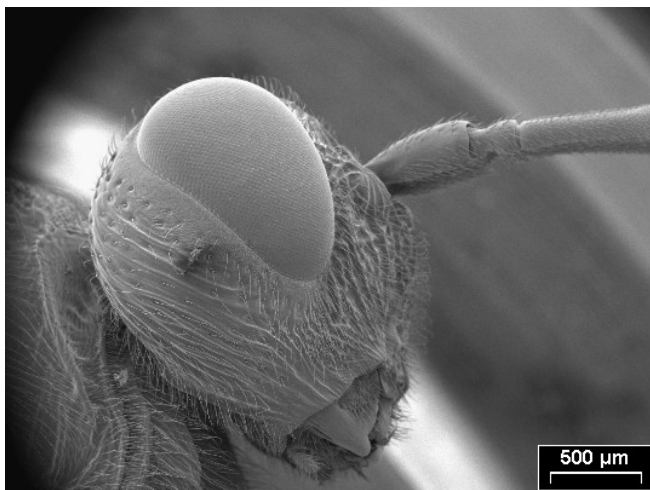




UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

**“ECOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DEL COMPORTAMIENTO DE BÚSQUEDA
Y EXPLOTACIÓN DE HUÉSPEDES POR EL PARASITOIDE *Ibalia
leucospoides* HOCHENWARTH (HYMENOPTERA: IBALIIDAE)”**

*“Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en
el área de Ciencias Biológicas”*



Autora: Valeria Fernández Arhex

Directores de tesis: Juan Carlos Corley y Claudio Lazzari

Laboratorio de Ecología de Insectos
INTA EEA-Bariloche

Buenos Aires

2005

a mis padres

a mi hermano

a mis abuelos

a Santisteban-Gil

a Adrián, Male y al bebé que viene...

con todo mi amor a Vani

**“ECOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DEL COMPORTAMIENTO DE BÚSQUEDA Y
EXPLOTACIÓN DE HUÉSPEDES POR EL PARASITOIDE *Ibalia leucospoides*
HOCHENWARTH (HYMENOPTERA: IBALIIDAE)”**

Indice

Resumen	7
Summary	8
Introducción general	9
El Comportamiento de búsqueda de huéspedes	11
Dinámica de las interacciones huésped-parasitoide	13
Manejo de insectos plaga: el control biológico	15
Sistema de estudio	17
Biología del parasitoide <i>Ibalia leucospoides</i>	17
Morfología	21
Biología de <i>Sirex noctilio</i> , su huésped	27
<i>I. leucospoides</i> en el control biológico de <i>S. noctilio</i>	29
Objetivo general	30
Objetivos particulares	30
I. Claves y mecanismos de orientación	31
II. Explotación del recurso	31

Sección I: Claves y mecanismos de orientación

Capítulo I: ¿Atracción fatal?	32
I.1. Introducción	33
I.2. Objetivo e hipótesis	35
I.3. Materiales y métodos	36
Cría de huéspedes y parasitoides	36
Cultivo del hongo <i>A. aerolatum</i>	38
Bioensayos	38
Experimento I. Actividad	38
Experimento II. Atracción dentro de un gradiente de concentración	40
Experimento III. Atracción dentro de un gradiente de concentración transportado por corriente de aire.	41
Experimento IV: Atracción al hongo simbiote visitado previamente por un con-específico	43

Experimento V: Atracción hacia el hongo simbiote con la presencia de con-específicos	44
I.4. Resultados	45
Experimento I. Actividad	45
Experimento II. Atracción dentro de un gradiente de concentración	46
Experimento III. Atracción dentro de un gradiente de concentración transportado por corriente de aire	46
Experimento IV: Atracción al hongo simbiote visitado previamente por un con-específico	47
Experimento V: Atracción hacia el hongo simbiote con la presencia de con-específicos	48
I.5. Discusión	48

Sección II: Explotación del recurso

Capítulo II : Respuesta funcional de *I. leucospoides*

II.1. Introducción	54
II.2. Objetivos e hipótesis	60
II.3. Materiales y métodos	60
Experimento	60
Análisis estadístico	63
II.4. Resultados	64
II.5. Discusión	67

Capítulo III: La respuesta funcional de parasitoides y sus implicancias en el control biológico

III.1. Introducción	72
III.2. Objetivos	76
III.3. Materiales y métodos	76
III.4. Resultados y discusión	78

La respuesta funcional de los parasitoides	78
La respuesta funcional en parasitoides y su éxito en el control biológico	83
III.5. Conclusión	86
Capítulo IV: Interferencia intraspecífica	89
IV.1. Introducción	90
IV.2. Objetivo e hipótesis general	93
IV.3 Objetivo e hipótesis particulares	93
IV.4. Materiales y métodos	94
Experimento	94
IV.4. Resultados	95
IV.5. Discusión	98
IV.6. Conclusión	101
Conclusión general	102
Bibliografía general	107
Apéndice A	123
Preparación medio de cultivo	125
Agradecimientos	126

“Ecología y fisiología del comportamiento de búsqueda y explotación de huéspedes por el parasitoide *Ibalia leucospoides* Hochenwarth (Hymenoptera: Ibalidae)”

Resumen

El presente trabajo de Tesis estudia diversos aspectos del comportamiento individual de *Ibalia leucospoides*, parasitoide de *Sirex noctilio*, una de las plagas de coníferas más importante del país. En particular analiza los aspectos fisiológicos y ecológicos que determinan las capacidades de localizar y parasitar exitosamente a su huésped. Los resultados demuestran que *I. leucospoides* utiliza compuestos volátiles liberados por el hongo *Amylostereum aerolatum* como clave para la detección, localización espacial, orientación y posiblemente para la cuantificación de los huevos de *S. noctilio*. Se observó, además, que el parasitoide se agrega en parches con otros individuos de su misma especie en proximidad del hongo asociado a su huésped. Dicha agregación implica, sin embargo, una pérdida de eficiencia de parasitismo *per capita*. Se demuestra también que el parasitoide posee una respuesta funcional tipo III y que existe interferencia intra-específica. Se destaca, asimismo, la relevancia de los estudios ecológicos, de comportamiento individual y fisiológicos en parasitoides, para poder entender las interacciones huésped-parasitoide y aplicar este conocimiento en programas de control biológico.

Palabras clave

Parasitoides, *Sirex noctilio*, Siricidae, denso-dependencia, ecología comportamental, control biológico, olfatómetro, respuesta funcional, interferencia intra-específica, *Amylostereum aerolatum*.

“Ecology and physiology of searching behavior and exploitation of hosts by the parasitoid *Ibalia leucospoides* Hochenwarth (Hymenoptera: Ibalidae)”

Summary

This Thesis studies aspects of *Ibalia leucospoides* individual behavior, a parasitoid of *Sirex noctilio*, one of the most important conifers pest in our country. In particular, the study focalizes on the physiological and ecological aspects determining success in host finding and parasitizing. Results show that *I. leucospoides* uses volatiles released by the symbiont fungus *Amylostereum aerolatum* as a cue for the detection, localization and possibly also the quantification of *S. noctilio* eggs. Besides, it has been observed that these parasitoids aggregate in groups with conspecifics on patches where the host fungus is present. However, this aggregation implies a decrease in the individual parasitizing efficiency. In addition, it is demonstrated that this specie presents a type III functional response and that intraspecific interference does exist. It is emphasized the relevance of studies on ecological, behavioral and physiological aspects in parasitoids, to understand host-parasitoid interactions, and its potential application in biological control programmes.

Key words:

Parasitoids, *Sirex noctilio*, Siricidae, densitydependence, ecological behavior, biological control, olfactometer, functional response, intraspecific interference, *Amylostereum aerolatum*.

Introducción general



El término “parasitoide” fue inventado hace aproximadamente cien años por Reuter (1913), pero fue incorporado a la jerga biológica de modo generalizado hace aproximadamente dos décadas (Godfray, 1994; Hochberg & Ives, 2000). Los parasitoides son insectos cuyas larvas se alimentan sólo del cuerpo de otros artrópodos, sus huéspedes (= hospedadores), matándolos invariablemente para poder completar su desarrollo (Godfray, 1994). Así es que un parasitoide se define por el hábito alimentario de su larva. Cabe aclarar aquí, que existen otros autores que consideran parasitoides como parásitos mortíferos, y de esta manera incluyen también a algunos nemátodos y hongos (ver Eggleton & Gaston, 1990). En esta tesis, no obstante, restrinjo el uso del término parasitoide sólo a los insectos.

