y los casos adaptativos del superparasitismo, la oviposición en un hospedero parasitado, es una pérdida de recursos para el parasitoide y en una relación interespecífica implica incrementar la actividad excluyente (Mackauer *et al*., 1992). Partiendo de esta premisa, una especie de parasitoide bien adaptada en su medio requiere que sus mecanismos de discriminación de hospederos estén en condiciones óptimas. A la vez este mecanismo permite la coexistencia de parasitoides en un medio donde se puede incrementar la competencia.

Sin embargo, la relación tritrofica entre planta, hospedero y parasitoide se ha considerado un proceso muy específico en donde la discriminación es más acentuada intraespecíficamente y la importancia de la discriminación de hospederos entre especies puede ser secundada al grado de llegar a considerarse sin estabilidad evolutiva (Turlings *et al*., 1985; Bakker *et al*., 1985). No obstante, en el establecimiento de gremios de parasitoides, la discriminación de hospederos puede jugar un papel importante entre los mecanismos de exclusión, los cuales deben estar bien cimentados y dejar fuera la posibilidad de considerarlo el resultado de un proceso azaroso (Weisser y Houston, 1993).

1.3.10. La coexistencia como base del control biológico múltiple

El control biológico múltiple implica la optimización del uso del hospedero o presa por más de una especie de enemigo natural (Denoth *et al*., 2002). Esto implica que las poblaciones de enemigos naturales coexistan teniendo diferentes mecanismos de exclusión interespecífica. Esta es la base que permite el desarrollo de múltiples especies en una población de hospederos y es el fundamento principal de este tipo de control biológico (Weber *et al*., 1996).

Se espera que una acción múltiple de enemigos naturales sea más eficiente, sin embargo, su manejo implica en muchas ocasiones competencia, lo cual puede ser un problema para los objetivos planteados. En términos prácticos, el control biológico múltiple se ha planteado como una opción para cubrir más ampliamente los diferentes estados o estadios que presenta un hospedero, muchos de ellos fuera del alcance para una sola especie de enemigo natural (Hochberg, 1996). Estas barreras pueden ser ecológicas,

temporales o físicas y todas pueden estar enmarcadas dentro del concepto de refugio (Wyckhuys *et al*., 2007). El refugio de un hospedero en parte es lo que explica su presencia en un ambiente, su carencia total implicaría un desequilibrio y su desaparición (Hawkins *et al*., 1993).

La presencia de uno o diferentes refugios en un hospedero ha sido la base para entender porque los porcentajes de parasitismo no cubren el total de la población de hospederos y a la vez este es un principio general del equilibrio natural (Murdoch y Briggs, 1996). Por lo que resulta casi imposible que un solo parasitoide logre un control importante de una especie hospedera considerada como plaga.

El empleo de diferentes parasitoides puede cubrir los diversos refugios de una manera más completa, sin embargo, las especies empleadas deben tener también un mecanismo de exclusión eficiente. En la presente tesis se propone evaluar el efecto del empleo de dos parasitoides de moscas de la fruta que cubren dos estados diferentes del desarrollo del hospedero. Las moscas del género *Anastrepha* atacan una gran cantidad de frutas hospederas de diferente tamaño (Aluja *et al*., 2003; Masaro *et al*., 2011). Esto puede imposibilitar para el parasitoide de larva *D. longicaudata* el alcance de hospederos en frutos grandes, resultando esto en un refugio importante para el hospedero. Por consiguiente la especificidad y la posible alta capacidad de discriminación de *C. haywardi* puede representar una buena oportunidad para cubrir los hospederos no parasitados que se han desarrollado al estado de pupa. De esta manera se puede formular un grupo de segundas preguntas básicas de este trabajo ¿Puede *C. haywardi* complementar la acción de *D. longicaudata* mediante la parasitación de los hospederos no parasitados?, así

como ¿Contribuye el parasitismo de ambas especies de manera adicional en la mortalidad de moscas de la fruta? y ¿Pueden repercutir los diferentes tipos de frutos y condiciones en el parasitismo de ambas especies?

1.3.11. El control biológico múltiple como factor de mortalidad

Las tablas de vida representan la herramienta más empleada para medir el efecto de los factores de mortalidad sobre una población (VanDriesche *et al*., 1989; Bellows *et al*., 1992). Normalmente la descripción del efecto de los factores de mortalidad se muestra en conjunto y difícilmente se dividen para un análisis en partes. Esto limita en muchos casos las posibilidades de conocer el efecto de un factor de mortalidad adicional en una población. En insectos, el uso de los factores de mortalidad es muy importante para el control de plagas. Conocer el potencial de cada uno de los factores por separado y en su conjunto, resulta de utilidad en la definición de la estrategia para el manejo de una plaga.

Carey (1993) propuso la tabla de vida de decremento múltiple para analizar de manera separada, y en conjunto, los factores de mortalidad. Este tipo de tabla de vida incluye otro tipo de conceptos usados para evaluar factores de mortalidad, desde la fórmula de Abbott, que ha tenido amplio uso en los estudios de toxicología, hasta las estimaciones del factor K, para conocer el factor de mortalidad más importante en una población, al que se le encontraron deficiencias estadísticas según Royama (1996).

La importancia de la tabla de decremento múltiple representa la posibilidad de analizar más de dos factores de mortalidad en una población. Además se puede hacer un análisis discriminante para conocer cual es el

efecto de un factor de mortalidad en conjunto con los otros factores y por separado (Carey, 1993). Este modelo ha sido aplicado para conocer el efecto de los parasitoides como factores de mortalidad de una población plaga de insectos (Peterson *et al*., 2009). Tomando en cuenta estos análisis, la tabla de decremento múltiple puede ser útil para explicar la contribución de la mortalidad de una especie de parasitoide o la acción conjunta de dos especies. Esto permite formular un grupo de terceras preguntas de importancia para responder el objetivo general planteado en este trabajo. Dos preguntas que se formulan son: ¿Cuál es la mortalidad de hospederos que aporta cada especie de parasitoide sola y en una acción conjunta?, y la otra pregunta es ¿Se incrementa la mortalidad de hospederos como consecuencia de acción de dos especies de parasitoides?

El potencial de mortalidad infringida a la población hospedera puede ser un elemento importante para seleccionar una estrategia de control biológico. Emplear el mayor número de herramientas para analizar una estrategia de control biológico es una manera más segura para aprobar el uso de uno o más agentes de control.

1.3.12. Los atributos de los parasitoides y la definición de una estrategia

Los atributos de una especie de parasitoide son indicadores poblacionales que permiten conocer el potencial y la manera adecuada de emplearlos en el control biológico de una plaga (vanAlphen y Jervis, 1996). Con el avance de las crías masivas de parasitoides, las evaluaciones de atributos biológicos se han desarrollado y se han incluido dentro de los conceptos de control de calidad de la producción (Boller y Chambers, 1977; van Lenteren, 2003). Un ejemplo

importante del uso de estos conceptos es con especies del género *Trichogramma* spp., donde las evaluaciones de los atributos han sido el fundamento para reforzar la calidad de la producción, siendo un proceso con capacidad de retroalimentación que se conoce como control total de la calidad (Bigler *et al*., 1997).

La definición de los atributos de los parasitoides es un paso necesario en el caso de una aplicación múltiple. Esto significa que hay condiciones particulares de cada especie en donde su desarrollo y desempeño es optimizado. Estas condiciones deben favorecer la búsqueda del hospedero y mantener en altos niveles atributos, como la supervivencia y fecundidad (Huffaker *et al*., 1977; Hajek, 2004).

Como indicadores principales se tienen a la supervivencia y fecundidad, dos parámetros centrales para poder definir la adaptación de una especie en general (Huffaker *et al*., 1977; Murdock, 1996). En este caso, además de lo mencionado, son parámetros indicadores de la eficiencia de un parasitoide bajo diferentes condiciones ambientales. A estos parámetros se debe agregar la capacidad de desplazamiento como un atributo muy importante para inferir la capacidad de búsqueda de un parasitoide (Messing *et al*., 1994). No obstante, existe una serie de parámetros que en su momento pueden ser muy importantes para definir la capacidad de suprimir poblaciones plaga (Fluck, 1990). Por ejemplo, en el uso múltiple de especies de parasitoides, la capacidad de búsqueda de hospederos específicos no parasitados es muy importante por lo que la capacidad de discriminar toma alta importancia (Huffaker *et al*., 1977).

Caracterizar los atributos de *D. longicaudata* y *C. haywardi* es importante para una futura aplicación de estos parasitoides en un programa de control biológico de moscas del género *Anastrepha*. Por esto se plantean como el último grupo de preguntas que conducen esta tesis, las siguientes: ¿Cuál es la supervivencia y fecundidad de cada especie bajo diferentes condiciones ambientales?, ¿Cuál es la capacidad de dispersión de cada especie en un ambiente natural?

CAPITULO 2

DISCRIMINACIÓN DE *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) DE HOPEDEROS PREVIAMENTE ATACADOS POR EL PARASITOIDE DE LARVAS *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae).

2.1. Introducción

La separación de nichos es el fundamento de la coexistencia de enemigos naturales en una población de hospederos (May y Hassell, 1988; Borer *et al*., 2004). La separación puede ser mantenida por varios "mecanismos de exclusión" que incluyen la preferencia de microhabitats, expansión o contracción del rango de hospederos y respuesta a pistas físicas o químicas que indican la presencia de un potencial competidor (Pijls *et al*., 1995; Roriz *et al*., 2006; Mehrnejad y Copland, 2006; Mahmoud y Un Taek, 2008). Las pistas indicativas de competencia pueden ser usadas en la "discriminación de hospederos", así como en la habilidad de los parasitoides para seleccionar un hospedero adecuado para la oviposicion y el desarrollo de la progenie (van Lenteren, 1981; Godfray, 1994; Agboka *et al*., 2002; Adams y Six, 2007). En general los parasitoides discriminan en la parte final del proceso de búsqueda y minimizan los cambios del super- o – multiparasitismo (Mahmound y Un Taek, 2008; Brodeur y McNeil, 1992). A nivel poblacional la discriminación de parasitoides juega un papel muy importante en la regulación del número de hospederos (van Dijken y van Alphen 1998; Cusson *et al*., 2002), además puede guiar a un mayor parasitismo de hospederos en un área grande, en un

menor tiempo que los que pudiera ocurrir con un forrajeo no discriminante (Quike, 1997; van Baaren *et al*., 2009).

En teoría, la introducción o las liberaciones aumentativas de enemigos naturales pueden ser más eficientes maximizando la separación de nichos, mediante el uso de parasitoides que discriminen hospederos. El uso de más de un parasitoide para suprimir una población plaga ha generado ejemplos de control biológico exitosos (Waage y Mills, 1992; De Moraes *et al*., 1999; Harris y Bautista, 2003). El establecimiento exitoso de gremios frecuentemente ha sido por medio de un proceso costoso de prueba y error en el cual se han formado las combinaciones optimas de enemigos naturales que podría construirse con una adecuada elección de candidatos (Force, 1974; García-Medel *et al*., 2007).

Históricamente se han realizado esfuerzos para identificar parasitoides de tephritidos frugívoros con alta capacidad de discriminación (García-Medel *et al*., 2007). La competencia interespecífica fue considerada como una deficiencia importante en la liberación de 32 especies de enemigos naturales para el control de *Bactrocera dorsalis* (Hendel) en Hawaii (van Den Bosch y Haramoto, 1953; Bess *et al*., 1961), las investigaciones sobre una combinación compatible continúan actualmente. Además, se ha discutido que la mortalidad de hospedero puede ser incrementada si los parasitoides braconidos de larva-prepupa como *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) y *D. longicaudata* (Ahsmead) pudieran reconocer y rechazar hospederos previamente atacados por el parasitoide de huevo-prepupa *Fopius arisanus* (Sonan). No obstante, en evaluaciones realizadas, los parasitoides de larva no discriminaron y fueron suprimidos por el parasitoide de huevos, por lo que la mortalidad adicional no

fue potencialmente posible (Bautista y Harris, 1997; Wang y Messing, 2003). El uso conjunto de parasitoides de larva y pupa ha sido también una propuesta (Dresner, 1954), aunque la baja específicidad de hospederos y la tendencia hacía el hiperparasitismo en gran parte de los parasitoides de pupa de Diptera opacó el desarrollo de esta alternativa (Dresner, 1954; Wang y Messing, 2004b).

Recientemente, la aparente especificidad del diapridido, endoparasitoide de pupas *Coptera haywardi* (Oglobin) a moscas Tephritidae sugiere que en lo que corresponde a las condiciones ambientales que debe confrontar la introducción aumentativa de parasitoides de pupa puede ser superada (Sivinski *et al*., 1998). Este es un parasitoide que tiene un forrajeo eficiente (Guillén *et al*., 2001) que puede provocar una mortalidad sustancial mayor (Baeza-Larios *et al*., 2002). Si además de la especificidad de hospederos, *C. haywardi* reconoce y evita hospederos previamente atacados por otras especies de parasitoides, resultaría en una adición muy valiosa al gremio multiespecífico de agentes de control biológico de moscas de la fruta.

En México, el parasitoide exótico de larvas *D. longicaudata* es criado masivamente y liberado de manera aumentativa para suprimir algunas especies plaga del género *Anastrepha* (Montoya *et al*., 2000; Aluja *et al*., 2008). Una proporción de estas poblaciones escapan del parasitismo (Montoya *et al.*, 2000, 2003) y es posible que estos pudieran ser vulnerables a un ataque sustancial por un parasitoide de pupas como *C. haywardi*. Por esta razones nuestro objetivo fue identificar la habilidad de *C. haywardi* para discriminar pupas parasitadas previamente por *D. longicaudata*. Además comparamos varios aspectos del comportamiento de *C. haywardi* como el forrajeo para el

ataque a hospederos parasitados y no parasitados por co- y heteroespecíficos. También evaluamos si la edad de las hembras parasitoides puede influir sobre la capacidad de discriminación. Dirigimos también estas ventajas para mejorar procedimientos de cría masiva explorando las posibilidades de una exposición secuencial de hospederos a hembras parasitoides.

2.2. Materiales y métodos

Las evaluaciones se realizaron en el Laboratorio de Control Biológico del Programa Moscafrut, ubicado en Metapa de Domínguez, Chiapas, México. Las pruebas se llevaron a cabo a 21±2 ºC, el desarrollo de las pupas fue a 26±2ºC y 70±10 % RH. *Coptera haywardi* y *D. longicaudata* fueron obtenidos de colonias mantenidas sobre condiciones de cría masiva (Cancino y Montoya, 2008). La colonia de *C. haywardi* fue obtenida con material original procedente del Estado de Veracruz, México (Aluja *et al*., 2009). Las pupas de *Anastrepha ludens* (Loew) usadas como hospedero fueron obtenidas de la cría masiva de la Planta Moscafrut.

2.2.1. Arena de observación y colecta de datos de comportamiento

Evaluaciones de discriminación de hospederos por *C. haywardi* fueron realizadas en una arena consistente en una caja Petri de 14.5 cm de diámetro que contenía una capa de 2 mm de vermiculita. Durante estas pruebas de selección, dos pupas con diferente tratamiento de parasitación (p. ejemplo: no parasitada, o parasitada por *D. longicaudata* o *C. haywardi*), fueron colocadas a 7 cm en un extremo de la caja Petri. Una hembra de 5 días de edad de *C. haywardi* fue liberada en el extremo opuesto. La caja Petri fue mantenida al

interior de una jaula de 30x30x30 cm en una caja de plexiglass cubierta con cartoncillo negro para obtener una intensidad luminosa de 8 lux. Una cara de la jaula se mantuvó abierta, por donde se introdujeron los insectos y se llevaron a cabo las observaciones. Durante un tiempo máximo de 20 min se realizaron observaciones, hasta que las hembras seleccionaron una pupa. En todos los experimentos, se midió el tiempo de las siguientes actividades: a) actividad inicial, la cual se refirió al período desde el inicio de la observación hasta cuando la hembra empezó a moverse hacia alguna de las opciones; b) selección o intento de oviposicion por las hembras sobre una pupa la cual finalmente fue rechazada; c) exploración de la pupa finalmente empleada para la oviposicion; y d) período de oviposicion, el tiempo que tardó la hembra con el ovipositor insertado.

2.2.2. Discriminación de pupa parasitada

Los tratamientos de elección fueron: a) pupa previamente parasitada por *D. longicaudata* y pupa no parasitada; b) pupa parasitada por *C. haywardi* y pupa no parasitada; c) pupa previamente parasitada por *D. longicaudata* y pupa parasitada por *C. haywardi*; d) ambas pupas parasitadas previamente por *D. longicaudata*; e) ambas pupas parasitadas por *C. haywardi*; y f) ambas pupas no parasitadas. En todos los tratamientos se emplearon pupas de 3 a 5 días de edad. Este rango ha sido considerado el optimo para la parasitación (Aluja *et al*., 2009).

2.2.3. Discriminación de pupa superparasitada

Debido a que se pudieran acumular las pistas, comparamos las respuestas de hembras de *C. haywardi* a hospederos con diferentes niveles de superparasitismo de *D. longicaudata* en relación con pupa no parasitada. El superparasitismo fue reconocido por las cicatrices de oviposición sobre la cutícula del pupario, las cuales fueron categorizadas en tres niveles de acuerdo al número de cicatrices: una cicatriz, de 2 a 5 cicatrices y de 6 a 10 cicatrices.

2.2.4. Discriminación de acuerdo a la edad de la hembra

Considerando que la capacidad de discriminación puede variar de acuerdo a la edad de las hembras, comparamos la respuesta de hembras de *C. haywardi* de 1 a 15 días de edad a hospederos parasitados. Las hembras fueron tomadas de diferentes jaulas separadas en dos grupos, cada uno de 100 hembras y 100 machos los cuales fueron mantenidos en una jaula de plexiglass de 25x25x25 cm con agua y alimento (miel de abeja). Un grupo de las hembras contenidas en una jaula no tuvieron experiencia de oviposición al momento de la evaluación, en el otro grupo las hembras fueron experimentadas. En esta última, 100 pupas de *A. ludens* fueron expuestas por jaula cada día en una base de caja Petri cubierta con un pieza de cartoncillo por 24 h. De ambos grupos, muestras al azar de hembras individuales fueron tomadas cada día de la categoría de edad. Evaluaciones de discriminación, entre pupa parasitada por *D. longicaudata* y pupa no parasitada, fueron llevadas a cabo en la arena antes mencionada.

2.2.5. Disección de pupas y emergencia

Con el objetivo de corroborar el estado de los hospederos seleccionados por las hembras parasitoides, el número de cicatrices sobre el pupario fueron contabilizadas. Estas cicatrices fueron causadas por la oviposición o por los intentos de oviposición por ambas especies de parasitoides. Muestras de 20 pupas fueron disectadas para contar el número de estados inmaduros al interior de cada una de ellas. Esto se realizó tres días después de las observaciones en la arena experimental usando un estereoscopio Discovery V8 ZEISS con 5X de magnificación, empleando bisturí y pinzas de disección.

Las oviposiciones también fueron confirmadas con la emergencia respectiva de adultos. Después de la observación, otra muestra de 30 pupas fueron mantenidas en una celda cilíndrica con vermiculita (2 cm de alto por 1.5 cm de diámetro), durante su desarrollo. La emergencia de *D. longicaudata* y moscas se inició 15 días después de la parasitación, mientras *C. haywardi* empezó a emerger a los 30 días. La disección y emergencia fueron medidas con submuestras de 20 y 30 pupas respectivamente.

2.2.6. Análisis de datos.

Se realizaron 50 repeticiones de cada tratamiento. Los datos de discriminación de hospederos fueron analizados por medio de una prueba de Chi-cuadrada usando tablas de contingencia (Zar, 1974). Debido a la falta de normalidad de las medias en los tiempos de actividades de comportamiento estas fueron comparadas con la prueba no parámetrica de Kruskal-Wallis y la comparación múltiple de medias con la prueba de la diferencia minima significativa (Sprent, 1993). Los paquetes estadísticos empleados fueron JMP versión 5.7 y Minitab

en la versión 15. Los datos de discriminación por día de hembras con y sin experiencia fueron analizados aplicando una regresión lógistica con respuesta multinominal (Hosmer and Lemeshow, 2000). La regresión lógistica fue obtenida empleando el paquete R versión 2.13.0 (2011). Todos los análisis se llevaron a cabo con un α=0.05.

2.3. Resultados

2.3.1. Discriminación de pupa parasitada

Hembras de *C. haywardi* tuvieron una respuesta significativamente menor a la pupa previamente parasitada por *D. longicaudata* o por *C. haywardi* con respecto a la pupa no parasitada (Fig. 2.1; χ^2=40.496, P< 0.0001 pupa parasitada con *C. haywardi* y pupa no parasitada; χ^2=61.08, P < 0.0001, pupa parasitada por *D. longicaudata* y pupa no parasitada). Cuando se presentaron simultaneamente pupa parasitada por *C. haywardi* y por *D. longicaudata* la respuesta de las hembras no presento diferencia significativa (χ^2 = 1.0 y P= 0.05).

El comportamiento de búsqueda dividido en diferentes componentes tales como alcanzar un hospedero, exploración del hospedero y oviposición fueron comparadas empleando diferentes combinaciones de hospederos (Cuadro 2.1). Las opciones presentes en cada tratamiento no resultaron en alguna variación del comportamiento básico de búsqueda y en la selección del hospedero por *C. haywardi*. La actividad inicial tomo entre 1.5 y 4 mins, con diferencias estadísticas entre tratamientos (g.l.=5, H=12.13, P=0.03). La duración de la selección por hembras con presencia simultánea de hospederos

parasitados con *D. longicaudata* y *C. haywardi* fue de 17.74 min, lo cual fue significativamente mayor en comparación con otros tratamientos (g.l. =4, H =13.69, *P*=0.008). Una observación importante fue que las hembras no

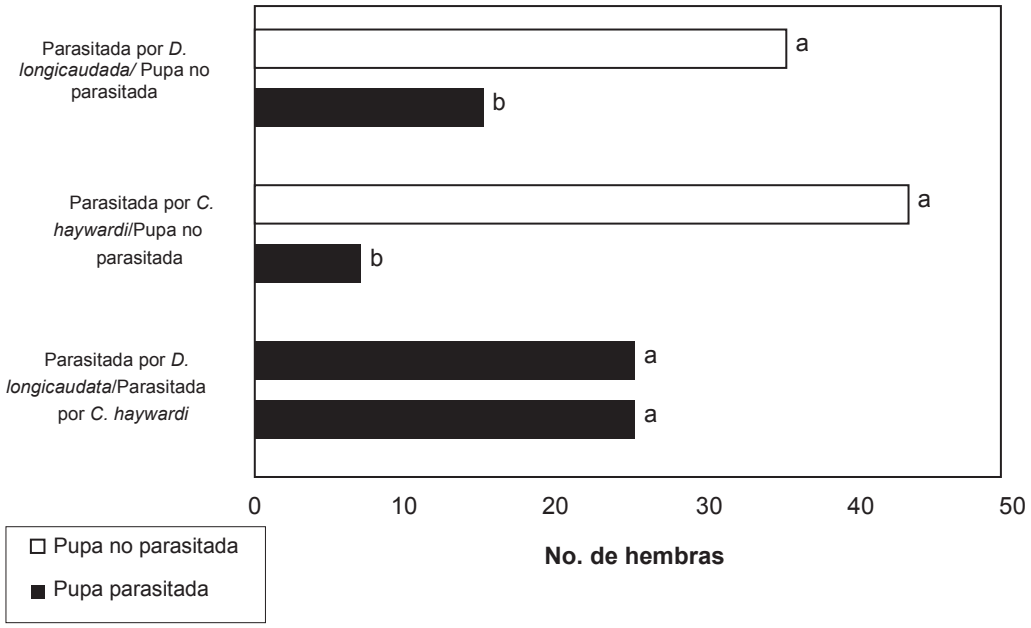


Fig. 2.1. Número de hembras de *C. haywardi* que ovipositaron a pupa parasitada y a pupa no parasitada.

seleccionaron alguna pupa previamente parasitada por *D. longicaudata* cuando una alternativa no parasitada estuvo disponible. El tiempo de exploración previa a la oviposición fue relativamente corto en todos los tratamientos, no excedió más de 2 min, las diferencias entre los tratamientos fueron altamente significativas (g.l.=6, H=75.31, *P*=0.0001) y pupa no parasitada (g.l.= 2, H=78.03, *P*<0.0001). El tiempo de oviposición se extendió de 11 a 27 min y fueron estadísticamente diferentes entre los tratamientos (g.l.= 5, H=175.77, *P*<0.0001).

Cuadro 2.1. Tiempos promedio (± E.S.) en minutos de diferentes componentes del comportamiento de búsqueda de hembras de *C. haywardi* provistas con diferentes opciones de selección de hopederos.

Tratamientos (opciones)	Período previo a la primera elección	Selección de pupa eventualmente no parasitada	Exploración de pupa parasitada	Exploración de pupa no parasitada	Oviposición
Pupa parasitada por *D. longicaudata* y pupa no parasitada.	2.34±0.16 bc		1.04±0.13 b	1.20±0.08 b	11.80±0.46 e
Pupa parasitada por *C. haywardi* y pupa no parasitada.	2.39±1.33 bc	4.42±0.76 b	1.35±0.21 ab	0.94±0.06 b	15.32±0.97 cde
Pupa parasitada por *D. longicaudata* y pupa parasitada por *C. haywardi*	1.78±0.14 c	17.74±5.00 a	1.24±0.09 D. l. b 1.25±0.13 C. h. b		14.09±0.90d e
Ambas pupas parasitadas por *D. longicaudata*	3.81±0.43 a	2.84±0.35 b	1.59±0.10 ab		18.70±1.05 bc
Ambas pupas parasitadas por *C. haywardi*	2.74±0.26 abc	4.9±0.80 b	1.95±0.19 a		27.95±1.77 a
Ambas pupas no parasitadas.	2.28±0.15 c			1.73±0.08 a	21.94±0.90 b

Valores promedio seguidos por la misma letra en la misma columna implica que no hubo diferencia estadística. Prueba no parámetrica de Kruskal-Wallis y comparación de medias con la diferencia miníma significativa (α=0.0.5).

Cuando las hembras estuvieron presentes con una pupa no parasitada como opción, entre el 40 y 50% no respondieron en el tiempo de 20 min (Fig. 2.2). Cuando ambas pupas estaban parasitadas, ya sea por *D. longicaudata* o por *C. haywardi*, el porcentaje de hembras que no respondieron fue alrededor del 60%. Solamente 32.1% de las hembras no respondieron cuando ambas pupas estuvieron no parasitadas. Esto fue significativamente menor que las otras proporciones (χ^2 = 1031.83, P<0.0001).

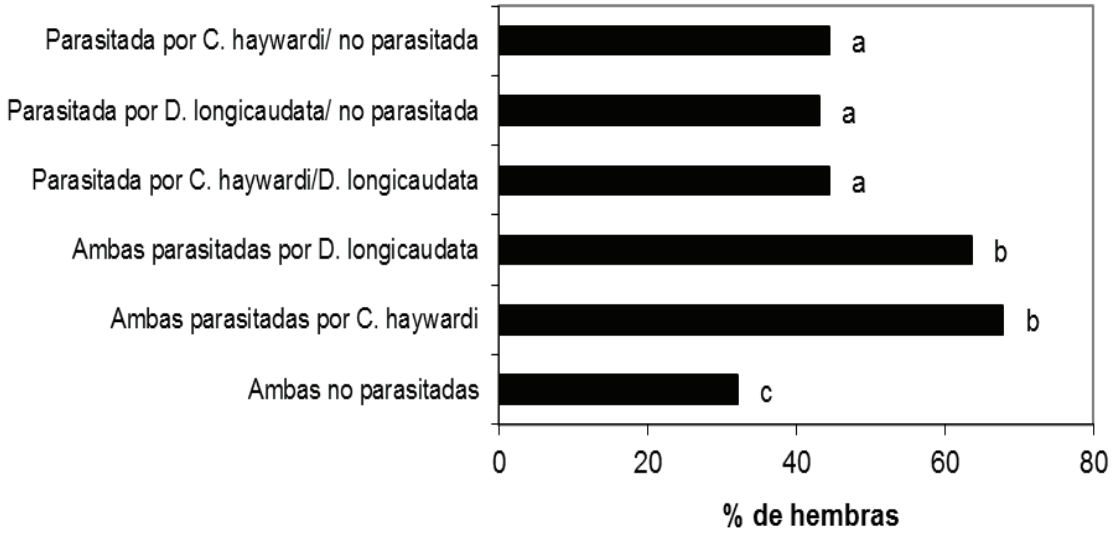


Fig. 2.2. Proporción de hembras de *C. haywardi* que no respondieron al hospedero potencial en 20 min de espera.

