



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**

**Programa Institucional de Maestría en Ciencias
Biológicas**



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES

**Estrategias de superparasitismo de parasitoides nativos y exóticos sobre la mosca
mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae)**

Tesis

Que para obtener el grado académico de:

MAESTRA EN CIENCIAS

Presenta:

BIOL. AMANDA PRICILA AYALA AYALA

DIRECTOR DE TESIS: DRA. ANA MABEL MARTÍNEZ CASTILLO

CO-DIRECTOR DE TESIS. DR. PABLO JESÚS MONTOYA GERARDO

Morelia, Michoacán, México, Marzo de 2012

DEDICATORIA

A mi padre **Alvaro Ayala Rodríguez**, por su amor incondicional, confianza y ser mi apoyo para continuar hacia mis metas.

A mi madre **Roselia Ayala Cruz**, por su amor, confianza y apoyo para que continúe hacia el camino del éxito.

A mis hermanos, **Barbara Ayala, Israel Ayala y Angela Ayala** por ser en todos los sentidos mi apoyo.

A mis sobrinas **Sarahi Zuno y Lizbeth Zuno**, por la alegría que me brindan.

AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de este trabajo de tesis.

Al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

A la Dra. Ana Mabel Martínez Castillo, investigadora del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por su invaluable apoyo en el desarrollo de este trabajo de tesis, así como su brillante dirección para la realización del mismo.

Al Dr. Pablo Jesús Montoya Gerardo, subdirector de Desarrollo de Métodos del Programa Moscafrut SAGARPA-IICA, por su excelente dirección y contribución al mejoramiento de mi formación académica y personal.

Al Dr. José Pablo Liedo Fernández, investigador de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), unidad Tapachula, por aporte intelectual, apoyo incondicional, y por depositar en mí la confianza de llevar este trabajo a buen término.

A la M.C. Olga Patricia López Hernández, del laboratorio de Control Biológico de la Subdirección de Desarrollo de Métodos del Programa Moscafrut SAGARPA-IICA por su amistad, y apoyo brindado durante la realización de la fase experimental.

Al Dr. José Isaac Figueroa de la Rosa, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por sus aportaciones en la planeación y revisión de la tesis.

Al Dr. Samuel Pineda Guillermo, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por sus valiosas sugerencias y aportaciones durante la revisión del trabajo de tesis.

Al Dr. Mario Alberto Miranda Salcedo, investigador del INIFAP por sus acertados y oportunos comentarios durante la revisión del trabajo.

Al M. en C. Jorge Cancino, del laboratorio de Control Biológico de la Subdirección de Desarrollo de Métodos del Programa Moscafrut SAGARPA-IICA, por el apoyo durante la realización de la fase experimental de este estudio.

Al M. en C. Javier Valle Mora, de El Colegio de la Frontera Sur unidad Tapachula, por su apoyo en el análisis estadístico de los datos obtenidos en el trabajo de laboratorio.

A los técnicos Norma Patricia Rosario, Velisario Ribera y Floriberto López, del laboratorio de Control Biológico de la Subdirección de Desarrollo de Métodos del Programa Moscafrut SAGARPA-IICA, por su apoyo durante la realización de la fase experimental de este estudio.

Al Ing. José Luis Enríquez Posada por su ayuda durante la fase de trabajo de laboratorio.

A Rocío Gómez, Esmeralda Mendoza, Gladis López, Eneyda García, Lía Ruíz, Aldo de la Mora, César Gálvez, Eduardo Ramos, Marco Tulio y Víctor García por su apoyo y amistad incondicional.

CONTENIDO

I. RESUMEN GENERAL	1
II. INTRODUCCIÓN GENERAL	3
III. ANTECEDENTES	4
3.1 Características de los parasitoides y atributos que determinan su eficiencia como enemigos naturales.....	4
3.2 Capacidad de discriminación y superparasitismo	6
3.3. Importancia y biología de las moscas de la fruta del género <i>Anastrepha</i>	7
3.4 El control biológico y su aplicación en moscas de la fruta.....	8
3.4.1 Conceptos generales.....	8
3.4.2 Especies de parasitoides utilizadas o con potencial para el control biológico por aumento.....	9
3.4.3 Condiciones generales del control biológico por aumento	10
IV. HIPÓTESIS	11
V. OBJETIVOS	11
General.....	11
Particulares.....	11
VI. RESULTADOS	12
6.1 Resumen/Summary.....	12
6.2 Introducción	14
6.3 Materiales y Métodos.....	15
6.3.1 Lugar de trabajo y material biológico	15
6.3.2 Determinación del superparasitismo.....	16
6.3.2.1 <i>Superparasitismo desarrollado por una sola hembra (autosuperparasitismo)</i>	16
6.3.2.2 <i>Superparasitismo conespecífico</i>	16
6.3.3 Efecto del superparasitismo sobre la supervivencia y fecundidad.....	17
6.3.4 Capacidad de discriminación conespecífica	17
6.3.4.1 <i>Capacidad de discriminación heteroespecífica</i>	18

6.3.5 Análisis estadístico	18
6.4 Resultados	19
6.4.1 Autosuperparasitismo	19
6.4.2 Superparasitismo conespecífico.....	21
6.4.3 Efecto del superparasitismo en la supervivencia y fecundidad	25
6.4.4 Capacidad de discriminación	28
6.5 Discusión	29
6.6 Conclusiones.....	32
6.7 Literatura citada	33
VII. LITERATURA CITADA COMPLEMENTARIA.....	37

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1 Promedio de cicatrices (\pm EE), larvas de primer instar y proporción sexual de <i>D. crawfordi</i> y <i>D. tryoni</i> atacando larvas <i>A. ludens</i> .	23
Cuadro 2 Capacidad de discriminación de <i>D. crawfordi</i> y <i>D. tryoni</i> atacando larvas de <i>A. ludens</i> previamente parasitadas por conespecíficos y heteroespecíficos.	28

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Total de pupas de <i>A. ludens</i> (Al) expuestas a <i>D. crawfordi</i> (Dc) y <i>D. tryoni</i> (Dt) actuando en solitario.	19
Figura 2 Relación entre el número de cicatrices por pupa y cantidad de estados inmaduros de <i>D. crawfordi</i> (a) y <i>D. tryoni</i> (b) actuando en solitario sobre <i>A. ludens</i> .	20
Figura 3 Total de pupas de <i>A. ludens</i> (Al) expuestas a <i>D. crawfordi</i> (Dc) y <i>D. tryoni</i> (Dt) actuando con conespecíficos.	21
Figura 4 Relación entre el número de cicatrices por pupa y cantidad de larvas de primer estadio de <i>D. crawfordi</i> (a) y de <i>D. tryoni</i> (b) actuando con conespecíficos sobre <i>A. ludens</i> .	22
Figura 5 Proporción sexual para <i>D. crawfordi</i> (a) y <i>D. tryoni</i> (b), actuando con conespecíficos. Los datos son binarios (1= hembras, 0 = machos). La curva se ajusta a una regresión logística con un intervalo de confianza del 95%.	24
Figura 6 Curva de supervivencia para <i>D. crawfordi</i> (a) y <i>D. tryoni</i> (b) sin alimento.	25
Figura 7 Curva de supervivencia para <i>D. crawfordi</i> (a) y <i>D. tryoni</i> (b) con alimento.	26
Figura 8 Curva de fecundidad para <i>D. crawfordi</i> (a) y <i>D. tryoni</i> (b) con alimento.	27

I. RESUMEN GENERAL

Debido a que las moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae) son uno de los grupos de insectos con gran impacto económico sobre la fruticultura a nivel mundial, se han implementado diversos métodos para su control. Una alternativa al control de esta plaga es el control biológico mediante el uso de enemigos naturales como los parasitoides. Entre las especies de parasitoides utilizadas en liberaciones aumentativas para el control de tefrítidos plaga, se encuentran *Diachasmimorpha tryoni* Cameron y *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae). También existe un amplio gremio de parasitoides nativos del género *Anastrepha* Schiner, destacando por su abundancia los himenópteros: *Doryctobracon areolatus* Szépligeti, *Doryctobracon crawfordi* Viereck, *Opius hirtus* Fischer (Braconidae), entre otros. En el presente trabajo se evaluó el comportamiento (superparasitismo y capacidad de discriminación) de hembras de dos especies de parasitoides *D. tryoni*, una especie introducida, y *D. crawfordi*, una especie nativa, utilizando como hospederos larvas de *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae) de 8 días de edad. Para evaluar el autosuperparasitismo, bajo condiciones de laboratorio, se expusieron 20 larvas de *A. ludens* moscas de la fruta a hembras de cada especie de parasitoide actuando en solitario. Así mismo, para determinar el superparasitismo conespecífico, se expusieron larvas de la mosca de la fruta a grupos de cinco hembras de la misma especie de parasitoide, para cada una de las especies. En ambos casos se hicieron un total de 40 repeticiones. En todos los experimentos se registró el número de cicatrices/pupa y el número de inmaduros (larvas de primer estadio)/pupa atacada. También se determinó la relación entre el número de cicatrices/pupa con la supervivencia y la fecundidad de la progenie de ambas especies de parasitoides, a tres niveles de cicatrices presentes en las pupas (1, 2-4 y >5 cicatrices, respectivamente). Finalmente, se evaluó la capacidad de discriminación de ambas especies de parasitoides, exponiendo simultáneamente larvas sanas y larvas previamente parasitadas por conespecíficos o heteroespecíficos. De acuerdo a los resultados obtenidos, ambas especies de parasitoides desarrollan estrategias diferentes en lo que se refiere al superparasitismo. La especie *D. crawfordi* no superparasitó ni aún en presencia de conespecíficos y por lo tanto el superparasitismo no presentó una relación con la producción de hembras. En contraste, *D. tryoni* superparasitó actuando tanto en solitario como en presencia de conespecíficos y se

encontró una relación positiva entre la presencia del superparasitismo y una proporción favorable a hembras. Las hembras de *D. crawfordi* que emergieron de pupas con una cicatriz tuvieron una mayor supervivencia y fecundidad que las hembras provenientes de pupas con un mayor número de cicatrices. En cambio, en *D. tryoni* el superparasitismo no ejerció ningún efecto deletéreo sobre ambos parámetros. Ninguna de las dos especies ejerció una capacidad de discriminación heteroespecífica lo cual podría interpretarse como una consecuencia de ser originarias de dos regiones biogeográficas distintas. Se puede concluir que ambas especies han desarrollado diferentes estrategias de vida que las han conducido a la adaptación exitosa en sus respectivos medios ambientes.

II. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae) son consideradas una de las principales plagas que afectan la fruticultura a nivel mundial (Aluja, 1994). Las larvas de estos insectos provocan un daño directo sobre la fruta al alimentarse de su parte comestible, lo que demerita su calidad para el consumo directo o para su uso agroindustrial. Los daños indirectos se reflejan en las limitaciones al comercio y en los costos adicionales que deben emplearse para tratamientos cuarentenarios antes y después de la cosecha (Hendrichs, 1996). En México, el género nativo *Anastrepha* Schiner representa uno de los principales problemas por la gran diversidad de frutas que ataca, lo que motivó se iniciara una campaña en su contra en el año de 1992. El plan consideraba la supresión o erradicación de cuatro de las especies de mosca más importantes a nivel económico, entre las que destacan *Anastrepha obliqua* Macquart y *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae) (Montoya *et al.*, 2007).

El control biológico mediante la liberación aumentativa de parasitoides es una alternativa que puede ser de gran utilidad para el control de especies de moscas de la fruta (Montoya y Cancino, 2004). En México, se han establecido a nivel experimental nuevas especies de parasitoides con buena capacidad de búsqueda y localización de huéspedes aún a bajas densidades poblacionales (Sivinski, 1996). Entre las especies de parasitoides utilizadas en liberaciones aumentativas para tefritidos plaga, figuran *Diachasmimorpha tryoni* Cameron y *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae) (Sivinski, 1996). En México, también existe un amplio gremio de parasitoides nativos del género *Anastrepha*, donde destacan por su abundancia las especies: *Doryctobracon areolatus* Szépligeti, *Doryctobracon crawfordi* Viereck, *Opius hirtus* Fischer, *Utetes anastrephae* Viereck (Braconidae), *Odontosema anastrephae* Borgmeier, *Aganaspis pelleranoi* Bethes (Figitidae) y *Coptera haywardi* Ogloblin (Diapriidae) (López *et al.*, 1999). Uno de los más promisorios por el número de hospederos que ataca y por su distribución espacial y temporal en diferentes ambientes es *D. crawfordi* (Sivinski *et al.*, 1997).

Para implementar un programa de control biológico con el uso de parasitoides, se debe estudiar a fondo la biología y características de la especie seleccionada. Entre estas características destaca el superparasitismo, atributo que se presenta cuando una hembra

oviposita sobre un huésped previamente parasitado (van Alphen y Jervis, 1996), o bien cuando un huésped es utilizado simultáneamente por más parasitoides de la misma especie de los que normalmente completarían su desarrollo (Barrera, 2007). Aunque inicialmente se consideró el superparasitismo como un comportamiento desfavorable, investigaciones recientes han demostrado que este puede ser un comportamiento favorable (Visser *et al.*, 1992). Investigaciones recientes con *D. longicaudata* han mostrado que niveles moderados de superparasitismo en esta especie, originan la emergencia de una mayor proporción de hembras sin que se afecten otros atributos de aptitud como la longevidad y la fecundidad (González *et al.*, 2007). Por lo anterior, resulta de importancia determinar cuáles especies han desarrollado el superparasitismo como una adaptación y cómo éste favorece o limita las perspectivas de su uso como agentes de control biológico.

III. ANTECEDENTES

3.1 Características de los parasitoides y atributos que determinan su eficiencia como enemigos naturales

Un parasitoide es una clase de enemigo natural que generalmente es del mismo tamaño que el organismo que ataca, su estado inmaduro se alimenta y desarrolla dentro (**endoparasitoide**) o sobre el huésped (**ectoparasitoide**) al cual matan lentamente. Los adultos son de vida libre y activos para buscar a los organismos que parasitan. De acuerdo al estado de desarrollo del insecto que atacan, se conocen como parasitoides de huevo, larva, pupa y adulto; sin embargo, éste último es el menos frecuente como hospedero (Bernal, 2007; Speight *et al.*, 2008).