Los parasitoides son organismos intermedios entre parásitos y depredadores. Un parásito es un organismo que obtiene sus nutrientes de otras especies (*i.e.* huésped) (Begon *et al.*, 1995) y termina consiguiendo cierto control sobre su huésped pero típicamente, no termina con la vida del mismo. Por lo tanto, un parasitoide es en parte parásito, ya que necesita de su huésped para desarrollarse y madurar, y a su vez depredador porque termina matando a su huésped con su ataque (Godfray, 1994).

Los parasitoides son muy abundantes en la naturaleza; se estima que alrededor del 25 % de los insectos poseen este hábito (Godfray, 1994). En la actualidad, existen descritas alrededor de 2.000.000 de especies de parasitoides con esta forma de vida (Quicke, en prensa). La gran mayoría de los parasitoides pertenecen a los órdenes Hymenoptera y Diptera, pero también se los encuentra entre los Coleoptera, Lepidoptera y Neuroptera (Eggleton & Belshaw, 1992; Quicke *et al.*, 1992). Dentro del orden de los dípteros, la mayoría de las especies pertenecen a las familias Tachinidae y Bombyliidae, mientras que en el orden de los himenópteros, cerca de 45 familias contienen especies parasitoides. Dentro de las más destacadas, se encuentran las familias Ichneumonidae, Braconidae y Chalcididae (Hassell, 2000).

Los sistemas conformados por los huéspedes y sus parasitoides son frecuentes modelos para realizar estudios en biología tanto básica como aplicada. Por ejemplo, son comúnmente el foco de estudios de dinámica de poblaciones y comunidades, de biodiversidad y también en control biológico. Es importante recordar aquí que los parasitoides tanto desde el punto de vista ecológico como económico juegan un papel central como reguladores de las poblaciones de sus huéspedes, más aun cuando estos últimos se convierten en plagas. En parte por ello, los parasitoides suelen ser utilizados como agentes de control biológico de plagas, (Murdoch *et al.*, 1985; Kidds & Jervis, 1996).

El Comportamiento de búsqueda de huéspedes

El estudio del comportamiento de los insectos depredadores y parasitoides es tan antiguo como lo es la etología. Desde los trabajos de Tinbergen (1932; 1935), Salt (1934), Ulyett (1936) y Thorpe (1939), el estudio del comportamiento de parasitoides se ha vuelto una herramienta importante para comprender como viven los insectos, como influyen sobre sus huéspedes y como influyen, también, sobre la estructura de las comunidades en donde ellos viven. Los estudios de comportamiento pueden contribuir significativamente a su vez, al conocimiento de su taxonomía y de la co-evolución entre parasitoides, huéspedes y las plantas en donde los huéspedes se alimentan (Kidds & Jervis, 1996).

El comportamiento de búsqueda de huéspedes, un rasgo etológico fundamental de los depredadores, adquiere particular importancia en muchos parasitoides, pues está estrechamente ligado con el comportamiento reproductivo. El comportamiento de búsqueda de huéspedes está sujeto entonces a una fuerte presión de selección natural, debido a que las decisiones que lleven un encuentro exitoso de huéspedes, determinará de modo directo, el número de descendientes (van Alphen, 1988; Kidds & Jervis, 1996; Vet *et al.*, 2002). A su vez, los huéspedes están bajo

una presión de selección para permanecer ocultos y así evitar ser atacados por sus enemigos (Vet *et al.*, 2002).

Durante la búsqueda de huéspedes, los parasitoides deben enfrentarse con una serie de decisiones simultáneas y consecutivas para encontrarlos, usualmente en ambientes complejos en espacio y tiempo. Las decisiones fundamentales que debe tomar una hembra durante la búsqueda de huésped se pueden resumir así; (1) qué parches (= parcelas) de huésped visitar y cuándo abandonarlas (van Alphen & Vet, 1986), (2) sobre qué individuos huésped oviponer y cuándo hacerlo, (3) qué número de huevos dejar en cada huésped/parche atacado (incluyendo si es conveniente oviponer en un huésped previamente parasitado) y (4) qué relación de sexos de la progenie producir (ver Vinson, 1976; van Alphen & Vet, 1986; Kidds & Jervis, 1996; Vet *et al.*, 2002). Estas decisiones dependerán de la abundancia y distribución de huéspedes y parasitoides y de la habilidad de los individuos para captar y evaluar dicha información (Vet *et al.*, 2002).

Para hallar a sus huéspedes, los parasitoides utilizan una variedad de claves, entre las cuales se hallan las visuales (*e.g.* Glas & Vet, 1983; Morehead & Feener, 2000; Demas *et al.*, 2002), las olfativas (*e.g.* kairomonas y/o las heces del huésped) (*e.g.* Dicke *et al.*, 1985; Auger *et al.*, 1990; Vet & Dicke, 1992; Steinberg *et al.*, 1993; Aegelopoulos & Keller, 1994; Lou & Cheng, 2001; Allison *et al.*, 2001; Rogers & Potter, 2002) y las táctiles como por ejemplo las vibraciones a través del sustrato (Spradbery, 1970_a; Glas & Vet, 1983; Duan & Messing, 2000). A su vez, utilizan claves directas (las relacionadas directamente con el huésped) y en otros a través de claves indirectas más complejas y/o claves ambientales, debido, en parte a que la detección de los huéspedes mediante señales directas se encuentra también bajo una fuerte presión de selección.

Las hembras parasitoide pertenecientes al orden Hymenoptera, a diferencia de las hembras de los otros órdenes, disponen de oviposidores altamente especializados (Feener & Brown, 1997). En algunos casos, les permiten tener acceso a los huéspedes ocultos para poder depositar sus huevos adentro, sobre o en un lugar cercano a ellos. Esta estructura permite seleccionar, dominar y finalmente manipular al huésped para poder depositar su progenie (ver Freener & Brown, 1997).

Los estudios sobre el comportamiento de búsqueda de huéspedes por los parasitoides, incluyendo las claves usadas para su detección y las reglas de decisión para su explotación, son importantes también en términos aplicados. Algunos autores sugieren que dichos estudios son un pre - requisito para la selección de potenciales enemigos naturales a ser utilizados en programas de control biológico de plagas, como también para la evaluación de su desempeño antes y durante su liberación (Luck, 1990)

Dinámica de las interacciones huésped-parasitoide

Por más de un siglo, los ecólogos de insectos se han preguntado qué es lo que determina la abundancia y los patrones de fluctuación de sus poblaciones. En uno de los primeros trabajos sobre la temática, Howard & Fiske (1911), estudiando la polilla *Lymantria dispar* Linnaeus (Lepidoptera: Lymantriidae), introdujeron la idea de mortalidad denso-dependiente. Sugirieron la existencia de un factor de mortalidad que contribuye a un balance natural (*i.e.* equilibrio) de las poblaciones. Este factor de mortalidad, sería el responsable de causar la destrucción de una gran proporción de individuos a medida que la población de estos aumenta.

En un trabajo posterior los mismos autores (Howard & Fiske, 1931) mencionan específicamente a los insectos parasitoides como agentes reguladores de poblaciones de insectos tanto en hábitats

naturales como agrícolas. Los parasitoides podían actuar de manera denso-dependiente directa, pero también podían llegar a tener un efecto indirecto o denso-independiente, dependiendo de las condiciones en las que se hallasen (Howard & Fiske, 1931). La mortalidad causada por los enemigos naturales, como los parasitoides, ha sido estudiada para identificar cual de los enemigos naturales “regulan” la abundancia de una especie particular de insecto y cuan importante es la regulación por una mortalidad denso-dependiente. Los factores de mortalidad denso-dependiente, cuyo impacto varía proporcionalmente con el tamaño poblacional, incluyen tanto la competencia como la depredación. El resultado de estos impactos se manifiesta por un cambio proporcional en la tasa de natalidad o mortalidad a medida que cambia la densidad poblacional (ver figura 1; Speight *et al.*, 1999). Esto marca la diferencia con impacto generado por los factores denso-independientes, que precisamente, no varían a medida que cambia la densidad poblacional (ver Speight *et al.*, 1999).