2.3.2. Discriminación de pupa superparasitada

El superparasitismo por *D. longicaudata* no fue un factor que modificara la respuesta de las hembras de *C. haywardi* (Fig. 2.3). En todos los casos la selección de pupa no parasitada fue significativamente mayor (con una cicatriz: χ^2 = 71.84, P<0.0001; con 2 a 5 cicatrices: χ^2 = 65.72, P<0.0001; con 6 a 10 cicatrices: χ^2 = 61.06, P<0.0001). El nivel de superparasitismo, representado por el número de cicatrices, no tuvo un efecto en la respuesta.

El superparasitismo no afecto el comportamiento de búsqueda y oviposición (Cuadro 2.2). El tiempo de exploración sobre la pupa parasitada fue siempre mayor que en la pupa no parasitada. La actividad inicial con pupa parasitada y el tiempo de exploración con pupa no parasitada no presento diferencia estadística, como fue el caso con el tiempo de exploración y de oviposición en pupa no parasitada (actividad inicial: g.l.=2, H= 2.38, P=0.305, exploración con pupa parasitada: g.l.= 2, H=1.10, P=0.57; exploración con pupa

no parasitada: g.l.= 2, H=1.20, *P*=0.54, oviposición: g.l.= 2, H=0.19, *P*=0.91). Como en los casos anteriores, cuando hubo una elección entre pupas parasitadas por *D. longicaudata* y pupas no parasitadas, prefirieron atacar a estas últimas.

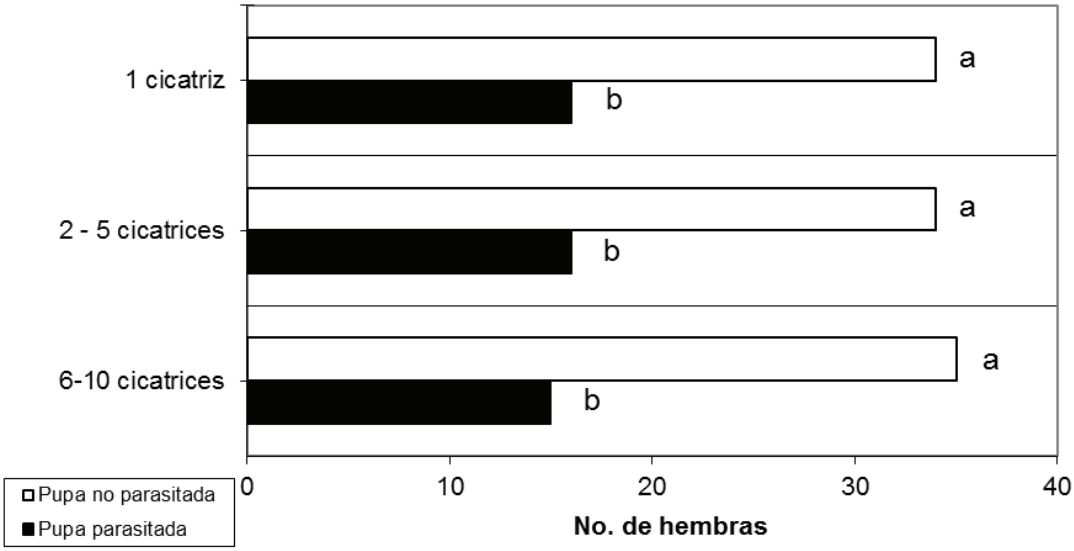


Fig. 2.3. Número de hembras de *C. haywardi* que ovipositaron a la pupa parasitada y a pupa no parasitada, presentando diferentes niveles de superparasitismo de *D. longicaudata*.

Cuadro 2.2. Tiempos promedio (± E.S.) en minutos, de los componentes del comportamiento de búsqueda de hembras de *C. haywardi* con hospederos teniendo diferentes niveles de superparasitismo de *D. longicaudata*.

Tratamientos (opciones)	Período previo a la primera elección	Exploración de pupa parasitada	Exploración de pupa no parasitada	Oviposición
Pupa parasitada (1 cicatriz) y pupa no parasitada	4.39±0.39 a	1.14±0.20 a	0.78±0.06 a	15.50±0.69 a
Pupa superparasitada (2-5 cicatrices) y pupa no parasitada	3.43±0.31 a	1.53±0.28 a	1.32±0.09 a	18.19±0.75 a
Pupa superparasitada (6- 10 cicatrices) y pupa no parasitada	3.53±0.33 a	1.67±0.25 a	1.20±0.07 a	15.60±0.63 a

Valores promedio seguidos por la misma letra en la misma columna significa que no hubo diferencia estadística. Prueba no parámetrica de Kruskal-Wallis y comparación de medias con la diferencia miníma significativa (α=0.0.5).

2.3.3. Discriminación de acuerdo a la edad de la hembra

En general, las hembras seleccionaron hospederos no parasitados de manera más significativa, ya sea que ellas hayan tenido oportunidad de oviposición previa (χ^2 = 55.48, P<0.0001) o no (χ^2 = 50.91, P<0.0001). Las hembras con experiencia fueron significativamente más activas para ovipositar (t-Wald=-3.06, P=0.002) aunque no tuvieron una diferencia significativa en el nivel de discriminación de pupa parasitada (t-Wald=-1.30, P=0.19) (Fig. 2.4). La actividad de oviposición incrementó con la edad durante los primeros 8 días en hembras sin experiencia, esta tendencia no fue observada en hembras con experiencia. Hembras sin experiencia seleccionaron solamente pupa no parasitada durante los primeros siete días, aunque posteriormente ovipositaron en un número mayor en pupa parasitada. Hembras con experiencia fueron significativamente más selectivas de pupas no parasitadas conforme incrementó la edad (t-Wald=4.09, P=0.000041).

2.3.4. Disección de pupas y emergencia

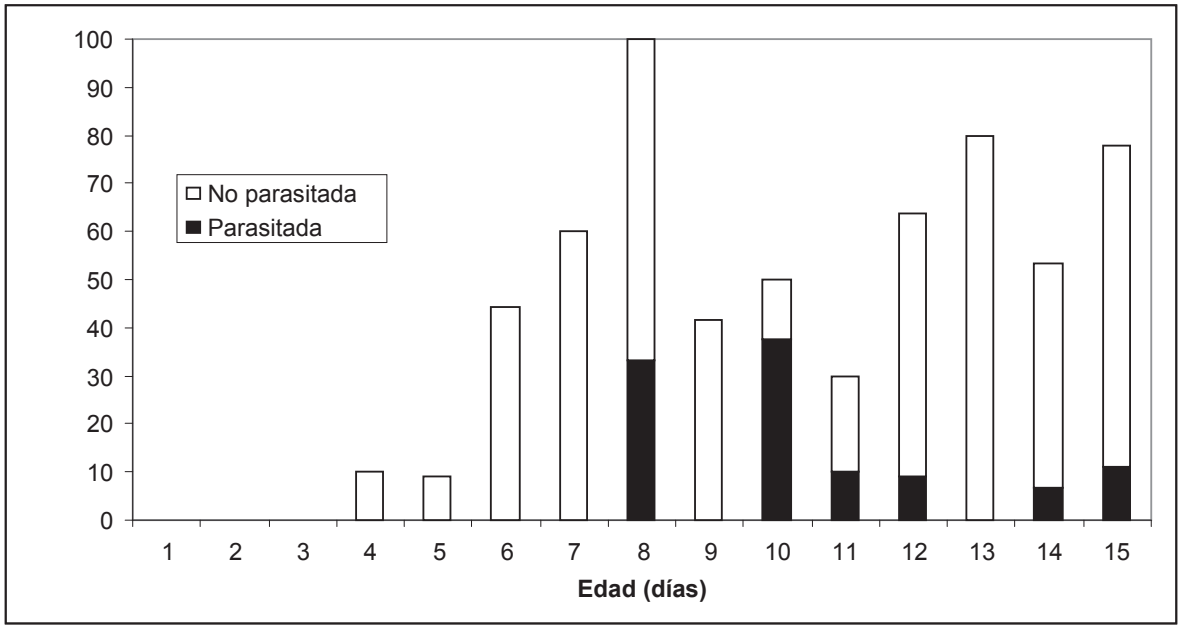
Las observaciones de oviposición a pupas fueron corroboradas por medio de disecciones para encontrar estados inmaduros y la emergencia de adultos. Se obtuvo un 88.1% de correspondencia entre las observaciones de oviposición en la arena y las disecciones, y un 62.4% de correspondencia entre las observaciones en la arena y la emergencia de adultos. Durante la disecciones de pupa se observo que cuando ambas especies de parasitoides fueron encontradas en un mismo hospedero, *D. longicaudata* siempre elimino a la larva de *C. haywardi*.

2.4. Discusión

Coptera haywardi posee la habilidad para discriminar entre pupa de *A. ludens* parasitada y no parasitada. Mientras que el rechazo de hospederos previamente atacados por conespecíficos ha sido reportado ampliamente (Godfray, 1994; Visser *et al*., 1992b), la capacidad para reconocer parasitismo heteroespecífico, como en el caso de *C. haywardi*, tiene menor evidencia. Esto implica que el multiparasitismo es más frecuente que el superparasitismo (Godfray, 1994, Cusson *et al*., 2002, Javad Ardeh *et al*., 2005), cuando los parasitoides evitan hospederos parasitados heteroespecíficamente, la discriminación es más frecuente entre especies con una relación filogénetica más cerrada (Agboka *et al*., 2002, Pedata *et al*., 2002). En este caso, no solamente *C. haywardi* y *D. longicaudata* están poco relacionados, pertenecen a diferentes superfamilias, y no han tenido más que una relación simpátrica por lo menos en los últimos 50 añós (Ovruski *et al*, 2000).

Tal vez *C. haywardi* enfrenta una situación competitiva predecible, lo cual no ha sucedido en otros parasitoides y como resultado ha desarrollado una inusual capacidad para discriminar hospederos. El conflicto entre larvas heteroespecíficas pudiera parecer ser poco importante para la mayoría de los parasitoides de pupa de Diptera, los cuales son típicamente ectoparasitoides, idibiontes generalistas que actúan como hiperparasitoides (Hawkins, 1994). *C. haywardi* como endoparasitoide encara riesgos para los competidores intrínsecos presentes previamente en el hospedero. Nuestras observaciones confirmaron que *D. longicauata* inevitablemente elimina a *C. haywardi* cuando las dos especies se encuentran en el mismo hospedero, siendo una evidencia de estos riesgos. Normalmente el primer parasitoide de los dos

a)



b)

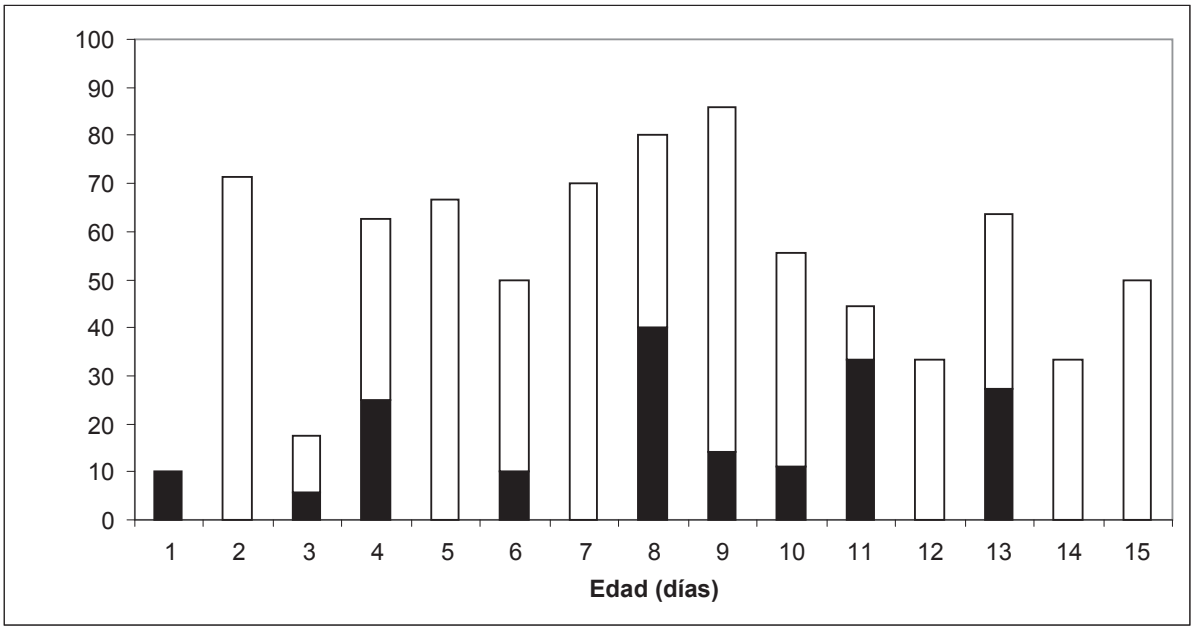


Fig. 2.4. Proporción de hembras de *C. haywardi* de diferente edad que respondieron a los puparios parasitados o no parasitados. a) Hembras sin experiencia previa de oviposición; b) Hembras con experiencia previa de oviposición.

endoparasitoides es quien gana la competencia en este conflicto (Vinson, 1972: Bai, 1991; Visser *et al*., 1992b; Cusson *et al*., 2002; Agboka *et al*., 2002), y *C. haywardi* es el segundo parasitoide en ocupar al hospedero en esta relación biológica, por lo que pudiera haber una fuerte selección para reconocer la pupa previamente parasitada.

Cuando *C. haywardi* se enfrentó con la ausencia de pupas no parasitadas, ovipositó sobre hospederos parasitados, aunque un porcentaje altamente significativo no respondieron. Esto sugiere que las hembras pueden tomar decisiones de oviposición basada en circunstancias y, que los huevos ovipositados, pueden haber sido "lo mejor de una mala opción". En teoría, la decisión de la hembra puede también estar influenciada por la edad o por la experiencia (Heinz, 1996; Rivero, 2000). Por ejemplo, hembras más viejas con alta carga de huevos y con poca experiencia de oviposición pudieran seleccionar y arriesgar ovipositar en una pupa ya parasitada (Visser *et al*., 1992b; Outreman *et al.,* 2001, Islam y Copland, 2000, Baeder and King, 2004). Se comprobó que hay una relación entre la edad de *C. haywardi* y las oportunidades de oviposición y la practica de discriminar hospederos, aunque las hembras tienen contacto con los hospederos parecen estar menos preparadas para ovipositar dentro de este tipo de pupas durante sus primeros días de vida adulta.

No fue posible encontrar la manera o las pistas por las cuales *C. haywardi* discrimina las pupas parasitadas. Es posible que algunas sustancias químicas usadas por los parasitoides de larva, tales como feromonas de marcaje, pudieron acumularse a través de la actividad de oviposicion, lo cual pudiera proveer a *C. haywardi* una oportunidad practica para incrementar la

discriminación. No obstante, las pupas superparasitadas fueron rechazadas en la misma tasa comparandolas con las que habían sido parasitadas una sola vez. Puede ser que el marcaje por parasitoides de larva sea demasiado específico, por lo que varios e impredecibles encuentros tengan que realizar las hembras. En México, este parasitoide se encuentra conjuntamente con cuatro especies de parasitoides braconidos nativos y dos especies de figitidos en las pupas de *Anastrepha* spp. (López *et al*., 1999; Ovruski *et al*., 2000). Cuando *C. haywardi* se encuentra en su medio natural, probablemente es más eficiente para usar las pistas y parasitar, incluyendo los cambios en la fisiología del hospedero que puede resultar en la emisión de diferentes sustancias volátiles o los movimientos de las larvas de parasitoides dentro del hospedero (Fischer *et al*, 2004). Mientras que *C. haywardi* puede usar indicadores del medio, que de manera indirecta puede emplear para el forrajeo de pupas de moscas de la fruta como hospedero (Guillén *et al*., 2001; Baeza-Larios, *et al*., 2002), las cuales no necesariamente puede utilizar en el laboratorio para discriminar.

El comportamiento de selección de *C. haywardi* no sufrió variación bajo las condiciones en que se realizaron las pruebas. La diferencia más clara fue el período relativamente largo de tiempo para localizar y abandonar las pupas cuando cada uno de los hospederos estaba previamente parasitados por una de las dos especies de parasitoides. No obstante, las variaciones en los tiempos de exploración fueron menores que los tiempos de oviposicion, esto puede indicar que *C. haywardi* tiene un tiempo definido estructurado por pasos, durante el cual decide ovipositar guiado por factores específicos como la forma del hospedero, lo cual es muy común en parasitoides de pupa (Vinson, 1976; Romani *et al*., 2002). La exploración tomó la forma de un movimiento linear de

un extremo a otro a lo largo del pupario de donde pudo también obtener información acerca del tamaño, así como de otras características del hospedero.

La oviposicion de *C. haywardi* es en un período relativamente largo (entre 10 a 30 min), comparado con la hembras de *D. longicaudata* que lo realiza en un promedio de 29.0±11.7 seg (Montoya *et al.,* 2003). La discriminación de hospederos no parece ser una explicación de este largo período, considerando que no hubo diferencias en las tasas de oviposicion de hospederos parasitados y no parasitados, una vez que la búsqueda y la exploración fueron completadas. Debido a que *C. haywardi* ataca hospederos protegidos (pupa enterrada) tal vez los daños asociados con la oviposición son mínimos y las hembras pueden manipular el hospedero en un tiempo que puede ser riesgoso para un parasitoide de larva que oviposita sobre la superficie de la fruta.

Nuestros resultados sugieren que *C. haywardi* es un atípico parasitoide de pupa que puede ser útil para las liberaciones aumentativas contra moscas de la fruta en las áreas en donde es endémico. Además de su relativa especificidad (Sivinski *et al*, 1998), puede discriminar pupas parasitadas por un parasitoide de larva con poca relación filogénetica. En el escenario de una liberación conjunta *C. haywardi* no gastaría huevos en hospederos ocupados, de tal manera que aportaría una mayor mortalidad que la que se obtuviera con un patrón azaroso. También, su habilidad para discriminar sugiere que puede ser usado para el desarrollo de métodos más eficientes en la cría masiva, como es la exposición de hospederos en jaulas de cría, lo cual se ha descrito con mayor detalle por Cancino *et al*. (2009a)

CAPITULO 3

PARASITISMO COMPLEMENTARIO DE *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae) Y *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE MOSCAS DE LA FRUTA

3.1. Introducción

El control biológico múltiple se basa en la coexistencia de enemigos naturales en un hábitat determinado (Amarasekare, 2000). Esta coexistencia se fundamenta en la separación de nichos donde los recursos del medio son aprovechados por los enemigos naturales de diferente manera (Geervliet, *et al*., 2000; Pedersen y Mills, 2004, Hackett-Jones *et al*., 2009). La separación no estricta de los nichos permite la coexistencia de las especies involucradas aunque se presenten zonas de traslape, lo cual en muchos casos implica una relación de competencia (Amarasekare, 2000, Pedersen y Mills, 2004).

En parasitoides, la disputa por el hospedero genera una importante actividad competitiva que puede regir la dinámica de las poblaciones involucradas (Godfray, 1994, Tian *et al*., 2008). La competencia en parasitoides se presenta de dos maneras: una en el estado adulto en donde la capacidad de dispersión, búsqueda y oviposicion tienen un papel importante. La otra es la competencia intrínseca, donde los estados inmaduros compitenen el interior del hospedero para su dominio (De Moraes *et al*., 1999).

Cuando dos o más poblaciones de parasitoides se mantienen en un ambiente con una competencia estable por hospederos, se considera que las condiciones para la coexistencia están presentes (Borer *et al*., 2004). Esta

condición es la que permite la actuación de dos o más especies de parasitoides sobre una población de hospederos, lo que puede ser importante para la supresión de hospederos presentes como plagas.

Un caso importante es el control biológico de moscas de la fruta del género *Anastrepha* (Schiner). Estas moscas son nativas de la región Neotropical, conformando un grupo muy diverso de gran importancia ya que algunas especies atacan a frutos de interés comercial (Aluja, 1994). El control biológico de estas moscas se inicia con la introducción de diferentes especies de parasitoides exóticos en diferentes partes de América (Ovruski *et al*., 2000). Fue entonces que *D. longicaudata* (Ashmead) se estableció exitosamente, aunque con niveles de parasitismo bajos para el efectivo control de las poblaciones de *Anastrepha*. Posteriormente, mediante liberaciones aumentativas de este parasitoide se ha logrado reducir sustancialmente las poblaciones de moscas (Knipling, 1992, Sivinski *et al*., 1996; Montoya *et al*., 2000).

Dos factores fueron importantes en el establecimiento de *D. longicaudata*: 1) condiciones climaticas tropicales muy similares a la región Indoaustraliana (su región de origen), y 2) su desarrollo adecuado en larvas de *Anastrepha*, donde no ha encontrado factores antagónicos como el encapsulamiento de huevos (Lawrence, 2005). Resultados de campo han demostrado la integración de esta especie al gremio de parasitoides de moscas *Anastrepha*.

Este parasitoide al parecer es más común que emerja de frutos introducidos y utilizados por las moscas *Anastrepha* como hospederos (e.g., mango, *Mangifera indica* L.), así como varias especies de cítricos, *Citrus* spp.

(López, *et al*., 1999). Esto puede ser una base de la coexistencia con los parasitoides nativos. Los cuales se mantienen con mayor afinidad en algunas especies de frutos nativos hospedantes de moscas *Anastrepha* (Hernández-Ortíz *et al*., 2010; Aluja *et al*., 2003). Los gremios de parasitoides juegan un papel importante en la supresión de poblaciones de moscas que habitan en las áreas silvestres y que pueden moverse a los frutales comerciales (Kovaleski, *et al*., 1999; Peck, *et al*., 2005; Chen, *et al*., 2006). La integración gremial representa una razón para considerar al parasitismo múltiple como una opción viable en el control biológico de moscas de la fruta.

Una justificante para proponer el control biológico múltiple parte de los datos de parasitismo obtenidos por Montoya *et al*. (2000), cuyos promedios en campo estuvieron alrededor del 50 % en poblaciones de *Anastrepha* spp. con liberaciones aumentativas de *Diachamimorpha longicaudata* (Ashmead). Lo anterior implica que una parte de la población de moscas se mantiene sin ser parasitadas y con un alto potencial para recuperar el nivel de plaga. Diferentes factores ecológicos evitan que *D. longicaudata* pueda alcanzar un nivel mayor de parasitismo en campo. Estos factores se pueden explicar de acuerdo a las diferentes concepciones que se tiene sobre el refugio de un hospedero (Hawkins *et al*., 1993) como puede ser en parte el tamaño del fruto que puede proveer de un refugio físico a la plaga. El efecto de *D. longicaudata* podría complementarse con la acción de un segundo parasitoide que no actué en detrimento del primero.

El parasitoide de pupa *Coptera haywardi* (Oglobin) podría cumplir con este efecto complementario debido a su especificidad (Sivinski *et al*., 1998), y su alta capacidad para discriminar pupas previamente parasitadas como larvas

por *D. longicaudata* (Capitulo 2 de esta tesis). Estos atributos nos permiten suponer que las liberaciones aumentativas de *C. haywardi* se dirigirían a aquellas pupas de *Anastrepha* que no fueron parasitadas como larvas por *D. longicaudata.*

El propósito general en este capítulo fue evaluar bajo condiciones de laboratorio y en jaulas bajo condiciones de campo si la actuación de estas dos especies de parasitoides resulta en un control biológico de moscas de la fruta más efectivo. Nos planteamos las siguientes preguntas: a) Cual es la contribución de *C. haywardi* en hospederos que fueron expuestos inicialmente a *D. longicaudata*? b) ¿Cual es el efecto de la acción conjunta de estas dos especies de parasitoides?, y c) ¿Se mantendrá la contribución de *C. haywardi* en condiciones ambientales naturales?

A continuación se muestran y se discuten resultados que implican las ventajas de la acción conjunta de los parasitoides mencionados. Los datos son de importancia para decidir entre mantener una especie como la mejor opción en el control biológico de una plaga (Elher, 1990) o considerar los riesgos de incluir una nueva especie en el control biológico por aumento de moscas de la fruta (Duan y Messing, 1997).

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Condiciones experimentales

Las evaluaciones en laboratorio se llevaron a cabo en el Departamento de Control Biológico del Programa Moscafrut SAGARPA-IICA. Las pruebas en campo se realizaron en un huerto mixto de mango, naranja y café ubicado en el

poblado de Rosario Ixtal, Municipio de Cacahotan, Chiapas, México a 607 msnm (15º 00' 30.80" N, 92° 09' 21.832 W).

Se emplearon parasitoides de las crías masivas de *D. longicaudata* (con más de 300 generaciones) y *C. haywardi* (de la generación 85 a la 90) mantenidas en los laboratorio de la Planta Moscafrut en Metapa de Domínguez, Chiapas. Larvas hospederas y adultos de *Anastrepha ludens* (Loew) y *Anastrepha serpentina* (Wiedeman) también fueron proporcionadas por la Planta Moscafrut. Las evaluaciones en laboratorio se realizaron a 22 ± 2 ºC y 60-80 % de humedad relativa (HR). El desarrollo de estados inmaduros de los parasitoides al interior del pupario se llevó a cabo a 26 ± 2ºC y 60- 80% HR.

3.2.2. Exposición de hospederos a parasitoides

Los hospederos fueron expuestos a los parasitoides de las maneras siguientes: a) larvas de tercer estadio expuestas solamente a *D. longicaudata*; b) pupas de 3 días expuestas solamente a *C. haywardi*; c) larvas expuestas inicialmente a *D. longicaudata* y posteriormente las pupas formadas (de 3 días de edad) fueron expuestas a *C. haywardi* y c) hospederos (larvas y pupas) no expuestas, empleadas como control.

3.2.3. Parasitismo en unidades artificiales

Muestras de 200 larvas de *A. ludens* de 8 días de edad fueron expuestas en una unidad de exposición tipo caja Petri (9 cm de diámetro por 0.5 cm de alto con dieta y cubiertas con tela organza). La exposición se llevó a cabo con 30♀:30♂ de *D. longicaudata* en una jaula de 27x27x27 cm tipo Hawaii (Wong y Ramadan, 1992). Después de 2 h de exposición las larvas con dieta fueron

retiradas y colocadas en recipientes cilíndricos de plástico (8 cm de diámetro por 4.5 cm de altura). Dos días después de la exposición las larvas fueron separadas de la dieta por medio de un lavado y colocadas en recipientes con vermiculita.

La exposición de hospederos a *C. haywardi*, se realizó con las pupas de tres días de edad que fueron colocadas en la base de una caja Petri de 8.5 cm de diámetro por 1,5 cm de altura con una delgada capa de vermiculita. Esta fue introducida a una jaula de plexiglass de 20x20x20 cm con 50♀:50♂ parasitoides. La exposición se realizó cubriendo la caja Petri con un pedazo de cartoncillo para mantener las pupas a 8 lux de intensidad luminosa. La exposición se llevó a cabo durante 48 h, posteriormente las pupas fueron retiradas y retornadas a un recipiente cilíndricos de plástico (8 cm de diámetro y 4.5 cm de altura) en donde se mantuvieron hasta la emergencia de adultos. Cuando los hospederos (larvas o pupas) fueron expuestos en una sola ocasión, estos se mantuvieron en los recipientes hasta la emergencia de adultos. En el caso de la exposición secuencial, primero las larvas fueron expuestas a *D. longicaudata*, colocadas en un recipiente con vermiculita donde puparon y tres días después fueron expuestas a *C. haywardi*. Los hospederos expuestos a parasitoides en dos ocasiones fueron mantenidos en los recipientes hasta la emergencia de adultos. Se registró el número de adultos emergidos de parasitoides y moscas así como su proporción sexual en cada tratamiento.