Los parasitoides se pueden clasificar en diferentes grupos de acuerdo a las relaciones que establecen entre sus huéspedes y otros parasitoides (Leyva, 1999). Por el número de individuos que emergen del hospedero, se clasifican como **gregarios** cuando emergen varios individuos de un mismo huésped, o **solitarios** cuando sólo emerge un individuo. Debido a sus hábitos, pueden clasificarse como **primarios** cuando parasitan insectos que no han sido parasitados, **secundarios** o **hiperparasitoides**, cuando parasitan parasitoides primarios) (Hajek, 2004; González *et al.*, 2007). En relación a la actividad del huésped después de ser parasitado se ha propuesto los términos de **idiobiontes** y **koinobiontes** (Godfray, 1994). El primer término se refiere a los parasitoides que no permiten que su huésped continúe con su

desarrollo después de ser parasitado, y el segundo término, a aquellos que sí permiten que el huésped continúe alimentándose y alcance estados de desarrollo más avanzados (Shaw y Huddleston, 1991). De acuerdo al número de especies de parasitoides que atacan un huésped, se denomina parasitismo **simple** al desarrollo de un solo individuo a expensas de un huésped, parasitismo **múltiple** cuando individuos de dos o más especies de parasitoides atacan a un solo huésped y **superparasitismo** cuando más de un individuo de la misma especie se desarrolla a expensas de un mismo huésped, se presenta en parasitoides solitarios y sólo uno llega al estado adulto (Hajek, 2004; Barrera, 2007; Speight *et al.*, 2008).

Además, los parasitoides poseen atributos que los hacen deseables como enemigos naturales para ser empleados en programas de control biológico. Algunos de estos atributos son: capacidad de búsqueda, capacidad de discriminación, capacidad de desplazamiento y rango de adaptación a las diferentes condiciones climáticas (Montoya y Cancino, 2004). Cabe señalar que los anteriores atributos se consideran esenciales para la cría de los enemigos naturales que se utilizan en liberaciones aumentativas. Algunos autores mencionan que la capacidad de búsqueda es uno de los más importantes, el cual se define como la habilidad de un enemigo natural para movilizarse, localizar y parasitar o depredar a su huésped o presa (Holling, 1959).

El proceso mediante el cual los parasitoides localizan y seleccionan a sus huéspedes es fundamental para el estilo de vida del parasitoide, puesto que la reproducción del parasitoide depende del éxito logrado en este proceso (Bernal, 2007). El proceso de búsqueda y la selección de huésped son complejos y han sido descritos por varios autores (Bell, 1990; Tumlinson *et al.*, 1993; Speight *et al.*, 2008). En general, este proceso incluye los siguientes pasos: (i) localización del hábitat del huésped; (ii) localización del huésped; (iii) aceptación del huésped e (iv) interacción fisiológica con el huésped. La división del proceso en cuatro pasos es arbitraria y es común que exista traslape entre dos pasos consecutivos o que el proceso sea incompleto; sin embargo, la división del proceso en pasos o etapas es de utilidad para conocer la dinámica del parasitoide, su relación con su hospedero y su viabilidad como agente de control biológico (van Driesche y Bellows, 1996; Hajek, 2004; Bernal, 2007; Fellowes *et al.*, 2007).

3.2 Capacidad de discriminación y superparasitismo

Los parasitoides poseen ciertos atributos que les permiten distinguir entre hospederos parasitados de los no parasitados, este atributo se conoce como capacidad de discriminación y puede ocurrir en tres niveles 1) la auto-discriminación, 2) discriminación de conoespecíficos (misma especie) y 3) discriminación de heteroespecíficos (especies diferentes). A partir de estos niveles se han reconocido tres tipos de superparasitismo: 1) autosuperparasitismo, cuando no se discrimina un huésped que ha sido parasitado por la misma hembra; 2) superparasitismo conoespecífico cuando no se discriminan huéspedes que han sido parasitados por otras hembras de la misma especie; y 3) multiparasitismo o superparasitismo heteroespecífico, cuando no se discriminan huéspedes parasitados por hembras de otras especies (Mackauer, 1990). Los dos primeros se han observado en muchas especies de himenópteros y tienen alta relevancia cuando los hospederos son escasos. En esos casos, la hembra evita poner huevos en hospederos previamente parasitados si sus descendientes tienen poca probabilidad de sobrevivir, pero ésta puede ovipositar después de un periodo prolongado de escasez de hospederos (Montoya *et al.*, 2003).

Aún cuando muchas especies de parasitoides evitan el superparasitismo, éste se considera como aceptable bajo ciertas circunstancias, una de ellas es cuando el costo de ovipositar en un hospedero es menor en tiempo que el costo de buscar otro y la segunda, cuando el potencial benéfico es alto, ya que la presencia de dos o más huevos dentro de un hospedero incrementa la probabilidad de sobrevivencia de la especie porque supera la respuesta inmune generada por el hospedero (Rosenheim y Mangel, 1994; Ronsenheim y Hongkham, 1996). Sin embargo, algunos estudios han indicado que la progenie de un parasitoide, pueden presentar una reducción en tamaño como consecuencia del superparasitismo (Hajek, 2004). Aún cuando existe un número excesivo de parasitoides conoespecíficos que se desarrollan a expensas de un solo huésped, sólo uno llega al estado adulto (Barrera, 2007; Speight *et al.*, 2008).

De acuerdo con algunos autores, el superparasitismo es un fenómeno común en la naturaleza y se considera adaptativo bajo ciertas condiciones (Klomp *et al.*, 1980; Hubbard *et al.*, 1999). Por ejemplo, en el caso del parasitoide de huevo *Trichogramma embryophagum* Hartig (Hymenoptera: Trichogrammatidae) se observó que la capacidad de distinción entre hospederos parasitados y no parasitados, puede durar mientras el intervalo entre una

oviposición y otra sea breve; si transcurre un tiempo prolongado entre la última experiencia de oviposición en un hospedero sin parasitar y el nuevo intento de oviposición, el parasitoide aceptará un hospedero previamente parasitado (Klomp *et al.*, 1980). Hubbard *et al.* (1999) señalan que las hembras de *Venturia canescens* Grav (Hymenoptera: Ichneumonidae) evitan el autosuperparasitismo y que dicha conducta está regulada por la presencia de feromonas segregadas por la glándula de Dufour, la cual permite que la hembra distinga entre hospederos que contienen sus huevos de los que contienen de otras hembras.

El superparasitismo también es un fenómeno que frecuentemente se observa en parasitoides criados de forma masiva, es por ello que se han llevado a cabo experimentos con la finalidad de comparar el efecto que tiene el superparasitismo sobre la progenie de hembras de laboratorio y silvestres (Hajek, 2004; González *et al.*, 2007). En dichas condiciones, el superparasitismo también se considera un fenómeno adaptativo, más que una falta de habilidad para discriminar a los hospederos. González *et al.* (2007) observaron que parasitoides de *D. longicaudata*, provenientes de cría masiva sobre *A. ludens*, tuvieron una menor mortalidad, mejor habilidad de vuelo y una proporción sexual favorable hacia las hembras cuando procedieron de niveles moderados de superparasitismo (2-6 cicatrices por pupa) que cuando procedieron de pupas con una sola cicatriz. Por lo anterior, los autores señalaron que estos resultados sugieren que el superparasitismo puede representar una estrategia condicional que puede incrementar el éxito reproductivo de *D. longicaudata*. Recientemente, González *et al.* (2010) observaron que en condiciones de cría masiva muchas de las hembras parasitoides de *D. longicaudata* van desarrollando habilidad para discriminar hospederos previamente parasitados conforme adquieren experiencia en la oviposición. Aunque en presencia de conespecíficos tienden a superparasitar.

3.3. Importancia y biología de las moscas de la fruta del género *Anastrepha*

Las moscas de la fruta comprenden uno de los grupos de insectos de mayor importancia económica por el daño que causan las larvas al alimentarse de las frutas cultivadas (Aluja, 1994; Montoya *et al.*, 2007). El género *Anastrepha* es endémico del nuevo mundo y está restringido a ambientes tropicales y subtropicales, existen alrededor de 200 especies descritas las cuales se encuentran distribuidas desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina, incluyendo la mayoría de las islas del Caribe (Aluja, 1994; Norrbom, 2004).

A nivel mundial, se han reportado 4 000 especies de Tephritidae. En México existen alrededor de 100 especies, 32 de éstas corresponden a moscas del género *Anastrepha*, de las cuales *A. ludens*, *A. obliqua*, *A. serpentina* Wiedemann, y *A. striata* Schiner presentan mayor importancia económica debido a su amplia distribución, incidencia y por el rango de hospedantes que afectan (Hernández-Ortiz y Aluja 1993; Ajula *et al.*, 2000). Por ejemplo, *A. ludens* es una especie de mucha importancia y entre sus principales plantas hospederas se encuentran el mango (*Mangífera indica* L.) y los cítricos. De igual manera *A. obliqua* representa para México y, otros países de América tropical, la principal limitante para la comercialización y movilización del mango (Soto-Manitui *et al.*, 1997; Montoya *et al.*, 2007).

Las moscas de la fruta presentan una metamorfosis completa u holometábola, ya que pasan por cuatro estados de desarrollo bien diferenciados: huevo, larva, pupa y adulto. El huevo y la larva se desarrollan en la pulpa del fruto, la pupa en el suelo y el adulto es de vida libre. La mayoría son especies polífagas, multivoltinas, con una fecundidad y longevidad alta, además de presentar una gran capacidad de desplazamiento (Aluja, 1994; Aluja *et al.*, 1998). Dependiendo de la especie, una hembra grávida puede depositar de 1 a 110 huevos en cada oviposición, los cuales pueden ser puestos de manera individual o en agrupados paquetes (Aluja, 1994; Aluja *et al.*, 2000).

La esperanza de vida de la especie *A. ludens* es de 110 días, presentan una tasa de fecundidad similar (1300 a 1500 huevos en toda su vida) (Liedo *et al.*, 1992). El daño ocasionado por estos insectos se inicia a partir del orificio que hace la hembra para ovipositar, pero el más importante lo hacen las larvas al alimentarse de la pulpa de los frutos o de las semillas (Aluja *et al.*, 2000).

3.4 El control biológico y su aplicación en moscas de la fruta

3.4.1 Conceptos generales

El término control biológico se refiere al uso y manipulación de los enemigos naturales (parasitoides, depredadores y patógenos) para reducir las densidades poblacionales de las plagas a niveles que no superen el umbral económico y donde existe una interdependencia entre las poblaciones del enemigo natural y las del fitófago (van Driesche y Bellows, 1996; Huffacker y Dahlstein, 1999; Eilenberg *et al.*, 2001). Los enemigos naturales pueden ser

empleados bajo tres amplias estrategias: control biológico clásico, conservación y aumento (Badii *et al.*, 2000; Eilenberg *et al.*, 2001; Montoya *et al.*, 2007).

El control biológico clásico consiste en introducir y establecer nuevas especies de enemigos naturales y es usado más frecuentemente en el control de plagas exóticas, mientras que el control biológico por conservación consiste en conservar (promover la actividad, supervivencia y reproducción) a los enemigos naturales nativos (o ya presentes en un cultivo), a fin de incrementar su impacto sobre las plagas (Greathead y Waage, 1983). El control biológico por aumento consiste en desarrollar una cría masiva de parasitoides nativos o exóticos y hacer liberaciones inundativas de éstos con el fin de incrementar el parasitismo y lograr reducir las poblaciones de la plaga a niveles no dañinos (King *et al.*, 1985; Knipling, 1992). Esta ultima estrategia, es la más viable para ser usada en tefrítidos (Montoya y Cancino, 2004). En el caso de las moscas de la fruta en México, el control biológico por aumento se implementó como una estrategia alternativa al control biológico clásico y, desde 1993, se ha desarrollado exitosamente con la producción masiva y liberación del parasitoide *D. longicaudata*, cuya producción ha alcanzado 50 millones de insectos por semana (Reyes *et al.*, 2000; Montoya y Cancino, 2004; Montoya *et al.*, 2007).

3.4.2 Especies de parasitoides utilizadas o con potencial para el control biológico por aumento. *Diachasmimorpha longicaudata* es un parasitoide originario del sureste de Asia. En México se ha liberado tanto por vía terrestre como aérea, principalmente en cultivos de naranja y mango para el control de *A. obliqua* y *A. ludens*. Con dichas liberaciones, se han logrado obtener niveles de parasitismo en un rango de 34 a 70% (Montoya *et al.*, 2000). *Diachasmimorpha tryoni* es otro parasitoide con potencial como agente de control, es originario de Australia y se ha utilizado en liberaciones aumentativas para el control de *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) en Hawaii, con dichas liberaciones se reportan porcentajes de parasitismo de 47% (Wong *et al.*, 1991).

Doryctobracon crawfordi es un parasitoide nativo de México y se distribuye desde el centro del país hasta el norte de América del Sur (Ovruski *et al.*, 2000). Es un endoparasitoide solitario, koinobionte y ataca larvas de tercer estadio de *A. obliqua*, *A. ludens*, *A. striata* y *A. fraterculus* (Wharton y Gilstrap, 1983). Se localiza en ambientes con temperaturas que fluctúan entre 14 y 29 °C, una humedad relativa superior a 40% y que minimiza

considerablemente su población durante la temporada seca (Aluja *et al.*, 1998). Se han descrito algunos aspectos básicos de su biología, ecología y rango de hospederos y se considera como una especie potencial para liberaciones por aumento (López *et al.*, 1999; Ovruski *et al.*, 2000). Al igual que *D. longicaudata*, *D. crawfordi* es capaz de parasitar, en presencia de conespecíficos, larvas de moscas de la fruta presentes en frutos caídos de guayaba (*Psidium guajava* L.) (García-Mendel *et al.*, 2007).