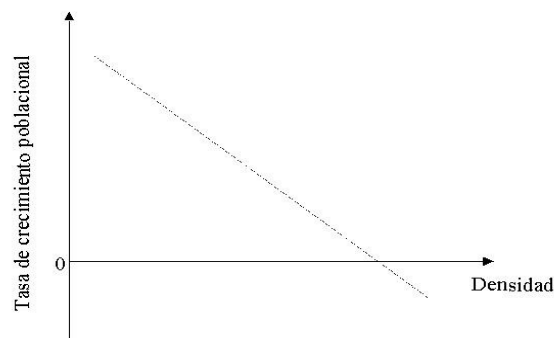


Figura 1. Relación teórica entre la densidad poblacional y la tasa de crecimiento bajo la influencia de factores densodependientes (fuente Speight *et al.*, 1999)

El principal argumento por el que son necesarios los factores denso-dependientes para la regulación, es que sin ellos, la población de individuos podría crecer indefinidamente (*e.g.* Nicholson, 1933; Dempster & Mc Lean, 1998; Speight *et al.*, 1999; Hassell, 2000).

Generalmente este tipo de regulación de la abundancia poblacional está sugerido por modelos poblacionales determinísticos sencillos, como por ejemplo los modelos de Lotka – Volterra (Lotka, 1925; Volterra, 1926), Nicholson – Bailey (Nicholson & Bailey, 1935). Por otro lado, algunos ecólogos de poblaciones han argumentado que los factores denso-independientes también podrían ser responsables de regular las poblaciones de insectos (ver Andrewartha & Birch, 1954; Den Boer, 1991). Los factores denso-independientes, como por ejemplo el efecto del clima, podrían ser responsables de provocar fluctuaciones en las poblaciones de insectos (para más detalles, ver Kidds & Jervis, 1996). Por ejemplo, Andrewartha & Birch (1954) encontraron que el clima explicaba cerca de un 80% de las variaciones en abundancia de las poblaciones de *Thrips imaginis* Bagnall (Insecta: Thysanoptera).

En síntesis, actualmente se sabe que tanto los factores denso-dependientes como los denso-independientes contribuyen a la regulación de las poblaciones de insectos. Estas, no se ven solamente afectadas por sus enemigos naturales, sino también por varios factores ambientales. Si bien los factores dependientes de la densidad son necesarios como medio para regular las poblaciones, su importancia en la determinación de la densidad depende en gran medida de la especie y del ambiente en cuestión (Begon *et al.*, 1995; Speight *et al.*, 1999).

Manejo de insectos plaga: el control biológico

“Plaga” es un término altamente antropocéntrico, y se define como cualquier tipo de organismo que por su densidad poblacional perjudica a los cultivos, la salud, los bienes o el ambiente del hombre (ver Speight *et al.*, 1999). Se considera plaga a un organismo cuando hay una ruptura de la regulación existente en el ecosistema por cualquier factor (*e.g.* eliminación de enemigos naturales o vegetación natural) y que conlleva a que una especie alcance niveles poblacionales no deseados por el hombre (ver Begon *et al.*, 1995; Speight *et al.*, 1999).

El manejo de plagas tiene como objetivo reducir las poblaciones de la plaga por debajo de un umbral aceptable, usando las técnicas disponibles ambiental y económicamente apropiadas para un determinado sistema. También incluye el concepto de prevención de estallidos poblacionales de las plagas (*i.e. outbreaks*, rápidos incrementos de la densidad poblacional de los individuos, generalmente ocurren a intervalos irregulares y terminan ocasionando una mortalidad rápida y severa). Queda claro que sin una forma de manejo (o control) de plagas se observarían importantes pérdidas, tanto en términos ecológicos como económicos (Speight *et al.*, 1999).

El control biológico de plagas, una de las estrategias de manejo de las plagas, consiste en el uso de enemigos naturales **nativos**, **introducidos** o **genéticamente modificados** (depredadores, parásitos, parasitoides y patógenos de plagas) seleccionados por su capacidad para reducir las densidades poblacionales y los efectos de las plagas (Berryman, 1999). En la mayoría de los casos se espera que esta reducción poblacional se mantenga en el tiempo (*i.e.* se regule) sin nuevas manipulaciones. El control biológico mediante parasitoides tiene como ventajas reportadas la alta especificidad de los enemigos naturales para con la plaga y su limitado impacto sobre el medio ambiente. Es importante tener en cuenta que para que el control biológico resulte exitoso se requiere de mucha investigación tanto del sistema en estudio como del ambiente donde se encuentra la plaga y que se carece de una teoría fundamental para su exitosa implementación (ver cap. III). Son más frecuentes los casos reportados de fracaso que de éxito (ver base de datos *BIOCAT*; Greathead & Greathead, 1992; o Hawkins & Cornell, 1999). Estos fracasos pueden estar relacionados, por ejemplo, con la habilidad individual de hallazgo y explotación de la plaga. A su vez, puede estar relacionado con factores operacionales como ser el clima y microclima en la zona donde se halla la plaga, la calidad y cantidad de los enemigos naturales a liberar y el tiempo y la velocidad de las liberaciones. Ejemplos de control biológico por parasitoides que resultaron exitosos; *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae)

parasitoide de la plaga *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae), *Trioxys complanatus* Quilis (Hymenoptera: Aphididae) parasitoide de *Therioaphis trifolii* Monell (Homoptera: Aphididae) y *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitoide de *Trialeurodes vaporariorum* Wetswood (Hymenoptera: Aleyrodidae).

Sistema de estudio

Biología del parasitoide *Ibalia leucospoides*

Ibalia leucospoides Hochenwarth (Hymenoptera: Ibalidae), pertenece a la superfamilia Cynipoidea, Subfamilia Ibalinae. Es un parasitoide solitario, que ataca huevos y/o primer estadio larval de su hospedador *Sirex noctilio* Fabricius (Hymenoptera: Siricidae) (Taylor, 1976) (Foto 1.a, b). También utiliza como hospedadores a otras especies de sirícidos entre ellas, *Sirex juvencus*, *Sirex cyaneus* y *Urocerus gigas* (Madden, 1968; Nuttall, 1980).

(a)



(b)



Foto 1. Hembras de (a) *Ibalia leucospoides*, (b) *Sirex noctilio* (foto Martínez, 25X).

Las especies del género *Ibalia* son los únicos endoparasitoides larvales de sirícidos. Son originarios de las regiones neártica y paleártica (Chrystal, 1930), pero fueron introducidas Nueva Zelanda, Australia, Sudamérica y Sud Africa (Rebuffo, 1980; Carvalho, 1993).

I. leucospoides posee la habilidad de dispersarse a grandes distancias, teniendo la posibilidad de colonizar nuevas áreas naturalmente (Taylor, 1967).

I. leucospoides presenta cuatro períodos larvales, de los cuales los dos primeros estadios y parte del tercero se desarrollan dentro de la larva huésped (estadios endoparasíticos), y lo que resta del tercer estadio lo completa como ectoparasito. Durante el cuarto estadio permanecen en una de las galerías realizadas por *S. noctilio* hasta empupar (Nuttall, 1980). Completado el estadio pupal, que dura unos 2 meses, el parasitoide realiza un agujero en la corteza del árbol para emerger en estado de adulto. Su tiempo de vida adulta es de 10 a 15 días, período durante el cual se alimentan de néctar y exudados vegetales, aunque pueden sobrevivir y oviponer sin alimentarse (Carvalho, 1993). El desarrollo de la larva de *I. leucospoides* dentro de su hospedador abarca un período de uno a casi dos años (ajustando su ciclo de vida al de su hospedador, Corley *et al.*, 2004), y desde afuera del huésped dura hasta 12 meses (foto 2).