3.2.4. Parasitismo en frutos

Se emplearon frutos de mango (*Mangifera indica* L.) y chicozapote (*Manilkara zapota* (L.) van Royen), los cuales fueron infestados con *A. ludens* y *A.*

serpentina respectivamente. En mango se emplearon dos cultivares, el criollo de la región y el c.v. Ataulfo. El uso de estos dos tipos de mango fue para evaluar el efecto del grosor de pulpa como un factor variable del alcance del parasitismo de *D. longicaudata*. En chicozapote se utilizó la variedad Betawe.

Los frutos fueron colectados de diferentes lugares en los alrededores de la Región del Soconusco en Chiapas. Se les midió el largo y ancho con un vernier Scala ®, se pesaron con una balanza digital (Ohaus-Scout ®) y se tomó el volumen por diferencia en un vaso de precipitados de 1 lt con agua. La infestación de los frutos por moscas se realizó en una jaula de 1x1x1 m (estructura de madera cubierta con malla de 5 mm de luz). Frutos de ¾ de madurez fueron introducidos a la jaula y colocados sobre una parrilla en el interior. La oviposición se realizó con 500 moscas (1♀:1♂) de 12 a 20 días de edad, mantenidas con agua y alimento (mezcla de proteína hidrolizada y azúcar; 1:3). La infestación consistió en mantener la fruta alrededor de 15 min. Se permitió que solo un máximo de tres moscas ovipositaran en el mismo fruto para mantener un número de larvas muy similar entre frutos. La fruta infestada se mantuvo durante el desarrollo de huevecillo a larva en recipientes cilíndricos con tapa (11.5 cm de diámetro por 8 cm de altura) con vermiculita a 26 ºC y 60-80% de HR.

Una repetición consistió de 16 frutos infestados, los cuales fueron divididos en cuatro grupos cada uno con cuatro frutos, a cada grupo se les aplicó uno de los tratamientos. Esto implicó exposición de larvas de tercer estadio en frutos a *D. longicaudata* y pupas de tres días de formadas a *C. haywardi*. Se realizaron las exposiciones por separado y de manera secuencial con las dos especies de parasitoides.

Las frutas con larvas de tercer estadio fueron expuestas a 30♀:30♂ de *D. longicaudata* en una jaula tipo Hawaii (Wong y Ramadan, 1992) durante 2 h. Las frutas fueron colgadas en la parte superior de la jaula sostenidas con una tira de papel parafilm. Posteriormente los frutos fueron retornados a su recipiente, dos días después las larvas fueron extraídas por disección. Todos los frutos considerados en una repetición fueron disectados al mismo tiempo. Las larvas obtenidas por cada fruto fueron contabilizadas y colocadas en un recipiente de plástico con vermiculita en donde se mantuvieron a 26 ºC y 60-80% de HR. Cuatro días después de la disección, se tomaron las pupas formadas de los contenedores destinados para exponerlos a *C. haywardi* (exposición exclusiva a *C. haywardi* o como segunda exposición después de *D. longicaudata*). Las pupas fueron expuestas en una base de caja Petri con una delgada capa de vermiculita y cubierta con un pedazo de cartoncillo. La exposición se realizó en una jaula de plexiglass de 30x30x30 cm con 50♀:50♂ durante 48 h. Después, las pupas se regresaron a los recipientes con vermiculita hasta la emergencia de adultos. Con la emergencia de adultos, se calculó la emergencia y la proporción sexual tanto de moscas como de parasitoides.

3.2.5. Parasitismo en frutos en jaulas de campo

Se utilizaron los frutos infestados en laboratorio en base al procedimiento antes descrito. Los frutos infestados fueron mantenidos por 12 días en recipientes cilíndricos con vermiculita por separado a 26 ºC y 60-80% de HR hasta cubrir el tercer estadio larvario.

El lote de 20 frutos fue dividido en cuatro tratamientos, que implicaron la exposición por separado a *D. longicaudata* y *C. haywardi,* respectivamente, la exposición secuencial a ambos parasitoides y un tratamiento control sin exposición a parasitoides. Cada tratamiento correspondió a un número de cinco frutos. La exposición de larvas en fruto se realizó al interior de una jaula cilíndrica de campo de 3 m de diámetro por 2 m de altura, cubierta con una malla plástica de 0.1 mm de luz. La jaula fue colocada en el huerto. Las condiciones ambientales presentes durantes las evaluaciones estuvieron entre 24.5±3.61 °C (max. 35.7 y min. 18.6 ºC), y una humedad relativa promedio de 84.6+7.3 % (max. 98.5 y min.35.9%).

La exposición de los frutos infestados con larvas se realizó colgando los frutos del techo de la jaula. Los frutos fueron abrazados con una tira de papel parafilm para sostenerlos y colgarlos en un gancho. Se distribuyeron uno en el centro de la jaula y los cuatro en puntos distribuidos en los vértices de un cuadro de 1 m de largo. Se introdujeron 100♀ y 100♂ de *D. longicaudata* de cinco días de edad, las hembras previamente fueron mantenidas con machos con agua y alimento a 21 ºC. La exposición se realizó por un tiempo de dos horas, posteriormente los frutos fueron mantenidos en condiciones de laboratorio por dos días más y se procedió a su disección. Las larvas obtenidas de cada fruto fueron colocadas en recipientes de plástico con vermiculita.

Cuatro días después se tomaron las pupas de los frutos correspondientes a los tratamientos: exposición solo a *C. haywardi* y con exposición secuencial a *D. longicaudata* y *C. haywardi*. Estas pupas fueron introducidas a las jaulas y expuestas en el piso en cajas Petri (14.5 cm de diámetro por 1.3 cm de alto) y cubiertas con una capa de 1 a 2 cm de suelo

con hojarasca. La exposición se realizó por un tiempo de 48 h con 100♀ y 100♂ de *C. haywardi* de cinco días de edad, mantenidas previamente a 21 ºC con machos, con disponibilidad de agua y alimento. Posterior a la exposición los puparios fueron colocados en recipientes con vermiculita para continuar con su desarrollo en el laboratorio a 26 ºC y 60-80 % de H.R. Se registró el número de adultos de moscas y parasitoides de cada especie emergidos.

En todas las evaluaciones realizadas, la emergencia de moscas y parasitoides de *D. longicaudata* se presentó a los 15 días después de la exposición, la emergencia de *C. haywardi* fue hasta los 30 días. En este último caso, después de la emergencia de moscas o parasitoides de *D. longicaudata* se retiraron estos para permitir el desarrollo adecuado de las pupas parasitadas por *C. haywardi*.

3.2.6. Análisis estadístico

Los resultados de emergencias en las diferentes evaluaciones fueron analizados por medio de un ANOVA. Cuando se utilizaron diferentes tipos de frutos, se analizaron como un diseño bifactorial. Para conocer los efectos en los promedios obtenidos entre frutos los datos se colapsaron para emplear ANOVA simple. En los casos necesarios se recurrió a las transformaciones de datos con ln (X+10), box-cox y raíz cuadrada para cumplir con la homocedasticidad. Los datos de emergencia entre *D. longicaudata* y *C. haywardi* obtenidas con unidades de oviposición artificial fueron relacionados para obtener un modelo de regresión simple. Los promedios de emergencia de parasitoides en laboratorio y campo empleando frutos fueron sometidos a una prueba t. Para su comparación entre los diferentes tratamientos se usó el

ajuste de Bonferroni. Se aplicó una regresión canónica (Giri, 2004) entre los datos de características del fruto (largo, ancho, peso y volumen) contra el número de larvas y emergencia de cada especie de parasitoide. Estos mismos datos fueron analizados por medio de un modelo base de árbol (Clark y Pregibon, 1993). Los análisis se realizaron con el paquete estadístico JMP versión 5 (2002).

3.3. Resultados

3.3.1. Parasitismo en unidades artificiales

Los niveles de parasitismo por *D. longicaudata* fueron significativamente mayores a los obtenidos por *C. haywardi* (g.l.= 3,196, F=96.86, $P<0.0001$). Cuando las larvas hospederas fueron expuestas solo a *D. longicaudata*, así como cuando se presentó la consecuente oviposición de *C. haywardi*, la emergencia de *D. longicaudata* se mantuvo en promedios sin diferencia estadística. No fue el caso en *C. haywardi*, el cual redujo significativamente su emergencia cuando fue empleado como un segundo parasitoide. Por su parte la emergencia de moscas fue significativamente menor cuando los dos parasitoides fueron empleados de manera secuencial (g.l.= 2, 147, F=108.08, $P<0.0001$) (Cuadro 3.1). En lo que corresponde a la proporción sexual esta fue inclinada hacia hembras en *D. longicaudata*.

En la Fig. 3.1, se puede apreciar la mayor proporción de *D. longicaudata* cuando fue empleado inicialmente en unidades de parasitación de laboratorio (80%). Cuando se añade el parasitismo aportado por *C. haywardi* incrementa el porcentaje a más del 90%. Este promedio fue significativamente diferente de los obtenidos con *D. longicaudata* y *C. haywardi* cuando actuaron por separado

(g.l.=2, 144, F= 154.54, *P*<0.0001). La capacidad de parasitación de *C. haywardi* es reducida con la presencia inicial de *D. longicaudata*. Una explicación de esto se puede dar en la Fig. 3.2, en donde se relacionan números de parasitoides emergidos como resultado de la exposición secuencial de *D. longicaudata* y después *C. haywardi*. Como se puede apreciar se encontró una relación negativa (r^2 = 0.72) y significativa (g.l.=48, F=125.18, *P*<0.0001).

Cuadro 3.1. Promedio de parasitoides emergidos y su proporción sexual y promedio y proporción de moscas emergidas de hospederos expuestos a *D. longicaudata* (como larva) y *C. haywardi* (como pupa) por separado y con exposición secuencial.

Tipo de exposición	Parasitoide	No. parasitoides emergidos	Propoción sexual (♀:♂)	No. moscas emergidas	Percentaje de moscas
Hospedero expuesto solo como larva	*D. longicaudata*	100.53±4.62 a	4.73:1	28.32±4.64 a	20.36±2.79 a
Hospedero expuesto solo como pupa	*C. haywardi*	57.38±4.51 b	0.99:1	101.78±6.07 b	63.16±2.60 b
Hospedero expuesto como larva con exposición secuencial como	*D. longicaudata*	100.26±5.69 a	5.74:1	11.04±2.56 c	7.63± 1.22 c
pupa	*C. haywardi*	19.04±2.40 c	1.77:1		

Valores promedio seguidos por diferente letra en la misma columna implica diferencia estadística. ANOVA, prueba de Tukey.

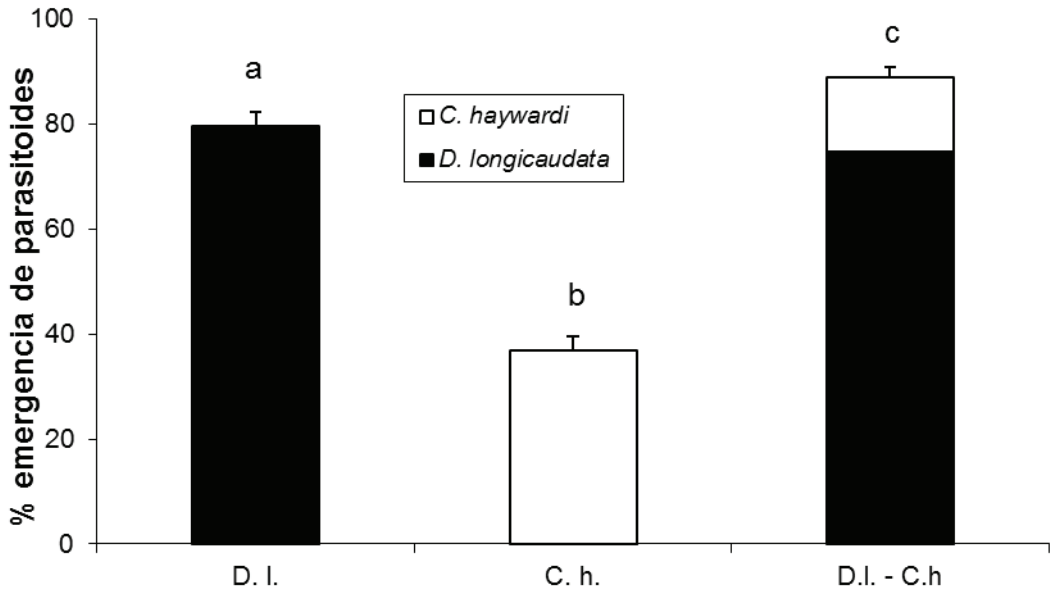


Fig. 3.1. Porcentajes de parasitoides emergidos de larvas expuestas a *D. longicaudata* y pupas expuestas a *C. haywardi* por separado o con exposición secuencial a ambos parasitoides, D.l.=exposición solo a *D. longicaudata*, C.h.= exposición solo a *C. haywardi* y D.l.-C.h.=exposición secuencial a ambos parasitoides

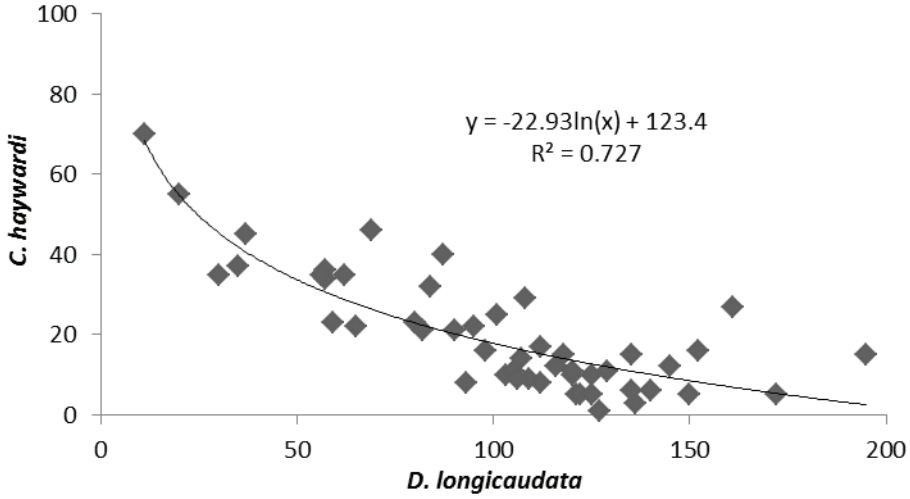


Fig. 3.2. Relación entre parasitoides emergidos de hospederos expuestos secuencialmente a *D. longicaudata* (como larva) y *C. haywardi* (como pupa).

3.3.2. Parasitismo en frutos

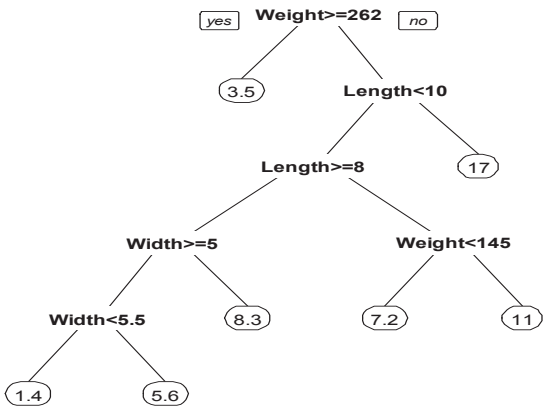
En el Cuadro 3.2 se muestran los promedios de larvas obtenidas en los dos tipos de mangos y en el chicozapote. El número de larvas por fruto empleadas en los diferentes tratamientos fueron estadísticamente iguales en mango criollo (g.l.=3, 58, F= 0.02, *P*=0.99), mango Ataulfo (g.l.= 5, 131, F= 0.27, *P*= 0.84) y chicozapote (g.l.= 11, 262, F= 1.003, *P*=0.99). Lo anterior permitió considerar que el número de larvas en que se ofrecieron por fruto en cada tratamiento fueron similares.

El número de moscas emergidas fue significativamente menor cuando se empleó *D. longicaudata* y *C. haywardi* secuencialmente en los tres frutos (mango criollo: g.l.= 3, 82, F= 4.98, *P*= 0.0031; mango Ataulfo: g.l.= 3, 184, F= 3.29, P= 0.021; chicozapote: g.l.= 3, 146, F= 10.34; *P*<0.0001). Cuando se utilizó solo uno de los dos parasitoides tanto en mango criollo, como en mango Ataulfo no se presentó diferencia estadística en la emergencia de moscas. En chicozapote, la emergencia de moscas fue significativamente menor cuando se empleó *C. haywardi* únicamente. Por otra parte, la emergencia de parasitoides no presentó diferencias significativas en ninguna de las dos especies, ni cuando se emplearon solas, ni cuando se emplearon de manera secuencial. En el análisis bifactorial, considerando a los frutos y los tratamientos como factores, se obtuvo que no hubo interacción y solo se encontró diferencia significativa entre los promedios de emergencia de *D. longicaudata* entre los tres frutos (g.l.= 5, 151, F=6.88, *P*<0.0001). Estas diferencias fueron debidas al decremento de la emergencia de *D. longicaudata* en mango Ataulfo y de manera más notable en chicozapote.

Cuadro 3.2. Parasitoides y moscas (promedio ± E. S.) obtenidos de dos tipos de mangos y chicozapote infestados con larvas de *Anastrepha* y expuestas a solo un parasitoide o de manera secuencial a *D. longicaudata* y *C. haywardi* en condiciones de laboratorio.

Fruta	Hospederos expuestos al parasitoide:	Emergencia de adultos						
		Larva por fruta	Moscas promedio	♀:♂	*D. longicaudata* promedio	♀:♂	*C. haywardi* promedio	♀:♂
Mango criollo	*D. longicaudata*	21.5±4.73 a	8.43±1.75 ab	0.88	18.16±3.75 a	2.57		
	C. haywardi	22.45±3.48 a	9.5±2.78 ab	1.02			15.15±3.55 a	1.13
	D. longicaudata - *C. haywardi*	21.64±2.57 a	2.05±0.72 a	0.84	19.81±5.73 a	3.24	13.16±3.35 a	1.08
	No expuestos	21.55±2.30 a	17,00±4,04 b	1.07				
Mango Ataulfo (var.)	*D. longicaudata*	27.02±4.03 a	14.13±2.36 ab	0.9	11.51±2.90 a	3.11		
	C. haywardi	32.25±3.71 a	13.42±2.14 ab	0.91			21.85±3.15 a	1.36
	D. longicaudata - *C. haywardi*	29.52±4.21 a	9.62±1.67 a	1.04	8.87±2.24 a	3.64	15.8±2.94 a	1.34
	No expuestos	29.63±3.62 a	21.93±3.35 b	0.88				
Chicozapote	*D. longicaudata*	22.6±2.45 a	14.55±1.83 ab	1.06	5.00±0.81 a	2.61		
	C. haywardi	22.93±1.77 a	7.54±1.44 a	0.9			11.61±1.49 a	1.97
	D. longicaudata - *C. haywardi*	23.55±2.21 a	5.53±0.99 a	0.95	3.95±0.79 a	2.25	13.34±1.60 a	1.27
	No expuestos	23.05±4.14 a	22.18±3.87 b	1.01				

Promedios seguidos por la misma letra dentro de cada columna indica que no se presentó diferencia estadística. ANOVA y prueba de Tukey (α=0.05).



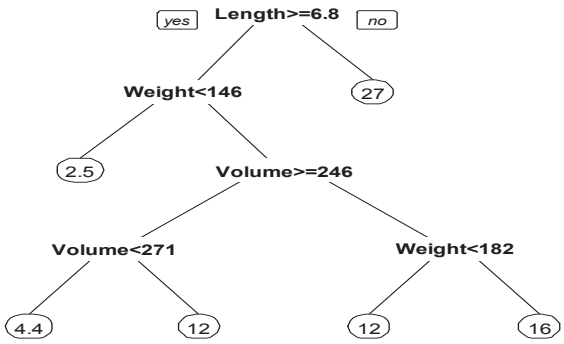


Fig. 3.3. Modelo de árbol aplicado a los datos de largo, ancho, volumen y peso de fruta expuesta: a) *D. longicaudata* y b) *C. haywardi.*

Por su parte, la emergencia de *C. haywardi* como único parasitoide incrementó de manera inversa, fue menor en mango criollo, e incrementó en mango Ataulfo y más en chicozapote, aunque los promedios no fueron estadísticamente diferentes en este caso. La regresión canónica de las características físicas de los mangos criollo y Ataulfo: largo, ancho, peso y volumen, relacionadas con el número de larvas y emergencias de *D. longicaudata* y *C. haywardi* presentaron valores de correlación de 0.46, 0.35, 0.25 y 0.07, respectivamente. Sin embargo esta relación no fue significativa (*P*= 0.33, 0.51, 0.59 y 0.65). Estas mismas variables fueron relacionadas en chicozapote y de igual manera se encontraron valores de correlación de 0.56, 0.37, 0.16 y 0.06, y también sin diferencia estadística (*P*= 0.21, 0.66, 0.87 y 0.69).

En la Figs. 3.3 se muestran la distribución de los valores de emergencia de *D. longicaudata* y *C. haywardi* con base en las característica de largo, ancho, peso y volumen de los tres frutos empleando un modelo de árbol. Como se puede observar en *D. longicaudata* la mayor cantidad de emergencia se presentó en frutos más largos y poco anchos. En el caso de *C. haywardi*, la mayor frecuencia de emergencia se presentó en frutos de mayor peso y volumen.

3.3.3. Parasitismo en jaulas de campo

El número de larvas promedio de cada especie de mosca por frutos en mango criollo, mango ataulfo y chicozapote empleados en los tratamientos en campo no fueron estadísticamente diferentes (mango criollo: g.l.= 3, 179, F=0.21, *P*=

0.88; mango Ataulfo: g.l.= 3, 114, F= 0.54, *P*=0.65; chicozapote: g.l.= 3, 193, F= 2.09, *P*=0.102). El efecto de la exposición secuencial de *D. longicaudata* y *C. haywardi* en condiciones de campo, aportó una disminución significativa en la emergencia de moscas en los tres frutos (mango criollo: g.l.= 3, 182, F=15.05, *P*<0.0001; mango Ataulfo: g.l.= 3, 133, F= 3.009, *P*<0.03; chicozapote: g.l.= 3, 239, F= 8.96, *P*<0.0001). La contribución en la reducción de los promedio de moscas emergidas por parte de *D. longicaudata* también fue más notable en el mango criollo, en los otros dos frutos la contribución de este parasitoide fue muy similar a la aportada por *C. haywardi* (Cuadro 3.3). La emergencia de *D. longicaudata* en los tres frutos, fue estadísticamente similar cuando las larvas fueron expuestas solo a este parasitoide o en combinación de *C. haywardi* (mango criollo: g.l.= 1, 99, F= 0.91, *P*=0.33; mango Ataulfo: g.l.= 1, 76, F= 0.32, *P*=0.57; chicozapote: g.l.= 1, 196, F=3.37, *P*=0.06). Las emergencias de adultos de *C. haywardi* en mango criollo fueron estadísticamente diferentes cuando se empleó solo *C. haywardi*y o en combinación con *D. longicaudata* (g.l.= 1,102, F=10.64, *P*=0.0015). Los valores de emergencia obtenidas entre estos dos tratamientos en mango Ataulfo y chicozapote no presentaron diferencia significativa (mango Ataulfo: g.l.= 1, 170, F=2.86, *P*=0.09; chicozapote: g.l.= 1, 120, F= 1.16, *P*=0.28). El análisis bifactorial de los valores de emergencia de parasitoides *D. longicaudata* y *C. haywardi* entre los tratamientos de exposición y el fruto no mostró una interacción significativa. Lo anterior permitió conocer que la emergencia de *D. longicaudata* fue significativamente diferente entre mango criollo, mango Ataulfo y chicozapote (g.l.= 5, 323, F= 2.86, *P*=0.003). También en *C. haywardi* se encontró diferencia estadística entre los frutos (g.l.= 5, 292,

F=5.81, *P*=0.02), los promedios en este caso no mostraron diferencias amplias como los resultados obtenidos en condiciones de laboratorio.

La comparación de emergencias de parasitoides obtenidas entre condiciones de campo y laboratorio, reportaron que con excepción de la emergencia de *D. longicaudata* de la exposición de larvas en chicozapote, en el resto de los tratamientos con los diferentes frutos, la emergencia de *D. longicaudata* no presentó diferencia estadística. En contraste, con las emergencias de *C. haywardi* en donde sí se presentaron diferencias significativas (Cuadro 3.4).

3.4. Discusión

La reducción de la emergencia de moscas con la exposición secuencial de *D. longicaudata* y *C. haywardi* fue evidente. En todas las evaluaciones la acción de ambos parasitoides repercutió de manera complementaria en la reducción significativa de moscas emergidas. Sin embargo, la disminución en la emergencia de moscas se presentó de diferentes maneras de acuerdo a las condiciones en que se expusieron los hospederos a los parasitoides. En el caso de la exposición de larvas con unidades de oviposición en laboratorio, *D. longicaudata* fue ampliamente dominante. Es importante considerar que esta unidad de parasitación ofrece todas las facilidades para que *D. longicaudata* cubra un alto porcentaje de los hospederos (Wong y Ramadan, 1992), por lo que el número de hospederos sin parasitar disponibles para *C. haywardi* fue reducido. Los resultados corroboran el alto nivel de discriminación de *C. haywardi* con los hospederos parasitados previamente en estado de larvas por

Cuadro 3.3. Emergencia de parasitoides y moscas (promedio ± E. S.) empleando fruta de dos tipos de mango y chicozapote infestados con larvas de *Anastrepha* y expuestas a solo un parasitoide o de manera secuencial a *D. longicaudata* y *C. haywardi* en jaulas de campo.

			Emergencia de adultos					
Fruta	Hospederos expuestos a:	Larva por fruta	Moscas Promedio	♀:♂	*D. longicaudata* Promedio	♀:♂	*C. haywardi* Promedio	♀:♂
Mango Criollo	*D. longicaudata*	17.65±2.78 a	5.98±1.05 ab	0.93	12.09±2.09 a	4.88		
	C. haywardi	16.73±3.55 a	14.92±3.60 b	1.05			5.46±0.88 a	1.07
	D. longicaudata - *C. haywardi*	16.93±2.07 a	2.70±0.41 a	1.05	15.06±2.27 a	2.49	2.56±0.44 b	1.1
	No expuestos	20.9±4.80 a	24.89±4.51 c	1.33				
Mango ataulfo (var.)	*D. longicaudata*	20.97±3.42 a	15.20±3.29 ab	0.93	9.15±2.53 a	4.1		
	C. haywardi	26.61±4.23 a	14.62±3.97 a	1.11			4.53±0.74 a	1.18
	D. longicaudata - *C. haywardi*	21.00±2.12 a	9.00±1.53 c	1.2	11.17±2.52 a	2.1	6.37±0.77 a	1.5
	No expuestos	24.89±6.17 a	28.35±6.85 b	1.36				
Chicozapote	*D. longicaudata*	28.78±2.16 a	24.92±2.23 a	1.15	9.22±0.93 a	1.84		
	C. haywardi	30.7±2.86 a	25.03±2.30 a	1.07			4.25±0.50 a	1.29
	D. longicaudata - *C. haywardi*	25.17±2.45 a	14.11±1.53 b	1.37	6.82±0.91 a	1.35	3.53±0.43 a	1.33
	No expuestos	35.76±4.47 a	30.59±3.58 a	1.28				

Promedios entre frutos en la misma columna, seguidos por la misma letra implica que no existe diferencia estadística. ANOVA y prueba de Tukey (α=0.05).

Cuadro 3.4. Comparación entre emergencias de *D. longicaudata* y *C. haywardi* obtenidas en campo y en laboratorio

Fruta	Tratamiento	Emergencia de *D. longicaudata*						Emergencia de *C. haywardi*					
		Laboratorio	Campo	t	g.l.	Valor de P		Laboratorio	Campo	t	g.l.	Valor de P	
Mango	*D. longicaudata*	18.16±3.75 a	12.09±2.09 a	-1.29	61	0.2011	N. S.	15.15±3.55 a	5.46±0.88 b	-3.245	48	0.0021	**
criollo	*D. long./C. hayw.*	19.31±5.73 a	15.06±2.27 a	-0.861	59	0.3929	N. S.	13.16±3.35 a	2.56±0.44 b	-6.177	83	<0.0001	**
Mango	*D. longicaudata*	13.51±2.90 a	9.15±2.53 a	-1.106	67	0.2728	N. S.	21.85±3.15 a	4.53±0.74 b	-5.95	57	<0.0001	**
ataulfo	*D. long./C. hayw.*	11.51±2.24 a	11.17±2.52 a	0.663	69	0.5094	N. S.	15.80±2.94 a	6.37±0.77 b	-3.373	69	0.00012	**
Chicozapote	*D. longicaudata*	5.00±0.81 a	9.22±0.93 b	3.398	102	0.001	**	11.87±1.49 a	4.25±0.50 b	-5.635	84	<0.0001	**
	D. long./C. hayw.	3.95±0.79 a	6.82±0.91 b	2.198	118	0.0299	**	13.34±1.60 a	3.53±0.43 b	-6.859	111	<0.0001	**

Promedio seguidos por la misma letra en cada línea significa no diferencia estadística. Prueba de t con ajuste de Bonferroni α=0,0083.