Otra característica interesante de *D. crawfordi* es que puede establecerse en zonas de mayor altitud comparado con otros braconidos como *D. areolatus* y *D. longicaudata* (Sivinski *et al.*, 2000). Miranda (2002) llevó a cabo un estudio comparativo en laboratorio de *D. longicaudata* y *D. crawfordi*, en el cual encontró que ésta última es una especie con hábitos diurnos para realizar la oviposición y prefiere larvas de cinco días de edad. En condiciones de laboratorio, alcanza a parasitar sólo un 50% de los hospederos cuando coexiste con otro parasitoide, lo que denota una interacción competitiva por la explotación de recursos.

3.4.3 Condiciones generales del control biológico por aumento

Las liberaciones aumentativas de los enemigos naturales representan una de las estrategias del control de plagas con mayor enfoque ecológico y que además no son perjudiciales para la salud humana (Montoya y Cancino, 2004). Éstas se realizan en periodos críticos para la supresión de poblaciones plaga a corto plazo (Greathead y Waage, 1983). En el caso de las moscas de la fruta, el desarrollo de técnicas para la cría masiva de algunos parasitoides hace posible que en diversas partes del mundo se lleven a cabo liberaciones inundativas.

De acuerdo con Montoya *et al.* (2007), el control biológico por aumento debe considerarse bajo ciertas circunstancias y condiciones. Primero, debe desarrollarse una cría masiva del enemigo natural que sea económicamente factible, y cuyos individuos sean altamente eficientes después de que sean liberados en campo para así lograr la supresión de la población plaga objetivo bajo los criterios de costo-beneficio razonable. Segundo, las acciones deben llevarse a cabo a nivel regional y deben dirigirse hacia las zonas aledañas, donde la presencia de plantas silvestres sirvan como hospederos alternantes para las poblaciones. Entre las condiciones específicas donde el control biológico por aumento puede convertirse en una estrategia conveniente para el control de moscas de la fruta, se han identificado: (1) áreas con cultivos orgánicos, (2) áreas inaccesibles como cañones y barrancas, donde existan densidades

importantes de hospederos alternantes, (3) áreas marginales (jardines, traspatios), donde los productores no implementen acciones de control y (4) áreas con condiciones climáticas desfavorables para el control químico.

IV. HIPÓTESIS

El impacto del superparasitismo y su efecto sobre los atributos de aptitud es diferente en asociaciones parasitoide-hospedero nuevas que en asociaciones viejas.

V. OBJETIVOS

- General

Evaluar el superparasitismo y la capacidad de discriminación de dos especies de parasitoides de moscas de la fruta, uno nativo *Doryctobracon crawfordi* Viereck y otro introducido *Diachasimimorpha tryoni* Cameron, sobre larvas hospederas de *Anastrepha ludens* Loew.

- Particulares

1. Determinar el efecto del superparasitismo sobre atributos de aptitud, como la proporción sexual, supervivencia y fecundidad de la progenie.
2. Comparar la capacidad de discriminación de las dos especies de parasitoides.

VI. RESULTADOS

6.1 Resumen

El superparasitismo se refiere a la acción de una hembra parasitoide que oviposita en hospederos que han sido parasitados previamente por ella o por otra hembra de la misma especie. En este trabajo se estudió el superparasitismo de dos especies de parasitoides sobre larvas de la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* Loew, uno nativo, *Doryctobracon crawfordi* Viereck, y otro introducido *Diachasmimorpha tryoni* Cameron, originario de la región Indo-australiana. Los ensayos se realizaron bajo condiciones de laboratorio evaluando el comportamiento de las hembras de ambas especies actuando en solitario (autosuperparasitismo) y en grupos (superparasitismo conespecífico) sobre larvas de 8 días de edad. Se determinó el número de cicatrices/pupa y el número de larvas de primer estadio/pupa atacada, y su efecto sobre la supervivencia y fecundidad de la progenie. También se evaluó la capacidad de discriminación de ambas especies, exponiendo simultáneamente larvas sanas y larvas previamente parasitadas por conespecíficos o heteroespecíficos. Los resultados obtenidos mostraron que ambas especies desarrollan estrategias diferentes respecto al superparasitismo. *Diachasmimorpha crawfordi* no superparasita ni en presencia de conespecíficos, mientras que *D. tryoni* superparasita actuando en solitario como en presencia de conespecíficos. Las hembras de *D. crawfordi* que emergieron de pupas con una cicatriz tuvieron una mayor supervivencia y fecundidad que las hembras provenientes de pupas con un mayor número de cicatrices. En *D. tryoni* el superparasitismo no ejerció ningún efecto deletéreo sobre ambos parámetros y además se correlacionó positivamente con una mayor proporción de hembras. Ninguna de las dos especies ejerció una capacidad de discriminación heteroespecífica lo cual podría interpretarse como una consecuencia de ser originarias de dos regiones biogeográficas distintas. De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que ambas especies han desarrollado estrategias de vida diferentes que las han conducido a la adaptación exitosa en sus respectivos medios ambientes.

Palabras clave: comportamiento, capacidad de discriminación, *Doryctobracon crawfordi*, *Diachasmimorpha tryoni*.

Summary

Superparasitism refers to the action of female parasitoid ovipositing eggs in hosts already parasitized by herself or by conspecifics. In this paper we study the superparasitism by two species of parasitoids on larvae of the Mexican fruit fly *Anastrepha ludens* (Loew), a native one *Doryctobracon crawfordi* (Viereck), and an introduced species *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) native from the Indo-Australian region. Tests were conducted under laboratory conditions to evaluate the behavior of females of both species acting alone (self-superparasitism) and groups (conspecific superparasitism) on larvae of 8 days old. We determined the number of scars/pupa, the number of immature/attacked pupa, and their effect on survival and fecundity of their offspring. We also evaluated the discrimination ability of both species simultaneously exposing healthy unparasitized larvae and previously parasitized larvae by conspecifics or heterospecifics. Our results showed that both species used different strategies. *Diachasmimorpha crawfordi* do not superparasitize alone or in the presence of conspecifics, whereas *D. tryoni* do superparasitize acting alone or in the presence of conspecifics. *D. crawfordi* females that emerged from pupae with one scar showed higher survival and fecundity rates than females emerging from pupae with two or more scars. In *D. tryoni* superparasitism did not exert any deleterious effect on both parameters and was positively correlated with a greater proportion of females in the offspring. Neither species showed a heterospecific discrimination ability, which could be interpreted as a consequence of two different biogeographic origin. We conclude that both species have developed different life history strategies that have led to the successful adaptation in their respective environments.

Key words: behavior, discrimination ability, *Doryctobracon crawfordi*, *Diachasmimorpha tryoni*.

6.2 Introducción

El superparasitismo es un atributo de los parasitoides que se presenta cuando una hembra oviposita sobre un huésped previamente parasitado (van Alphen y Jervis, 1996), o bien cuando un huésped es utilizado simultáneamente por dos o más inmaduros de la misma especie (van Alphen y Visser, 1990), se presenta como un fenómeno común en la naturaleza que inicialmente era considerado como una característica indeseable en un agente de control biológico (Klomp *et al.*, 1980; Hubbard *et al.*, 1999), aunque se ha demostrado que éste puede ser adaptativo bajo circunstancias específicas, como lo es vencer la respuesta inmune del huésped (ej., encapsulamiento), o aumentar la probabilidad de sobrevivencia de la progenie con la puesta de dos o más huevos dentro del hospedero (Klomp *et al.*, 1980; van Alphen y Visser, 1990; Hubbard *et al.*, 1999). Otra de las ventajas que se han señalado para esta estrategia es que la hembra reduce el tiempo de búsqueda de un hospedero para oviposición (Rosenheim y Mangel, 1994; Ronsenheim y Hongkham, 1996).

En los parasitoides criados de forma masiva, el superparasitismo también se ha observado frecuentemente (e.g., *Trichogramma maidis*, Wanjberg *et al.*, 1989), y en algunos casos se ha considerado como un fenómeno adaptativo (Hajek, 2004). En *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead (Hymenoptera: Braconidae), un endoparasoide solitario de moscas de la fruta originario de la región indo-australiana (Wharton y Marsh, 1978), el superparasitismo ha sido ampliamente estudiado en el contexto de su nueva asociación con *Anastrepha ludens* Loew (Díptera: Tephritidae), la mosca mexicana de la fruta. Montoya *et al.* (2000) encontraron una fuerte tendencia en esta especie hacia el autosuperparasitismo en ensayos de laboratorio, incluso en presencia de un número abundante de huéspedes no parasitados, no obstante Lawrence (1988) y Montoya *et al.* (2003) reportaron una capacidad de discriminación innata para esta especie.

El superparasitismo en *D. longicaudata* criado masivamente, se ha correlacionado con una proporción sexual favorable a hembras, sin que se observaran efectos detrimentales en parámetros de aptitud como la longevidad, fecundidad y habilidad de vuelo (González *et al.*, 2007). Las hembras silvestres de esta especie, bajo condiciones de laboratorio, también han mostrado una tendencia similar a superparasitar como lo hacen las hembras de laboratorio (González *et al.*, 2010). Montoya *et al.* (2011) demostraron que las larvas de mayor tamaño de *A. ludens* experimentaron un mayor número de oviposiciones por *D. longicaudata* que sus

contrapartes más pequeñas, y que los altos niveles de superparasitismo estuvieron correlacionados positivamente con una emergencia sesgada a hembras. A nivel de campo Montoya *et al.* (artículo sometido), encontraron que el superparasitismo en *D. longicaudata* también está presente atacando al complejo *Anastrepha* spp. en frutos de mango, observando que el superparasitismo se relaciona positivamente con una emergencia favorable a hembras. Estos resultados soportan la idea de que en *D. longicaudata* el superparasitismo presenta connotaciones adaptativas.

Sin embargo, fuera de la asociación entre *D. longicaudata* y *A. ludens*, el superparasitismo es poco conocido en el contexto de las moscas de la fruta y sus parasitoides. Por esta razón, el objetivo en este estudio fue evaluar el superparasitismo y la capacidad de discriminación de huésped de dos especies parasitoides de la mosca de la fruta, una nativa, *Doryctobracon crawfordi* Viereck y otra introducida *Diachasimimorpha tryoni* Cameron, sobre larvas hospederas de *A. ludens*. En relación al superparasitismo, se evaluó su efecto sobre los parámetros de aptitud como la fecundidad y la supervivencia de la progenie, así como la relación de sexos. La capacidad de discriminación se evaluó tanto intra como interespecíficamente en ambas especies de parasitoides.

6.3 Materiales y Métodos

6.3.1 Lugar de trabajo y material biológico. Los experimentos se llevaron a cabo en el laboratorio de Control Biológico de la Subdirección de Desarrollo de Métodos del Programa Moscafrut SAGARPA-IICA, ubicado en Metapa de Domínguez, Chiapas. Se utilizaron larvas de *A. ludens* de 8 días (d) de edad y hembras de ambas especies de parasitoides, ya maduras sexualmente (5-6 d de edad) y sin experiencia previa de oviposición, provenientes de la cría de la planta Moscafrut. Las condiciones experimentales fueron de 25 ± 1 °C, 75 ± 5 % HR y un fotoperiodo de 12:12 h (luz: oscuridad).

Se llevaron a cabo tres experimentos: 1) determinación de la presencia del superparasitismo en hembras aisladas (autosuperparasitismo) y con presencia de hembras de la misma especie (superparasitismo conespecífico) en *D. crawfordi* y *D. tryoni*; 2) efecto del superparasitismo sobre la proporción de hembras en la progenie, la fecundidad y supervivencia de la progenie de ambas especies; y 3) determinación de la capacidad de discriminación intra e interespecífica de ambas especies de parasitoides. Estos experimentos se

basaron metodológicamente en los trabajos de Montoya *et al.* (2000, 2003) y González *et al.* (2007, 2010).

6.3.2 Determinación del superparasitismo.

6.3.2.1 Superparasitismo desarrollado por una sola hembra (autosuperparasitismo). Se utilizaron 40 hembras de *D. tryoni* y 40 de *D. crawfordi*. Estas hembras se colocaron de manera individual en jaulas con marco de madera de 30x30x30cm y paredes de malla tipo mosquitero. A cada hembra se le ofrecieron 20 larvas de tercer estadio (8 d de edad) de *A. ludens* colocadas con dieta artificial en unidades de oviposición tipo caja Petri (10 cm de diámetro x 1 cm de profundidad), cubiertas con una malla. En cada jaula se introdujo una unidad de oviposición la cual se dejó expuesta al ataque de la hembra durante un periodo de 3 h. Transcurrido este tiempo, la unidad de oviposición se retiró y las larvas se colocaron (junto con la dieta) en contenedores de plástico de 250 ml durante 24 h adicionales para permitir que la larva continuara con su desarrollo. Posteriormente, la dieta se eliminó bajo chorro de agua y a las larvas se les agregó vermiculita para facilitar la pupación. A las 72 h post-parasitación, se tomaron muestras de pupas al azar (~2/contenedor) hasta completar 200, las cuales se observaron bajo un estereomicroscopio Carl Zeiss mod. Discovery V8 para determinar el número de cicatrices por pupa y posteriormente se disectaron para determinar el número de larvas de primer estadio/pupa. Con las pupas no disectadas (n= 600) se determinó el porcentaje de emergencia de adultos y la proporción de hembras. Estas pupas no disectadas se colocaron en celdas individuales de 1 cm³ en cajas de 24 celdas, lo anterior para esperar la emergencia de adultos y determinar así la relación entre el número de cicatrices y la proporción de hembras en la progenie.

6.3.2.2 Superparasitismo conespecífico. Para determinar la influencia de la presencia de conespecíficos en la misma arena experimental sobre el nivel de superparasitismo en las larvas expuestas, se utilizaron grupos de cinco hembras/jaula para las dos especies. Los grupos de hembras de cada especie de parasitoide se colocaron dentro de las jaulas previamente descritas, donde se les expusieron 20 larvas de *A. ludens*, utilizando la misma metodología descrita para el experimento anterior y determinando los mismos parámetros. En este experimento también se llevaron a cabo 40 repeticiones para cada especie de parasitoide.