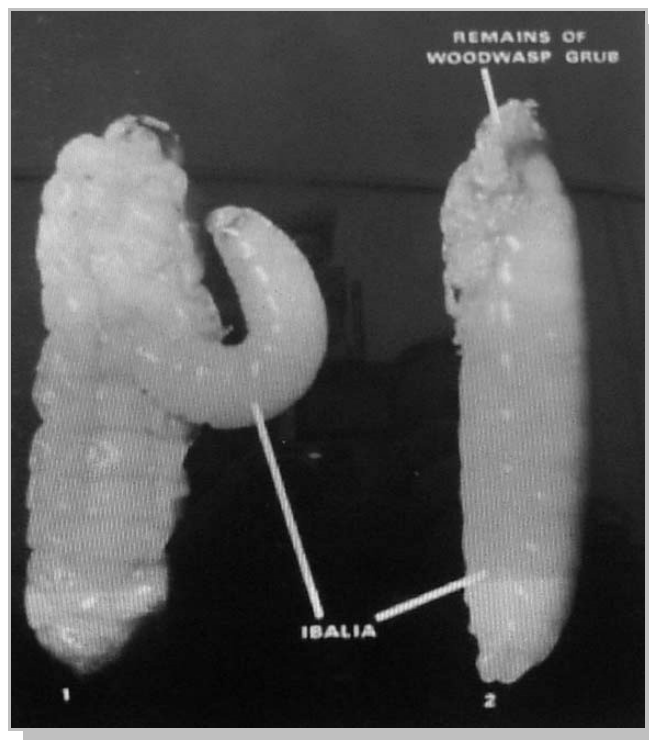


Foto 2. (1) Larva de *I. leucospoides* en el momento en que abandona el interior de su huésped y empieza a alimentarse desde afuera. (2) Larva del parasitoide en su 4 to. estadio cuando termina de devorarse a su huésped y se prepara a empupar (fotos adaptadas de Nutall, 1980).

Las hembras de *I. leucospoides* adultas se sienten atraídas por los agujeros de oviposición realizados por *S. noctilio* (Madden, 1968; Spradbery, 1974; Nuttall, 1980). El comportamiento de búsqueda consiste en la examinación sistemática con sus antenas de la corteza y del árbol elegido. Durante esta inspección el abdomen de la hembra está en continuo movimiento, actividad que caracteriza la aceptación del parche o troza. Cuando la hembra encuentra un agujero de oviposición del hospedador, inserta las articulaciones terminales de ambas antenas y lo inspecciona (Chrystal, 1930). Luego, baja el abdomen y con la punta del mismo comienza a inspeccionar las inmediaciones del agujero hasta que finalmente inserta su ovipositor en él (foto 3).



Foto 3. Hembra de *I. leucospoides* depositando un huevo dentro de un agujero de oviposición de *S. noctilio* en una troza de *P. contorta* (foto de la autora, 25 X).

La duración de la oviposición de este parasitoide varía considerablemente. Por ejemplo, observamos que el período más largo de permanencia en un agujero fue de aproximadamente 1 h (ver también Chrystal, 1930). Se ha encontrado, generalmente, un huevo del parasitoide por huésped, pero Chrystal (1930) ha observado casos de super-parasitismo. A su vez, este autor

encontró que cuando se halla más de un huésped en un mismo agujero de oviposición, *I. leucospoides* ataca todos los hospedadores que se encuentran en él.

Los machos de esta especie generalmente emergen antes que las hembras (Chrystal, 1930; Nuttall, 1980). La protandria, permite que los machos esperen (en o cerca de los árboles) la emergencia de las hembras para copular (foto 4). Los machos vuelan entre los árboles hasta que deciden, finalmente, instalarse en uno de ellos para buscar hembras. Así, el macho comienza la búsqueda moviendo sus antenas y probando en las grietas o hendiduras de la corteza del árbol elegido, donde puede detectar la presencia de una hembra que está por emerger para copular.

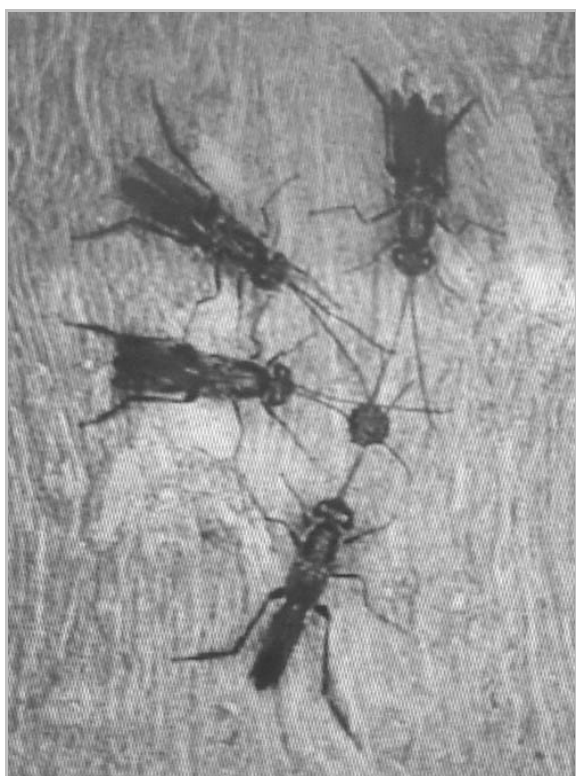


Foto 4. Machos de *I. leucospoides* alrededor de un agujero de emergencia recién realizado por una hembra de la misma especie (foto adaptada de Nuttall, 1980).

El acto de apareamiento puede ocurrir antes o durante la oviposición de la hembra y dura tan sólo unos pocos minutos (foto 5). La cópula es precedida por un prolongado cortejo del macho con sus antenas.



Foto 5. Apareamiento en *I. leucospoides* (foto de la autora, 25 X).

Morfología

En estado de adulto, *Ibalia leucospoides* posee 2 pares de alas membranosas, transparentes y enervadas. Su tamaño está determinado, entre otras cosas, por el tamaño de la larva huésped. En promedio, el cuerpo de un adulto hembra mide unos 13 mm, mientras que el de un macho alcanza los 10 mm. Los machos se distinguen de las hembras pues poseen el abdomen menos anguloso y porque sus antenas tienen una pequeña muesca en la parte externa del tercer segmento antenal.

Las hembras poseen un ovipositor fino y flexible, el cual está constituido por tres capas. Estas capas se unen en todo su largo formando un tubo por donde pasan los huevos. Dos de esas capas son aserradas en la punta que actúan como una sierra vertical (foto 6).