D. longicaudata. En estudios previos se ha mencionado la alta especificidad de *C. haywardi* para desarrollarse en larvas de *Anastrepha* spp., así como aptitudes para desarrollar de manera eficiente la discriminación de pupas parasitadas (Sivinski *et al*., 1998, Capitulo 2 de esta tesis). Por otra parte también se puede considerar que *D. longicaudata* tiene una alta capacidad de ataque en larvas de *Anastrepha*, información que ha sido ampliamente demostrada tanto en laboratorio como en condiciones de campo (Sinviski *et al*., 1996; Montoya *et al*., 2000; Cancino y Montoya, 2008). Las larvas de *Anastrepha* spp. tienen dos ventajas importantes para *D. longicaudata*, lo cual es trascendental para el control biológico de estas plagas. Primero, no se han encontrado limitantes para su desarrollo fisiológico (encapsulamiento, represión del desarrollo, etc.), su actividad fisiológica para reprimir el antagonismo del hospedero es muy eficiente (Khoo y Lawrence, 2002; Lawrence, 2005), incluso se puede considerar que emplea el superparasitismo como una estrategia adaptativa cuando se lleva a cabo en larvas de *Anastrepha* (González *et al*., 2007). Segundo, ecológicamente tiene características adaptativas para establecerse adecuadamente en las regiones en donde habitan las poblaciones de *Anastepha*, siendo un parasitoide integrado al gremio de parasitoides de moscas *Anastrepha* spp. (Ovruski *et al*., 2000; García-Medel *et al*., 2007).

Sin embargo, este panorama favorable para *D. longicaudata* tiene limitantes, cosa que se pudo apreciar cuando se expusieron larvas de *Anastrepha* en frutos. En este caso, los resultados mostraron que *D. longicaudata* tiene más problemas para ovipositar de acuerdo al mayor grosor de la pulpa del fruto. El mango criollo generalmente es un fruto con poca pulpa y semilla grande, de tal manera que cuando fueron infestados con larvas, estas

estuvieron más disponibles a la oviposición de *D. longicaudata*. La característica del mango Ataulfo, un fruto con una capa de pulpa gruesa y con semilla muy delgada, permite que las larvas tengan mayor oportunidad de escaparse al ataque de *D. longicaudata*. Esta situación es más notable en el chicozapote, fruto de forma semiesférica con semillas pequeñas en donde la larva puede librarse con mayores facilidades del ataque de *D. longicaudata*. Esto permitió que *C. haywardi* tuviera mayor parasitismo en frutos con mayores posibilidades para el escape de las larvas al ataque de *D. longicaudata*. La acción de *D. longicaudata* puede estar aún más limitada bajo condiciones de campo, en donde las moscas aprovechan mejor sus recursos sin el ataque de este parasitoide. Por ejemplo, se puede mencionar el caso del fruto *Spondias monbin* L. que es infestado por *Anastrepha obliqua* (McQuart) donde el parasitismo de la especie nativa *Utetes anastrephae* (Viereck) es muy alto, aun con la presencia de *D. longicaudata* (Aluja *et al*., 1990; López *et al*., 1999; Sivinski *et al*., 2000). No obstante que *A. obliqua* es un hospedero frecuentemente empleado por *D. longicaudata* en mango (Montoya *et al*., 2000). Lo cual puede indicar que no existe un mecanismo fisiológico que evite el desarrollo de *D. longicaudata* en larvas de *A. obliqua*. Pero si pueden existir otro tipo de factores negativos como el desplazamiento, condiciones ambientales, reacción ante semioquímicos, etc.

Los resultados obtenidos en este trabajo se pueden explicar en el contexto de la teoría del refugio físico de los hospederos (Hochberg y Hawkins, 1992; Porter y Hawkins, 2003). Este concepto es un fundamento muy importante para considerar las limitantes del control biológico y que a la vez permite plantear otras alternativas (Hawkins *et al*., 1993, Sait *et al*., 1997). El

refugio físico de los hospederos puede ser un problema para algunas especies de parasitoides, pero a la vez representa una oportunidad para otras que logran superar la barrera y es donde establecen su espacio de acción, sugiriendo esto una división de nichos (Hanks *et al*., 2001; Wyckhus *et al*., 2007). El tamaño de los frutos ha sido evaluado como una limitante de importancia para el alcance de larvas hospederas de moscas de la fruta por los parasitoides (Leyva *et al*., 1991; Wang *et al*., 2008). Sin embargo, no siempre los frutos grandes son descartados para el parasitismo, en otros casos en los frutos grandes se desarrollan hospederos que permiten mantener en mejores condiciones los atributos de la progenie de los parasitoides, por lo que son seleccionados frecuentemente (Hoffmeister y Vidal, 1994) El tamaño del ovipositor en diferentes especies de estos parasitoides puede ser un factor de importancia para el alcance de los hospederos y la división de nichos (Sivinski *et al*., 2001).

En este caso se puede considerar que el tamaño del fruto y el espesor de la pulpa fueron una barrera que limitó el alcance del ovipositor de *D. longicaudata* para ovipositar las larvas (Leyva *et al*., 1991; Ovruski *et al*., 2004). Bajo estas condiciones, el parasitismo con una segunda especie puede ser una opción viable. La contribución que puede aportar *C. haywardi* como complemento del parasitismo inicial de *D. longicaudata* puede incrementar el control considerando que su acción no induce a una competencia negativa entre las dos especies.

Sin embargo, la acción complementaria de *C. haywardi* también tiene sus limitantes como se puede apreciar con las diferencias en parasitismo que se presentaron cuando la pupa fue expuesta en condiciones de laboratorio y en condiciones de campo. En las evaluaciones realizadas en laboratorio se

emplearon unidades de oviposición sin mayor protección para las pupas. Cuando estas fueron expuestas en condiciones de campo, donde se empleó una capa de suelo y hojarasca el parasitismo de *C. haywardi* disminuyó. Según Guillén *et al.* (2001), la profundidad en donde se ubica la pupa en el suelo es un factor importante para disminuir las posibilidades de parasitismo por *C. haywardi*, aunque su nivel es mejor que el obtenido en otras especies de parasitoides de pupa.

La diversidad de refugios que pueden tener los hospederos es una razón importante para el empleo de diferentes especies de parasitoides que puedan tener una acción complementaria (Hochberg y Hawkins, 1992). No obstante, otra condición importante en el empleo de especies múltiples en control biológico es la reducción de la competencia o el establecimiento de ésta dentro de la dinámica de la comunidad (Cardinale *et al*., 2003; Hackett-Jones, *et al*., 2009). Al respecto, *C. haywardi* se puede considerar como un parasitoide que evade la competencia por medio de la discriminación de hospederos parasitados (Capitulo 2 de esta tesis). La característica endoparasitica de *C. haywardi* le confiere atributos con los cuales preferentemente evade la acción multiparasítica (Sivinski *et al*., 1998). Esta condición ha sido un problema fundamental por lo cual el empleo de un segundo parasitoide de pupas después de un parasitoide de larvas ha sido discutido y generalmente descartado. La razón es debido a que la mayoría de las opciones son ectoparasitoides con actividad hiperparasitica, de los cuales se espera una alta actividad competitiva con el primer parasitoide (Dresner, 1954; Wang y Messing, 2004a). Un ejemplo muy evidenciado es la actividad hiperparasitica de *Pachicrepoideus vindemmiae* (Rondani) en pupas parasitadas en estado de

larvas por *D. longicaudata*, que termina con el desarrollo del primer parasitoide (Wang y Messing, 2004b). Otro caso es la actividad hiperparasitica de *Eurytoma sivinski* Gates and Grissell, que oviposita sobre puparios de diferentes especies de parasitoides de larva o pupa de moscas de la fruta (Mena-Correa *et al*., 2009). En nuestras evaluaciones, la presencia de multiparasitismo en hospederos como resultado de la oviposición de *C. haywardi* en un hospedero previamente parasitado por *D. longicaudata* fue muy baja (menos del 10%). Cuando se presentó este evento, la supresión del desarrollo de *C. haywardi* fue total. De acuerdo a los resultados el control biológico de moscas *Anastrepha* puede ser más eficiente con la inclusión de *C. haywardi* dentro de los planes de liberaciones aumentativas conjuntamente con *D. longicaudata*.

Es muy probable que *D. longicaudata* se haya establecido como parasitoide de larvas de *Anastrepha* invadiendo nichos y compartiendo solo los hospederos disponibles, por lo que a pesar de su mayor capacidad, los porcentajes de parasitismo natural normalmente han sido bajos. El recurso de las liberaciones aumentativas permite superar la capacidad de supresión de la población plaga al incrementar de manera artificial la tasa de incremento de la población de parasitoides (Grasman *et al*., 2001). El control biológico aumentativo ha sido la manera más eficiente de lograr una supresión significativa de las poblaciones de moscas de la fruta sin el uso de plaguicidas. La información generada en este trabajo aporta evidencias para sustentar la propuesta de liberar simultáneamente a *D. longicaudata* y *C. haywardi* para suprimir con mayor eficiencia las poblaciones de moscas *Anastrepha* en el campo.

CAPTIULO 4

TABLA DE VIDA DE DECREMENTO MÚLTIPLE: ANÁLISIS DE LA MORTALIDAD DE MOSCAS DEL GÉNERO *Anastrepha* CAUSADAS POR DOS ESPECIES DE PARASITOIDES.

4.1. Introduccion

La mortalidad de insectos plaga provocada por la acción de parasitoides es un tema de interés en la regulación de poblaciones. No obstante que la importancia de los parasitoides como factor de mortalidad es discutible (Cornell y Hawkins, 1995; Hawkins *et al*., 1997; Peterson *et al*., 2009), la inclusión de estos en el control biológico de plagas es indiscutible (Murdoch *et al*., 1995; Hajek, 2004). Para conocer el efecto que un enemigo natural, como los parasitoides puede provocar en una población de insectos, se han propuestos diferentes métodos. De acuerdo a Carey (1993) desde el ajuste de Abbott, el análisis probit (Benschoffer y Witherell, 1984) y el análisis del factor K (Vickery, 1991; Royama, 1996), entre otros, han contribuido al análisis de la mortalidad.

Sin duda alguna las tablas de vida han sido el método más aplicado para analizar los factores de mortalidad de una población de insectos (Hawkins *et al*., 1997; Peterson *et al*., 2009). A partir de ellas se ha considerado a los parasitoides como un factor importante de mortalidad (Royama, 1981; van den Berg y Cock, 1993; Pilkington y Hoddle, 2007). Esta opinión parte de un análisis general, sin particularizar el efecto especial de los parasitoides. Para lo cual puede ser útil la tabla de decremento múltiple propuesta por Carey (1993),

con la que se puede hacer un análisis particular de una causa de mortalidad. Este método además permite analizar la mortalidad por diferentes causas separadas. También se pueden hacer otros tipos de análisis como la sensibilidad de una causa de mortalidad ante la ausencia o presencia de otras causas. Su aplicación puede ser muy útil para conocer el efecto de dos o más parasitoides como causa de mortalidad. La importancia de los parasitoides como causa de mortalidad, es que se pueden aplicar como agentes de control en el manejo de poblaciones plaga (Gurr y Kvedaras, 2010).

Como un ejemplo se puede citar el empleo de parasitoides dentro del manejo integrado de moscas de la fruta del género *Anastrepha* (Schiner). Estas moscas son una plaga de gran importancia para la fruticultura de América (Aluja, 1994). El manejo integrado de esta plaga sugiere el uso de parasitoides por medio de liberaciones aumentativas (Knipling, 1992; Sivinski *et al*., 1996). El interés de las liberaciones de parasitoides, radica en que además de su eficiencia, es una técnica “amigable” con el ambiente (Hajeck, 2004).

Diachasmimorpha longicaudata (Ashmead), un endoparasitoide introducido, adaptado para ovipositar en larvas de *Anastrepha,* ha sido la mejor opción (Ovruski *et al*., 2000). La aplicación de esta especie mediante liberaciones aumentativas ha demostrado resultados importantes en la supresión de poblaciones de especies de *Anastrepha* (Sivisnki *et al*., 1996; Montoya *et al*., 2000; Carvalho, 2005). Su efectividad puede ser un importante elemento de mortalidad de las poblaciones de la plaga. Sin embargo, una demanda continúa es incrementar la mortalidad de moscas por medio del uso de parasitoides. Ante lo cual se ha propuesto el uso de un segundo parasitoide que complemente el decremento de la población plaga. En este caso se tiene

la opción de *Coptera haywardi* (Oglobin), el cual es un endoparasitoide solitario nativo que ataca pupas de *Anastrepha* (Sivinski *et al*, 1998, Guillen *et al*., 2001). Dentro de las ventajas que implica el uso de esta especie se encuentra su especificidad y alta capacidad de discriminación de pupas parasitadas (Sivinski *et al.*, 1998, Cancino et al. en prensa, Capitulo 2 de esta tesis). De acuerdo a estas características se esperaría que el uso de estas dos especies repercuta en un control biológico más efectivo. Para conocer la mortalidad causada por cada especie cuando actúan de manera conjunta, se puede hacer un análisis de ambas especies como factores de mortalidad.

En este trabajo se realizó un análisis de supervivencia de estados inmaduros de *Anatrepha ludens* (Loew) y *A. serpentina* (Wiedeman) aplicando como factores de mortalidad los parasitoides *D. longicaudata, C. haywardi* y otras causas. Para conocer el efecto de cada especie y su acción conjunta se empleó la tabla de vida de decremento múltiple (Carey, 1993). Además se consideró el desarrollo de los estados inmaduros de *A. ludens* en dos tipos de mango y *A. serpentina* en chicozapote.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Material biológico

Los parasitoides *D. longicaudata* y *C. haywardi* así como las moscas *A. ludens* y *A. serpentina* fueron obtenidos de las crías respectivas de cada especie mantenidas en la Planta Moscafrut (Campaña Nacional contra Moscas de la Fruta, SAGARPA-IICA). Se utilizaron frutos de mangos *Mangífera indica* L. tipo criollo y cv Ataulfo, así como chicozapote *Manilkara zapota* (L.) van Royen de

variedad Betawe, todos colectados en la Región del Soconusco, Chiapas, México.

4.2.2. Infestación de frutas

Las frutas fueron infestadas con la especie de mosca a la cual está asociada como hospederos. De esta manera, los mangos fueron infestados con *A. ludens* y el chicozapote con *A. serpentina*. La infestación se realizó en una jaula de 1x1x1 m cubierta con malla tull de 1 mm de luz. Se expusieron 5 frutos de ¾ de madurez a 500 moscas (1♀:1♂), de 12 a 20 días de edad. La infestación se llevó a cabo durante un tiempo promedio de 15 min, considerando que solamente tres hembras ovipositaran. Inmediatamente después de la oviposición, se marco con un bolígrafo un círculo de 2 cm alrededor del punto donde oviposito la mosca para facilitar la búsqueda posterior de los huevos. Las frutas que fueron ovipositadas en un tiempo menor fueron retiradas. Una repetición consistió en cuatro grupos de cinco frutos.

4.2.3. Mantenimiento de las frutas infestadas y pupas

Las frutas infestadas fueron colocadas en grupos de cinco, en charolas de plástico (16x26x7 cm), en donde se mantuvieron durante el desarrollo de huevecillo y larva. Después de la disección, las larvas de tercer estadio de cada fruta fueron colocadas en recipientes cilíndricos de plástico (8 de diámetro por 6 cm de alto) con vermiculita para mantenerlos como pupa hasta la emergencia de adultos. El desarrollo de los estados inmaduros de moscas y parasitoides se llevó a cabo a 26ºC y 60-80 % de humedad relativa.

4.2.4. Tratamientos

La fruta infestada se dividió en cuatro tratamientos, en cada uno se emplearon cinco frutos por repetición. Los tratamientos fueron: a) fruta infestada expuesta a *D. longicaudata*, b) pupas de fruta infestada expuesta a *C. haywardi*, c) fruta expuesta a *D. longicaudata* y las pupas obtenidas expuestas de manera secuencial a *C. haywardi* y d) fruta infestada no expuesta a parasitoides.

4.2.5. Exposición a parasitoides

Cuando las larvas alcanzaron el tercer estadio (entre 12 a 14 días después de la oviposición), fueron expuestas a *D. longicaudata*. La fruta fue introducida en una jaula de madera de 27x27x27 cm, cubierta con malla de 1 mm de luz con 30♀ y 15♂. La fruta se expuso durante dos horas colgada del techo de la jaula con un soporte de alambre y sostenido con una tira de papel parafilm. En el caso de las pupas destinadas a exposición a *C. haywardi* estas fueron colocadas en cajas Petri de plástico (8,5 de diámetro por 0.7 cm de profundidad) con una delgada capa de vermiculita e introducidas en una jaula de 50x50x50 cm de plexiglass con 50♀:50♂ parasitoides. El tiempo de exposición de pupas fue de 24 h. Se emplearon parasitoides de 5 días de edad y con experiencia previa de oviposición a hospederos (exposición de hospederos un día antes). El mantenimiento de los parasitoides adultos y la exposición de hospederos se llevó a cabo a 22±2 ºC y 60-80% de humedad relativa.

4.2.6. Muestreo para contabilizar mortalidad

En cada tratamiento se realizaron muestreos para conocer la mortalidad del hospedero en los diferentes estadios. De los cinco frutos, dos fueron disectados, uno para conocer el número de huevos (clutch), el segundo para

conocer el número de larvas de segundo estadio. Los otros tres restantes se disectaron cuando la larva alcanzó el tercer estadio. Dos de ellos previamente fueron expuestos a *D. longicaudata* (uno destinado para el tratamiento a *D. longicaudata* y el otro para el tratamiento de exposición secuencial *D. longicaudata-C. haywardi*). Las larvas obtenidas de uno de estos frutos fueron mantenidas para transformarse en pupas y emplearse como hospederos de *C. haywardi.* Las larvas obternidas del tercer fruto fueron destinadas como tratamiento control, sin exposición a parasitoides.

Los muestreos de los diferentes estadios y estados inmaduros de *A. ludens* en los frutos fueron realizados progresivamente en base al siguiente procedimiento:

a) Número de huevos y eclosión. Cuatro días después de la oviposición de moscas, un fruto tomado al azar fue disectado dirigiéndose al punto de oviposición marcado previamente. Con un bisturí se hizo un corte de 1 cm de profundidad del área circular marcada. Con el apoyo de un microscopio estereoscópico se realizaron pequeños cortes (pedazos de 0.5 cm^3) hasta localizar los huevos que fueron encontrados en clutch, los cuales fueron retirados con un pincel. Se contabilizó el número de clutchs, huevos por clutch y total de huevos por fruto. Los huevos fueron distribuidos en líneas separadas por clucth sobre un pedazo de tela negra humedecida con un algodón saturado. Todos los huevos obtenidos por fruto disectado se mantuvieron en el interior de una caja Petri. Cada 24 h se contabilizó el número de huevos eclosionados hasta obtener la eclosión máxima.

b) Larvas hospederas de segundo estadio. Cuatro días después de cubierto el 50% de eclosión de los huevos se tomó otro fruto al azar. Este fue disectado utilizando pinzas entomológicas para extraer las larvas de segundo estadio y contabilizar las larvas muertas.

c) Exposición a *D. longicaudata*. Cuando las larvas alcanzaron el tercer estadio. Lo cual se obtuvo de 4 a 6 días después de la disección del segundo estadio, se tomaron otros dos frutos al azar y fueron expuestos a *D. longicaudata*.

d) Larvas de tercer estadio. Dos días después de la exposición a *D. longicaudata*, los tres frutos restantes del lote fueron disectados anotando el número de larvas vivas y muertas por fruto. Las larvas extraidas de cada fruto fueron colocadas en un contenedor de plástico con vermiculita (8 cm diámetro por 5.5 de alto).

e) Pupas. Dos días después se contabilizó el número de pupas formadas y larvas muertas.

f) Exposición a *C. haywardi*. Dos muestras de pupas de tres días de edad fueron tomadas. Una correspondió a pupas formadas de larvas expuestas a *D. longicaudata* y otra de pupas no expuestas. Ambas pupas fueron expuestas por separado a *C. haywardi*.

g) Emergencia y mortalidad de pupas. Se contabilizó el número de insectos emergidos en una muestra. Finalmente se contabilizaron el número de pupas no emergidas para estimar el número de individuos muertos.

4.2.7. Análisis de datos

Los promedios del número de huevos, larvas y pupas y la mortalidad fueron analizados aplicando un ANOVA bifactorial empleando como factores el tipo de fruta y el tratamiento al que fueron expuestos los hospederos. Se realizó un análisis de ANOVA simple para conocer las diferencias entre medias en cada fruto de cada tratamiento. Las diferencias de medias fueron obtenidas por medio de una prueba de Tukey (α=0.05).

Los datos del número de huevos, larvas y pupas fueron promediados en cada tratamiento y sometidos a un análisis por medio de una tabla de vida de decremento múltiple. Se aplicaron los modelos y conceptos propuestos por Carey (1993).

Del número promedio de individuos en cada estado o estadio (K_x) se obtuvo el número total de muertes en pupas (D_x) la cual fue caracterizada en dos factores, mortalidad por parasitismo de *D. longicaudata* o *C. haywardi* ($D1_x$) y por otras causas (D_{2x}). Con relación la D_x/K_x tanto para la mortalidad general, como de cada causa se obtuvo el aq_x respectivo, el cual indica la probabilidad de morir de una de las causas especificadas. Con la formula $al_x+1=al_x(1.0-aq_x)$ se obtuvo el valor para cada estado de al_{ix} que indica la fracción de sobrevivientes de la cohorte original a la edad x. La sustracción de al_x-al_{x+1} permite conocer el ad_x, que es la fracción de mortalidad al estado x de una causa determinada.

Para obtener la mortalidad por una causa específica, se emplea como un supuesto la igualdad de $q_a/q_b=D_a/D_b$, donde q_a y q_b son las probabilidades de morir de la causa a o b respectivamente y D_a y D_b corresponde a la fracción de individuos muertos por las causas a o b. Para obtener los valores de q_a y q_b en la ecuación simultanea, se aplicó una ecuación cuadrática de dos incógnitas

q_b=-b-√b2-4ac, donde a=D_a, b=-(D_a+D_b), c=D_b(D_a+D_b). El valor de q_a se obtuvo con la formula q_a=$q_b D_a/D_b$. La aplicación de estas formulas a los datos permitió obtener la probabilidad de morir por el parasitismo de *D. longicaudata* o *C. haywardi* por separado sin considerar las otras causas.

4.3. Resultados

No hubo diferencias significativas en el número de clutchs y huevos entre los frutos destinados para cada tratamiento de cada tipo de fruto (clutchs: mango criollo: F=0.21, g.l.=31, *P*=0.88; mango ataulfo: F=0.17, g.l.=33. *P*=0.91; chicozapote: F=2.21, g.l.=72, *P*=0.08; número de huevos: mango criollo: F=0.29, g.l.=31, P=0.82; mango ataulfo: F=0.64, g.l.=33, *P*=0.59; chicozapote: F=0.19, g.l.=55, *P*=0.89). De la misma manera los porcentajes de eclosión y mortalidad de huevos tampoco fueron significativamente diferentes en cada tipo de fruto (eclosión: mango criollo: F=0.63, g.l.=57, *P*=0.59; mango ataulfo: F=0.31, g.l.=116, *P*=0.31; chicozapote: F=0.56, g.l.=202, *P*=0.63; mortalidad de huevos: mango criollo: F=0.75, g.l.=57, *P*=0.75; mango ataulfo: F=0.81, g.l.=116, *P*=0.48; chicozapote: F=0.47, g.l.=218, *P*=0.69) (Cuadro 4.1). Como consecuencia de la similitud en huevos por fruto, también los promedios de larvas de segundo y tercer estadio, así como en pupas, no presentaron diferencia significativa (larvas de segundo estadio: mango criollo: F=0.006, g.l.=35, *P*=0.99; mango ataulfo: F=0.02, g.l.=47, p=0.99: chicozapote: F=0.01, g.l.=69, p=0.99, larvas tercer estadio: mango criollo: F=0.02, g.l.=61, *P*=0.99; mango ataulfo: F=0.11. g.l.=139, *P*=0.95; chicozapote: F=0.01, g.l.=76, *P*=0.99; pupa: mango criollo: F=0.09, g.l.=60, *P*=0.96; mango ataulfo: F=0.31, g.l.=141,

P=0.81, chicozapote: F=0.03, g.l.=63, *P*=0.98). La mortalidad en cada uno de estos estados y estadios tampoco tuvo diferencias significativas (mortalidad: larva segundo estadio: mango criollo: F=0.16, g.l.=35, *P*=0.91; mango ataulfo: F=0.41, g.l.=47, *P*=0.74; chicozapote: F=0.23, g.l.=73, *P*=0.86; larva tercer estadio: mango criollo: F=0.58, g.l.=60, *P*=0.62, mango ataulfo: F=1.95, g.l.=141, *P*=0.12, chicozapote: F=0.98, g.l.=75, *P*=0.40, pupa: mango criollo: F=0.59, g.l.=61, *P*=0.62; mango ataulfo: F=0.98, g.l.=141, *P*=0.47; chicozapote: F=1.72, g.l.=63, *P*=0.17) (Cuadro 4.2).

Los resultados del análisis bifactorial considerando como factores los frutos y los tratamientos, no reportó interacción significativa (No. de clutchs: F=1.17, g.l.=138, *P*=0.30; No. de huevos: F=0.74, g.l.=121, *P*=0.69; eclosión: F=1.36, g.l.=377, *P*=0.18; mortalidad de huevos: F=2.03, g.l.=383, *P*=0.26; larvas segundo estadio: F=0.33, g.l.=153, *P*=0.97; mortalidad larvas segundo estadio: F=1.64, g.l.=157, *P*=0.08; larvas tercer estadio: F=0.64, g.l.=278, *P*=0.78, mortalidad larvas tercer estadio: F=1.51, g.l.=278, *P*=0.12, pupas: F=0.84, g.l.=266, *P*=0.59; mortalidad de pupas: F=2.55, g.l.=567, *P*=0.44). Solo se presentó diferencia significativa entre los diferentes tipos de frutos.

En la Fig. 4.1 se puede apreciar las curvas de supervivencia de *A. ludens* con mango criollo y ataulfo y *A. serpentina* con chicozapote. Las dos especies en los diferentes frutos presentaron un decremento muy similar de la supervivencia. En general, durante el estado de huevecillo fue cuando la mortalidad fue mayor. Cerca de un 40 % de los huevos murieron en este período. Posteriormente la supervivencia se mantuvo con ligeros decrementos. Sin embargo, cuando se aplicaron parasitoides tanto *D. longicaudata* como *C. haywardi* contribuyeron de una manera notable en la mortalidad durante el

estado de pupa. El decremento de la supervivencia fue diferente con las dos especies de parasitoides dependiendo del fruto. La mortalidad provocada por *D. longicaudata* fue ligeramente mayor en mango criollo. Sin embargo, en mango ataulfo y chicozapote, el parasitismo de *C. haywardi* contribuyó más en el decremento de la supervivencia de las pupas de moscas. La mortalidad acumulada con la acción de *D. longicaudata* y *C. haywardi* fue notablemente superior a la obtenida por cada una de las especies actuando como causa única de mortalidad en los tres frutos.