6.3.3 Efecto del superparasitismo sobre la supervivencia y fecundidad. Para evaluar ambos parámetros, se formaron de manera arbitraria tres grupos de adultos de ambas especies de parasitoides (de 30 parejas c/u) emergidos de pupas con diferente número de cicatrices: 1) sin superparasitismo (1 cicatriz), 2) superparasitismo moderado (2-4 cicatrices) y 3) superparasitismo alto (>5 cicatrices). La prueba de supervivencia se evaluó bajo dos condiciones: 1) sin agua y sin alimento y 2) con alimento (miel) y agua (*ad libitum*). En el caso sin agua y alimento, cada pareja se colocó en un contenedor de plástico de 250 ml cubiertos con malla de licra. La mortalidad se registró diariamente hasta la muerte de la última hembra. No se evaluó fecundidad para este experimento. La prueba de supervivencia con agua y alimento se llevó a cabo de manera simultánea con la prueba de fecundidad. En el mismo tipo de contenedor, a cada pareja se le expusieron 20 larvas de *A. ludens* a partir del 5° día (hembras maduras sexualmente) y durante 2 h cada día hasta la muerte de la hembra. Para ello, las larvas se colocaron previamente en tapas de cajas Petri de 3.5 cm de diámetro provistas con dieta y cubiertas con una licra. Después de la exposición, las larvas se separaron y se colocaron en contenedores de plástico con vermiculita para inducir la pupación. La fecundidad se estimó con el número de hijas emergidas por hembra por día para ambas especies de parasitoides.

6.3.4 Capacidad de discriminación conespecífica. La prueba se llevó a cabo exponiendo simultáneamente larvas sanas y larvas parasitadas previamente por conespecíficos, ante una hembra madura y sin experiencia previa de oviposición. Las larvas se colocaron individualmente y de forma alterna en cajas plásticas de 8.5 x 12.5 cm con 24 celdas de 1.5 cm de diámetro por 0.5 cm de profundidad. Las larvas parasitadas se obtuvieron de lotes de larvas expuestas 24 h antes a la oviposición por conespecíficos durante 1 h, considerando indistintamente larvas que presentaran entre 1 y 10 cicatrices de oviposición. Una vez que las larvas se colocaron dentro de las celdas, se añadió dieta artificial y la caja se cubrió con una malla para ser introducida en las jaulas de madera previamente descritas, lo anterior con el objetivo de exponer a las larvas a la acción de un parasitoide hembra.

Se observó el comportamiento de cada hembra por 2 h y se registró el número de oviposiciones o intentos de oviposición sobre cada tipo de larva (sana y parasitada). Se consideró como intentos de oviposición, cuando las hembras de cada especie introducían su

ovipositor en una celda sin dejar de moverse, con un tiempo de permanencia menor a 15 segundos (s) (similar a Montoya *et al.*, 2003). Se consideró como oviposición cuando las hembras introducían su ovipositor y permanecían inmóviles con las antenas separadas: para *D. crawfordi* se consideró un tiempo de oviposición $>65 \pm 16.3$ s y para *D. tryoni* $>28 \pm 5.3$ s, los cuales se determinaron en observaciones preliminares. Después de la exposición, las larvas se colocaron en celdillas individuales con vermiculita para facilitar la pupación: transcurridas 72 h se tomó una muestra de pupas (10%) a las cuales se les determinó el número de cicatrices y la presencia de inmaduros (larvas) dentro de la pupa. Se realizaron 10 repeticiones para cada especie de parasitoide.

6.3.4.1 Capacidad de discriminación heteroespecífica. Se llevó a cabo una prueba de capacidad de discriminación de larvas parasitadas previamente por heteroespecíficos bajo los criterios descritos en la prueba anterior. Para obtener las larvas parasitadas por ambas especies, un día antes del experimento se expusieron por separado larvas de *A. ludens* de 7 d de edad a la colonias de los parasitoides *D. crawfordi* y *D. tryoni* durante 1 h. Las larvas previamente parasitadas por *D. crawfordi* fueron expuestas a hembras de *D. tryoni*, y viceversa, las larvas previamente parasitadas por *D. tryoni* fueron expuestas a hembras de *D. crawfordi*. Después de la exposición al ataque de las hembras, las larvas se colocaron en celdillas individuales como se describió en el caso anterior. Transcurridas 72 h, se tomó una muestra de 2 pupas (10%) a las cuales se les determinó el número de cicatrices por pupa y la presencia de larvas de primer estadio de cada especie de parasitoide. Las pupas que no fueron disectadas se mantuvieron en los contenedores hasta la emergencia de adultos. Se realizó un total de 10 repeticiones para de cada especie.

6.3.5 Análisis estadístico. La relación entre el número de oviposiciones y el número de larvas de parasitoides encontradas dentro de las pupas de las moscas se analizaron por una regresión lineal simple. La relación que existe entre el número de cicatrices presentes en las pupas de las moscas y la emergencia de hembras o machos (proporción sexual) se analizaron por una regresión logística. La supervivencia y la fecundidad se analizaron mediante la comparación de curvas. Las curvas de supervivencia se compararon mediante la prueba de Log-rank, utilizando el modelo proporcional de Cox (Lee y Wenyu, 2003). La supervivencia se estimó

como una índice que relaciona la longevidad y sobrevivencia. Las diferencias entre el número de oviposiciones e intentos de oviposición realizados en larvas parasitadas y larvas no parasitadas, de ambas especies de parasitoides se analizaron por medio de una *t* de Student (Cuadro 2). En todas las pruebas se empleó un nivel de significancia del 95%. Los análisis se realizaron por los programas estadísticos JMP Statistical discovery software versión 5.0, 2003; R versión 1.4, 2010 y Statgraphics Centurion XV, 2008.

6.4 Resultados

6.4.1 Autosuperparasitismo. El nivel de parasitismo logrado por las hembras de ambas especies actuando en solitario, fue menor que el obtenido con presencia de conespecíficos. Del total de las larvas de *A. ludens* (n= 800) expuestas a *D. crawfordi*, 268 pupas presentaron cicatrices de oviposición (lo que representa el 33%), 145 (18%) de éstas tuvieron una cicatriz y 123 (15%) de dos a más cicatrices. En las larvas de *A. ludens* expuestas a *D. tryoni*, se obtuvo un mayor número de pupas con cicatrices 546 (68%), 195 (24%) de éstas presentó sólo una cicatriz y 353 (44%) de dos a más cicatrices (Fig. 1).

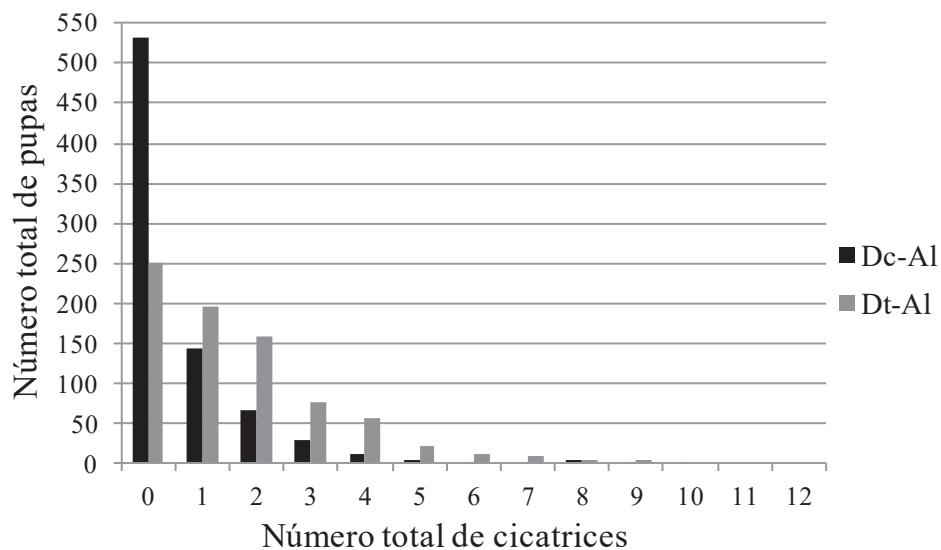


Figura 1. Total de pupas de *A. ludens* (Al) expuestas a *D. crawfordi* (Dc) y *D. tryoni* (Dt) actuando en solitario.

No se presentó relación entre el número de cicatrices/pupa y el número de larvas de primer estadio de *D. crawfordi* dentro de la pupa, puesto que la cantidad de inmaduros (larvas) que se observó siempre fue 1, independientemente del número de cicatrices/pupa que se presentaran (Fig. 2a). Caso contrario sucedió con *D. tryoni*, donde la relación entre número de cicatrices y número de inmaduros (larvas de primer estadio) presentes por pupa disectada fue estadísticamente significativa ($P < 0.05$, $R^2 = 0.66$) (Fig. 2b).

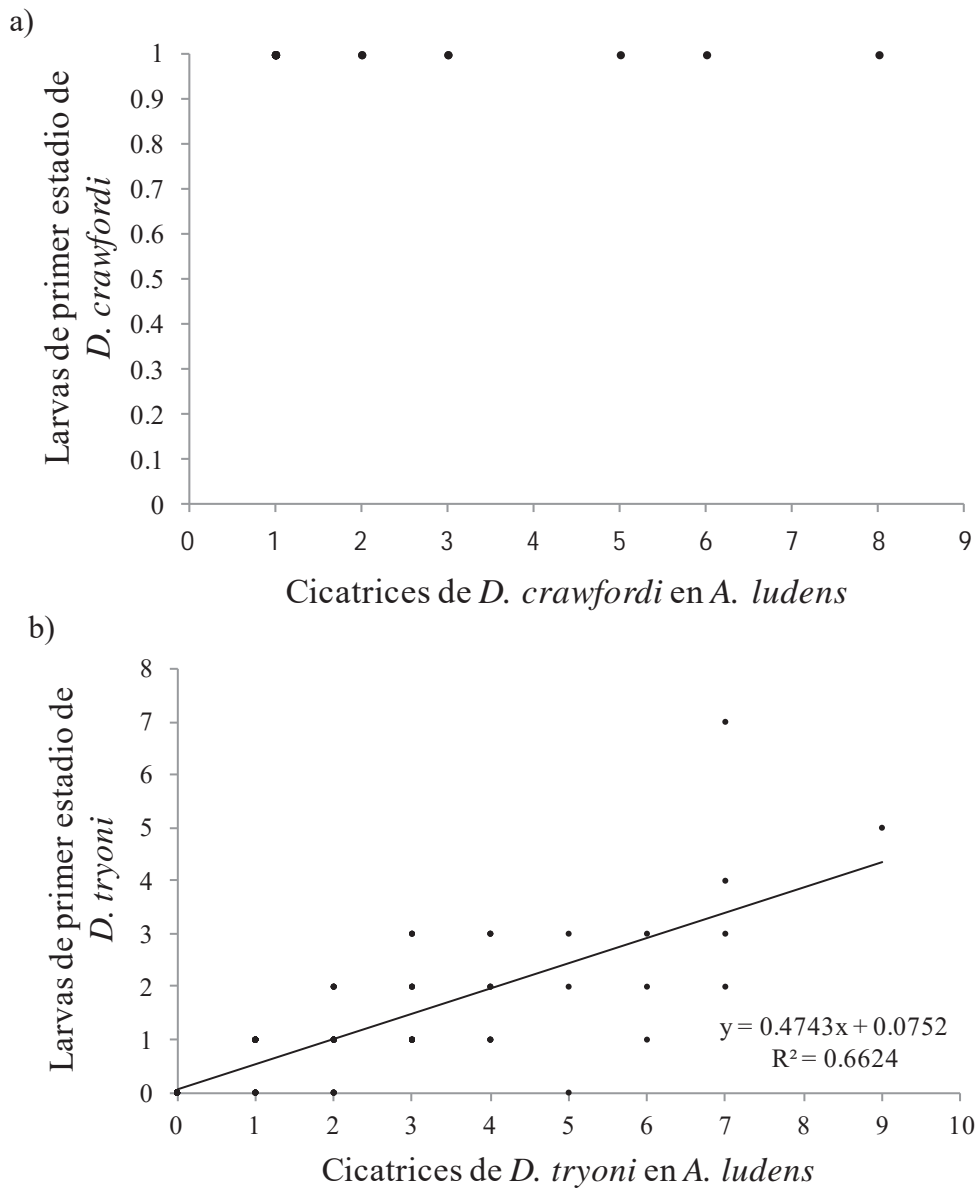


Figura 2. Relación entre el número de cicatrices por pupa y cantidad de larvas de primer estadio de *D. crawfordi* (a) y *D. tryoni* (b) actuando en solitario sobre *A. ludens*.

6.4.2 Superparasitismo conespecífico. Del número total de larvas ($n= 800$) expuestas a *D. crawfordi*, 602 (75%) de las pupas presentaron cicatrices, 207 (26%) de éstas con una cicatriz y 395 (49%) tuvieron más de una cicatriz (Fig. 3); sin embargo, nuevamente no se observó relación alguna entre el número de cicatrices y el número de larvas de primer estadio dentro de la pupa, pues éste se mantuvo en 1, independientemente del número de cicatrices presente por pupa (Fig. 4a). Las larvas expuestas a *D. tryoni* tuvieron un porcentaje de parasitismo similar a *D. crawfordi*, donde 607 (76%) presentaron cicatrices, 158 (20%) de éstas tuvieron una cicatriz y 449 (56%) exhibieron más de dos cicatrices (Fig. 3). En este caso sí se observó una relación positiva entre ambas variables ($P < 0.05$, $R^2 = 0.52$) (Fig. 4b).