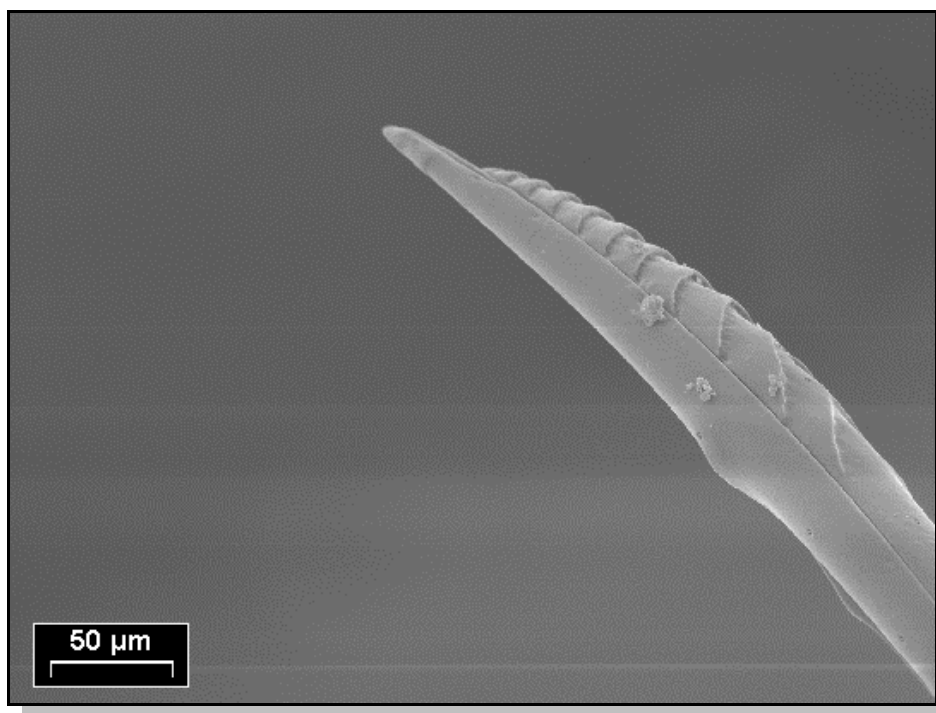
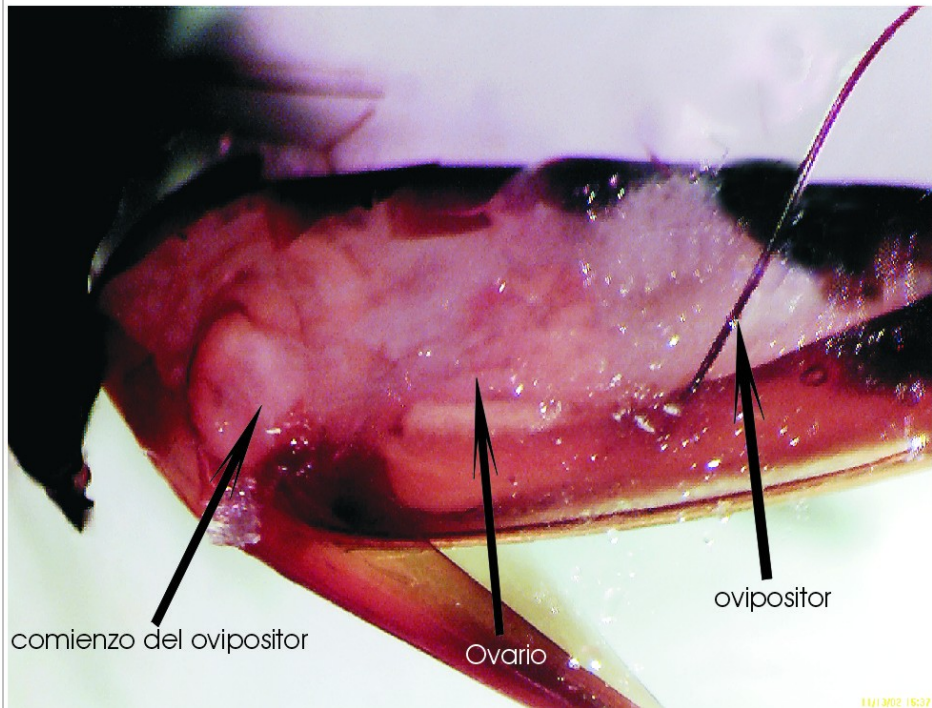
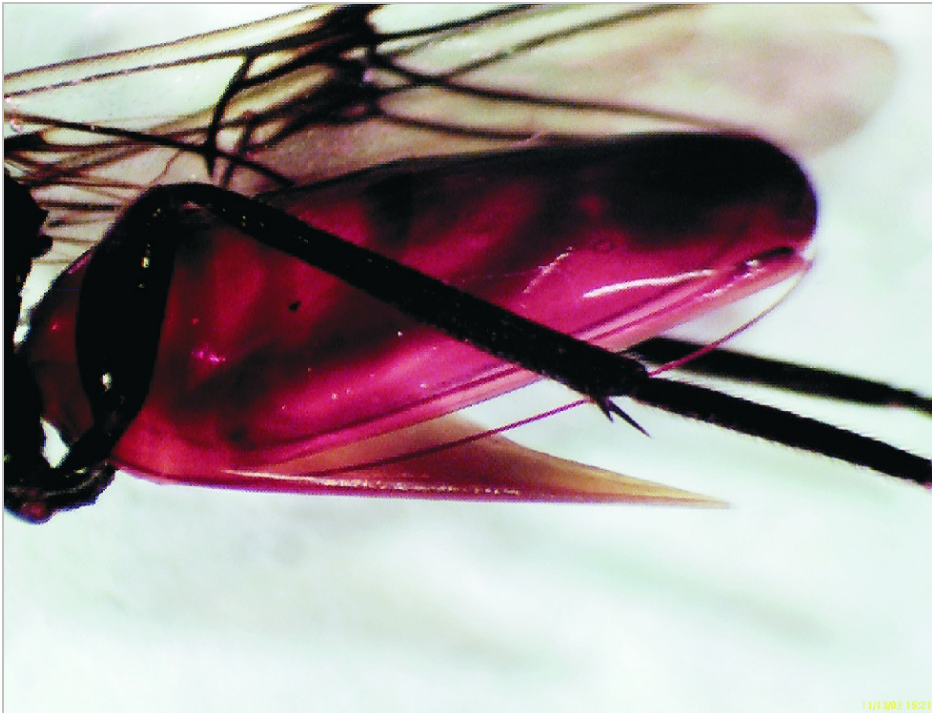


Foto 6. Microscopía electrónica del ovipositor aserrado de *I. leucospoides* (326 X).

Chrystal (1930) menciona que el ovipositor de *I. leucospoides* ocupa tan sólo un cuarto del diámetro del agujero de oviposición de *S. noctilio*, por lo que el parasitoide tiene la posibilidad de mover su ovipositor libremente dentro del agujero. La mayor parte del ovipositor de *I. leucospoides* se encuentra dentro del abdomen (foto 7 a y b). Cuando éste no se encuentra en uso, está completamente guardado dentro de su cuerpo. La primera acción de oviposición del parasitoide es bajar el hipopigio, dentro de esta cavidad en forma de *V* se encuentra el ovipositor (foto 8 a).

(a)

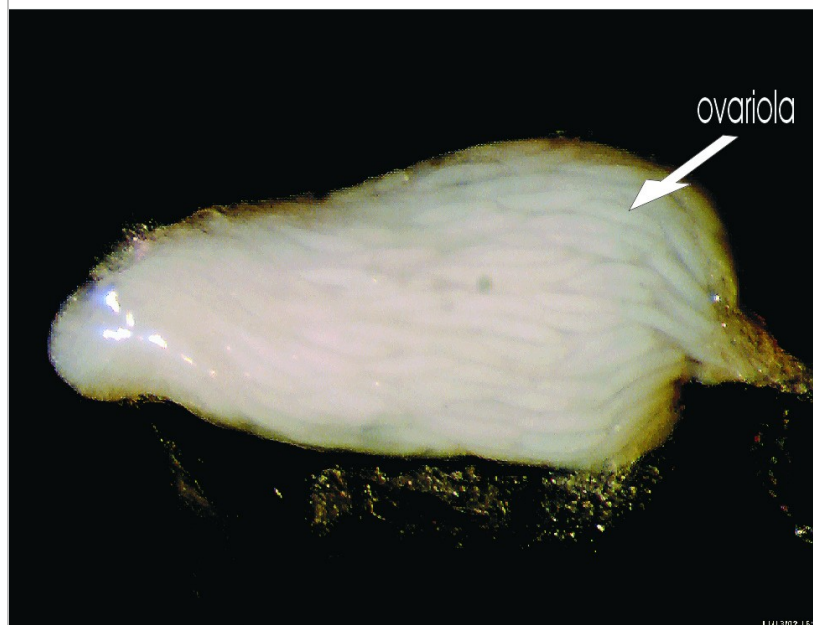
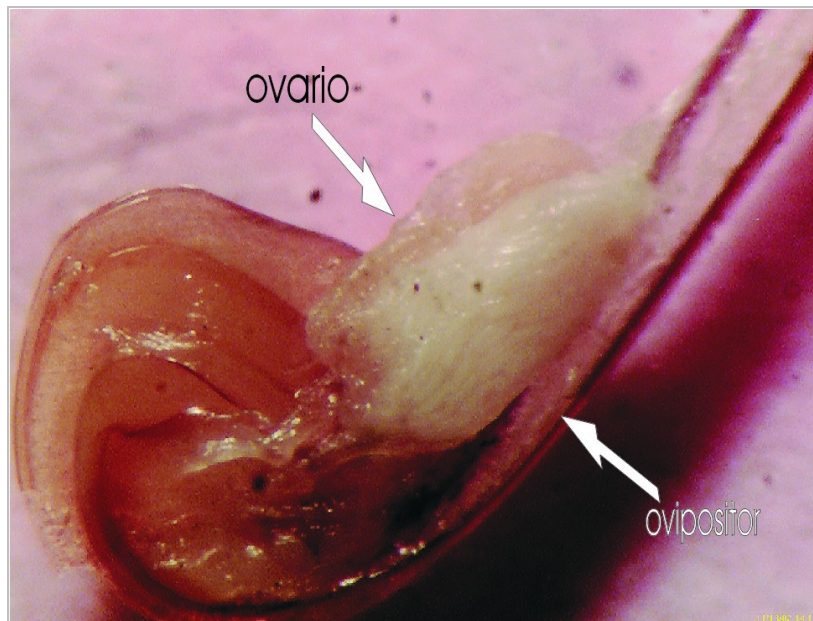


(b)

Foto 7. (a) Abdomen y ovipositor de *I. leucospoides* en estado de reposo. (b) Disección de abdomen donde se observa el ovipositor enroscado dentro del abdomen (10x10) (foto Teresita Inchausti, datos filiatorios).