En los Cuadros 4.3, 4.4 y 4.5 se presentan los datos de las tablas de vida de decremento múltiple. Con las columnas se pueden formar cuatro grupos. Primero se presenta el número de muertes (D_x), divididas en muertes por diferentes causas (D_{x1}) y por parasitismo (D_{x2}). El otro incluye la probabilidad de morir por una causa incluyendo todas las causas, de manera similar se presenta el total (aq_x), diferentes causas (aq_{x1}) y por parasitismo (aq_{x2}). Se incluye una columna de la fracción de individuos supervivientes incluyendo todas las causas (al_x). La fracción de muertes se divide en dos grupos, el primero correspondío a la fracción de muertes incluyendo todas las causas, de lo cual se obtuvó el total (ad_x), la fracción de muerte por causas diversas (ad_{x1}) y por parasitismo (ad_{x2}). El otro grupo correspondío al resultado por causas separadas y en donde se presenta la fracción de mortalidad por causas diversas (q_{x1}) y por parasitismo (q_{x2}).

En el Cuadro 4.3 se muestran los resultados obtenidos con el desarrollo de *A. ludens* en mango criollo aplicando el parasitismo de *D. longicaudata*, *C. haywardi* y la acción secuencial de ambos parasitoides. La fracción de muertes en este fruto fue del 22, 19 y 38% con *D. longicaudata*, *C. haywardi* y la acción

de ambos parasitoides respectivamente. El análisis reporta un 6% de mortalidad por causas diversas cuando se incluye el parasitismo como una causa mortalidad anexa. Sin embargo cuando se hace una análisis de mortalidad separando el parasitismo como una causa única, se registró 50, 43 y 87% de mortalidad por *D. longicaudata*, *C. haywardi* y ambos parasitoides respectivamente. Cuando se eliminó el parasitismo de estas especies la mortalidad de moscas alcanzó solamente un 13%.

El análisis de mortalidad de estados inmaduros de *A. ludens* desarrollados en mango Ataulfo, presenta los datos del Cuadro 4.4. En este caso la mortalidad por parasitoide fue del 14, 12 y 22% por el parasitismo de *D. longicaudata*, *C. haywardi* y ambos parasitoides, respectivamente. La mortalidad de larvas por otras causas en este fruto fue alrededor del 10%. Cuando se analizaron los datos por causas separadas se obtuvo que el parasitismo ocasionó un 33, 36 y 53% por *D. longicaudata*, *C. haywardi* y por ambos parasitoides respectivamente. La mortalidad por otras causas de manera separada aporta un 24%. Es importante hacer notar dos aspectos importantes de la mortalidad de moscas en mango Ataulfo, primero, la efectividad en general de los parasitoides como fuente de mortalidad, que disminuyó comparativamente a la obtenida en mango criollo. Segundo, el

Cuadro 4.1. Promedios (± E. S.) de cluths, huevos, porcentaje de eclosión y mortalidad de huevos por fruta en los diferentes tratamientos con mango (criollo y var. Ataulfo) y chicozapote.

Fruto	Tratamiento	No. Clucths	No. huevos	% eclosión	% mortalidad
Mango criollo	*D. longicaudata*	2.00±0.65 a	33.20±3.24 a	81.68±5.22 a	21.17±4.87 a
	C. haywardi	2.02±0.75 a	45.25±17.28 a	71.38±8.08 a	29.51±8.32 a
	D. long/C. hayw.	2.25±0.27 a	34.25±4.80 a	68.04±8.37 a	30.02±8.72 a
	Control	2.42±0.48 a	42.28±11.98 a	65.31±8.04 a	34.68±8.04 a
Mango ataulfo	*D. longicaudata*	3.11±3.83 a	47.33±14.93 a	77.01±2.81 a	22.94±2.81 a
	C. haywardi	3.77±0.77 a	63.44±10.58 a	64.42±5.75 a	30.29±5.27 a
	D. long/C. hayw.	3.22±0.57 a	45.88±7.34 a	75.43±6.95 a	25.33±5.82 a
	Control	3.71±0.64 a	59.57±8.38 a	69.81±5.34 a	33.22±5.37 a
Chicozapote	*D. longicaudata*	2.84±0.28 a	42.94±6.29 a	62.21±3.05 a	40.53±3.52 a
	C. haywardi	3.56±0.32 a	38.72±6.93 a	61.80±2.69 a	41.83±2.99 a
	D. long/C. hayw.	3.38±0.45 a	48.75±9.67 a	60.69±3.54 a	40.11±3.30 a
	Control	2.45±0.28 a	37.41±8.38 a	65.17±3.52 a	35.84±4.02 a

Promedio seguidos por la misma letra entre tratamientos por fruta indican no diferencia estadística. ANOVA y prueba de Tukey (α=0.05).

Cuadro 4.2. Promedios (± E. S.) del número y mortalidad de larvas de segundo y tercer estadio y pupa de moscas desarrolladas en mangos (criollo y var. Ataulfo) y chicozapote.

Fruta	Tratamiento	2$^{do.}$ estadio	mortalidad	3$^{er.}$ estadio	mortalidad	pupa	mortalidad
Mango criollo	*D. longicaudata*	23.00±6.69 a	1.85±0.73 a	21.50±2.50 a	2.00±1.73 a	19.56±3.94 a	2.93±1.27 a
	C. haywardi	23.07±2.49 a	2.35±0.58 a	22.45±3.48 a	0.10±0.10 a	18.43±2.80 a	1.96±0.69 a
	D. long/C. hayw.	23.00±2.14 a	1.50±0.92 a	21.64±2.30 a	1.94±1.63 a	20.41±2.15 a	2.94±0.81 a
	Control	23.80±6.69 a	2.60±1.46 a	21.59±4.73 a	0.68±0.37 a	18.12±5.66 a	1.33±0.68 a
Mango ataulfo	*D. longicaudata*	33.00±17.4 a	1.22±0.57 a	27.02±4.03 a	3.58±1.78 a	24.50±3.74 a	2.88±0.71 a
	C. haywardi	32.20±4.83 a	3.13±1.13 a	30.03±3.61 a	1.03±0.39 a	29.71±3.81 a	2.18±0.50 a
	D. long/C. hayw.	32.66±2.06 a	2.50±1.32 a	29.52±4.21 a	3.73±1.17 a	26.28±4.15 a	3.47±0.69 a
	Control	29.75±3.86 a	3.08±1.56 a	28.52±3.38 a	1.07±0.29 a	27.65±3.28 a	2.28±0.50 a
Chicozapote	*D. longicaudata*	25.70±5.78 a	0.72±0.23 a	24.20±4.05 a	0.55±0.19 a	23.45±3.56 a	0.40±0.53 a
	C. haywardi	23.21±5.38 a	0.65±0.21 a	24.16±3.01 a	0.72±0.15 a	22.86±2.12 a	0.33±0.12 a
	D. long/C. hayw.	25.15±5.73 a	0.62±0.17 a	23.93±4.20 a	0.50±0.15 a	22.46±2.17 a	0.40±0.16 a
	Control	24.05±3.86 a	0.88±0.26 a	23.05±4.01 a	0.93±0.20 a	22.71±3.94 a	0.85±0.27 a

Promedios seguidos por la misma letra entre tratamientos por fruta indican no diferencia estadística. ANOVA y prueba de Tukey (α=0.05).

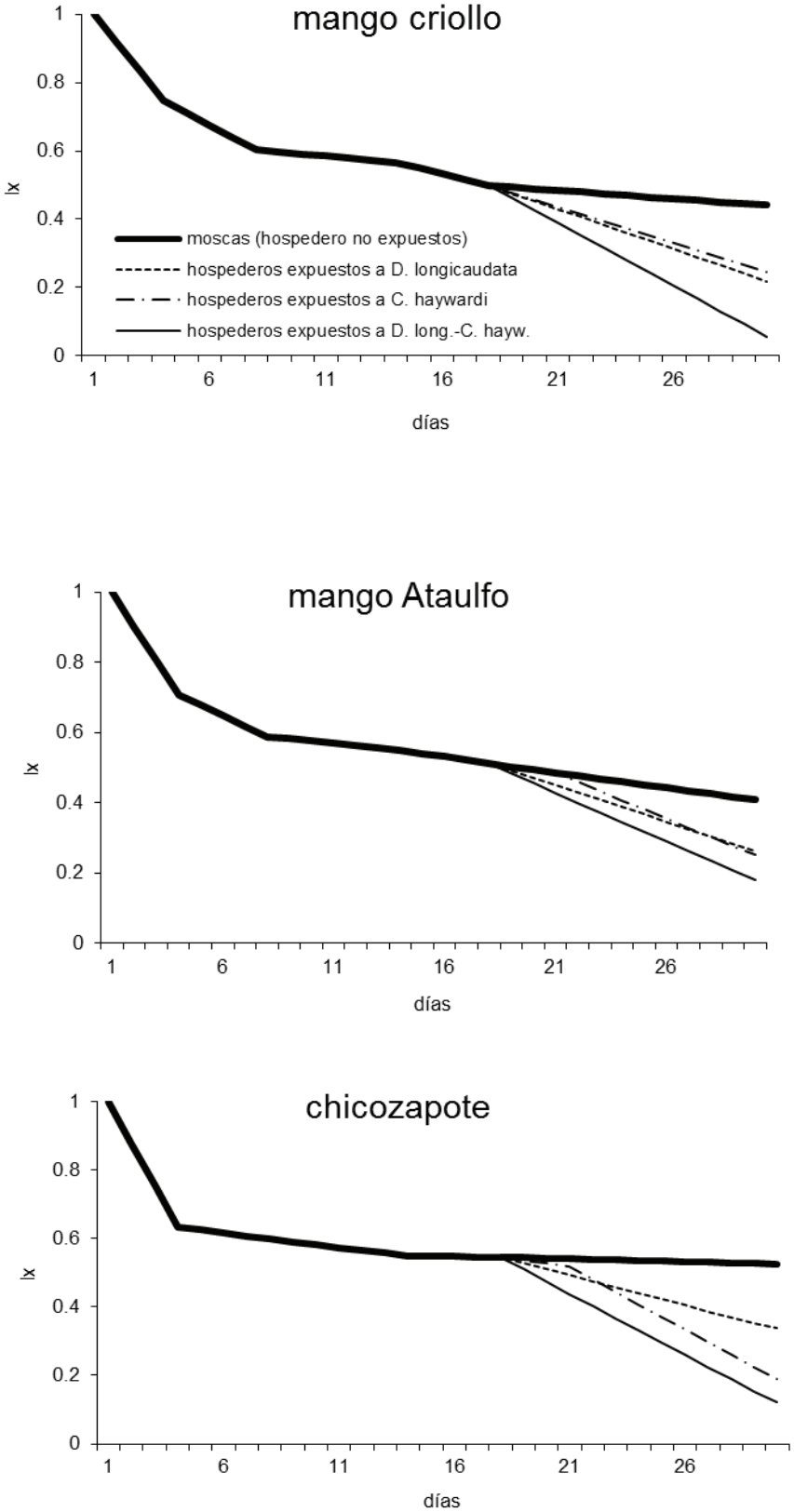


Fig. 4.1. Curvas de supervivencia de *A. ludens* en mango criollo, mango Ataulfo y *A. serptentina* en chicozapote expuestas a *D. longicaudata* y *C. haywardi* por separado y con exposición secuencial.

parasitismo de *D. longicaudata* fue menor que el presentado por *C. haywardi*, resultados inversos a los obtenidos en mango criollo.

La mortalidad por parasitismo de *D. longicaudata* disminuyó más cuando el desarrollo de la especie *A. serpentina* se presentó en chicozapote (Cuadro 4.5). En este caso *D. longicaudata* aporto un 9% de mortalidad, el cual es inferior al 26% aportado por *C. haywardi* y la acción conjunta de ambos parasitoides resulto en un 30% de mortalidad. Por su parte en el análisis de causas de mortalidad conjunta, se obtuvo que en los estados inmaduros de moscas murieron un 11% por otras causas. Cuando ser realizó el análisis por causas separadas, resultó que un 19, 57 y 68 % de los estados inmaduros murieron por parasitismo de *D. longicaudata*, *C. haywardi* por separado y por la acción conjunta respectivamente. Diferentes causas de mortalidad provocaron un 24% de mortalidad. En chicozapote, fue relevante *C. haywardi* como un factor de mortalidad.

4.4. Discusion

Los parasitoides como factores de mortalidad de moscas de la fruta tienen un alto potencial. Los resultados muestran que tanto *D. longicaudata* como *C. haywardi* provocaron una mortalidad que varió en función del fruto hospedero. La mortalidad por parasitoides analizada conjuntamente con otros factores, así como una causa única tuvieron el mismo comportamiento. En todos los casos la mortalidad provocada por parasitoides fue mayor a la obtenida con otros factores.

La forma del fruto al parecer influyó para que la mortalidad aportada por cada especie de parasitoide fuera diferente. El mango criollo se caracteriza por

ser un fruto con una capa delgada de pulpa, donde las larvas están más disponibles al parasitismo de *D. longicaudata* y por lo tanto la mortalidad causada por este parasitoide fue mayor. Su contribución a la mortalidad en este fruto repercutió notablemente en la mortalidad general. Sin embargo, en mango Ataulfo la eficiencia de *D. longicaudata* fue superada por *C. haywardi*. El espesor de la pulpa pudo ser un de las razones por la cual las larvas hospederas tuvieron mayor oportunidad de evitar el ataque de *D. longicaudata*. El empleo de los sustratos de desarrollo como barreras de protección de los hospederos al ataque de parasitoides es común (Hawkins *et al*., 1993; Paine *et al*., 2000; Porter y Hawkins, 2003). Esto tal vez permitío que *C. haywardi* seleccionara hospederos disponibles, no parasitados para la oviposicion y por lo tanto contribuyera a provocar mayor mortalidad. La respuesta de *C. haywardi* fue más efectiva cuando los hospederos se desarrollaron en chicozapote, en este caso posiblemente las larvas pudieron esquivar más fácilmente la oviposicion de *D. longicaudata*, por su forma y el espesor de su pulpa.

La contribución de los parasitoides en la mortalidad de los estados inmaduros de moscas tiene alta importancia tanto cuando se realizó el análisis conjunto de los factores de mortalidad, así como cuando se analizó por separado. Cuando se llevó a cabo un análisis general, incluyendo todas las causas, la mortalidad aportada por parasitoides estuvo en un rango que va del 9% y hasta un máximo del 38%. La mortalidad provocada por los parasitoides por si solos tuvieron un rango que fluctuó en valores mayores, esto fue con un minímo del 19% y con valores máximos del 87%. Esto último muestra la alta importancia que tienen los parasitoides si fueran la única causa de mortalidad.

La efectividad de *D. longicaudata* como un parasitoide que ataca las larvas primero conjuntado con la capacidad de discriminar los hospederos parasitados por *C. haywardi* lograron un efecto integral. En los tres frutos el uso secuencial de ambas especies resultó con mayores valores de mortalidad. Cuando las dos especies actuaron conjuntamente se logró alcanzar un mínimo del 22% de mortalidad en la población de moscas. Este porcentaje se incrementó a más de un 50 % en el caso que la acción conjunta de parasitoides fuera el factor único de mortalidad.

De acuerdo a los resultados la mayor mortalidad ocurrió en estado de huevo y larva de primer estadio. Esta puede ser una estrategia de las moscas de ovipositar grandes cantidades a expensas de la alta mortalidad en los primeros estados. Aunque en nuestro caso, la alta mortalidad en huevos pudo ser una respuesta a que la evaluación se llevó a cabo fuera de la fruta en donde naturalmente se desarrolla. Esta medición pudo haber alterada con algunos requerimientos físicos o químicos necesarios para su adecuado desarrollo. En lo referente a la mortalidad después del tercer estadio fue muy baja. Fue a partir del tercer estadio cuando se emplearon *D. longicaudata* y *C. haywardi* que la mortalidad se incrementó de nuevo notablemente. Estos resultados no son acorde con los obtenidos en otras evaluaciones con estados inmaduros de moscas Tephritidae. Por ejemplo, la mortalidad de *Rhagoletis pomonella* (Walsh.) (Cameron y Morris, 1977), analizada por Carey (1993), los valores de mortalidad estuvieron distribuidos más equitativamente entre los diferentes estados y estadios de desarrollo. La diferencia en la mortalidad de

Cuadro 4.3. Tabla de vida de decremento múltiple de *A. ludens* desarrollada en mango criollo con exposición a los parasitoides*: D. longicaudata* y *C. haywardi* (expuestas por separado a cada especie de parasitoide y con exposición secuencial a ambos parasitoides).

						Probabilidad de morir de una causa incluyendo todas las causas			Fracción de vivos	Fracción de muertos				
										Incluyendo todas las causas			Causas separadas	
		K_x	Numero de muertes											
Estado fisiológico	x (días)	(No. iniciall)	D_x	D_{x1}	D_{x2}	Aq_x	aq_{x1}	aq_{x2}	al_x	ad_x	ad_{x1}	ad_{x2}	q_{x1}	q_{x2}
			Total	Otras causas	Parasitismo	Total	Otras causas	Parasitismo		Total	Otras causas	Parasitismo	otras causas	Parasitismo
Expuesto a *D. longicaudata* solo														
Huevecillo	0	38.59	9.7	9.7	0	0.25	0.25	0.00	1.00	0.25	0.25	0.00	0.25	0.00
Larva 1er.	4	28.89	5.64	5.64	0	0.20	0.20	0.00	0.75	0.15	0.15	0.00	0.20	0.00
Larva 2do.	8	23.25	1.4	1.4	0	0.06	0.06	0.00	0.60	0.04	0.04	0.00	0.06	0.00
Larva 3er.	14	21.85	2.63	2.63	0	0.12	0.12	0.00	0.57	0.07	0.07	0.00	0.12	0.00
Pupa	18	19.22	10.79	2.22	8.57	0.56	0.12	0.45	0.50	0.28	0.06	0.22	0.13	0.50
Adulto	30	8.43	8.43						0.22					
Expuesto a *C. haywardi* solo														
Huevecillo	0.00	38.59	9.70	9.70	0.00	0.25	0.25	0.00	1.00	0.25	0.25	0.00	0.25	0.00
Larva 1er.	4.00	28.89	5.64	5.64	0.00	0.20	0.20	0.00	0.75	0.15	0.15	0.00	0.20	0.00
Larva 2do.	8.00	23.25	1.40	1.40	0.00	0.06	0.06	0.00	0.60	0.04	0.04	0.00	0.06	0.00
Larva 3er.	14.00	21.85	2.63	2.63	0.00	0.12	0.12	0.00	0.57	0.07	0.07	0.00	0.12	0.00
Pupa	18.00	19.22	12.38	2.22	10.16	0.64	0.12	0.53	0.50	0.32	0.06	0.26	0.13	0.59
Adulto	30.00	6.84	6.84						0.18					
Exposición secuencial a *D. longicaudata* y *C. haywardi*														
Huevecillo	0.00	38.59	9.70	9.70	0.00	0.25	0.25	0.00	1.00	0.25	0.25	0.00	0.25	0.00
Larva 1er.	4.00	28.89	5.64	5.64	0.00	0.20	0.20	0.00	0.75	0.15	0.15	0.00	0.20	0.00
Larva 2do.	8.00	23.25	1.40	1.40	0.00	0.06	0.06	0.00	0.60	0.04	0.04	0.00	0.06	0.00
Larva 3er.	14.00	21.85	2.63	2.63	0.00	0.12	0.12	0.00	0.57	0.07	0.07	0.00	0.12	0.00
Pupa	18.00	19.22	17.07	2.22	14.85	0.89	0.12	0.77	0.50	0.44	0.06	0.38	0.13	0.87
Adulto	30.00	2.15	2.15						0.06					

Cuadro 4.4. Tabla de vida de decremento múltiple de *A. ludens* desarrollada en mango var. Ataulfo con exposición a los parasitoides: *D. longicaudata* y *C. haywardi* (expuestas por separado a cada especie de parasitoide y con exposición secuencial a ambos parasitoides).

						Probabilidad de morir de una causa incluyendo todas las causas			Fracción de vivos	Fracción de muertos				
		K_x	Numero de muertes							Incluyendo todas las causas			Causas separadas	
Estado fisiológico	x (días)	(No. inicial)	D_x Total	D_{x1} Otras causas	D_{x2} Parasitismo	aq_x Total	aq_{x1} Otras causas	aq_{x2} Parasitismo	al_x	ad_x Total	ad_{x1} Otras causas	ad_{x2} Parasitismo	q_{x1} Otras causas	q_{x2} Parasitismo
Exposición a *D. longicaudata* solo														
Huevecillo	0.00	53.73	15.70	15.70	0.00	0.29	0.29	0.00	1.00	0.29	0.29	0.00	0.29	0.00
Larva 1er.	4.00	38.03	6.43	6.43	0.00	0.17	0.17	0.00	0.71	0.12	0.12	0.00	0.17	0.00
Larva 2do.	8.00	31.60	2.03	2.03	0.00	0.06	0.06	0.00	0.59	0.04	0.04	0.00	0.06	0.00
Larva 3er.	14.00	29.57	2.15	2.15	0.00	0.07	0.07	0.00	0.55	0.04	0.04	0.00	0.07	0.00
Pupa	18.00	27.42	13.29	5.49	7.86	0.48	0.20	0.29	0.51	0.25	0.10	0.15	0.23	0.33
Adulto	30.00	14.13							0.26					
Exposición a *C. haywardi* solo														
Huevecillo	0.00	53.73	15.70	15.70	0.00	0.29	0.29	0.00	1.00	0.29	0.29	0.00	0.29	0.00
Larva 1er.	4.00	38.03	6.43	6.43	0.00	0.17	0.17	0.00	0.71	0.12	0.12	0.00	0.17	0.00
Larva 2do.	8.00	31.60	2.03	2.03	0.00	0.06	0.06	0.00	0.59	0.04	0.04	0.00	0.06	0.00
Larva 3er.	14.00	29.57	2.15	2.15	0.00	0.07	0.07	0.00	0.55	0.04	0.04	0.00	0.07	0.00
Pupa	18.00	27.42	14.00	5.49	8.51	0.51	0.20	0.31	0.51	0.26	0.10	0.16	0.23	0.36
Adulto	30.00	13.42							0.25					
Exposición secuencial a *D. longicaudata* y *C. haywardi*														
Huevecillo	0.00	53.73	15.70	15.70	0.00	0.29	0.29	0.00	1.00	0.29	0.29	0.00	0.29	0.00
Larva 1er.	4.00	38.03	6.43	6.43	0.00	0.17	0.17	0.00	0.71	0.12	0.12	0.00	0.17	0.00
Larva 2do.	8.00	31.60	2.03	2.03	0.00	0.06	0.06	0.00	0.59	0.04	0.04	0.00	0.06	0.00
Larva 3er.	14.00	29.57	2.15	2.15	0.00	0.07	0.07	0.00	0.55	0.04	0.04	0.00	0.07	0.00
Pupa	18.00	27.42	17.80	5.49	12.31	0.65	0.20	0.45	0.51	0.33	0.10	0.23	0.24	0.54
Adulto	30.00	9.62	9.62						0.18					

Cuadro 4.5. Tabla de vida de decremento múltiple de *A. serpentina* desarrollada en chicozapote con exposición a los parasitoides: *D. longicaudata* y *C. haywardi* (expuestas por separado a cada especie de parasitoide y con exposición secuencial a ambos parasitoides).

						Probabilidad de morir de una causa incluyendo todas las causas			Fracción de vivos	Fracción de muertes				
										Incluyendo todas las causas			Causas separadas	
		K_x	Numero de muertes											
Estado fisiológico	x (días)	(No. inicial)	D_x	D_{x1}	D_{x2}	aq_x	aq_{x1}	aq_{x2}	al_x	ad_x	ad_{x1}	ad_{x2}	q_{x1}	q_{x2}
			Total	Otras causas	Parasitismo	Total	Otras causas	Parasitismo		Total	Otras causas	Parasitismo	Otras causas	Parasitismo
Exposición a *D. longicaudata* solo														
Huevecillo	0.00	41.92	15.34	15.34	0.00	0.37	0.37	0.00	1.00	0.37	0.37	0.00	0.37	0.00
Larva 1er.	4.00	26.58	1.48	1.48	0.00	0.06	0.06	0.00	0.63	0.04	0.04	0.00	0.06	0.00
Larva 2do.	8.00	25.10	2.08	2.08	0.00	0.08	0.08	0.00	0.60	0.05	0.05	0.00	0.08	0.00
Larva 3er.	14.00	23.02	0.15	0.15	0.00	0.01	0.01	0.00	0.55	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
Pupa	18.00	22.87	6.32	4.60	3.87	0.36	0.20	0.17	0.54	0.20	0.11	0.09	0.22	0.19
Adulto	30.00	14.55							0.34					
Exposición a *C. haywardi* solo														
Huevecillo	0.00	41.92	15.34	15.34	0.00	0.37	0.37	0.00	1.00	0.37	0.37	0.00	0.37	0.00
Larva 1er.	4.00	26.58	1.48	1.48	0.00	0.06	0.06	0.00	0.63	0.04	0.04	0.00	0.06	0.00
Larva 2do.	8.00	25.10	2.08	2.08	0.00	0.08	0.08	0.00	0.60	0.05	0.05	0.00	0.08	0.00
Larva 3er.	14.00	23.02	0.15	0.15	0.00	0.01	0.01	0.00	0.55	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
Pupa	18.00	22.87	15.33	4.60	10.88	0.67	0.20	0.48	0.54	0.36	0.11	0.26	0.24	0.57
Adulto	30.00	7.54							0.18					
Exposición secuencial a *D. longicaudata* y *C. haywardi*														
Huevecillo	0.00	41.92	15.34	15.34	0.00	0.37	0.37	0.00	1.00	0.37	0.37	0.00	0.37	0.00
Larva 1er.	4.00	26.58	1.48	1.48	0.00	0.06	0.06	0.00	0.63	0.04	0.04	0.00	0.06	0.00
Larva 2do.	8.00	25.10	2.08	2.08	0.00	0.08	0.08	0.00	0.60	0.05	0.05	0.00	0.08	0.00
Larva 3er.	14.00	23.02	0.15	0.15	0.00	0.01	0.01	0.00	0.55	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
Pupa	18.00	22.87	17.34	4.60	12.89	0.76	0.20	0.56	0.54	0.42	0.11	0.31	0.24	0.68
Adulto	30.00	5.53							0.13					

moscas del género *Anastrepha* y las del género *Rhagoletis* Loew puede explicarse por sus diferentes estrategias de vida en cada especie, las primeras son especies tropicales con un ciclo muy diferente a las segundas que son moscas de climas templados, adaptadas a la diapausa anual (Boller y Prokopy, 1976; Aluja, 1994). En este trabajo se analizó el potencial de *D. longicaudata* y *C. haywardi*, empleados solos o combinados como factores de mortalidad. Esto último implicó que algunos factores de mortalidad fueran considerados en general como otras causas de mortalidad. Hodgson *et al*. (1998) en un estudio de los factores de mortalidad de pupas de *Anastrepha* consideraron que la participación de los parasitoides no es importante. Sin embargo Bressan-Nascimento (2001) concluyó que la participación de los parasitoides es el factor más importante para la mortalidad en el estado de pupa de *Anastrepha obliqua* (McQuart). Es probable que el comportamiento de la mortalidad de moscas de la fruta en sus estados inmaduros sea muy diferente y esté relacionado con las estrategias de vida de cada especie y de las condiciones específicas. El grupo de moscas de la fruta es muy diverso y se ha logrado adaptar a diferentes condiciones rápidamente gracias a las diferentes estrategias que emplean (Bauer, 1986, Carey *et al*., 2002).

Los datos generados por medio de un análisis de tabla de vida de decremento múltiple señalan la trascendencia de los parasitoides como factor de mortalidad de moscas de la fruta. Este potencial por parte de los parasitoides es mayor si se emplea la combinación de *D. longicaudata* y *C. haywardi* como un control biológico múltiple. Sin embargo, es necesario

considerar que muchas fuentes naturales de mortalidad de los estados inmaduros de moscas no fueron incluidas en el análisis. Por lo que la importancia de los parasitoides como factor de mortalidad puede ser muy diferente en condiciones naturales. Sin embargo, una ventaja que tienen tanto *D. longicaudata* como *C. haywardi* es que son dos especies de parasitoides que se pueden producir y dirigirlos artificialmente en el ataque de poblaciones de moscas, lo cual no es posible con otros factores que no pueden ser manipulados.