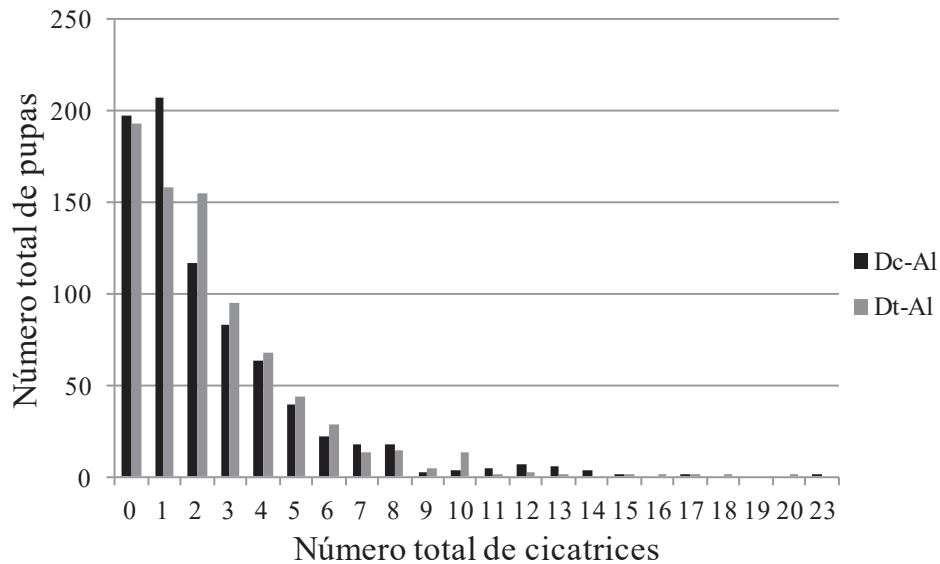
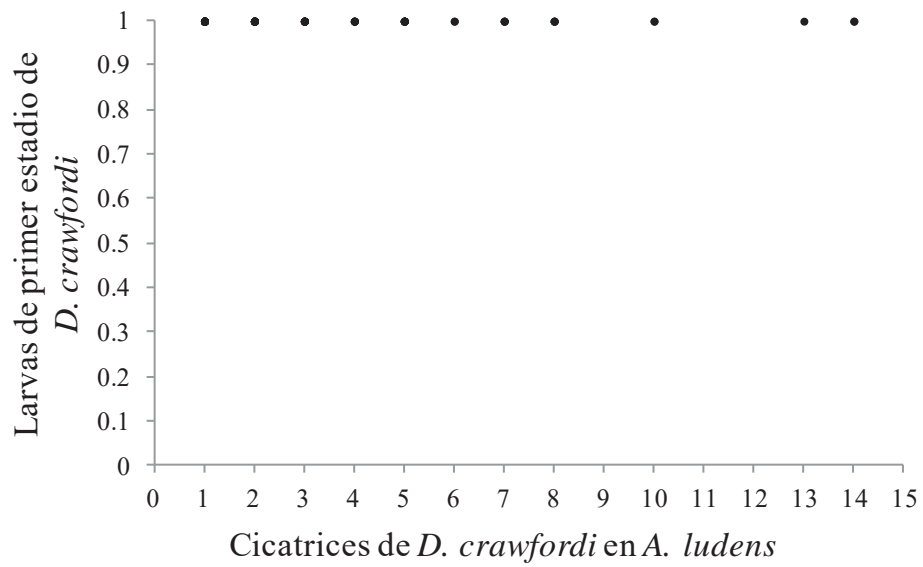


Figura 3. Total de pupas de *A. ludens* (Al) expuestas a *D. crawfordi* (Dc) y *D. tryoni* (Dt) actuando con conespecíficos.

a)



b)

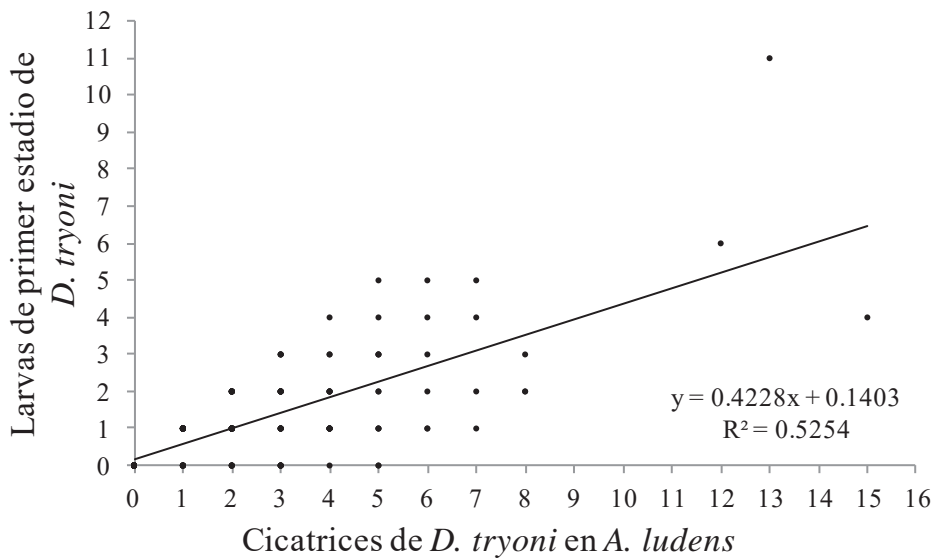


Figura 4. Relación entre el número de cicatrices por pupa y cantidad de larvas de primer estadio de *D. crawfordi* (a) y de de *D. tryoni* (b) actuando con conespecíficos sobre *A. ludens*.

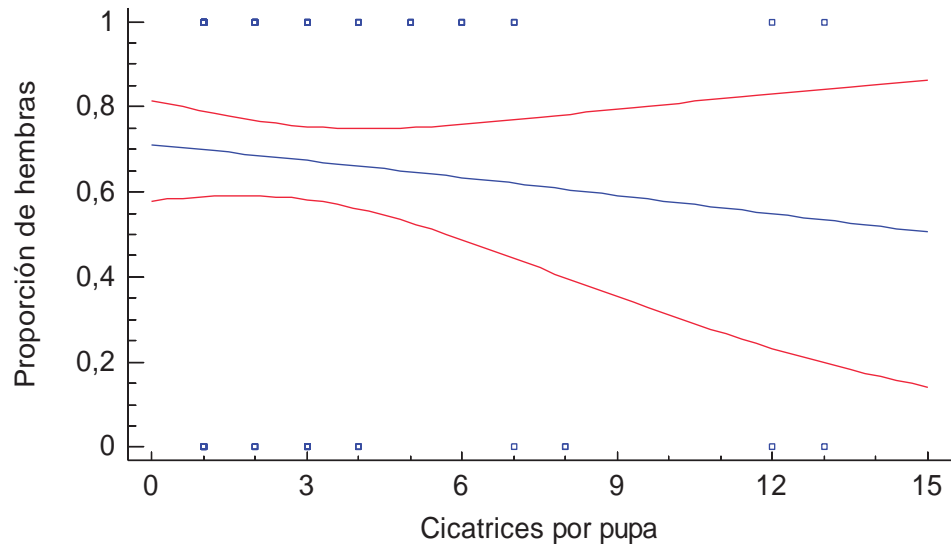
La proporción sexual en *D. crawfordi* no estuvo influenciada por el número de cicatrices por pupa (Cuadro 1, Fig. 5a). En contraste, la proporción sexual de *D. tryoni* estuvo influenciada por el nivel de superparasitismo (número de cicatrices por pupa) (Cuadro 1), pues conforme el número de cicatrices aumentó, la proporción de hembras también se incrementó (Fig. 5b).

Cuadro 1. Promedio de cicatrices ($\bar{x} \pm EE$), larvas de primer instar y proporción sexual de *D. crawfordi* y *D. tryoni* atacando larvas *A. ludens*.

Parámetros	<i>D. crawfordi</i>			<i>D. tryoni</i>		
	♀	♂	\bar{x}	♀	♂	\bar{x}
Promedio de cicatrices/pupa	2.7±2.4	3±2.9 ¹ ns	2.8±2.6	3.8±3.1	2.6±1.8 ² *	3.2±2.5
Proporción sexual	0.67	0.33	--	0.46	0.54	--

t de Student (¹*t*=0.78, *g.l.* 112, EE = 0.5; ²*t*=2.42, *g.l.* 80, *P*< 0.05, EE = 0.48); Probabilidad **P* < 0.05; ns = no existe diferencia estadísticamente significativa entre los número de cicatrices por pupa.

a)



b)

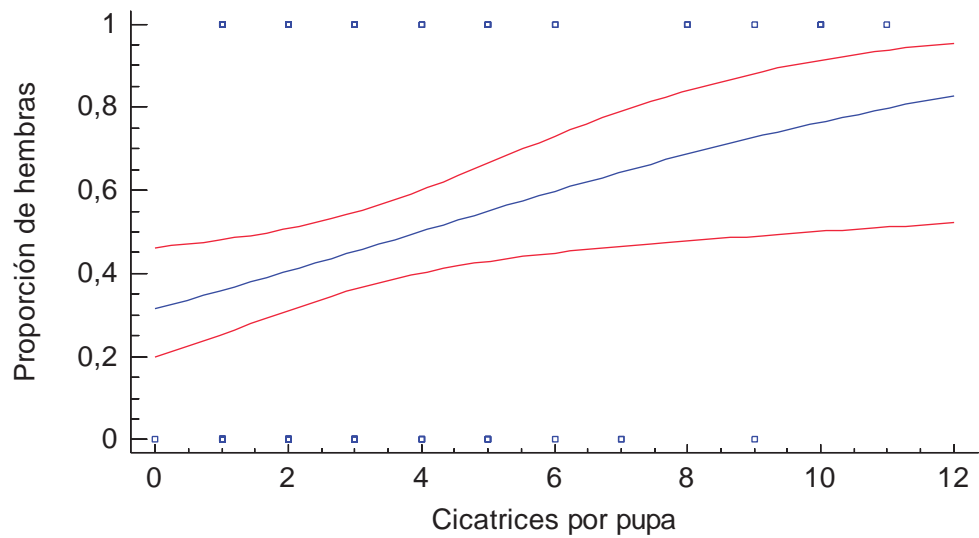


Figura 5. Proporción sexual para *D. crawfordi* (a) y *D. tryoni* (b), actuando con conespecíficos. Los datos son binarios (1= hembras, 0 = machos). La curva (azul) se ajusta a una regresión logística con un intervalo de confianza del 95%.

6.4.3 Efecto del superparasitismo en la supervivencia y fecundidad. El número de cicatrices por pupa no tuvo efecto significativo sobre la supervivencia de los adultos de ambas especies que se mantuvieron sin agua y sin alimento (*D. crawfordi*, log rank test = 0.45, g.l. 2, $P = 0.79$, Fig. 6a; *D. tryoni*, log rank test = 2.96, g.l. 2, $P = 0.22$, Fig. 6b). Aunque se observó que las hembras de *D. crawfordi* que provenían de pupas con una cicatriz tuvieron una mayor supervivencia, mientras que en *D. tryoni* fueron las hembras que provenían de pupas con >5 cicatrices.

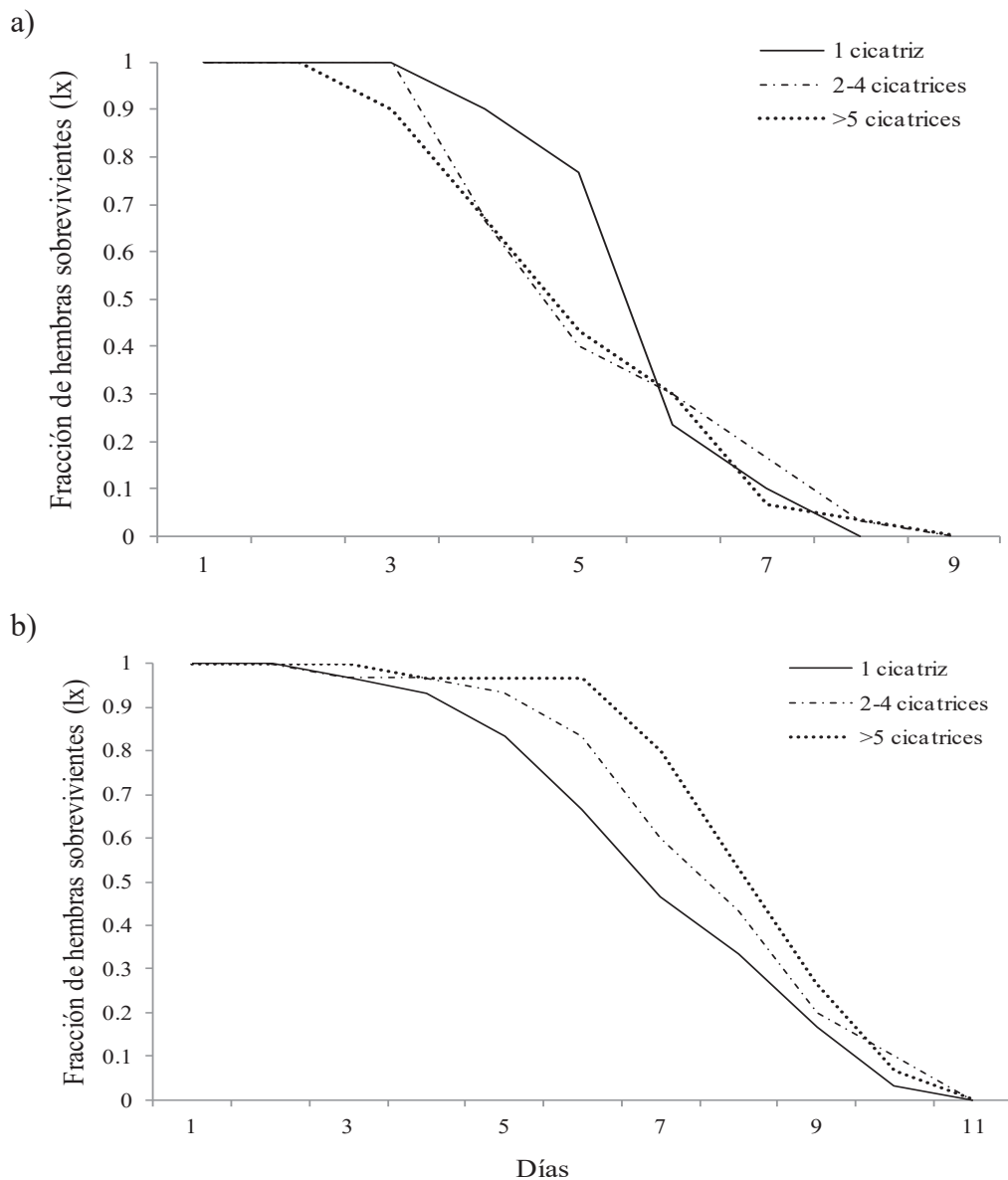


Figura 6. Curva de supervivencia para *D. crawfordi* (a) y *D. tryoni* (b) sin agua y alimento.