I. leucospoides es un parasitoide esencialmente proovigénico, que posee ovarios elongados y algunos en forma de pera, con una cantidad de huevos que oscila entre los 600 a 800 según su tamaño corporal (Foto 8 a y b; Chrystal, 1930).

(a)

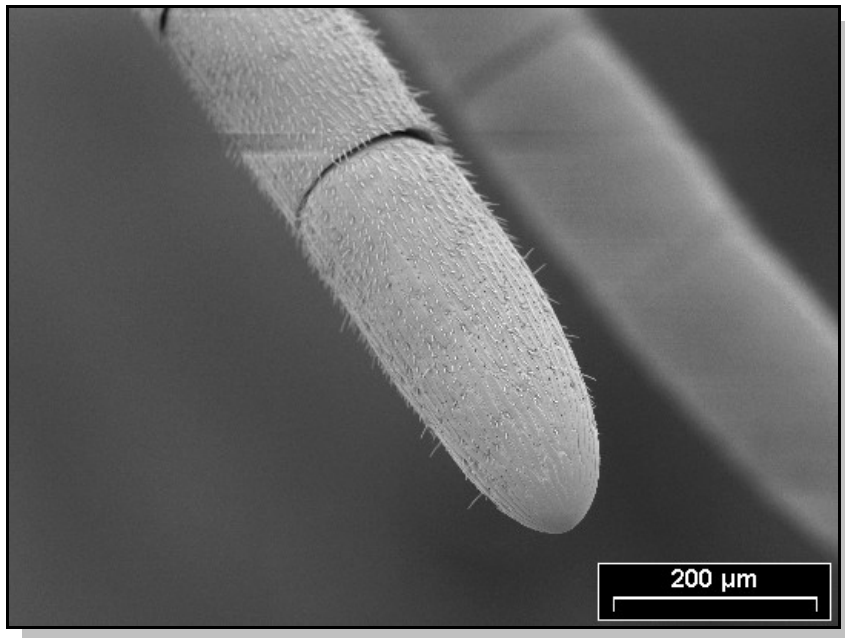


(b)

Foto 8. Disección de abdomen de *I. leucospoides* hembra. (a) Ovipositor y ovarios. (b) Ovariolas (foto Teresita Inchausti, datos filiatorios).

Se ha observado que estos insectos previo a la oviposición, examinan los agujeros de oviposición con las puntas de sus antenas. Según Chrystal (1930) las sensilias que se encontraron en las antenas de este parasitoide pertenecen al tipo placoidea. Este tipo de sensilias consiste en una membrana que cubre un amplio poro canal y es común en la mayoría de las antenas de los parasitoides himenópteros. El número de sensilias placoideas encontradas en *I. leucospoides* es mayor en los machos que en las hembras (Bischoff, 1927; Chrystal, 1930) y esta diferencia, según Chrystal (1930), se debe a que el olfato es importante en el acto de apareamiento (foto 9).

(a)



(b)

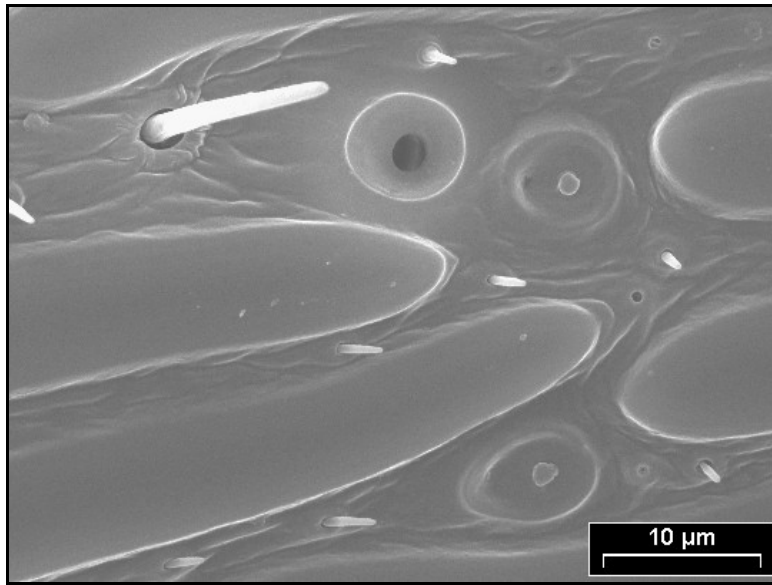


Foto 9. Microscopía electrónica de sensilias de antenas. (a) Ultimos esternitos de una antena hembra (150 X). (b) Receptores sensoriales de un esternito de una antena hembra (2500 X).

Las tres articulaciones terminales de la antena de la hembra poseen más áreas sensoriales que las restantes articulaciones. Lo interesante aquí, es que el parasitoides inspecciona los agujeros de oviposición de *S. noctilio* utilizando sólo estas últimas articulaciones. Por lo tanto, es probable que la función sensorial de estas sensilias esté correlacionada con la tarea de buscar sitios propicios para oviponer. Por otro lado, en el macho, a diferencia de las hembras, estos pelos sensoriales se encuentran en todas las articulaciones de las antenas y la función de éstos probablemente sea sexual.

Los huevos en esta especie no se modifican en forma, cuando se deposita dentro del cuerpo del huésped. Estos son pedunculados y de color blancuzco, con un tamaño que varía entre los 0,23 a 0,4 mm de largo y 0,04 a 0,05 mm de ancho (Chrystal, 1930). Las larvas por su parte, son lisas, de color blanco, con una pequeña mandíbula. No poseen patas ni espina en el apéndice caudal (foto 10).

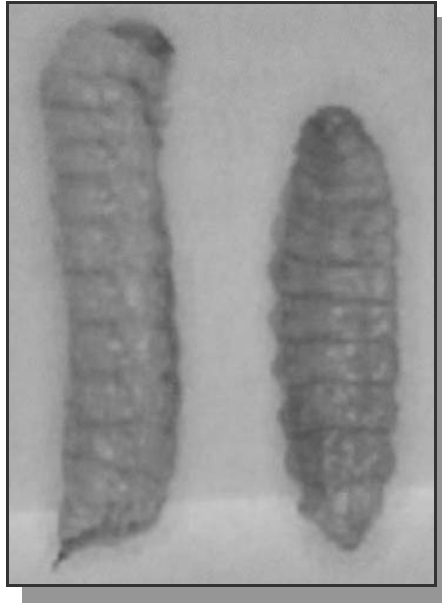


Foto 10. Foto de larva de *S. noctilio* (izquierda) e *I. leucospoides* (derecha) (foto adaptada de Nutall, 1980).

Biología de *Sirex noctilio*, su huésped

La avispa barrenadora de la madera, *S. noctilio* es una plaga forestal de importancia mundial. Es capaz de ocasionar estallidos poblacionales en donde el daño económico puede resultar devastador, debido a que es la única especie de sirícido capaz de matar árboles sanos (Corley & Villacide, 2002). En niveles endémicos, las hembras depositan sus huevos dentro de troncos de las especies del género *Pinus* (*P. ponderosa*, *P. contorta* y *P. radiata*) que presentan un estado de *stress*.

S. noctilio es originaria de Europa mediterránea y Africa del Norte, pero actualmente se halla distribuida en Australia, Nueva Zelandia, Sudáfrica, Brasil, Argentina y Chile. En Sudamérica se la halló por primera vez en Uruguay, en el año 1980 (Rebuffo, 1980). En 1985 se la encontró en la Argentina, específicamente en la provincia de Entre Ríos (Espinoza *et al.*, 1986) y en el

año 1991 se la describió para San Carlos de Bariloche, provincia de Río Negro (Klasmer & Fritz, 1995; Farji-Brener & Corley, 1998).