CAPITULO 5

SUPERVIVENCIA, FECUNDIDAD Y DISPERSIÓN DE *Diachasmimorpha longicaudata* y *Coptera haywardi* EN UN GRADIENTE ALTITUDINAL

5.1. Introducción

El empleo de los parasitoides *Diachasmimorpha longicaudata* y *Coptera haywardi* como agentes de control biológico de moscas de la fruta del género *Anastrepha* representan una opción para hacer más eficiente la supresión de poblaciones. La propuesta es aplicar las dos especies de parasitoides, donde *C. haywardi* puede cubrir las pupas hospederas libres que no fueron parasitadas como larvas por *D. longicaudata*. Las razones que permiten esta integración son: a) *D. longicaudata* es un parasitoide de larvas y *C. haywardi* parasita pupas (Sivinski *et al.,* 1998), por lo que el traslape de nichos es minimizado por la división de recursos (Naeem y Hawkins, 1994); b) *C. haywardi* tiene una alta capacidad de discriminar pupas parasitadas por *D. longicaudata* (Capítulo 2 de este trabajo) y c) Se han obtenido datos que indican que el uso de *C. haywardi* en hospederos expuestos a *D. longicaudata* complementa el parasitismo y disminuye la emergencia de moscas (Capítulo 3 de este trabajo).

La liberación conjunta requiere del diseño de una estrategia que optimice los atributos de cada especie. La evaluación de la supervivencia y fecundidad en un gradiente altitudinal puede contribuir a identificar las condiciones en las

cuales se desempeña mejor cada especie o ambas especies (Cornell y Hawkins, 1995; Pilkington y Hoddle, 2007). La capacidad desplazamiento es otro atributo a considerar para un mejor uso de estos agentes de control biológico (Elzen *et al*., 1987). En el caso de liberaciones de tipo aumentativo estos factores juegan un papel importante para definir las cantidad de parasitoides requeridos o lograr una mejor distribución (Knipling, 1992).

Se conoce el amplio rango de acción y la capacidad de dispersión de *D. longicaudata* (Sivinski *et al*., 1997; Sivisnki *et al*., 2000; Messing *et al*., 1994; Paranhos *et al*., 2007). En el caso de *C. haywardi* solo se tiene referencia de su distribución, de donde se conocen las condiciones en las que habita esta especie (Sivinski *et al*., 2000), sin embargo, no existe información acerca de su capacidad de dispersión.

El objetivo del presente trabajo fue responder las preguntas acerca de ¿Cuáles son las mejores condiciones en las cuales cada especie llevan a cabo mejor su supervivencia, fecundidad y desplazamiento? La supervivencia y la fecundidad se estimaron con un enfoque demográfico a diferentes altitudes, representando un gradiente de condiciones ambientales, y la capacidad de dispersión de la población se estimó mediante un experimento de liberación en un punto central y recaptura, con un enfoque geoestadístico.

5.2. Materiales y métodos

5.2.1. Area de estudio

Las evaluaciones de supervivencia y fecundidad abarcaron un rango de altura de 100 hasta los 1600 msnm, comprendiendo parte de la Planicie Costera hasta las faldas del Volcán Tacána en la Región del Soconusco, Chiapas, México. Se ubicaron seis puntos de evaluación, los cuales fueron: Metapa de Domínguez a 106 msnm (14.83 ° N, 92.19' W), kilometro 10 a 254 msnm (14.91° N, 92.19' W), Cacahoatan a 494 msnm (14.98 °, 92.16' W), 11 de abril a 758 msnm (15.04 ° N, 92.13' W) , Unión Juárez a 1345 msnm (15.06° N, 92.08' W) y Ejido Cordoba Matazano a 1515 msnm (15.07°N, 92.08' W). Las evaluaciones se realizaron en los períodos de septiembre a octubre que correspondió a la temporada de mayor lluvia y de marzo a abril a la temporada seca. En cada punto se coloco un datta logger (Oakton 35710-10®) para tener datos de temperatura y humedad cada día.

Las evaluaciones de dispersión se llevaron a cabo en la misma región, en un área de cuatro hectáreas con cultivo de café y diferentes árboles de sombra (mayoritariamente del género *Inga* spp., además de la presencia de arboles de mango, naranja y guayaba). Esta área se ubicó en la Colonia Rosario Ixtal a 607 msnm; y a 15° N 00' 30.80'' y 42° W 09' 21.83''.

5.2.2. Supervivencia y fecundidad

Se emplearon jaulas 30x30x50 cm con estructura de alambron cubiertas de tela organza. Se colocaron seis jaulas por punto, tres por especie, cada una con 200♀ y 200♂ con agua (frasco de vidrio con algodón) y alimento (miel). Cada tercer día se contabilizó el número de adultos muertos por jaula y a la vez se

introdujo una unidad de oviposición para cada especie. En el caso de *D. longicaudata* se empleó una caja Petri (9 cm diámetro y 0.8 cm de profundidad) con 200 larvas con dieta cubiertas con pedazo de tela “tricopt” sostenida con una liga. Para *C. haywardi*, la unidad de oviposición fue una caja petri con 200 pupas y una delgada capa de vermiculita, ésto fue cubierto por un pedazo de papel cartoncillo negro para inducir obscuridad al interior de la caja. Las unidades fueron renovadas durante cada revisión, los hospederos expuestos previamente se trasladaron en contenedores cilíndricos de plástico (7.5 de alto por 6 cm de diámetro) al laboratorio.

Las larvas expuestas a *D. longicaudata* fueron separadas de la dieta por lavado y colocadas en vermiculita, las pupas expuestas a *C. haywardi* se colocaron directamente con vermiculita en los contenedores de plástico. Los contenedores con hospederos expuestos en cada especie se mantuvieron a 26 ºC y 60-80 % de H.R. hasta la emergencia de los adultos. La emergencia varió de acuerdo a la especie, en *D. longicaudata* se presentó a los 15 días, en *C. haywardi* a los 30 días.

Los datos fueron sometidos a un análisis demográfico de acuerdo a Carey (1993). Se incluyó la mortalidad de estados inmaduros para el cálculo de los parámetros poblacionales. En este caso se consideró una mortalidad diaría constante durante los 15 y 30 días en *D. longicaudata* y *C. haywardi,* respectivamente. Para realizar este ajuste se tomo en cuenta la emergencia de adultos de cada especie, la cual fue en promedio del 50% para *D. longicaudata* y 30% para *C. haywardi*. Los datos de frecuencia de mortalidad (dx) fueron

correlacionados con la temperatura, empleando una ecuación lineal en *D. longicuadata* y polinomial en *C. haywardi*.

5.2.3. Evaluaciones de dispersión

En un punto central fueron liberados 1,500 (2♀: 1♂) parasitoides de cada especie. Se emplearon parasitoides de 5 días de edad mantenidos previamente en jaulas con agua y miel a 26ºC y 60-80% de H.R. A partir del punto central se extendieron líneas con dirección a los ocho puntos cardinales (Norte, Sur, Este, Oeste y direcciones intermedias). En cada línea se establecieron puntos de monitoreo a 10, 20, 50 y 100 m. En los puntos de monitoreo se colocaron dispositivos para conocer, por medio de la oviposición, la dispersión diaria de los parasitoides liberados. Para *D. longicaudata* se emplearon trampas tipo "salchicha", las cuales consistieron en bolsas cilíndricas de tela de color amarilla (20 cm de largo y 5 cm de diametro), con 200 larvas irradiadas de *A. ludens* en 100 g de dieta. Las trampas fueron colgadas con un gancho de alambre con pegamento (para evitar ataque de hormigas) a una altura de 1.5 a 2.5 m. En el caso de *C. haywardi* se empleó el concepto de pupa "centinela" (Petessen y Watson, 1992) el cual consistió en cajas Petri (9 cm de diametro) colocadas sobre soportes cuadrados de aluminio de 15 cm^2. Estos fueron colocados a 5 cm sobre el suelo y sostenidos con un poste central con pegamento para evitar el ataque de hormigas. En la caja se colocaron 200 pupas de *A. ludens* irradiadas las cuales fueron cubiertas con un poco de suelo y de hojarasca. Las trampas se mantuvieron durante 24 h, después fueron

cambiadas por nuevo material, esto se realizó durante 10 días consecutivos. Las larvas de las trampas “salchichas” fueron separadas de la dieta por lavado y colocadas en contenedores de plástico con vermiculita. De igual manera las pupas fueron separadas del suelo por tamizado o con pinzas entomológicas y colocadas en los recipientes de plástico con vermiculita. Los contenedores con larvas y pupas fueron mantenidos a 26º y 60-80% de H. R. A los quince días se obtuvo la emergencia de *D. longicaudata*, a los 30 días inició la emergencia de *C. haywardi*. Con las emergencias obtenidas en los respectivos puntos y el día correspondiente se corroboró la presencia de los parasitoides. De esta manera se obtuvo el promedio de parasitoides presentes por punto en cada día de muestreo.

Los promedios de emergencia obtenidos en cada distancia por día fueron analizados estadísticamente por medio de un ANOVA y la separación de medias se llevó a cabo con la prueba de Tukey. Los datos de emergencia a diferente distancia en cada especie fueron sometidos a un modelo geoestadístico (Isaaks y Srivastava, 1989).

5.3. Resultados

5.3.1. Supervivencia y fecundidad

En la Fig. 5.1 se muestran los resultados de supervivencia de adultos de *D. longicaudata* y *C. haywardi* a diferentes altitudes. Para *D. longicaudata* no se encontró relación entre la sobrevivencia y la altura. En el caso de *C. haywardi* la supervivencia se incrementó a mayor altitud. La supervivencia varió poco con

la altitud en *D. longicaudata*, esta variación fue menor en el período seco. Por otra parte con *C. haywardi* las diferencias entre altitudes fueron mayores en el período seco.

La fecundidad fue más alta en *D. longicaudata* en comparación con la obtenida en *C. haywardi* en los períodos seco y lluvioso (Fig. 5.2). En *D. longicaudata* se presentaron pequeñas variaciones en el período de lluvias, a mayor altitud la fecundidad tuvo un incremento. En *C. haywardi* se observó mayor variación, éstas fueron más notables en el período de lluvias, a mayor altitud se pudo apreciar dos picos de fecundidad, uno en los primeros 15 días de vida y el segundo presentó un pico después de los 20 días, posteriormente descendió notablemente. Durante el período seco, la fecundidad de *C. haywardi* disminuyó en las diferentes altitudes.

En el Cuadro 5.1 se muestran el tiempo generacional, la tasa neta de reproducción y la tasa intrínseca de incremento de las dos especies a diferentes altitudes en los dos períodos de evaluación. En *C. haywardi* el aumento en el tiempo generacional como la tasa neta de reproducción con respecto a la altitud fue más notable en comparación con los obtenidos con *D. longicaudata*. Ambos parámetros fueron ligeramente mayores en el período de lluvia en *D. longicaudata*. Los valores de la tasa neta de incremento de *C. haywardi* fueron menores en la época seca que en la de lluvias. Mientras que en *D. longicaudata* la tasa de incremento se mantuvo con valores más constantes en los dos períodos. En la Fig. 5.3 se observa que ambas especies presentaron una corelación positiva y significativa entre la mortalidad y la

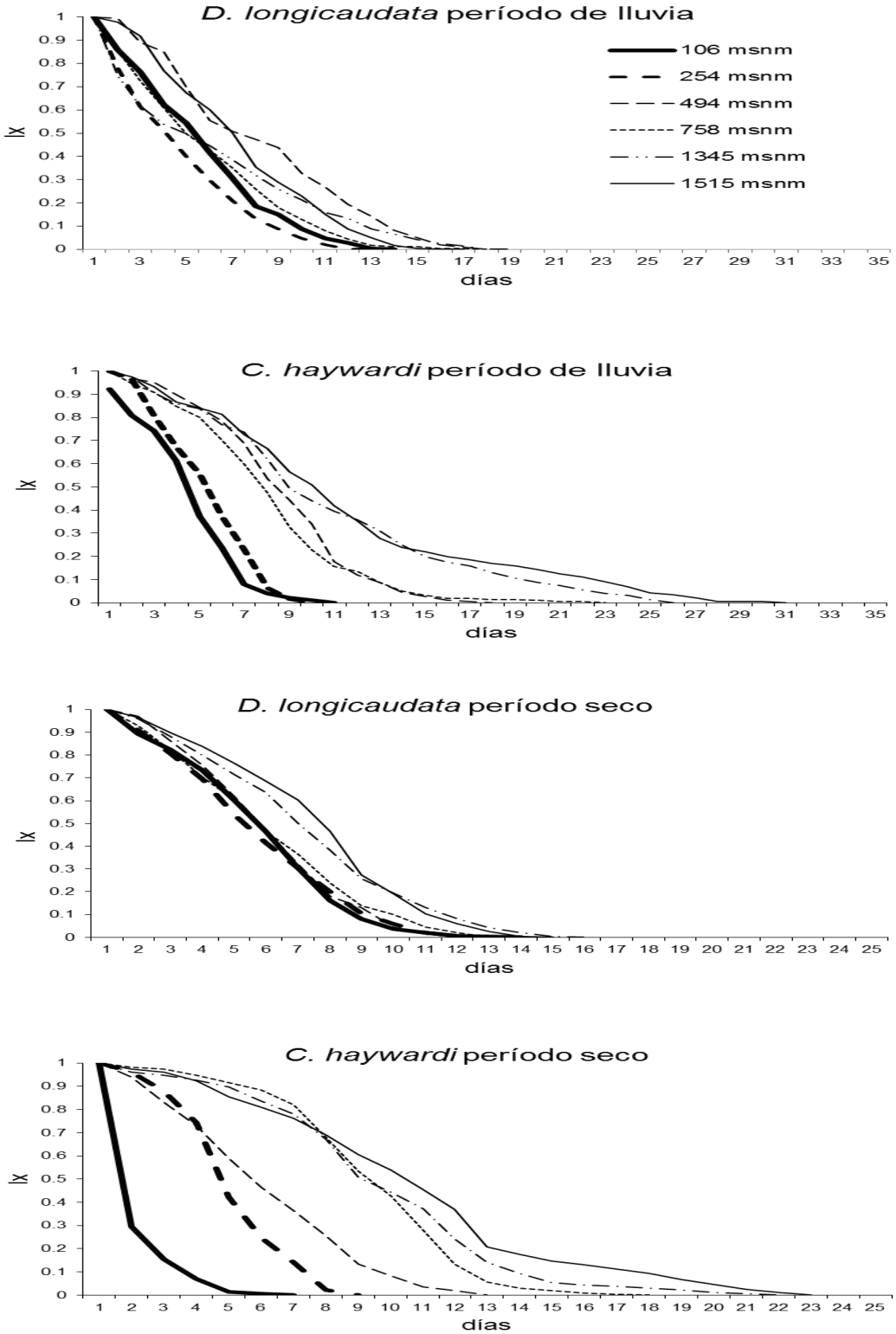


Fig. 5.1. Curvas de supervivencia de *D. longicaudata* y *C. haywardi* a diferentes alturas.

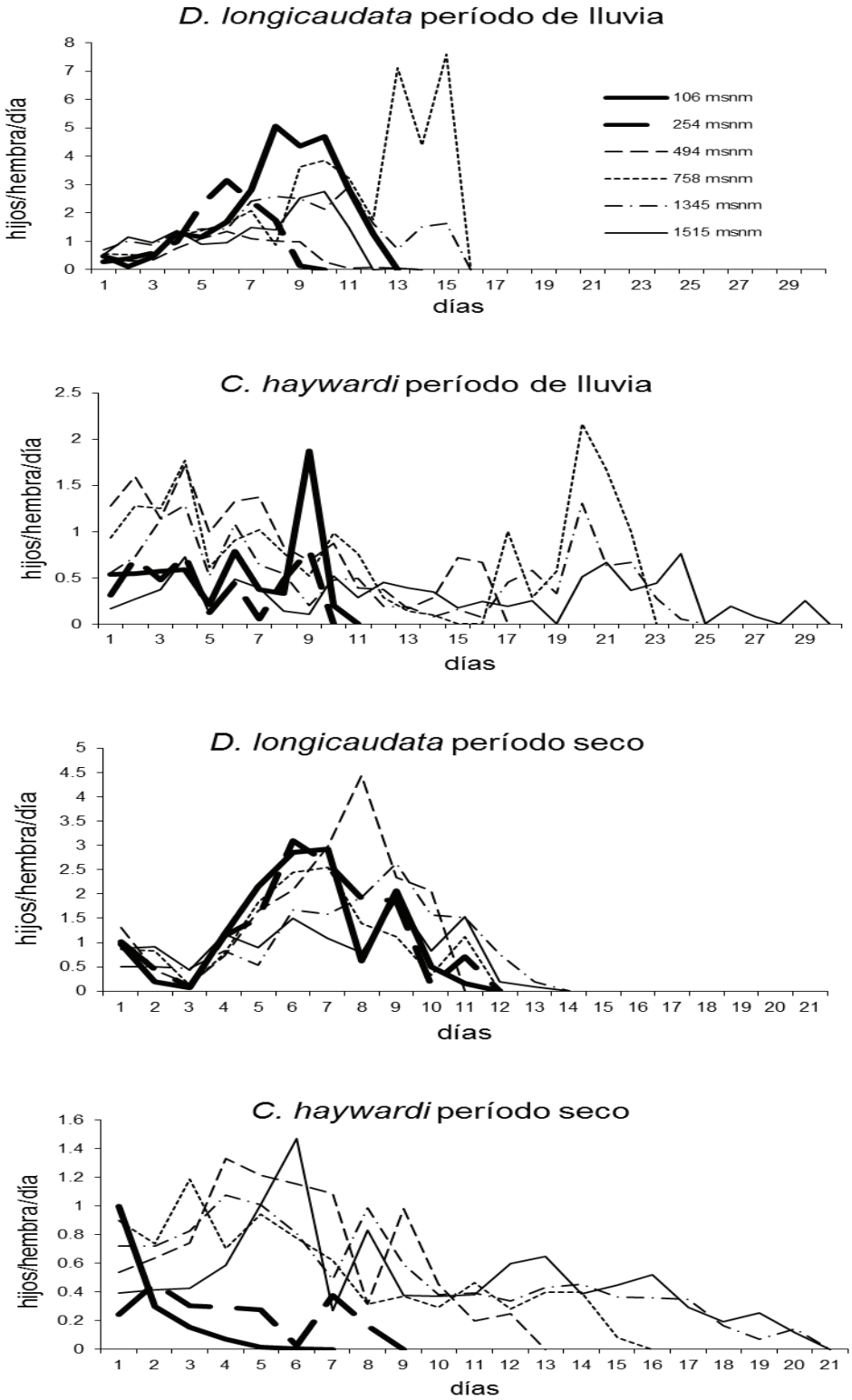


Fig. 5.2. Curvas de fecundidad de *D. longicaudata* y *C. haywardi* a diferentes alturas.

Cuadro 5.1. Parámetros poblacionales de *D. longicaudata* y *C. haywardi* obtenidos a diferentes alturas en condiciones climáticas secas y de lluvias. Región del Soconusco, Chiapas, México.

Parametro	Altitud (msnm)	*D. longicaudata*		*C. haywardi*	
		Período seco	Período de lluvias	Período seco	Período de lluvias
Tiempo Generacional (TG)	106	22.83	20.89	31.7	22.4
	254	22.08	22.45	32.08	32.05
	494	24.86	21.98	33.42	37.41
	758	23.87	25.45	39.44	37.71
	1345	26.72	27.23	41.16	39.23
	1515	23.36	28.37	44.02	42.73
Tasa Neta de Incremento Ro	106	2.44	2.54	0.04	0.75
	254	2.67	1.69	0.25	0.74
	494	2.93	2.16	0.83	3.55
	758	2.72	3.07	1.59	2.64
	1345	2.63	3.36	1.87	2.38
	1515	2.9	3.76	1.66	1.24
Tase Neta de Incremento r	106	0.039	0.045	-0.109	-0.012
	254	0.044	0.023	-0.042	-0.009
	494	0.043	0.032	-0.005	0.034
	758	0.041	0.042	0.011	0.025
	1345	0.040	0.044	0.015	0.022
	1515	0.043	0.05	0.011	0.005

temperatura. La relación fue mayor en *C. haywardi*, en donde se tuvo un coeficiente de correlación de 0.74 superior al 0.11 presente en *D. longicaudata*.

5.3.2. Dispersión

Los datos obtenidos mostraron mayor consistencia para conocer el comportamiento de *D. longicaudata* para desplazarse a diferentes distancias, los resultados obtenidos con *C. haywardi* fueron poco indicativos (Fig. 5.4). En el caso de *D. longicaudata*, se presentó un decremento constante conforme avanzó el tiempo, solo se obtuvo un aumento a 20 m el segundo día después de la liberación de adultos, la recuperación de parasitoides a 100 m fue escasa. Los valores obtenidos después de 20 m fueron estadísticamente diferentes a las distancias de 50 y 100 m (F=0.98, g.l.=48, p=0.02). En *C. haywardi* no se aprecia un gradiente de dispersión, siendo similar el número de parasitoides recuperados en las 4 distancias, sin diferencia estadística (F=0.056, g.l.=37, p=0.57). Después del tercer día la emergencia de adultos disminuyo a 10 m, mientras que a distancias de 20 y 100 m fue más frecuente las emergencias después del segundo día, incluso mayores que las presentes a 10 m.

El modelo geoestadístico (Isaaks y Srivastava, 1989) aplicado a los datos mostró que las hembras de *D. longicaudata* se desplazan poco a partir del punto central (Fig.5.5). De acuerdo a esto se puede observar que el incremento del desplazamiento después de los 40 m no es significativo. Este modelo no fue funcional para *C. haywardi* debido a las bajas recuperaciones.

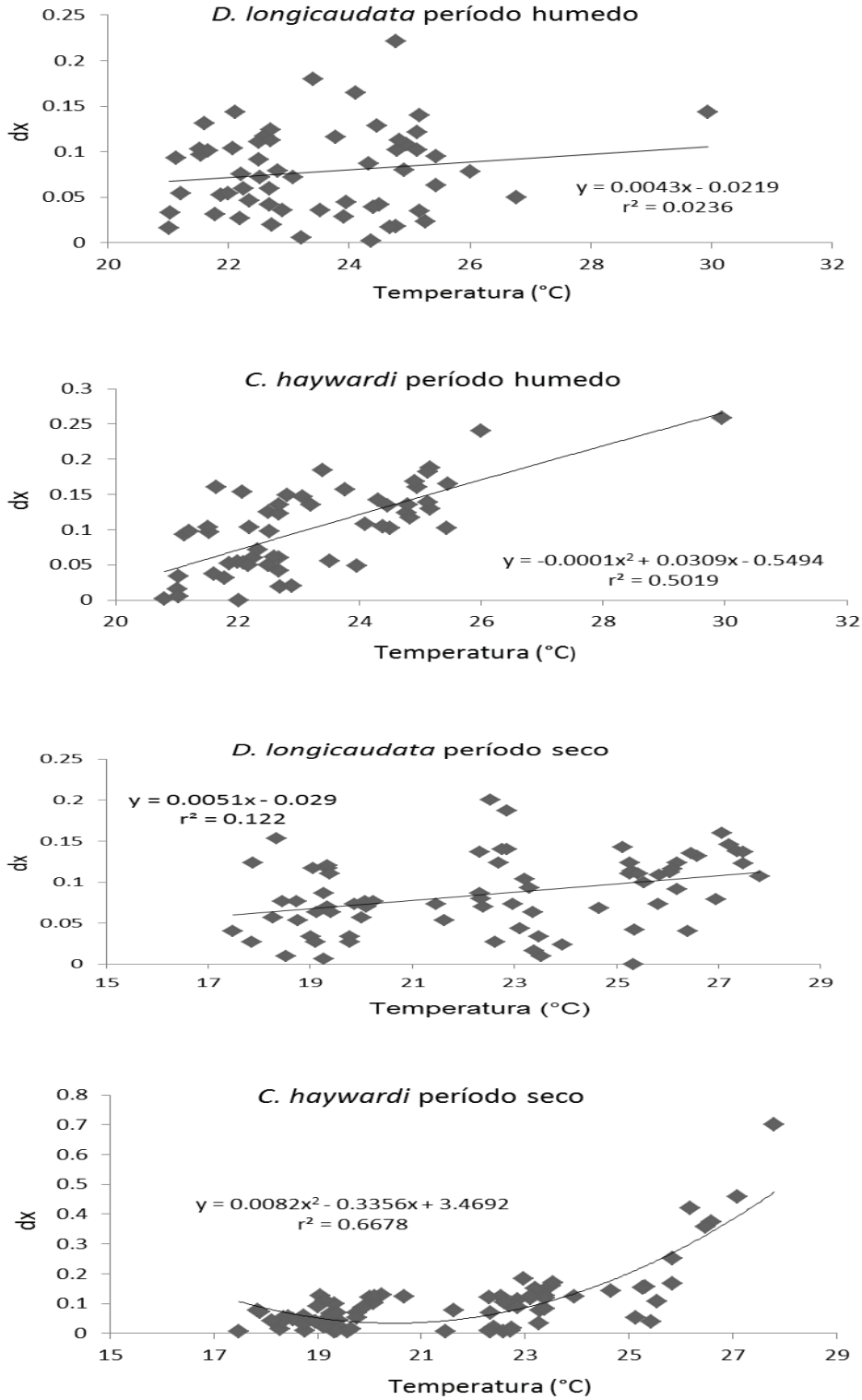


Fig. 5.3. Relación de temperatura y mortalidad diaria (dx) de *D. longicaudata* y *C. haywardi*.

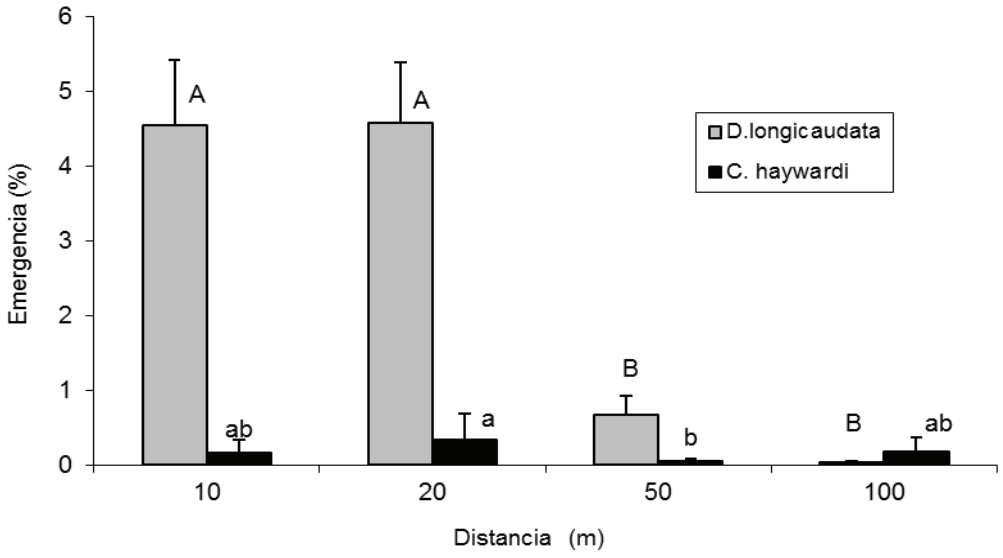


Fig. 5.4. Dispersión de *D. longicaudata* y *C. haywardi* medido a través de las emergencias de adultos en dispositivos con hospederos colocados a diferentes distancias.