Cuando se les proporcionó agua y alimento, la supervivencia de las hembras de *D. crawfordi*, que provinieron de pupas con una cicatriz, fue significativamente mayor comparada con la supervivencia de hembras que provenían de pupas con 2-4 y >5 cicatrices; sin embargo, no hubo una diferencia significativa entre estos dos últimos tratamientos (log rank test = 1.57, g.l. 1, $P = 0.21$). En general, las hembras vivieron entre 27 y 45 d (Fig. 7a). En *D. tryoni* aún cuando las hembras que provenían de pupas con 2-4 cicatrices fueron las que tuvieron mayor supervivencia respecto a los otros dos grupos, no hubo una diferencia significativa entre tratamientos (log rank test = 3.74, g.l. 2, $P = 0.154$) (Fig. 7b).

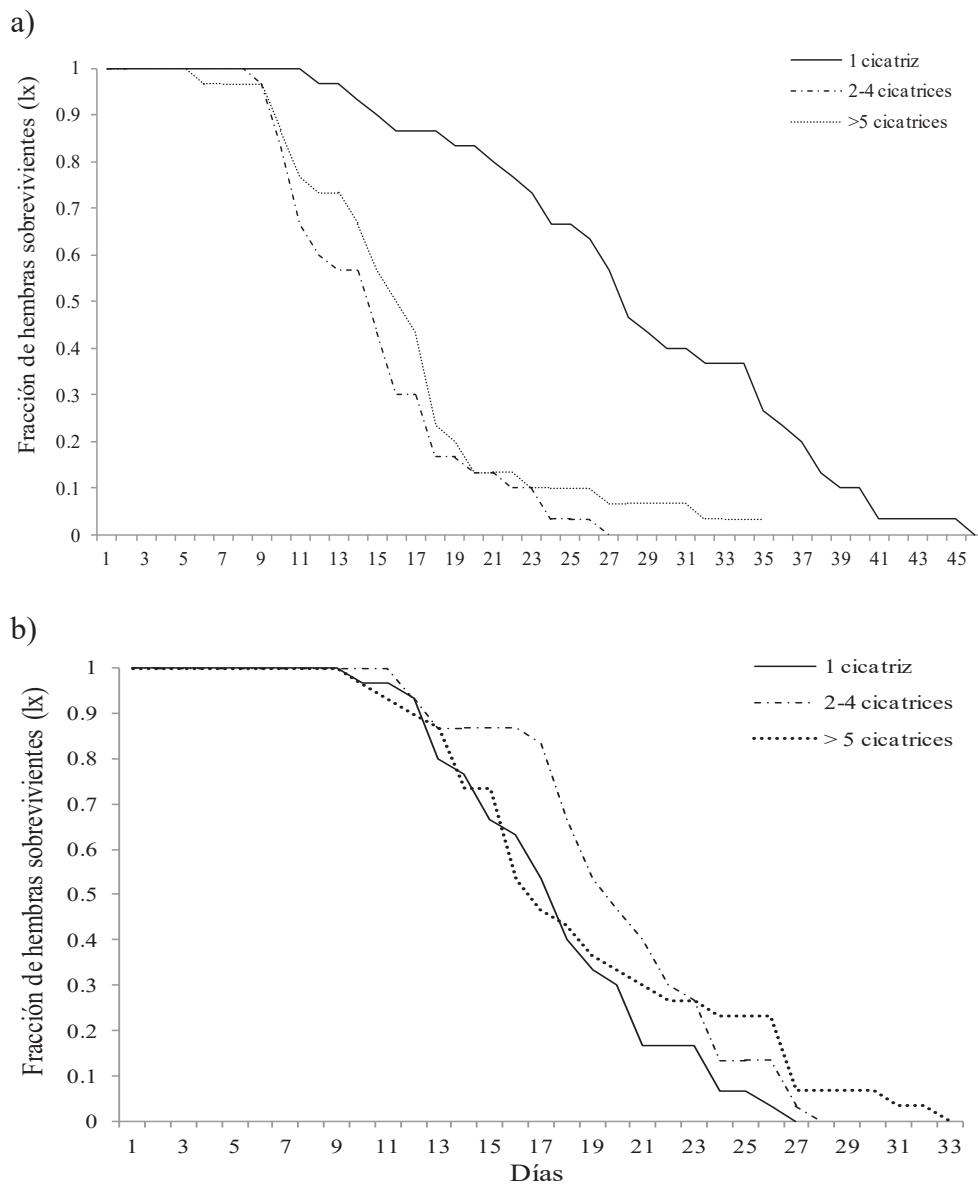


Figura 7. Curva de supervivencia para *D. crawfordi* (a) y *D. tryoni* (b) con alimento.

La fecundidad de las hembras de *D. crawfordi* provenientes de pupas con una cicatriz, fue significativamente mayor que la fecundidad de las hembras provenientes de los otros dos grupos 1 cicatriz vs 2-4 cicatrices ($t = 4.25$, *g.l.* 58, $P = 0.0001$) y 1 cicatriz vs >5 cicatrices ($t = 4.4$, *g.l.* 58, $P = 0.0001$) (Fig. 8a). Para *D. tryoni* no se observaron diferencias significativas en la fecundidad de las hembras provenientes de los tres grupos de cicatrices ($t = 0.84$, *g.l.* 58, $P = 0.98$) (Fig. 8b). En general, las hembras de ambas especies de parasitoides presentaron un mayor número de oviposiciones durante los primeros días de vida.

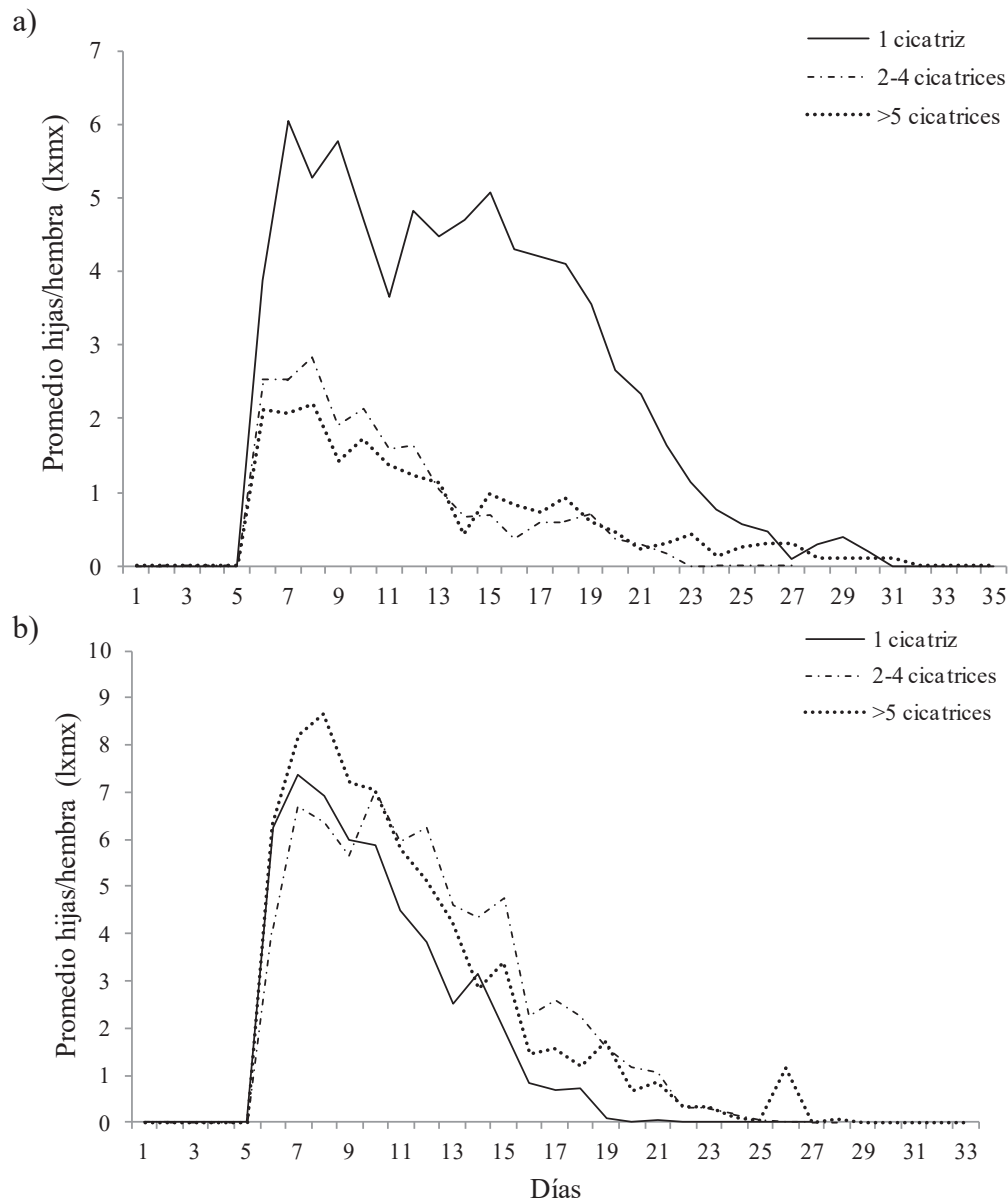


Figura 8. Curva de fecundidad para *D. crawfordi* (a) y *D. tryoni* (b) con alimento.

6.4.4 Capacidad de discriminación

Las hembras de *D. crawfordi* realizaron un número significativamente igual de intentos de oviposición sobre larvas previamente parasitadas (6.7 ± 0.9) por conespecíficos que sobre larvas sin parasitar (5.6 ± 0.9) (Cuadro 2). En el número de oviposiciones tampoco se presentó diferencia significativa entre larvas previamente parasitadas por conespecíficos (1.8 ± 0.4) y larvas sin parasitar (2.9 ± 0.4) ($P = 0.4$) (Cuadro 2). En el caso de *D. tryoni*, los intentos de oviposición sobre ambos tipos de larvas no resultaron estadísticamente significativos; sin embargo, en las oviposiciones si se presentó diferencia significativa, pues *D. tryoni* ovipositó preferencialmente sobre larvas sin parasitar (6.4 ± 1.1) con respecto de las larvas parasitadas (3.4 ± 0.79) ($P = 0.042$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Capacidad de discriminación de *D. crawfordi* y *D. tryoni* atacando larvas de *A. ludens* previamente parasitadas por conespecíficos y heteroespecíficos.

Parámetros	Ataque Conespecífico				Ataque heteroespecífico			
	<i>D. crawfordi</i>		<i>D. tryoni</i>		<i>D. crawfordi</i>		<i>D. tryoni</i>	
	LP	LSP	LP	LSP	LP	LSP	LP	LSP
Intentos de oviposición	6.7±0.9	5.6±0.9ns	10.9±0.9	10.9±1.7ns	6.8±0.8	5.1±0.7 ns	15.3±1.4	13.1±1.3ns
Oviposiciones	1.8±0.4	2.9±0.4ns	3.4±0.7	6.4±1.1 ¹ *	3.5±0.3	1.6±0.2 ² *	5.7±0.8	4.7±0.7 ns
Cicatrices	--	1.9±0.2	--	3.5±0.4	--	--	--	--
Inmaduros		0.8±0.09		2.5±0.3	Dt (5±0.8) Dc (0.4±0.1)		Dt (1.3±0.3) Dc (0.7±0.1)	

LP= larva parasitada; LSP= larva sin parasitar; Dt = *D. tryoni*; Dc = *D. crawfordi*. Los valores corresponden al promedio ± EE; Probabilidad * $P < 0.05$; ¹t de Student ($t = -2.19$, $g.l.18$, $EE=1.36$); ²t de Student ($t = 5.19$, $g.l.18$, $EE=0.37$); ns = no existe diferencia significativa.

En la prueba de discriminación heteroespecífica, las hembras de *D. crawfordi* realizaron más oviposiciones sobre larvas previamente parasitadas por heteroespecíficos que sobre larvas sin parasitar (3.5 ± 0.3 ; 1.6 ± 0.2 ; $P = 0.042$), mientras que los intentos de oviposición sobre ambos tipos de larvas no presentan diferencias significativas ($P = 0.1$). Las hembras de *D. tryoni* tampoco discriminaron entre tratamientos, pues no se registraron diferencias significativas en los intentos de oviposición ni en las oviposiciones que realizaron sobre ambos tipos de larvas (Cuadro 2).

6.5 Discusión

Nuestros resultados muestran que las dos especies de parasitoides estudiadas desarrollan estrategias diferentes con relación al superparasitismo. *D. crawfordi*, la especie nativa, no superparasitó al actuar en solitario ni bajo condiciones de alta competencia conespecífica. Lo anterior nos muestra que la capacidad de discriminación de esta especie parece ser innata y completa, ya que en el estudio se utilizaron hembras sin experiencia previa de oviposición, y nunca se encontró más de un inmaduro por pupa disectada independientemente del número de cicatrices observado. Van Lenteren (1981) señala que la capacidad de discriminación puede variar en grado entre diferentes especies de parasitoides; en algunos de ellos esta capacidad puede ser innata y casi total, como lo es el caso de *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hym.: Bethyridae) atacando inmaduros de la broca del café (Barrera *et al.*, 1994; Cabrera y Barrera, 1998), mientras que en otros esta habilidad aunque innata, es incompleta, y puede incrementarse con el aprendizaje como fue reportado para *D. longicaudata* por Montoya *et al.* (2003). Entre los factores que se correlacionan con la capacidad de discriminación, Godfray (1990) menciona que las hembras con una menor disponibilidad de huevecillos tenderán a ser más selectivas que aquellas que poseen una mayor cantidad, como es el caso de *D. crawfordi* (Miranda, 2002).