S. noctilio una avispa fitófaga, solitaria y primitiva, con un ciclo de vida usualmente univoltino (Madden, 1981) pero que puede prolongarse hasta 3 años, dependiendo del tamaño del árbol atacado y de la temperatura y la cantidad de luz recibida (Aguilar & Lanfranco, 1988; Aguilar *et al.*, 1990; Corley, 2001), Su tiempo de vida como adulto, estadio en el que no se alimenta, no excede los 10-12 días (Klasmer & Fritz, 1995).

Los adultos de esta especie pueden llegar a medir hasta 4 cm de longitud y su cuerpo presenta una forma cilíndrica (ver foto 1.b). El contenido inicial de huevos varía desde los 30 hasta los 450 dependiendo del tamaño de la avispa, (Madden, 1974). La hembra, taladra pinos debilitados y en cada agujero de oviposición que realiza evalúa la presión osmótica del floema y si la considera óptima deposita esporas de un hongo basidiomicete, *Amylostereum aerolatum* Boidin (Basidiomycotina: Corticiaceae), un mucus fitotóxico y huevos (Madden, 1974; Madden & Coutts, 1979; Spradbery, 1974). Si la hembra no fue fecundada por un macho, coloca huevos haploides que, como en todos los himenópteros, darán origen a machos.

Las hembras de *S. noctilio* establecen una relación simbiótica con el hongo *A. aerolatum*, llevando las esporas del mismo dentro de glándulas micangiales que poseen en el abdomen (donde son nutridas y conservadas) (Parkin, 1942). La contaminación de estas esporas dentro de las glándulas ocurre luego de cada muda de las larvas de *S. noctilio*.

Durante esta simbiosis ambas especies se benefician de la interacción. Por un lado, el hongo puede ser ubicado dentro de su huésped sin necesidad de tener que lidiar con los tejidos protectores de la madera y, además no necesita producir cuerpos fructíferos gracias a que, por

este medio de dispersión, su desarrollo se ve favorecido por las secreciones glandulares del insecto. Por otro lado, el hongo reduce el contenido de humedad de la madera adecuando así el ambiente para el desarrollo y la eclosión de los huevos de *S. noctilio*. A su vez, además de aportar nutrientes esenciales para el desarrollo de la larva, debilita de la madera facilitando la actividad taladradora de las larvas de *S. noctilio* (Madden & Coutts, 1979; Neuman & Minko, 1981). Es importante destacar que lo que causa la muerte de los árboles atacados por *S. noctilio* no es su actividad perforadora, sino el desarrollo del hongo en combinación con el mucus (Coutts, 1969).

Los sitios de oviposición en el árbol se distribuyen de manera variable en su mayoría uniformemente (Bettinelli, 2001), aunque también se ha observado cierta tendencia a su distribución azarosa (Madden, 1974). Asimismo, en algunos árboles que presentaron cierta resistencia al ataque de *S. noctilio*, los agujeros de oviposición de la plaga se distribuyeron de manera agregada. Esto indicaría que ciertas áreas del árbol se vuelven más aceptables para la oviposición (Madden, 1974).

Para más detalles sobre la biología de esta especie, referirse a las revisiones de Klasmer *et al.*, 2000; Fernández Arhex & Corley, 2003; Corley *et al.*, 2004; Villacide *et al.*, 2004.

I. leucospoides* en el control biológico de *S. noctilio

El control biológico clásico es una de las estrategias más utilizada a nivel mundial para el control *S. noctilio*. Consiste en la importación y establecimiento de el/los enemigos naturales en las áreas infestadas con el fin de mantener sus poblaciones por debajo de un umbral de daño económico (Waage & Hassell, 1982; Mc Ewen, 1997). Se han descrito varios enemigos naturales de *S. noctilio*, de los cuales uno de ellos es un nemátodo, *Daledenus siricidicola*

Bedding (Nematoda: Neotylenchidae), que esteriliza a las hembras de la avispa cuando las parasita (Bedding, 1967; Nuttall, 1980). Entre los otros se destacan 5 especies de parasitoides: *Rhyssa persuasoria* Linnaeus, *R. lineolata* Kirby (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Megarhyssa nortoni* Cresson (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Guiglia schauinslandi* Ashmead (Hymenoptera: Orussidae) e *I. leucospoides*. Hasta el presente, sólo la última especie de parasitoide se halla en la Argentina.

La introducción de *I. leucospoides* a la Argentina fue accidental, a través de un proceso denominado biocenosis (Villacide & Corley, 2003). La efectividad de este parasitoide como agente de control de *S. noctilio* ha sido poco estudiada pero existe un estudio que concluyó que era el mejor parasitoide de control (Madden, 1988). En en el Norte de la Patagonia se observó que los niveles de parasitismo de *I. leucospoides* alcanzan el 40 % (variando desde casi 0 a un 70 %,) (Corley & Villacide, 2002).

Objetivo general

Esta tesis tiene como finalidad estudiar aspectos del comportamiento de búsqueda y explotación de la plaga *S. noctilio* por el parasitoide *I. leucospoides*. En particular, focalizé en estudiar aspectos ecológicos, etológicos y fisiológicos que determinen el hallazgo y parasitación exitosa de su hospedador y consiguientemente el éxito reproductivo del parasitoide.

Objetivos particulares

Desagregué este estudio en dos niveles de análisis, siendo un objetivo final la vinculación entre ambos. A continuación se detalla cada escala de análisis con sus objetivos parciales:

I. Claves y mecanismos de orientación: Determinar las claves asociadas para la detección y orientación hacia los huéspedes, lo que implica;

- Evaluar la actividad y la atraktividad de *I. leucospoides* ante la presencia del hongo *A. aerolatum* (cap. I; exps. I, II y III).
- Evaluar la atracción al huésped visitado previamente por un con-específico y la atracción hacia el hongo simbiote con la presencia de con-específicos (cap. I; exps. IV y V).

II. Explotación del recurso: Estudiar los factores que determinan el parasitismo sobre *I. leucospoides*, lo que implica;

- Determinar la respuesta funcional de *I. leucospoides* y sus implicancias sobre la regulación de la plaga (cap. II y III).
- Determinar la existencia de interferencia intraespecífica y sus implicancias sobre la regulación de la plaga (cap. IV).

Sección I

Claves y mecanismos de orientación

Capítulo I

¿Atracción fatal?



I.1. Introducción

El desafío de algunos parasitoides hembra adultos es el de buscar nuevos huéspedes para parasitarlos y así dejar su descendencia. Esta tarea demanda un proceso activo de búsqueda de huéspedes en ambientes altamente variables en espacio y tiempo (Vet *et al.*, 2002). Además, como el éxito reproductivo de los parasitoides está directamente ligado con la tasa de encuentro de huéspedes apropiados para la oviposición, estos insectos deben tomar decisiones con el objeto de maximizar estos encuentros exitosos. Estas decisiones están relacionadas con la detección de claves que indiquen de manera confiable la presencia de huéspedes apropiados para la oviposición.

Los parasitoides utilizan una variedad de claves tanto químicas como físicas para la localización del hábitat donde se hallan sus huéspedes y de los individuos de estos, como así también durante las fases de examinación de los huéspedes a parasitar (Vinson, 1984; Vet & Dicke, 1992; Turlings *et al.*, 1993).

Las claves o sustancias químicas (denominadas infoquímicos) pueden provenir del mismo huésped (*i.e.* claves directas) o ser derivadas de su actividad en el ambiente (*i.e.* claves indirectas) (Vinson, 1976; Lewis & Martin, 1990; Steinberg *et al.*, 1993; Vet & Groenwold 1990, Vet *et al.*, 1990; Vinson, 1984; Vet *et al.*, 2002). Los infoquímicos más fiables son aquellos producidos por el propio huésped, pero estos, generalmente son liberados en bajas concentraciones por lo que son más difíciles de detectar (Vet *et al.*, 1995; 2002). Por otro lado los estímulos indirectos, por ejemplo los que derivan de las plantas, son más fáciles de detectar (debido a su mayor biomasa entre otras cosas) pero son fuentes menos confiables, dado que la localización de la planta no garantiza la presencia de huéspedes apropiados para ser atacados (Vinson, 1981; Vet *et al.*, 1990). Generalmente, las claves indirectas no son indicadores de la

presencia ni de la abundancia del huésped (Vinson, 1981). De este modo, es común que los parasitoides utilicen una combinación de infoquímicos confiables y detectables para poder localizar a sus huéspedes (Vet *et al.*, 1990; 2002).