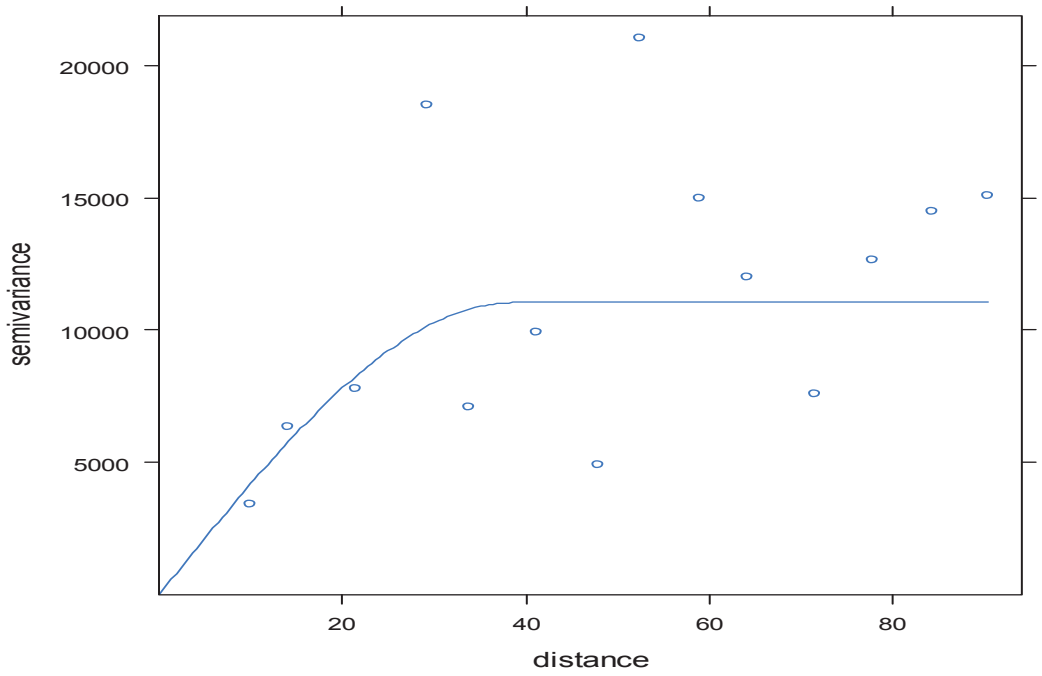


Fig. 5.5. Dispersión de *D. longicaudata* de acuerdo al modelo geoestadístico.

5.4. Discusión

Los datos indicaron que *D. longicaudata* es una especie con un rango más amplio de tolerancia a las condiciones ambientales. Una manera de apreciar esto es con la baja variabilidad en las curvas de supervivencia de esta especie a diferentes alturas. En el caso de *C. haywardi*, la supervivencia tuvo una relación más directa con la altitud, lo cual se puede interpretar como que es una especie más sensible a las variaciones en temperatura. A altitudes menores de 200 m la supervivencia máxima de *C. haywardi* no superó los 10 días, su mejor desempeño lo tuvo a alturas superiores a los 500 m. De acuerdo a Sivinski *et al*. (2000), las capturas en campo de *C. haywardi* se han presentado en áreas de mayor altitud. Al parecer este parasitoide no está adaptado para resistir las altas temperaturas caracteríticas de las zonas bajas tropicales.

En ambas especies se observó una mayor sobrevivencia en la época de lluvias. En este caso también *C. haywardi* es más sensible a la baja humedad, ya que en el período de sequía fue cuando se obtuvieron valores más bajos de supervivencia.

La fecundidad también fue afectada con la disminución de la humedad. Durante el período seco, en las dos especies se obtuvieron valores más bajos de fecundidad y en un período más corto. La fecundidad también fue muy afectada a bajas altitudes en *C. haywardi*. En contraste, a mayores altitudes la fecundidad de *C. haywardi* fue mayor y durante un período más prolongado. Este hecho indica que *C. haywardi* es un parasitoide menos adaptado a las

condiciones de las zonas bajas. Esto también se aprecia al analizar la mortalidad diaria. La mortalidad de *C. haywardi* se incrementó significativamente y en relación directa con aumento en la temperatura, mientras que con *D. longicaudata* el efecto de la temperatura fue menos marcado. Diferentes evaluaciones realizadas con insectos y en particular con parasitoides han tenido una clara relación entre la supervivencia y la fecundidad con las condiciones ambientales, en particular con la temperatura. En general se ha observado que las temperaturas más altas reducen la supervivencia y repercuten de manera notable sobre los parámetros poblacionales, a menores temperaturas el efecto sobre estos parámetros normalmente se incrementan (Mozaddedul y Copland, 2002; Agboka *et al*., 2004).

Las variaciones en los resultados de supervivencia y fecundidad en *C. haywardi* se reflejaron en los parámetros poblacionales obtenidos. El tiempo generacional, la tasa neta de reproducción y la tasa intrínseca de incremento en *D. longicaudata* no tuvieron amplia variación con respecto a la altitud. No fue así en *C. haywardi* en donde las diferencias fueron mayores. Comparando las dos especies, los valores más altos en las tasas de reproducción y de incremento poblacional se presentaron en *D. longicaudata*. De acuerdo a los parámetros, las poblaciones de *D. longicaudata* crecerían en todas las alturas, mientras que en *C. haywardi* se limitaría a alturas mayores a los 500 m, a menores alturas, sus poblaciones tienden a desaparecer. Considerando que estas especies son potencialmente útiles para el control biológico de moscas

de la fruta bajo el concepto de liberación aumentativa, la tasa neta de reproducción puede ser un parámetro indicador muy importante (Roy *et al*., 2011).

La tasa de incremento poblacional obtenida para cada especie fueron menores en comparación a la que reportan Vargas *et al*. (2002) para *D. longicaudata* y Núñez-Campero *et al.* (2012) para *C. haywardi*. Los valores menores obtenidos en este trabajo pueden deberse a dos razones, la primera es considerar que en nuestro caso, las evaluaciones fueron realizadas en condiciones de campo y la segunda es que para el cálculo de los parámetros poblacionales se consideró la mortalidad presente en estados inmaduros.

El menor tiempo generacional en *D. longicaudata* puede ser importante para el caso de establecimiento poblacional empleando como hospederos larvas de moscas *Anastrepha* (Cancino *et al*., 2009b). En el caso de liberaciones aumentativas, *D. longicaudata* resultó ser una especie de mayor capacidad para suprimir poblaciones de moscas que *C. haywardi*. Sin embargo, *C. haywardi* puede actuar como un refuerzo para obtener un supresión mayor bajo ciertas condiciones ambientales.

Una ventaja importante para *C. haywardi* es su prolongada supervivencia en comparación con *D. longicaudata*. Cuando las condiciones ambientales fueron favorables duplicaron la supervivencia obtenida por *D. longicaudata*. La mayor supervivencia pudo dar más oportunidades para desplazarse a mayores distancias.

La eficacía de las dos especies puede analizarse tomando en cuenta la dispersión de una especie y la supervivencia de otra como atributos de importancia. La disponibilidad diaria de hospederos a corta distancia (a 20 m del punto central) y la alta capacidad de respuesta de *D. longicaudata* pudo evitar su mayor dispersión. Además los parasitoides liberados durante la evaluación posiblemente no sobrevivieron el tiempo requerido para desplazarse a mayor distancia, no fue el caso de *C. haywardi*, donde los parasitoides liberados pudieron vivir por un mayor tiempo lo que les permitió alcanzar mayores distancias.

Nuestros datos confirman el amplio rango de tolerancia que tiene *D. longicaudata* a las condiciones ambientales. Esto fue un factor clave para que *D. longicaudata* pudiera establecerse fácilmente después de su introducción para el control de moscas de la fruta en América (Ovruski *et al*., 2000). En el caso de *C. haywardi* se reporta el rango en donde esta especie puede actuar con mayor eficacía. Las altitudes mayores de 500 m permiten el crecimiento de sus poblaciones, sin embargo a altitudes mayores a 1500 m, las tasas de crecimiento disminuyen. Los datos de dispersión sugieren que *D. longicaudata* no se desplazó a más de 40 m durante los 9 días del experimento, pero es posible que esta especie tenga una mayor capacidad de desplazamiento, lo cual se pudo haber estimulado colocando los hospederos a distancias mayores y evitar la presencia de hospederos en distancia cortas alrededor del punto de liberación inicial (Messing *et al*., 1994; Messing *et al*., 1995; Desouhant *et al*., 2003). Este último aspecto se ha demostrado como un factor de importancia

para estimular el desplazamiento en parasitoides. Se considera que la distribución de los hospederos es el principal factor que gobierna la manera como los parasitoides se dispersan o se distribuyen (Trumble y Oatman, 1984; Yu *et al*., 2003). Otros factores como el tamaño de las plantas en donde habita el hospedero o la forma deben considerados (Azbag *et al*., 2008), así como la presencia de recursos alimenticios para recuperar su potencial (Ellers y Jervis, 2004; Heimpel y Jervis, 2005). En el caso particular de *D. longicaudata*, Sivinski *et al*. (2006) suponen que cuando los adultos encuentran alimento se prolonga la supervivencia, lo cual el proceso de búsqueda estimula su dispersión. La misma razón pudo darse en *C. haywardi* que se dispersó más, apoyado por tener una mayor capacidad de supervivencia. De acuerdo al diseño de la evaluación, los puntos más lejanos, además de la distancia implicaron menor densidad de hospederos. Este factor fue determinante para la búsqueda del parasitoide de pupa *Spalangia endius* Walker, en una evaluación realizada por Kitthawae *et al*. (2004). Estos autores encontraron que la distribución de este parasitoide dependió de la densidad de las pupas de moscas del género *Bactrocera* spp., reportando mayor parasitismo a baja densidad y viceversa, lo cual puede implicar que a bajas densidades de hospederos, los parasitoides tengan que desplazarse más.

La información obtenida sugiere que en un programa de control que considere las dos especies para obtener una reducción más eficiente de la plaga tendrá sus restricciones, las cuales estaran basadas en las limitantes de *C. haywardi*. Es muy probable que la liberación de ambas especies resulte

mejor en condiciones similares a las registradas a altitudes mayores de 500 m, y menores de 1500 m. En este rango existe una gran cantidad de vegetación silvestre con una amplia disponibilidad de frutos hospederos de moscas del género *Anastrepha*. En diferentes regiones a estas altitudes, cultivos de frutos como cítricos, guayabas, sapotáceas, etc., son establecidos y se producen de manera comercial. La combinación de estos parasitoides en estas áreas tendría un alto potencial para el control de poblaciones de especies *Anastrepha*.

Esta información es útil para diseñar procedimientos que optimicen las estrategias de liberación de las dos especies. Además de las condiciones ambientales, los datos pueden ser empleados para sugerir densidades de parasitoides a liberar y establecimiento de puntos de liberación.

CAPITULO 6

6.1. Discusión general

La capacidad de discriminación de hospederos por parte de *C. haywardi* permite considerar a este parasitoide como una alternativa para complementar el parasitismo que no es cubierto por *D. longicaudata*. No obstante que se presentó alrededor de un 30% de oviposición en pupas parasitadas, el mayor porcentaje fue atribuido a pupas libres. La capacidad de discriminación puede ser un requisito indispensable en un momento tan decisivo para dividir el recurso, que en este caso son las pupas de moscas de la fruta. Esta pudo ser la parte clave para que los resultados obtenidos con la aplicación conjunta de los dos parasitoides en unidades de oviposición o frutas incrementaran el parasitismo. Esto último se pudo evaluar con la disminución significativa en la emergencia de moscas, lo cual fue valorado con los parámetros obtenidos mediante una tabla de vida de decremento múltiple.

La introducción de *D. longicaudata* a América pudo representar un caso de invasión de nichos muy exitoso. Posiblemente la carencia de enemigos naturales y la presencia oportunista de esta especie parasitando larvas de *Anastrepha* representaron dos ventajas para que se integrara al gremio de parasitoides de moscas de la fruta de una manera dominante (Ovruski *et al*., 2000). No se tiene referencia de que el establecimiento haya desplazado alguna especie y su dominancia tuvo limites, uno de ellos pudo ser la intrinseca

relación tritrofica entre frutos, hospederos y parasitoides nativos, producto de un proceso evolutivo, lo que se manifestó en una clara división de nichos, que hasta la fecha se refleja en los resultados donde se evidencia la relación que hay entre parasitoides nativos con sus hospederos originales (Sivinski *et al*., 1997; López *et al*., 1999).

Otra de las limitantes que podría tener *D. longicaudata* es el tamaño del fruto, aunque esto puede ser más grave para otros parasitoides nativos, posiblemente estos recurren a otro tipo de estrategias para ovipositar su hospedero. Como resultado se tiene a *D. longicaudata* como la mejor opción para el control de moscas *Anastrepha*, sin embargo enfrenta limitaciones para cubrir más alla de un 50% de la población plaga (Sivisnki *et al*., 1996; Montoya *et al*., 2000). Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que el empleo de un segundo parasitoide complementaría la acción de *D. longicaudata*.

Los estados de desarrollo de la mosca que son empleados por *D. longicaudata* y *C. haywardi* en un principio plantea un panorama poco competitivo para las dos especies, en un momento puede presentarse una actuación de los dos parasitoides en tiempos muy diferentes. Si a esto se agrega la alta capacidad de *C. haywardi* de discriminar pupas parasitadas, se aprecia una condición de baja competencia, requisito basico para aplicación de más de una especie de parasitoide en el control de una plaga (Weber *et al*., 1996; Paine *et al*., 2000; Denoth *et al*., 2002).

La aplicación de las dos especies tiene otro tipo de limitantes, las cuales son atribuibles a las condiciones en que se desarrolla *C. haywardi*. Este

parasitoide parece estar más adaptado para desarrollarse en altitudes mayores a 500 msnm, así también en la temporada seca sus niveles de supervivencia y fecundidad son menores. Aunque esto excluye las perspectiva de uso de *C. haywardi* en zonas tropicales a bajas alturas, lo cual se demuestra con datos demográficos de donde se concluye lo inviable que puede ser establecer una población de *C. haywardi* por debajo de los 500 msnm. La eficacia de este parasitoide es mayor en áreas por arriba de los 500 msnm donde en muchas regiones es abundante la presencia de frutos hospederos de *Anastrepha*, ya sea establecidos extensivamente o como parte de la vegetación silvestre. Bajo estas condiciones *C. haywardi* tiene algunas ventajas como un promedio de supervivencia mayor, lo que puede ser importante para desplazarse a mayores distancias que *D. longicaudata* y poder extender más su acción sobre pupas de *Anastrepha*.

Los resultados del presente trabajo soportan la sugerencia de aplicar el parasitismo múltiple como una herramienta dentro del control biológico de moscas de la fruta. Emplear las ventajas que tiene *D. longicaudata* como parasitoide introducido y aplicar parasitoides para complementar su acción, aprovechando los atributos de la relación tritrofica en la que participan los parasitoides nativos.

La disponibilidad de la producción masiva de las dos especies permite proponer su uso bajo el concepto de liberaciones aumentativas con lo cual se puede obtener una singergía de la acción de los parasitoides que aportaría

mejores resultados de los obtenidos con el empleo de solo *D. longicaduata* (Sivisnki *et al*., 1996; Montoya *et al*., 2000).

Esta propuesta puede ser una opción para incrementar la eficiencia del control biológico de especies del género *Anastrepha*, lo cual se puede extender a la aplicación conjunta de otras especies de parasitoides. En estos casos se deben cuidar que se cubran diferentes requisitos que faciliten la división de los recursos y permitan la interaccion con baja competencia por el hospedero lo cual es un principio para el uso múltiple de especies (Weber *et al*., 1996; Paine *et al*., 2000; Denoth *et al*., 2002).

En general el control biológico en moscas de la fruta representa un elemento que requiere reforzarse para ser más exitoso en el manejo de poblaciones plaga. El futuro se presenta exigiendo la prioridad de técnicas de control de plagas de bajo impacto ambiental.

Literatura Citada

Adams, AS, and Six, DL. 2007. Detection of host habitat by parastoids using cues associated with mycangial fungi of the mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae*. Canadian Entomology 140: 124-127.

Agboka, K, Schulthess, F, Chabi-Olaye, A, Labo, I, Gounou, S and Smith, H. 2002. Self-intra, and interspecific host discrimination in *Telenomus busseolae* Gahan and *T. isis* Polaszek (Hymenoptera: Scelionidae), sympatric egg parasitoids of the African Cereal Borer *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidotera: Noctuidae). Journal of Insect Behavior 15: 1-12.

Aluja, M. 1994. Bionomics and Management of *Anastepha.* Annual Review of Entomology 39: 155-178.

Aluja, M, Guillén, J, Liedo, P, Cabrera, M, Rios, E, de la Rosa, G, Celedonio, H. and Mota D. 1990. Fruit infesting tephritid (Dipt.: Tephritidae) and associated parasitoids in Chiapas, Mexico. Biocontrol 35: 39-18.

Aluja, M and Birke, A. 1993. Habitat use by adults of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) in a mixed mango and tropical plum orchard. Annals of Entomological Society of America 86: 799-812.

Aluja, M, Rull, J, Sivinski, J, Norrbom, AL, Wharton, RA, Macias-Ordoñez, R, Díaz Fleisher, F and López, M. 2003. Fruit flies of the genus *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) and associated native parasitoids

(Hymenoptera) in the tropical rainforest biosphere reserve of Montes Azules, Chiapas, Mexico. Enviromental Entomology 32: 1377-1385.

Aluja, M, Montoya, P, Cancino, J, Guillén, L and Ramírez-Romero, R. 2008. Moscas de la Fruta, *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae). *In*: H. C. Arredondo-Bernal, H. C. y Rodríguez-del-Bosque, L. A. (Eds). Casos de Control Biológico en México, Editorial Mundiprensa, México-España, pp. 193-222.

Aluja, M, Sivinski, J, Ovruski, S, Guillén, L, López, M, Cancino, J, Torres-Anaya, A, Gallegos-Chan, G and Ruiz, L. 2009. Colonization and domestication of seven species of native NewWorld hymenopterous larval-pupal and pupal fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids. Biocontrol Science and Technology 19: 49-79.

Aluja, M and Mangan, RL. 2008. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: critical conceptual, methodological and regulatory considerations. Annual Review of Entomology 53: 473-502.

Amarasekare, P. 2000. Coexistence of competiting parasitoids on a pathchily distribuited host: Local vs. spatial mechanisms. Ecology 81: 1286-1296.

Arauni, R, Ceresa, A, Granados, JC, Taret, G, Peruzzotti, P and Ortíz, G. 1996. Advances in the National Fruit Fly Control and Eradication Program in Argentina. *In*: McPheron, B. A. And Steck, G. J. (Edits.) Fruit Fly Pests. St. Lucie Press. FL, USA, pp. 521-530.

Azbag, A, Karasu, E, Karabörklü, S and Yilmaz, S. 2008. Dispersal ability and parasitization performance of egg parasitoid *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in field and storage conditions. Turkey Journal of Biology 32: 127-133.

Baeder, JM and King, BH. 2004. Associative learning of color by males of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). Journal of Insect Behavior 17: 201-213.

Baeza-Larios, G, Sivinski, J, Holler, T and 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.

Bai, B. 1991. Conspecific superparasitism in two parasitoid wasps, *Aphidius ervi* Haliday and *Aphelinus asychis* Walker: reproductuvie strategies influence host discrimination. Cannadian Entomology 123: 1229-1237.

Bakker, K, van Alphen, JJM, van Batenburg, FHD, van der Hoeven, N, Nell, HW, van Strien-van Liemp, WTFH and Turlings, TCJ. 1985. The function of host discrimination and superparasitization in parasitoids. Oecologia 67: 572-576.

Barnes, BN and Venter, JH. 2006. The South African Fruit Fly Action Plan-area wide suppression and exotic species surveillance. *In*: Sugayama, R. L., Zucchi, R. A., Ovruski, S. and Sivinski, J. (Edits.) Fruit Flies of Economic Importance: from basic to applied knowledge. Proceedings of

the 7th International Symposium on fruit flies of economic importance, Salvador Bahia, Brazil, pp. 271-283.

Bauer, G. 1986. Life-history strategies of *Rhagoletis alternata* (Diptera: Tephritidae), a fruit fly opering in “non-interactive” system. Journal of Animal Ecology 55: 785-794.

Bautista, R and Harris, EJ. 1997. Effects of multiparasitism on the parasitization behavior and progeny development of Oriental fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae). Journal of Economic Entomology 90: 757-764.

Bellows.TS, Van Driesche, RG and Elkinton, JS. 1992. Life-table construction and analysis in the evaluation of natural enemies. Annual Review of Entomology 37: 587-614.

Benschoffer, CA and Witherell, PC. 1984. Lethals effects of suboptimal temperatures on immature stages of *Anastrepha suspensa*. Florida Entomologist 87: 189-193.

Bess, HA, van den Bosch, R and Haramoto, FH. 1961. Fruit fly parasites and their activities in Hawaii. Procedings of Hawaiian Entomological Society 17: 367-378.

Bigler, E, Suverkropp, BP and Cerutti, F. 1997. Host-searching by *Trichogramma* and its implication for quality control and releases techniques. *In*: Andow, D. A., Ragadale, D. W. and Nyvall, R. F. (Edits.) Ecological Interactions and Biological Control. Westview Press, Oxfor, England, pp. 240-253.

Boller, CF and Prokopy, RJ. 1976. Bionomics and management of *Rhagoletis*. Annual Review of Entomology 21: 223-245.

Boller, EF, and Chambers, DL. 1977. Quality aspects of mass-reared insects. *In*: Ridway, R. I. and Vinson, S. B. (Edits.) Biological control by aumentation of natural enemies. Plenum, New York, pp. 219-236.

Bonsall, MB, Hassell, MP and Asefa, G. 2002. Ecological trade-offs, resource partitioning, and coexistence in a host parasitoid assemblage. Ecology 83: 925-934.

Borer, ET, Murdock, WW and Swarbrick, SL. 2004. Parasitoid coexistence: linking spatial field patterns with mechanism. Ecology 85: 665-678.

Bressan-Nascimento, S. 2001. Emergence, and pupal mortality factors of *Anastrepha obliqua* (Macq.) (Diptera: Tephritidae) along the fruiting season of the host *Spondia dulcis* L. Neotropical Entomology 30: 207-215.

Brew, JS 1982. Niche shift and the mnimisation of competition. Theoretical Population Ecology 22: 367-381.

Brodeur, J and McNeil, JN. 1992. Host behaviour modification by the endoparasitoid *Aphidius nigripes*: a strategy to reduce hyperparasitism. Ecological Entomology 17: 97-104.

Cameron, PJ and Morris, FO. 1977. Analysis of mortality demography in the apple maggot, *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) in Quebec. Canadian Entomology 109: 769-788.

Cancino, J and Montoya, P. 2008. Advances and perspectives in the mass rearing of fruit fly parasitoids in Mexico. *In*: Sugayama, R., Zucchi R., Ovruski, S., Sivinski J. (Eds.), Fruit Flies of Economic Importance: from Basic to Applied Knowledge, Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, Salvador Bahia, Brazil, pp. 133-142.

Cancino, J, Ruiz., L, Hendrichs, J and Bloem, K. 2009a Evaluation of sequential exposure of irradiated host to maximize the mass rearing of fruit fly parasitoids. Bicontrol Science and Technology 19: 95-109.

Cancino, J, Ruiz, L, Montoya, P and Harris, E. 2009b. Biological attributes of three introduced parasitoids as natural enemies of fruit flies, genus *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). Journal of Applied Entomology 133: 181-188.

Cardinale, BJ, Harvey, CT, Gross, K and Ives, AR. 2003. Biodiversity and biocontrol: emergent impacts of a multi-enemy assemblage on pest suppression and crop yield in an agroecosystem. Ecology Letters 6: 857-865.

Carey, JR. 1993. Applied demography for biologists. Oxford University Press, New York, 206 pp.

Carey, JR, Liedo, P, Harshman, L, Zhang, Y, Müller, HG, Partrige, L and Wang, JL. 2002. Life history response of Mediterranean fruit flies to dietary restriction. Age Cell 1: 140-148.

Carrol, IT, Cardinale, BJ and Nisbet, R. 2011. Niche and fitness differences relate the maintenance of diversity to ecosystem function. Ecology 92: 1157-1165.

Carvalho, RS. 2005. Avaliacao das liberacoes inoculativas do parasitóide exótico *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) em pomar diversicado en Conceicao do Almeida, BA. Neotropical Entomology 34: 799-805.

Chen, CC, Dong, YJ, Li, CT, Liu, KY and Cheng, LL. 2006. Movement of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae), in a guava orchard with special reference to its population changes. Formosan Entomology 26: 143-159.

Clark, LA. and Pregibon, D. 1993. Tree-Based Models. *In*: Chambers, JM and Hastie TJ (Edits.) Statistical models, Chapman and Hall, London, Great Britain, pp. 377-417.

Cornell, HV, and Hawkins, BA. 1995. Survival patterns and mortality sources of herbivorous insects some demographic trends. The American Naturalist 145: 563-593.

Cusson, M, Laforge, M, Régnière, J., Béliveau, C. Trudel, D, Thireau, JC, Bellemare, G., Keirstead, N. and Stolz, D. 2002. Multiparasitism of *Choristoneura fumiferana* by the ichneumonid *Tranosema rostrale* and the tachinid *Actia interrupta*: occurrence in the field and outcome of competition under laboratory conditions. Entomologia Experimentalis et Applicata 182: 125-133.

Darrouzet, E, Boivin, G and Chevrier, C. 2008. Sex allocation decision under superparasitism by the parasitoid wasp *Eupelmus vuilleti*. Journal of Insect Behavior 21: 181-191.

DeBach, P. **1984**. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Decima Impresión, Cia. Editorial Continental, S. A. de C. V. México. 949 pp.

De Moraes, CM, Cortesero, AM, Stapel, JO. and Lewis, WJ. 1999. Intrinsic and extrinsic competitive interactions between two larval parasitoids of *Heliotis virescens*. Ecological Entomology 24: 402-410.

Denoth, M., Frid, L. and Myers, J. H. 2002, Multiple agents in biological control improving the odds? Biological Control 24: 20-30.

Desouhant, E, Driessen, G, Lapchin, L, Wielaard, S and Bernstein, C. 2003. Dispersal between host population in field conditions: navigation rules in the parasitoid *Venturia canescens*. Ecological Entomology 28: 257-267.

Dresner, E. 1954. Observation on the biology and habits of pupal parasites of the oriental fruit fly. Proceedings of the Hawaiian Entomology Society 15: 299-310.

Duan, JJ and Messing RH. 1997. Biological control of fruit flies in Hawaii: Factor affecting non-target risk analysis. Agriculture and Human Values 14: 227- 236.

Edwards, KF and Schreiber, SJ 2010. Preemption of space can lead to intransitive coexistence of competitors. Oikos 119: 1201-1209.

Egas, M, Diechman, U and Sabelis, MW. 2004. Evolution retrics the coexistence of specialist and generalist: the role of trade-offs structure. The American Naturalist 103: 518-531.

Elher, LE. 1990. Introduction strategies in biological control of insects. *In*: Mackauer, M, Elher, LE and Roland, J, Critical issues in biological control, Intercept Ltd. USA, pp. 111-134.

Ellers, J and Jervis, MA. 2004. Why are so few wasp species pro-ovigenic?. Evolutionary Ecology Research 6: 993-1002.

Elzen, GW, Williams, HJ, Vinson, SB and Powell, JE. 1987. Comparative flight behavior of parasitoids *Campoletis sonoresis* and *Microplitis croceipes*. Entomologia Experimentalis et applicata 45: 175-180.

Enkerlin, WR. 2005. Impact of fruit fly control programmes using the sterile insect technique. *In*: Dyck, V. A., Hendrichs, J. and Robinson, A. S. (Edits.) Sterile Insect Technique. Springer, pp. 651-676.

Feng, Z and Velasco-Hernández, J. 1997. Competitive exclusion in a vector-host model for the dengue fever. Journal of Mathematical Biology 35: 523-544.

Finke, DL and Snyder, WE. 2008. Niche partitioning increase resource explation by diverse communities. Science 321: 1488-1490.

Fischer, S, Samietz, J and Dorn, S. 2004. Host location of a pupal parasitoid in a tritrophic system compared to a model offering mechanosensory cues only. Journal of Insect Behavior 17: 191-199.

Fluck, R. 1990. Evaluation of natural enemies for biological control: A behavioral approach. Trends in Ecology and Evolution 5: 196-199.

Force, D. 1974. Ecology of host-parasitoid communities. Science 184: 624-632.

García-Medel, D, Sivisnki, J, Días-Fleisher, F, Ramiro-Romero, R and Aluja, M. 2007. Foraging behavior by six fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) released as single-or multiple-species cohorts in field cages: Influence of fruit location and host density. Biological Control 43: 12-22.

Geervliet, JBF, Verdel, MSW, Snellen, H, Schaub, J, Dicke, M and Vet, EM. 2000. Coexistence and niche segregation by field populations of the parasitoids *Cotesia glomerata* and *C. rubecula* in the Netherlands: predicting field performance from laboratory data. Oecology 124: 55-63.