Diachasmimorpha tryoni, la especie introducida, mostró una tendencia a superparasitar a sus huéspedes muy similar a la reportada para *D. longicaudata* (Montoya *et al.*, 2003), pues esta especie sí superparasitó a sus huéspedes a pesar de disponer de larvas sin parasitar, y presentó una alta correlación entre el número de cicatrices por pupa y el número de inmaduros dentro de la pupa. Además, se encontró que el nivel del superparasitismo está relacionado con una proporción sexual favorable a hembras, también similar al caso *D. longicaudata* (González *et al.*, 2007 y Montoya *et al.*, 2011), lo cual puede ser evidencia de una estrecha relación filogenética entre estas dos especies, ya que ambas originarias de la misma región biogeográfica (Wharton y Gilstrap, 1983).

El número de cicatrices de oviposición por pupas, en *D. crawfordi* no se relacionó positivamente con una proporción sexual favorable a hembras, como sucedió con *D. tryoni*, donde se observó que la emergencia de hembras se incrementa conforme crece el nivel de superparasitismo. Montoya *et al.* (2011) encontraron que la proporción sexual de *D. longicaudata* favorable a hembras se relaciona positivamente con el superparasitismo (número

de cicatrices de oviposición/pupa), y que éste se relaciona con el tamaño del hospedero. Un hospedero grande presenta mayor probabilidad de ser superparasitado, pero los factores intrínsecos que promueven la mayor emergencia de hembras todavía no están claros. Se sabe que los parasitoides pueden sesgar su progenie a un determinado sexo de acuerdo a diferentes condiciones ambientales con la finalidad de maximizar su reproducción (Godfray, 1994). Diversos autores consideran que existen factores como la presencia de otras hembras explotando un mismo sitio (Hamilton, 1967), el tamaño del hospedero (Charnov, 1979), factores genéticos (Waage y Godfray, 1984) y el superparasitismo (Ode *et al.*, 1996; van Baaren *et al.*, 1999), los cuales están involucrados directamente con la asignación del sexo en la progenie por parte de las hembras parasitoides. De acuerdo con Darrouzet *et al.* (2003), se considera que bajo condiciones de superparasitismo la emergencia de hembras puede favorecerse como resultado de que éstas son mejores competidores que los machos durante la etapa larvaria, lo cual podría ser la razón para que en *D. tryoni* se presente una proporción sexual favorable a hembras cuando existe superparasitismo como sucede con *D. longicaudata* (Montoya *et al.*, 2011).

Los experimentos sobre los parámetros de aptitud nos revelaron que las hembras de *D. crawfordi* emergidas de pupas con sólo una cicatriz presentaron una menor mortalidad, y una mayor fecundidad comparada con la mortalidad y fecundidad de las hembras que emergieron de pupas con dos o más cicatrices, lo cual nos sugiere una vez más que el superparasitismo no es una estrategia favorable para esta especie posiblemente por su baja disponibilidad de huevos (Miranda, 2002). Lo anterior no es fácil de interpretar, pues de nuestros resultados en la disección de pupas, sabemos que las hembras de *D. crawfordi* no superparasitan y, por lo tanto, no puede ser atribuible a esta condición el hecho de que las hembras provenientes de pupas con mayor número de cicatrices, mostraron una menor supervivencia y fecundidad que aquellas que emergieron de pupas con una cicatriz. Debido a que los hospederos sufren cambios en cuanto a su fisiología y desarrollo al ser parasitados, una posible explicación puede surgir de la idea de que las larvas que fueron mayormente atacadas (i.e., con mayor número de cicatrices), se convirtieran en huéspedes con menor calidad, lo cual puede repercutir en una progenie con un desempeño más pobre, pues la mala calidad del hospedero afecta directamente el desarrollo, la supervivencia y fecundidad de los parasitoides (Roitberg *et al.*, 2001). En las hembras de *D. tryoni* no se observó que la supervivencia y la fecundidad

fueran afectadas por la presencia del superparasitismo, como fue reportado para *D. longicaudata* por González *et al.* (2007), lo cual lleva a suponer que esta estrategia puede tener connotaciones adaptativas en esta especie.

La mayoría de los parasitoides son capaces de reconocer hospederos previamente parasitados por ellos mismos o por conespecíficos, habilidad conocida como capacidad de discriminación de hospedero (van Alphen y Visser, 1990; Nufio y Papaj, 2001). Generalmente, las hembras evitan ovipositar sobre hospederos previamente parasitados (explotados) para impedir la competencia de su progenie (Prokopy, 1981). Se ha reconocido también la capacidad de discriminación interespecífica (heteroespecífica) la cual se produce cuando las hembras son capaces de reconocer y discriminar hospederos parasitados por hembras de otra especie. Se ha tratado de demostrar este tipo de discriminación en algunas especies (Vinson y Ables, 1980; van Strien *et al.*, 1981; Turlings *et al.*, 1985; Hagvar y Hofsvang, 1988); sin embargo, debido a la falta de éxito se llegó a la conclusión de que este tipo de discriminación no es adaptativo (Bakker *et al.*, 1985). En un estudio con dos especies hermanas *Asobara tábida* Nees (Hym.: Braconidae) y *Asobara rufescens* Foerster (Hym.: Braconidae), se encontró que tuvieron un comportamiento vestigial aún después de la especiación, ya que mantuvieron las mismas feromonas de marcaje; sin embargo, perdieron la capacidad de reconocer las feromonas de otras especies, esto debido a que son especies que ocupan microhábitats diferentes (Vet *et al.*, 1984). Cancino *et al.* (artículo sometido) encontraron que *C. haywardi* es otro parasitoide que posee una gran capacidad de discriminación ya que es capaz de reconocer hospederos previamente parasitados por *D. longicaudata*. En nuestros resultados sobre la discriminación heteroespecífica, ambos parasitoides fueron incapaces de identificar las larvas previamente atacadas por heteroespecíficos, pues el número de oviposiciones que realizaron sobre este tipo de larvas fue similar al realizado sobre larvas sanas, además que la disección de pupas corroboró la presencia de ambos tipos de larvas sobre el mismo huésped. En el caso de *Venturia canescens* Gravenhorst (Hym.: Ichneumonidae), un parasitoide de *Plodia interpunctella* Hübner (Lep.: Pyralidae) gracias a su capacidad de discriminar, evita poner huevos en hospederos que ya contienen sus propios huevos o de conespecíficos, y dicha conducta está mediada por un marcador químico producido por la glándula Dufour del sistema reproductivo de la hembra (Marris *et al.*, 1996). Otro ejemplo es el parasitoide *C. stephanoderis* que posee la capacidad

de reconocer una feromona de marcaje depositada dentro o sobre el hospedero (Barrera *et al.*, 1994), la cual es reconocida fácilmente por conespecíficos. Sin embargo, en este caso no existen señales químicas que indiquen el ataque por heteroespecíficos o estas no fueron reconocidas por la segunda hembra atacante, lo cual puede deberse a que cada especie de parasitoides es originario de una región biogeográfica diferente, y por lo tanto no comparten una historia evolutiva de competencia por un mismo huésped.

Los parasitoides a través de la coevolución con sus hospederos han tenido que desarrollar numerosos mecanismos para maximizar su aptitud (Vinson, 1975). Aún cuando el fenómeno del superparasitismo es común en la naturaleza y puede ser adaptativo bajo ciertas condiciones (Klomp *et al.*, 1980; van Alphen y Visser, 1990; Hubbard *et al.*, 1999), no todos los parasitoides utilizan dicha estrategia de vida, como es el caso de *D. crawfordi* que no superparasita a su hospedero nativo; situación contraria a las observadas para los parasitoides exóticos como *D. tryoni* (este trabajo) o *D. longicaudata* (González *et al.*, 2007, Montoya *et al.*, 2011) para *A. ludens*. Estos hallazgos nos sugieren que especies que desarrollan nichos equivalentes pueden desarrollar estrategias de vida diferentes y que ambas estrategias pueden conducir a una adaptación exitosa de las especies que las desarrollan.

6.6 Conclusiones

- Ambas especies de parasitoides desarrollaron diferentes estrategias de parasitismo, puesto que el parasitoide nativo *D. crawfordi* no superparasitó al actuar en solitario ni bajo condiciones de alta competencia conespecífica.
- *Diachasmimorpha tryoni* mostró una tendencia a superparasitar a sus huéspedes a pesar de disponer de larvas sin parasitar, además se encontró que el nivel del superparasitismo está relacionado con una proporción sexual favorable a hembras en la progenie de esta especie y no afectó la sobrevivencia y fecundidad de la progenie.
- En el caso de *D. crawfordi*, el superparasitismo tuvo un efecto negativo, ya que las hembras emergidas de pupas con dos o más cicatrices presentaron una mayor

mortalidad y una menor fecundidad comparadas con las hembras que emergieron de pupas con una sola cicatriz.

- Ambos parasitoides fueron incapaces de identificar las larvas que ya habían sido atacadas previamente por heteroespecíficos.
- Todas las evidencias observadas en el presente estudio, nos muestran que ambas especies de parasitoides han desarrollado estrategias de vida diferentes que las han conducido a una adaptación exitosa en sus respectivos medios ambientes.

6.7 Literatura citada

- Bakker, K., J. J. M. Alphen, F. H. F. van Batenburg, N. van der Hoeven, H. W. Nell, W. T. F. M. van Strien-van Liempt y T.C.J. Turlings. 1985. The function of host discrimination and superparasitization in parasitoids. *Oecologia* 67: 572-576.
- Barrera, J. F., J. Gómez y C. Alauzet. 1994. Evidence for a marking pheromone in host discrimination by *Cephalonomia stephanoderis* (Hym.: Bethyridae). *Entomophaga* 39: 363-366.
- Cabrera, J. A. M. y J. F. Barrera. 1998. The importance of the parasitoid egg in host discrimination by *Cephalonomia stephanoderis*, an ectoparasitoid of the coffee berry borer *Hypotenemus hampei*. *Biocontrol Science and Technology* 8: 153-162.
- Charnov, E. L. 1979. The genetical evolution of patterns of sexuality Darwinian fitness. *American Naturalist* 113: 465-480.
- Darrouzet, E., E. Imbert y C. Chevier. 2003. Self-superparasitism consequences for offspring sex ratio in the solitary ectoparasitoid *Eupelmus vuilleti*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 109: 167-171.
- Godfray, H. C. J. 1990. The causes and consequences of constrained sex allocation in haplodiploid animals. *Journal of Evolutionary Biology* 3: 3-17.
- Godfray, H. C. J. 1994. Parasitoids. *Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press. New Jersey, USA.
- González, P. I., P. Montoya, G. Perez-Lachaud, J. Cancino y P. Liedo. 2007. Superparasitism in mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera:

- Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 40: 320-326.
- González, P. I., P. Montoya, G. Pérez-Lachaud, J. Cancino y P. Liedo. 2010. Host Discrimination and Superparasitism in Wild and Mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Hym.: Braconidae) Females. *Biocontrol Science and Technology* 20: 137-148.
- Hagvar, E. B. y T. Hofsvang. 1988. Interspecific competition between the aphid parasitoids *Aphidius colemani* Viereck and *Ephedrus cerasicola* Stary (Hymenoptera: Aphidiidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 59: 145-150.
- Hajek, A. 2004. *Natural Enemies: An Introduction to Biological Control*. Cambridge University Press. Cambridge. 378 p.
- Hamilton, W. D. 1967. Extraordinary sex ratio. *Science* 156: 467-488.
- Hubbard, S. F., F. I. Harvey y J. P. Fletcher. 1999. Avoidance of superparasitism: a matter of learning? *Animal Behaviour* 57: 1193-1197.
- Klomp, H., B. J. Teerink y Wei Chun Ma. 1980. Discrimination between parasitized and Unparasitized Hosts in the Egg Parasite *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): a Matter of Learning and Forgetting. *Journal of Zoology* 30: 254-277.
- Lawrence, P. O. 1988. Superparasitism of the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae), by *Biosteres longicaudatus* (Hymenoptera: Braconidae): implications for host regulation. *Annals of the Entomological Society of America* 81: 233-239.
- Lee, E. T. y J. W. Wang. 2003. *Statistical methods for survival data analysis*. En: Wiley, J. y Sons (eds.) New York, USA.
- Marris, G. C., S. F. Hubbard y C. Scrimgeour. 1996. The perception of genetic similarity by the solitary parasitoid *Venturia canescens*, and its effects on the occurrence of superparasitism. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78: 167-174.
- Miranda, S. M. A. 2002. Patrones demográficos y de comportamiento de dos endoparasitoides (Hymenoptera: Braconidae) de moscas de la fruta del género *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. 175 p.

- Montoya, P., P. Liedo, B. Benrey, J. F. Barrera, J. Cancino y M. Aluja. 2000. Functional response and superparasitism by *Diachasimimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 93: 47-51.
- Montoya, P., B. Benrey, J. F. Barrera, M. Zenil, L. Ruiz y P. Liedo. 2003. Oviposition behavior, and conespecific host discrimination in *Diachasimimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a fruit fly parasitoid. *Biocontrol Science and Technology* 13: 683-690.
- Montoya, P., J. Cancino, G. Pérez-Lahaud y P. Liedo. 2011. Host size, superparasitism and sex ratio in mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata*, a fruit fly parasitoid. *Biocontrol* 56: 11-17.
- Nufio, C. y D. R. Papaj. 2001. Host-marking behavior in phytophagous insects and parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 99: 273-293.
- Ode, P. J., M. F. Antolin y M. R. Strand. 1996. Sex allocation and sexual asymmetries in intra-brood competition in the parasitic wasp *Bracon hebetor*. *Journal of Animal Ecology* 65: 690-670.
- Prokopy, R. J. 1981. Epideictic pheromones that influence spacing patterns of phytophagous insects. pp.181-213. En: Nordlund, D. A., R. L. Jones y W. J. Lewis (eds.) *Semiochemicals: Their Role in Pest Control*. Wiley Press, New York.
- Roitberg, B. D., G. Boivin y L. E. M. Vet. 2001. Fitness, parasitoids, and biological control: an opinion. *The Canadian Entomologist* 133: 429-438.
- Rosenheim, J. A. y M. Mangel. 1994. Patch-leaving rules for parasitoids with imperfect host discrimination. *Ecological Entomology* 19: 374-380.
- Rosenheim, J. A. y D. Hongkham. 1996. Clutch size in an obligately siblicidal parasitoid wasp. *Animal Behaviour* 51: 841-852.
- Turlings, T. C. J., F. H. D. van Batenburg y W. T. F. H. van Strien-van Liempt. 1985. Why is there no interspecific host discrimination in the two coexisting larval parasitoids of *Drosophila* species, *Leptopilina heterotoma* (Thompson) and *Asobara tabida* (Nees). *Oecologia* 67: 352-359.
- van Alphen, J. J. M. y Visser M. E. 1990. Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annual Review Entomology* 35: 59-79.