Gilbert, B, Srivastava, DS and Kirby, KR. 2008. Niche partitioning at multiple scales facilitates coexistence among mosquito larvae. Oikos 117: 944-950.

Giri, NC. 2004. Multivariata statistical analysis. Second Edition. Marcel Dekker Inc. USA. 558 pp.

Godfray, HJC. 1994. Parasitoids: behavioural and evolutionary ecology. Princenton University Press, New Jersey.

Godsoe, W. 2010. I can't define the niche but I know it whem I see it: a formal link between statistical theory and the ecology niche. Oikos 119: 53-60.

González, PI, Montoya, P, Pérez-Lachaud, G, Cancino, J and Liedo P. 2007. Superparasitism in mass reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). Biological Control 40: 320-326.

Grasman, J, van Herwaarden, OA, Hemerik, L and van Lenteren, JC. 2001. A two-compoment model of host-parasitoid interactions: determination of the size of inundative releases of parasitoids in biological control. Mathematical Biosciences 169: 207-216.

Griffin, JN and Sullivan, BR. 2011. Resource partitioning and why it mates. Nature Education Knwoledge 2: 8.

Guillén, L, Aluja, M, Equihua, M and Sivinski, J. 2001. 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.

Gurr, GM and Kvedaras, OL. 2010. Synergizing biological control: Scope for sterile insect technique, induced plant defences and cultural techniques to enlace natural enemy impact. Biological Control 52: 198-207.

Hacket-Jones, Cobbod, C and White, A. 2009. Coexistence of multiple parasitoids on a single host due to differences in parasitoid phenology. Theoretical Ecology 2: 19-31.

Hajek, A. 2004. Natural enemies. Cambridge University Press, 407 pp.

Hanks, LM, Millar, JG, Paine, TD, Wang, Q and Paine, EO. 2001. Patterns of host utilization by two parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) of the *Eucalyptus longhorned* Borer (Coleoptera: Cerambycidae). Biological Control 21: 152-159.

Harris, E and Bautista, R. 2003. Effect of multiparasitism on the parasitisation behaviour of insect parasitoids. *In*: Kout, O and Dhaliwal, GS. (Eds.), Predators and Parasitoids, Taylor and Francis, pp. 121-138.

Hawkins, BA. 1994. Pattern and Process in Host–Parasitoid Interactions. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK.

Hawkins, BA, Thomas, MB, and Hochberg, ME. 1993. Refuge theory and biological control. Science 262: 1429-1432.

Hawkins, BA, Cornell, WV and Hochberg, ME. 1997. Predators, parasitoids and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. Ecology 78: 2145- 2152.

Heimpel, GE and Jervis, MA. 2005. Does floral nectar improve biological control by parasitoids? *In*: Wäckers, FL, van Rijn, PCJ and Bruin, J, Plant-provide food and hervibore-carnivore interaction, Cambridge University Press, pp. 267-304.

Heinz, K. M. 1996. Host size selection and sex allocation behaviour among parasitoid trophic levels. Ecological Entomology 21, 218-226.

Hernández-Ortíz, V, Guillén-Aguilar, J y López, L. 2010. Taxonomía e identificación de moscas de la fruta de importancia económica en América. *In*: Montoya, P, Toledo, J y Hernández, E (Edits.) Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo. S. y G. Editores, México, pp. 49-79.

Hochberg, ME. 1996. Consequences for host population levels of increasing natural enemy species richness in classical biological control. American Naturalist 147: 307-318.

Hochberg, ME and Hawkins, BA. 1992. Refuges as a predictor of parasitoid diversity. Science 255: 973-976.

Hodgson, PJ, Sivinski, J, Quintero, G and Aluja, M. 1998. Depth of pupation and survival of fruit fly (*Anastrepha* spp: Tephritidae) pupae in a range of agricultural habitats. Enviormental Entomology 27: 1310-1314.

Hoffmeister, TS and Vidal S. 1994. The diversity of fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids. *In*: Hawkins, BA. and Sheehan, W (Edits.) Parasitoid Community Ecology, Oxford University Press, pp. 47-76.

Holf, RD. 1987. On the relation between niche overlap and competition: the effect of incommensurable niche dimensions. Oikos 48: 110-114.

Hosmer, DW and Lemeshow, S. 2000. Applied logistic regression. 2nd Edit. John Willey and sons, Inc.

Huffaker, CB, Rabb, RL and Logan, JA. 1977. Some aspects of population dynamics to augmentation of natural enemy action. *In*: Ridgway, RL and Vinson, SB., Biological control by augmentation of natural enemies, Plenum Press, New York, USA, pp. 3-38.

Isaaks, EH and Srivastava, RM. 1989. An introduction to applied geostatistics. Oxford University Press, New York.

Islam, KS, Copland and MJW. 2000. Influence of egg load and oviposition time interval on the host discrimination and offspring survival of *Anagyrus pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae), a solitary endoparasitoid of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae). Bulletin Entomological Research 90: 69-75.

ISPM-FAO. 2010. Establishment for pest free areas for fruit fly (Tephritidae). Secretarial of the International Plant Production Convention FAO, 47 pp.

Javad Ardeh, M, de Jong, PW, and van Lenteren, JC. 2005. Intra- and interspecific host discrimination in arrhenotokous and thelyotokous *Eretmocerus* spp. Biological Control 33: 74-80.

Jean-Yves. OP and Hochberg, ME. 1996. Resource partitioning in the parasitoids assemble of the oak galler *Neuroterus quercusbaccarum* L. (Hymenoptera: Cynipidae). Acta Ecologica 17: 1-15.

Kakehashi, N, Zuzuki, Y and Iwasa, Y. 1984. Niche overlap of parasitoid in host-parasitoid systems: its consequence to single versus multiple introductions controversy in biological control. Journal of Applied Ecology 21: 115-131.

Khoo, CCH and Lawrence, PO. 2002. Hagen's gland of the parasitic wasp *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae): ultraestructure and the detection of entomopoxvirus and parasitism parasitism-specific proteins. Arthropod Structure and Development 31: 121-130.

Kitthawae, S, Sriplang, K, Brockelman, WY and Baimai, V. 2004. Laboratory evaluation of density relationship of the parasitoid *Spalangia endius* (Hymenoptera: Pteromalidae), with species of Tephritid fruit fly host in Thailand. Science Asia 30: 391-397.

Knipling, EF. 1993. Pinciples of insect parasitism analyzed fron new perspectives. USDA-ARS, Agriculture Handbook No. 693, 305 pp.

Korneyev, VA. 1999. Phylogenetic relationship among the families of the superfamily Tephritoidea. *In*: Aluja, M and Norbbon, A (Edits.) Fruit Flies (Tephritidae): Philogeny and Evolution of Behavior. CRC, Press, Boca Raton, Florida, pp. 3-22.

Kovaleski, A, Sugayama, RL and Malavasi, A. 1999. Movement of *Anastrepha fraterculus* from native breeding sites into apple orchards in Suthern Brazil. Entomologia Experimentalis et Applicata 91: 459- 465.

Lawrence, PO. 2005. Morphogenesis and cytopathic effects of the *Diachasmimorpha longicaudata* entomopoxvirus in host haemocytes. Journal of Insect Physiology 51: 99-101.

Lebreton, S, Labarussias, M, Chevrier, C and Darrouzet, E. 2008. Discrimination of the age of conspecific eggs by an oviposition ectoparasitic wasp. Entomologia Experimentalis et Applicata 130: 28-34.

Leyva, J, Browning, HW and Gilstrap, FE. 1991. Effect of host species size and color on parasitisation of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) by *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). Enviromental Entomology 20: 1469-1476.

Liquido NJ, Cuminghan, RT and Nakagawa S. 1990. Host plants of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) on the island of Hawaii (1949 – 1985 survey). Journal of Economic Entomology 83: 1863-1878.

López, M, Aluja, M and Sivinski, J. 1999. Hymenopterous larval-pupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera: Tephritidae) in Mexico. Biological Control 15: 119-129.

Mackauer, M, Bai, B, Chow, A. and Danyk, T. 1992. Asymetric larval competition between two species of solitary parasitoid wasps: the influence of superparasitism. Ecological Entomology 17: 233-236.

Mahmoud, AMA and Un Taek, L. 2008. Host discrimination and interspecific competition of *Trissolcus nigripedius* and *Telenomus gifuensis* (Hymenoptera: Scelionidae), sympatric parasitoid of *Dolycoris baccarum* (Heteroptera: Pentatomidae). Biological Control 45: 337-343.

Masaro, AL, Adaine, R, Ronchi-Teles, B, Riveiro, C e Valle da Silva, P. 2011. *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae), their host and parasitoids in the extreme North of Brazil. Biota Neotropical 11: 117-123.

May, RM and Hassell, FRS. 1988. Population dynamics and biological control. Phil. Trans. R. Soc. Lond. 318, 129-169.

McQuate, GT, Peck, SL, Barr, PG and Sylva, CD. 2005. Comparative evaluation of spinosad and phloxine B as toxicants in protein baits for suppression of three fruit fly (Diptera: Tephritidae) species. Journal of Economic Entomology 98: 1170-1178.

Mehrnejad, MR and Copland, MJW. 2006. Host-stage selection and oviposition behaviour of *Psyllaephagus pistaciae*, parasitoid of the common pistachio psylla *Agonoscena pistaciae*. Biological Control 36: 139-146.

Mena-Correa, J, Sivinski, J, Anzures-Dadda, A, Ramírez-Romero, R, Gates, M and Aluja, M. 2009. Consideration of *Eurytoma sivinski* Gates and Grisell, a eurytomid (Hymenoptera) with unusuall foraging behaviors, as a biological control agent of Tephritid (Diptera) fruit flies. Biological Control 53: 9-17.

Messing, RH, Kllungness, LM and Purcell, MF. 1994. Shor-range dispersal of mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata* and *D. tryoni* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoid of tephritid fruit fly. Journal of Economic Entomology 87: 975-985.

Messing, RH, Purcell, MF and Klungness, LM. 1995. Short range dispersal of mass-reared *Psyttalia fletcheri* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). Enviromental Entomology 24: 1338-1343.

Montoya, P, Liedo, P, Benrey, B, Cancino, J, Barrera, JF, Sivinski, J and 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.

Montoya, P, Benrey, B, Barrera, JF, Zenil, M, Ruiz, L and Liedo, P. 2003. Oviposition behavior and conspecific host discrimination in *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a fruit fly parasitoid. Biocontrol Science and Technology 13: 683-690.

Montoya, P y Cancino, J. 2004. Control biológico por aumento en moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae). Folia Entomológica Mexicana 43: 527-270.

Montoya, P, Cancino, J, Zenil, M, Santiago, G and Gutierrez, JM. 2007. The augmentative biological control component in the Mexican National Campaign against *Anastrepha* spp. fruit flies. *In*: Vreysen, MJB, Robinson, AS and Hendrichs, J. (Edits.) Area-wide Control of Insect Pests from research and field implementation. Springer IAEA, pp. 661-670.

Mozaddedul, HNM and Copland, MJW. 2002. Study on fecundity, reproductive rate, intrinsic rate of increase and effects of diets on adult longevity, of a long-tailed mealybug, *Pseudococcus longispinus* (Targioni-Tozzetti) parasitoid, *Leptomastix* nr. *epona* (Walker). Pakistan Journal of Biological Sciences 5: 923-930.

Murdoch, WW, Luck, RF, Swarbrick, SL, Walde, S, Yu, DS and Reeve, JD. 1995. Regulation of an insect population under biological control. Ecology 76: 206-217.

Murdoch, WW and Briggs, CJ. 1996. Theory for biological control: recent developments. Ecology 77: 2001-2013.

Naeem, S and Hawkins, BA. 1994. Minimal community structure: How parasitoids divide resources. Ecology 75: 79-85.

Núñez-Campero, SR, Ovruski, S and Aluja, M. 2012. Survival analysis and demographic parameters of the pupal parasitoid *Coptera haywardi* (Hymenoptera: Diapriidae), reared on *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). Biological Control 63: 40-46.

Outreman, Y, Le Ralec, A, Wajnberg, E and Pierre, JS. 2001. Can imperfect host discrimination explain partial patch exploitation in parasitoids?. Ecological Entomology 26: 271-280.

Ovruski, S, Aluja, M, Sivinski, J and Wharton, R. 2000. Hymenopteran parasitoids on fruit infesting Tephritidae (Diptera) in Latin America and the Southern United States: Diversity, distribution, taxonomic status and

their use in fruit fly biological control. Integrated Pest Management Reviews 5: 81-107.

Ovruski, S, Oroño, LE, Schliserman, P and Nuñez-Campero, S. 2004. The effect of four fruit species on the parasitisation rate of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae, Trypetinae) by *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) under laboratory rearing conditions. Biocontrol Science and Technology 17: 1079-1085.

Paranhos, B, Mendes, P, Papadopoulos, N and Walder JM. 2007. Dispersion patterns of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in citrus orchards in Souther Brazil. Biocontrol Science and Technology 17: 375-385.

Paine, TD, Paine, EO, Hanks, LM and Millar, JG. 2000. Resource partitioning among parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) of *Phoracantha semipunctata* in their native range. Biological Control 19: 223-231.

Peck, SL and McQuate, GT. 2000. Fiedl test of environmentally friendly malathion repalecements to suppress wild Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) populations. Journal of Economic Entomology 93: 280-289.

Peck, SL, McQuate, GT, Vargas, RI, Seager, DC, Revis HC, Jang, EB and McInnis, D O. 2005. Movement of sterile male *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) in a Hawaiian agroecosystem. Journal of Economic Entomology 98: 1539-1550.

Pedata, PA, Giorgini, M and Guerrieri, E. 2002. Interspecific host discrimination and within-host competition between *Encarcia formosa* and *E. pergandiella* (Hymenoptera: Aphelinidae), two endoparasitoids of whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae). Bulletin of Entomological Research 92: 521-528.

Pedersen, BS and Mills, NJ. 2004. Simple vs. multiple introduction in biological control: the roles of parasitoid efficiency, antagonism and niche overlap. Journal of Applied Ecology 41: 973-984.

Peterson, RK, Davis, BS, Higley, LC and Fernandez, OA. 2009. Mortality risk in insects. Enviromental Entomology 38: 2-10.

Petessen, JJ and Watson, DW. 1992. Comparison of sentinel and naturally occurring fly pupae to measure field parasitism by pteromalid parasitoids (Hymenoptera). Biological Control 2: 244-248.

Pijls, JWAM, Hofker, KD, VanStaalduinen, MJ and VanAlphe, JJM. 1995. Interspecific host discrimination and competition in *Apoanagyrus* (*Epidinocarsis*) *lopezi* and *A.* (*E.*) *diversicornis*, parasitoid of the cassava mealbug *Phenacoccus manihoti*. Ecological Entomology 20: 326-332.

Pilkington, LJ and Hoddle, MS. 2007. Use of life tables to quantify reproductive and developmental biology of *Gonatocerus triguttatus* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae). Biological Control 42: 1-8.

Plantard, O, Rasplaus, JY and Hochberg, ME. 1996. Resourse partitioning in the parasitoid assemblage of the oak galler *Neuroterus quercusbaccarum* L. (Hymenoptera: Cynipidae). Acta Ecologica 17: 1-15.

Pledger; S and Greany SW. 2009. Niche overlap a unified definition and analysis for data of different types. Research Report School of Mathematics, Statistic and Operations Research, Victoria University Wellington, New Zealand, 26 pp.

Porter, EE and Hawkins, BA. 2003. Coexistence of specialist parasitoids with host refuges in the laboratory and the dynamics of spatial heterogeneity in attack rate. Oikos 100: 232-240.

Purcell, MF. 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.

Quicke, DLJ. 1997. Parasitic wasps. Chapman and Hall, London, UK.

Rathcke, BJ. 1974. Competition and coexistence within a guild of herbivorous insects. Ecology 57:76-87.

Redborg, KE and Redborg, AH. 2000. Resource partitioning of spiders hosts (Arachnidae, Araneae) by two mantispid species (Neuroptera: Mantespidae) in a Illinois woodland. The Journal of Ararchnology 28: 70-78.

Rehman, A and Powell W. 2010. Host selection behaviour of aphid parasitoid (Aphidiidae: Hymenoptera). Journal of Plant Breeding and Crop Science 2: 299-311.

Rivero, A. 2000. The relationship between host selection behaviour and offspring fitness in a koinobiont parasitoid. Ecological Entomology 25: 467-472.

Rosenheim, JA and Mangel, M. 1994. Patch-leaving rules for parasitoids with imperfect host discrimination. Ecological Entomology 19: 374-380.

Romani, R, Isidoro, N, Bin, F and Vinson, SB. 2002. Host recognition in the pupal parasitoid *Trichopria drosophilae*: a morpho-funtional approach. Entomologia Experimentalis et Applicatta 105: 119-128.

Roriz, V, Oliveira, L and Garcia, P. 2006. Host suitability and preference studies of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Biological Control 36, 331-336.

Roy, HE, Lawson Handley, LJ, Schönrogge, K, Poland, RL and Purse, BV. 2011. Can the enemy release hypothesis explain the success of the invasive alien predators and parasitoids? Biocontrol 56: 451-468.

Royama, T. 1981. Evaluation of mortality factors in insect life table analysis. Ecological Monographs 5: 495-505.

Royama, T. 1996. A fundamental problem in key factor analysis. Ecology 77: 87-93.

Sait, SM, Begon, M, Thompson, MDJ, Harvey, JA and Hails, RS. 1997. Factors affecting host selection in an insect host-parasitoid interaction. Ecological Entomology 22: 225-230.

Salcedo-Baca, D, Terrazas-González, GH, Lomelí-Flores, JR y Rodríguez-Leyva, E. 2010. Análisis costo-beneficio del Programa Moscamed. *In*:

Montoya, P, Toledo, J y Hernández, E (Edits.), Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo, S. y G. Editores, México, pp. 27-39.

Santiago, G. 2010. Aplicación del concepto de áreas libres de plagas. *In*: Montoya, P, Toledo, J y Hernández, E (Edits.), Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo, S. y G. Editores, México, pp. 229-242.

Schoener, TW. 1974. Resource partitioning in ecological communities. Science 185: 27-39.

Sivinski, J. 1996. The past and potential of biological control of furit flies. In: McPheron, B and Steck, GJ (Edits.), Fruit Fly Pests, St. Lucie Press, Fl. USA, pp. 369-376.

Sivinski, J, Calkins, CO, Baranowski, R, Harris, D, Brambila, J, Diaz, J, Burns, RE, Holler, T and Dodson, G. 1996. Suppression of a Caribbean fruit fly (*Anastrepha suspensa* (Loew) Diptera: Tephritidae) population through augmentative releases of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). Biological Control 6: 177-185.

Sivinski, J, Aluja, M and Lopez, M. 1997. Spatial and temporal distribution of parasitoids of Mexican *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae) within the canopies of fruit trees. Annals of Entomological Society of America 90: 604-618.

Sivinski, J, Vulinec, K, Menezes, E and Aluja, M. 1998. The bionomics of *Coptera haywardi* (Oglobin) (Hymenoptera: Diapridae) and the other pupal parasitoids of tephritid fruit flies (Diptera). Biological Control 11: 193-202.

Sivinski. J, Piñero, J and Aluja, M. 2000. The distribution of parasitoids (Hymenoptera) of *Anastrepha* fruit flies (Diptera: Tephritidae) along an actitudinal gradient in Veracruz, Mexico. Biological Control 18: 258-269.

Sivinski, J, Vulinec, K and Aluja M. 2001. Ovipositor length in a guild of parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) attacking *Anastrepha* spp. fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Southern Mexico. Annals of the Entomological Society of America 94: 886-895.

Sivinski, J, Aluja, M and Holler, T. 2006. Food sources for adult *Diachasmimorpha longicaudata*, a parasitoid of tephritid fruit flies: effects on longevity and fecundity. Entomologia Experimentalis et Applicata 118: 193-202.

Snyder, WE, Ballard, SN, Yang, S, Clevenger, GM, Miller, TD, Ahn, JJ, Hatten, TD and Berryman, AA. 2004. Complementary biocontrol of aphids by the ladybird beetle *Harmonia axyridis* and the parasitoid *Aphelinus asychis* on greenhouse roses. Biological Control 30: 229-235.

Sprent, P. 1993. Applied nonparametric statistical methods. Second Edition. Chapman and Hall, England.

Tian, SP, Zhang, JH, Yan, YH and Wang, CZ. 2008. Interspecific competition between the ichneumonid *Campoletis chloridae* and the braconid

Microplitis mediator in their host *Helicoverpa armigera*. Entomogia Experimentalis et Applicata 127: 10-19.

Trumble, JT and Oatman, ER. 1984. Dispersion analyses and resource utilization of aphid parasitoid in a non-depletable environment. Research in Population Ecology 26: 124-133.

Turlings, TCJ, van Batenburg, FDH, van Strien-van Liempt, WTFH. 1985. Why is there no interspecific host discrimination in the two coexisting larval parasitoids of *Drosophila* species: *Leptopilina heterotoma* (Thomson) and *Asobara tabida* (Nees). Oecologia 67:352-359.

Valeiy, M, Chamaillé-Jammes, S and Fritz, H. 2007. Interference competition and temporal niche shifts: elephants and hervibore communities at waterholes. Oecologia 153: 739-748.

van Alphen JJM and Jervis, MA. 1996. Foraging behaviour. *In*: Jervis, M and Kidd, N (Edits.), Insect natural enemies, Chapman and Hall, London, U. K., pp. 1-62.

van Baaren, J, Le Lann, C, Pichenot, J, Pierre, JS, Krespi, L and Outreman, Y. 2009. How could host discrimination abilities influence the structure of a parasitoid community? Bulletin of Entomological Research 99: 299-306.

van den Berg, H and Cock, MJW. 1993. Stage-specific mortality of *Helicoverpa armigera* in three smallholder crops in Kenia. Journal of Applied Ecology 30: 640-653.

van Den Bosch, R and Haramoto, FH. 1953. Competition among parasites of the Oriental fruit fly. Proceedings of the Hawaiian Entomological Society 15: 201-206.

van Dijken, MJ and Van Alphen, JJM. 1998. The ecological significance of differences in host detection behaviour in coexisting parasitoid species. Ecological Entomology 23: 265-270.

Van Driesche, RG, Bellows, TS, Ferro, DN and Maher, A. 1989. Estimating stage survival from recruitment and density data, with reference to egg mortality in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). The Canadian Entomology 121: 291-300.

van Lenteren, JC. 1981. Host discrimination by parasitoids. *In*: Nordlung, NA, Jones, RL and Lewis, WJ (Eds.), Semiochemicals: their role in pest control, John Wiley, New York, pp. 153- 179.

van Lenteren, JC. 2003. Need for quality control for mass-produced biological control agents. *In*: van Lenteren, JC (Edit.), Quality control and production of biological control agents: Theory and testing. CAB International, pp. 1-18.

van Velzen, E and Etienne, R. 2012. The evolution and coexistence of generalistic and specialist behaviour under between-plant competition. Theoretical Ecology DOI 10.1007/s 12080-012-01624 (on line).

Vargas, RI, Peck, SL, McQuate, GT, Jackson, CG, Stark, JD and Armstrong, JW. 2001. Potential for areawide integrated management of

Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) with braconid parasitoid and a novel bait spray. Journal of Economic Entomology 94: 817-825.

Vargas, RI, Ramadan, M, Hussain, T, Mochizuki, N, Bautista, RC and Stark, JD. 2002. Comparative demography of six fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids (Hymenoptera: Braconidae). Biological Control 25: 30-40.

Vargas, RI, Leblanc, L, Putoa, R and Eitman, A. 2007. Impact of introduction of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) and classical biological control releases of *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae) on economically important fruit flies in French Polynesia. Journal of Economic Entomology 100: 670-679.

Vickery, WL. 1991. An evaluation of bias in k-factor analysis. Oecologia 85: 413-418.

Vinson, SB. 1972. Competition and host discrimination between two species of tobacco budworm parasitoids. Annals of Entomological Society of America 65: 229-236.

Vinson, SB. 1976. Host selection by insect parasitoids. Annual Review of Entomology 21: 109-133.

Vinson, SB. 1997. The general host selection behaviour of parasitoids Hymenoptera and a comparision of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. Biological Control 11: 79-96.

Visser, ME, Luyckx, B, Nell, HW and Boskamp, GJF. 1992a. Adaptative superparasitism in solitary parasitoids: marking of parasitoized hosts in

relation to the pay-off from superparasitism. Ecological Entomology 17: 76-82.

Visser, ME, van Alphen, JJM and Nell, HW. 1992b. Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: the influence of pre-patch experience. Behavioral Ecology and Sociobiology 31: 163-171.

Waage, JK and Mills, NJ. 1992. Biological Control. *In*: Crawley, MJ (Edit.) Natural Enemies, Blackwell Scientific Publications, pp. 413-430.

Wang, X and Messing, R. 2003. Intra- and interspecific competition by *Fopius arisanus* and *Diachasmimorpha tryoni* (Hymenoptera: Braconidae) parasitoids of the tephritid fruit flies. Biological Control 27: 251-259.

Wang, X and Messing, R. 2004a. Potential interactions between pupal and egg- or larval- pupal parasitoids of tephritid fruit flies. Environmental Entomology 33: 1313-1320.

Wang, X and Messing, R. 2004b . The ectoparasitic pupal parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), attacks other primary tephritid fruit fly parasitoids: host expansion and potential non-target impact. Biological Control 31: 227-236.

Wang, XG and Messing, RH. 2004c. Two different life-history strategies determine the competitive outcome between *Dirhinus giffardii* (Chalcididae) and *Pachycrepoideus vindemmiae* (Pteromalidae), ectoprasitoids of cyclorraphous Diptera. Bulletin of Entomological Research 94: 473-480.

Wang, XG, Bokonon-Ganta, AH and Messing, RH. 2008. Intrinsic inter-specific competition in a guild of tephritid fruit fly parasitoids: Effects of co-evolutionary history on competitive superiority. Biological Control 64: 312-320.

Weber, CA, Smilanck, JM, Elher, LE and Zulom, FG. 1996. Ovipositional behavior and host discrimination on three Scelionid egg parasitoids of sintk bugs. Biological Control 6: 245-252.

Weisser, WW and Houston, AI. 1993. Host discrimination in parasitic wasps: when is it advantageous? Functional Ecology 7: 27-39.

Wharton, RA. 1989. Classical biological control of fruit-infesting Tephritidae. *In*: Robinson, AS and Hooper, G (Edits.), Fruit Flies. Elsevier, Amsterdam, pp. 303-313.

Wharton, RA and Gilstrap, FE. 1983. Key to and status of Opiine Braconid (Hymenoptera) parasitoids used in biological control of *Ceratitis* and *Dacus* s.l. (Diptera: Tephritidae). Annals of the Entomological Society of America 76: 721-742.

Wilson, DS. 1994. On the coexistence of specialist and generalist. American Naturalist 144: 692-707.

Wong, TTY, Ramadan, MM, McInnis, DO, Mochizuki, N, Nishimoto, JI and Herr, JC. 1991. Augmentative releases of *Diachasmimorpha tryoni* (Hymenoptera: Braconidae) to suppress a Mediterranean fruit fly

(Diptera: Tephritidae) population in Kula, Maui, Hawaii. Biological Control 1: 2-7.

Wong, TTY and Ramadan, MM. 1992. Mass-rearing biology of larval parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) of tephritids flies (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. *In*: Anderson, TE and Leppla, NC (Edits.) Advances in Insect Rearing for Research and Pest Management. Boulder, Colorado, Westview Press, pp. 405-426.

Wong, TTY, Ramadan, MM, Herr, JC and McInnis, DO. 1992. Suppression of a Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) population with concurrent parasitoid and sterile fly releases in Kula, Maui, Hawaii. Journal of Economic Entomology 85: 1671-1681.

Wyckhuys, KAG, Koch, RL and Heimpel, GE. 2007. Physical and ant-mediated refuges from parasitism: Implications for non-target effects in biological control. Biological Control 40: 306-313.

Yu, SH, Ryoo, MI, Na, JH and Choi, WI. 2003. Effect of host density on egg dispersion and the sex ratio of progeny of *Bracon hebertor* (Hymenoptera: Braconidae). Journal of Stored Products Research 39: 385-393.

Zar, JH. 1974. Biostatistical analysis. Prentice-Hall.