- van Alphen, J. J. M. y M. A. Jervis. 1996. Foraging behavior. Host discrimination. pp. 32-36. En: Jervis, M. A. y N. Kidd (eds.) *Insect Natural Enemies. A Practical Approach to their Study and Evaluation*. Chapman and Hall. UK.
- van Baaren, J., B. L. Landry y G. Boivin. 1999. Sex allocation and larval competition in a superparasitizing solitary egg parasitoid: competing strategies for an optimal sex ratio. *Functional Ecology* 13: 66-77.
- van Lenteren, J. C. 1981. Host discrimination by parasitoids. pp. 153-179. En: Nordlund, D. A., R. L. Jones y W. J. Lewis (eds.) *Semiochemicals: Their Role in Pest Control*. Wiley y Sons, New York.
- van Strien, van Liempert W. T. F. H. y J. J. M. van Alphen. 1981. The absence of interspecific host discrimination in *Asobara tabida* Nees and *Leptopilina heterotoma* (Thompson), coexisting larval parasitoids of *Drosophila* species. *Netherlands Journal of Zoology* 31: 701-712.
- Vet, L. E. M., M. Meyer, K. Bakker y J. J. M. van Alphen. 1984. Intra- and interspecific host discrimination in *Asobara tabida* (Hymenoptera) larval endoparasitoids of Drosophilidae: Comparison between closely related and less closely related species. *Animal Behaviour*. 32: 871-874.
- Vinson, S. B. y J. R. Ables. 1980. Interspecific competition among endoparasitoids of tobacco budworm larvae (Lep.: Noctuidae). *Entomophaga* 25: 357-362.
- Waage, J. K y H. C. Godfray. 1984. Reproductive strategies and population ecology of insect parasitoids. pp. 449-447. En: Sibly, R. M. y R. H. Smith (eds.) *Behavioral Ecology*. Blackwell Scientific Publications, New York, USA.
- Wanjberg, E, J. Pizzol y P. Fouillet. 1989. Genetic variation in progeny allocation in *Trichogramma maidis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 53: 177-187.
- Wharton, R. A. y F. E. Gilstrap. 1983. Key to and status of opiine braconid (Hymenoptera) parasitoids used in biological control of *Ceratitis* and *Dacus* (Diptera: Tephritidae). *Annual Entomology Society American* 76: 721-742.
- Wharton, R. A. y P. M. Marsh. 1978. New World Opiinae (Hymenoptera: Braconidae) parasitic on Tephritidae (Diptera). *Journal Washington Academy Science*. 68:147-67.

VII. LITERATURA CITADA COMPLEMENTARIA.

- Aluja, M. 1994. Bionomics and management of *Anastrepha*. Annual Review of Entomology 39: 155-178.
- Aluja, M., P. Montoya, J. Cancino, L. Guillen y R. Ramírez-Romero. 1998. Moscas de la Fruta, *Anastrepha spp.* (Diptera: Tephritidae). pp. 193-222. En: Rodríguez del Bosque, L. A. y H. C. Arredondo-Bernal (eds.) Teoría y aplicación de Control Biológico. Sociedad Mexicana del Control Biológico, México. 303 p.
- Aluja, M., J. Piñero, M. López, C. Ruiz, A. Zuñiga, E. Piedra, F. Díaz-Fleischer y J. Sivinski. 2000. New host plant and distribution records in México for *Anastrepha spp.*, *Toxotrypana curvicauda* Gestacker, *Rhagoletis zoqui* Bush, *Rhagoletis sp.* y *Hexachaeta sp.* (Diptera: Tephritidae). Proceedings of the Entomological Society of Washington 102: 802-815.
- Badii, M. H., A. E. Flores y L. J. W. Galán. 2000. Fundamentos y perspectivas de control biológico. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.
- Barrera, J. F. 2007. Introducción, filosofía y alcance del control biológico. pp. 1-18. En: Rodríguez del Bosque, L. A. y H. C. Arredondo-Bernal (eds.) Teoría y Aplicación de Control Biológico. Sociedad Mexicana del Control Biológico, México. 303 p.
- Bell, W. J. 1990. Searching behavior patterns in insects. Annual Review Entomology. 35: 447-467.
- Bernal, J. S. 2007. Biología, ecología y etología de parasitoides, pp. 61-74. En: Rodríguez del Bosque, L. A. y H. C. Arredondo-Bernal (eds.) Teoría y Aplicación de Control Biológico. Sociedad Mexicana del Control Biológico, México. 303 p.
- Eilenberg, J., A. Hajek y C. Lomer. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. BioControl 46: 387-400.
- Fellowes, M. D. E., J. J. M. van Alphen y M. A. Jervis. 2007. Foraging Behaviour. pp. 1-70. En: Jervis, M. A. (ed.) Insects as Natural Enemies: A practical perspective. Springer. Dordrecht, Kluwer. 748p.
- García-Mendel, D., J. Sivinski, F. Díaz-Fleischer, R. Ramírez-Romero y M. Aluja. 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.
- Godfray, H. C. J. 1990. The causes and consequences of constrained sex allocation in haplodiploid animals. *Journal of Evolutionary Biology* 3: 3-17.
- González, P. I., P. Montoya, G. Perez-Lachaud, J. Cancino y P. Liedo. 2007. Superparasitism in mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Biological Control* 40: 320-326.
- González, P. I., P. Montoya, G. Pérez-Lachaud, J. Cancino y P. Liedo. 2010. Host Discrimination and Superparasitism in Wild and Mass-reared *Diachasmimorpha longicaudata* (Hym.: Braconidae) Females. *Biocontrol Science and Technology* 20: 137-148.
- Greathead, D. J. y J. K. Waage. 1983. Opportunities for biological control of agricultural pests in developing countries. The World Bank, Washington, D.C., World Bank Technical 11: 44.
- Hajek, A. 2004. *Natural Enemies: An Introduction to Biological Control*. Cambridge University Press. Cambridge. 378 p.
- Hendrichs, J. 1996. Action programs against fruit flies of economic importance. pp. 513-519. En: McPherson, B. A. y G. J. Steck (eds.) *Fruit fly pests, a World Assessment of their Biology and Management*. St. Lucie Press. DelrayBeach, Florida, USA.
- Hernández-Ortiz, V. y M. Aluja. 1993. Lista preliminar de especies del género neotropical *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) con notas sobre su distribución y plantas hospederas. *Folia Entomológica Mexicana* 88: 89-105.
- Holling, C. S. 1959. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Canadian Entomologist* 91: 386-398.
- Hubbard, S. F., F. I. Harvey y J. P. Fletcher. 1999. Avoidance of superparasitism: a matter of learning? *Animal Behaviour* 57: 1193-1197.
- Huffacker, C. B. y D. L. Dahlstein. 1999. Scope and significance of Biological Control. pp. 1-16. En: Bellows, T. S. y T. W. Fisher (eds.) *Handbook of Biological Control*. Academic Press. 1046 p.

- King, E. G., K. R. Hopper y J. E. Powel. 1985. Analysis of systems for biological control of crop arthropod pests in the U.S. by augmentation of predators and parasites. pp. 201-227. En: Hoy, A. M. y D. C. Herzog (eds.) Biological Control in Agricultural IPM Systems Academic Press. New York, USA.
- Klomp, H., B. J. Teerink y Wei Chun Ma. 1980. Discrimination between parasitized and Unparasitized Hosts in the Egg Parasite *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): a Matter of Learning and Forgetting. Journal of Zoology 30: 254-277.
- Knipling, E. F. 1992. Principles of Insect Parasitism Analyzed from New Perspectives: Practical Implications for Regulating Insect Populations by Biological Means. United States Department of Agriculture, Agriculture Research Service, Agriculture Handbook No. 693. 337 p.
- Leyva-Vázquez, J.L. 1999. Biología y comportamiento de búsqueda de los parasitoides. pp. 36-47. En: González Hernández, H., J. L. Leyva Vázquez, L. A. Rodríguez del Bosque y A. R. Valle de la Paz (eds.) Memorias del X Curso Nacional de Control Biológico de la Sociedad Mexicana de Control Biológico.
- Liedo, P., J. R. Carey, H. Celedonio-Hurtado y J. Guillén. 1992. Size specific demography of three species of *Anastrepha* fruit flies. Entomología Experimentalis et Applicata 63:135-142.
- López, M., M. Aluja y J. Sivinski. 1999. Hymenopterous larval-pupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera: Tephritidae) in Mexico. Biological Control 15: 119-129.
- Mackauer, M. 1990. Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. Critical Issues. pp.41-62. En: Mackauer, M., L. E. Ehler y J. Roland (eds.) Biological Control. Intercept, Andover, Hants.
- Miranda, S. M. A. 2002. Patrones demográficos y de comportamiento de dos endoparasitoides (Hymenoptera: Braconidae) de moscas de la fruta del género *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. 175 p.
- Montoya, P., J. Cancino, M. Zenil, G. Santiago y J. M. Gutiérrez. 2007. The Augmentative Biological Control Component in the Mexican National Campaign Against *Anastrepha* spp. pp. 661-670. En: M. J. B. Vreysen, A. S. Robinson y J. Hendrichs (eds.) Area-

- Wide Control of Insect Pests. From Research to Field Implementation. Springer Netherlands Press. Heidelberg, Alemania.
- Montoya, P. y J. Cancino. 2004. El control biológico por aumento en moscas de la fruta. *Folia Entomológica Mexicana* 43: 257-270.
- Montoya, P., B. Benrey, J. F. Barrera, M. Zenil, L. Ruiz y P. Liedo. 2003. Oviposition behavior, and conespecific host discrimination in *Diachasimimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a fruit fly parasitoid. *Biocontrol Science and Technology* 13: 683-690.
- Montoya, P., P. Liedo, B. Benrey, J. F. Barrera, J. Cancino y M. Aluja. 2000. Functional response and superparasitism by *Diachasimimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 93: 47-51.
- Norrbom, A. L. 2004. Updates to Biosystematic Database of World Diptera for Tephritidae through 1999. *Diptera Data Dissemination Disk* 2. www.sel.bare.usda.gov:591/diptera/Tephritidae/TephIntro.html. Accesada en julio de 2010.
- Ovruski, S. M., M. Aluja, J. Sivinski y R. Wharton. 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.
- Reyes, F. J., G. Santiago y P. Hernández. 2000. The Mexican fruit fly eradication programme. pp. 377-380. En K. H. Tan (ed.) *Area-Wide Control of Fruit Flies and Other Insect Pests*. Sinaran Bros. Sdn. Bhd., Penebrit University Sains Malaysia, Pulau Pinang, Malasia.
- Rosenheim, J. A. y D. Hongkham. 1996. Clutch size in an obligately siblicidal parasitoid wasp. *Animal Behaviour* 51: 841-852.
- Rosenheim, J. A. y M. Mangel. 1994. Patch-leaving rules for parasitoids with imperfect host discrimination. *Ecological Entomology* 19: 374-380.
- Sivinski, J., F. Jerónimo y T. Holler. 2000. Development of aerial releases of *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) a parasitoid that attacks the Mediterranean

- fruit fly *Ceratitis capitata* (Weidemann) (Díptera: Tephritidae), in the Guatemalan highlands. *Biocontrol Science and Technology* 10: 15-25.
- Sivinski, J., M. Aluja y M. López. 1997. Spatial and temporal distribution of parasitoids of Mexican *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae) within the canopies of fruit trees. *Annals of the Entomological Society of America* 90: 604-618.
- Sivinski, J. M. 1996. The past and potential of biological control of fruit flies. pp. 369-375. En: B. A. McPherson y G.J. Steck (eds.) *Fruit Fly Pests. A World Assessment of their Biology and Management*. St. Lucie Press, Delray Beach, Florida.
- Shaw, M. R. y T. Huddleston. 1991. Classification and biology of braconid wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Handbooks for the identification of British Insects* 7: 1-126.
- Soto-Manitui, J., L. G. Chaverri y L. F. Jirón. 1997. Notas sobre la biología y ecología de *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae), plaga de plantas Anarcardiaceas en América tropical. I. formas inmaduras. *Agronomía Mesoamericana* 8 : 116-120.
- Speight, M. R., M. D. Hunter y A. D. Watt. 2008. *Ecology of Insects Concepts and Applications*. Wiley-Blackwell. 628 p.
- Tumlinson, J. H., W. J. Lewis y L. E. M. Vet. 1993. How Parasitic wasps find their hosts. *Scientific American* 266: 46-52.
- van Alphen, J. J. M. y M. A. Jervis. 1996. Foraging behavior. Host discrimination. pp. 32-36. En: Jervis, M. A. y N. Kidd (eds.) *Insect Natural Enemies. A Practical Approach to their Study and Evaluation*. Chapman and Hall. UK.
- van Driesche, R. G. y T. Bellows. 1996. *Biological control*. Chapman y Hall. New York, Estados Unidos de América.
- Vinson, S. B. 1975. Biochemical coevolution between parasitoids and their hosts. En: Price, P. W. (ed.) *Evolutionary Strategies of Parasitic Insects and Mites*. Plenum, New York. 224 p.
- Visser, M. E., J. J. M. van Alphen y L. Hemerik. 1992. Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: an ESS model. *Journal Animal Ecology* 61: 93-101.

- Wharton, R. A. y F. E. Gilstrap. 1983. Key to and status of opiine braconid (Hymenoptera) parasitoids used in biological control of *Ceratitis* and *Dacus* (Diptera: Tephritidae). *Annual Entomology Society American* 76: 721-742.
- Wong, T. T. Y., M. M. Ramadan, D. O. McInnis, N. Mochiguki, J. I. Nishimoto y J. C. Herr. 1991. Augmentative release of *Diachasmimorpha tryoni* (Hymenoptera: Braconidae) to suppress a Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) population in Kula, Maui, Hawaii. *Biological Control* 1: 2-7.