Los infoquímicos, pueden clasificarse también de diferentes modos en función del comportamiento que generan (Diether *et al.*, 1960). Por un lado existen los *atractantes químicos* (proporcionan información direccional) que son usados por los parasitoides para localizar a sus huéspedes, a través de respuestas como la quimiotaxis o anemotaxis. Los infoquímicos *arrestantes* (ante su presencia los insectos desaceleran su marcha y permanecen más tiempo en una zona determinada) revelan por su parte la presencia del huésped en un ambiente cercano sin brindar información direccional (Diether *et al.*, 1960). Los infoquímicos que median el intercambio de información entre individuos se denominan **feromonas** cuando el emisor y el receptor de la información pertenecen a la misma especie (*e.g.* volátiles químicos liberados por hembras para atraer a los machos para la cópula) y **aleloquímicos** cuando involucran distintas especies. En este último caso, si el intercambio de información resulta beneficioso para ambas especies se denomina al compuesto liberado **sinomona** (*e.g.* los polinizadores y las flores), mientras que cuando sólo es el individuo emisor el que se beneficia se habla de **alomonas** (*e.g.* algunos depredadores que atraen a sus presas imitando sus feromonas sexuales). Las **kairomonas** por su parte, son aquellas sustancias en donde de la interacción sólo se beneficia el receptor (*e.g.* los olores del huésped para los insectos hematófagos) (Nordlund & Lewis 1976; Vet & Dicke 1992). Estas últimas, son las sustancias más utilizadas por los parasitoides en la búsqueda de huéspedes (Papaj & Vet, 1990; Vet *et al.*, 1990).

I. leucospoides localiza a *S. noctilio* por medio de olores que emanan de los agujeros de oviposición realizados por su huésped. Trabajos previos han demostrado que un indicador posible del sitio donde se encuentra el huésped es la presencia del hongo *A. aerolatum*,

(Madden, 1968; Spradbery, 1970 a & b; Spradberry, 1974; Bettinelli, 2001). Se ha observado que las hembras parasitoides, en el momento de oviponer, buscan árboles con un alto contenido de humedad y un contenido de volátiles relacionados con las 2 a 3 semanas desde que *S. noctilio* realizó su oviposición (Madden, 1968). Estos resultados se asociaron con el desarrollo del hongo dentro de la madera. Sin embargo, en estos estudios el hongo no fue aislado de su huésped o del árbol, desconociéndose si la atracción era específica del hongo o era producto de un conjunto de estímulos emanados de hongo, árbol y huésped simultáneamente (Madden, 1968; Spradbery, 1970 a & b). Las claves emanadas de *A. aerolatum* son muy confiables para el parasitoide pues el hongo sólo crece en presencia de la plaga y probablemente sean más detectables que la presencia del huésped pues el hongo invade rápidamente el tejido vegetal. Permanece entonces como una pregunta abierta, si *I. leucospoides* localiza a *S. noctilio* exclusivamente a través de la presencia de *A. aerolatum*, como así también si dichas claves ofrecen información cuali y cuantitativa sobre su huésped.

I.2. Objetivo e hipótesis

Por un lado, evalué la actividad y la atractividad de *I. leucospoides* ante la presencia de aislamientos de *A. aerolatum* (experimentos I, II y III). Mi hipótesis experimental es que no sólo el parasitoide se siente atraído, sino que su actividad aumenta ante la presencia de un compuesto volátil asociado solamente con el hongo simbiote de su huésped.

A su vez, evalué la atracción al huésped visitado previamente por un con-específico y la atracción hacia el hongo simbiote con la presencia de con-específicos (experimentos IV y V, respectivamente). El objetivo de estos experimentos fue poner a prueba si el parasitoide es capaz de integrar información del ambiente para detectar a sus huéspedes, evaluando cualitativamente

a sus presas potenciales. Mi hipótesis es que esta especie es capaz de discriminar parches con presencia de con-específicos para evitar el superparasitismo.

I.3. Materiales y métodos

Cría de huéspedes y parasitoides

Los adultos de *S. noctilio* e *I. leucospoides* los obtuve de trozas (infestadas tanto por la plaga como por el parasitoide) de *Pinus contorta* (var. latifolia) de 1m de largo, colectados en el campo en las proximidades de la ciudad de San Carlos de Bariloche (41° 08'S; 71° 20'W; Argentina). Los árboles atacados se detectan fácilmente en el campo, especialmente en los sitios altamente infestados (foto I.1). Una vez recolectadas las trozas, las coloqué en jaulas metálicas (1 x 0,40 m²) bajo condiciones ambientales de temperatura (24,4 ± 0,4 °C) con luz natural. Revisé las jaulas diariamente durante el período de emergencia de plaga y parasitoide (foto I.2).



Foto I.1. Vista de una parcela *P. contorta* var. latifolia, con ataque de *S. noctilio*. Los árboles con follaje clorótico demuestran el ataque de la plaga (foto Villacide)

En todos los experimentos utilicé hembras de *Ibalia leucospoides*, menores a 48 hs de vida, fecundadas y alimentadas con solución de sacarosa (0,3 gr/ml), listas para oviponer.



Foto I. 2. Jaulas de cría de *I. leucospoides* y *S. noctilio*, dentro de las jaulas se colocan los troncos infestados del campo (foto de la autora, 25X)

Cultivo del hongo *A. aerolatum*

Para obtener el cultivo de *A. areolatum*, extraje las esporas del hongo de las micangias de las hembras de *S. noctilio*. Luego, cultivé las esporas en un medio de agar, malta, levadura y extracto de pino (para más detalle ver apéndice A). Incubé el cultivo durante 2-3 semanas, bajo condiciones de oscuridad y temperatura ambiente, para utilizarlo en los experimentos (Thomsen & Harding, 1996).

Bioensayos

Experimento I, Actividad

Evalué si los compuestos volátiles emanados por el hongo simbiote son una clave direccional para mediar la orientación de *I. leucospoides* por sí mismos. Mi predicción es que los compuestos volátiles emanados por el hongo simbiote aumenten la actividad de las hembras.

Como arena experimental utilicé una caja rectangular de acrílico (largo: 14 cm; ancho: 7,5 cm; alto: 7 cm; foto), donde coloqué un entrepiso perforado (una malla de acrílico con 0,22 mm de diámetro de cada uno de los 21 agujeros) a 2 cm del piso. De esta manera el insecto podía caminar sobre la malla sin necesidad de tocar la fuente de estímulo. Coloqué a la fuente de estímulo dentro de un frasco donde se lo adosaba en la mitad del piso de la arena, así los volátiles se esparcían dentro de la caja. Para cuantificar la actividad de los parasitoides, tracé líneas en el techo de la caja formando una grilla de 9 rectángulos iguales (foto I.3.b.). Luego liberé un parasitoide hembra dentro de la arena y lo observé ininterrumpidamente durante 5 min. La variable respuesta fue la actividad de los insectos, medida como la cantidad de cruce de las líneas de la grilla en presencia y en ausencia del estímulo. Las fuentes de estímulos químicos que ofrecí a las hembras fueron: cultivo del hongo simbionte (discos de 170 mm²) y medio de cultivo (control). El experimento lo realicé a temperatura ambiente ($26,2 \pm 0,2$ °C) bajo luz natural. Ventilé y lavé a la caja entre réplicas. Para el análisis de datos usé una prueba de t (Zar, 1999).

(a)



(b)

Foto I.3. (a) y (b) Caja de acrílico, con entrepiso perforado y 9 líneas de cruce, para medir actividad en el parasitoide (fotos de la autora, 25 X)

Experimento II. *Atracción dentro de un gradiente de concentración*

Este experimento lo realicé para saber si existe atracción de *I. leucospoides* hacia los volátiles químicos liberados por *A. areolatum* cuando se los presenta en un gradiente de concentración. En otras palabras, puse a prueba si el parasitoide detecta y selecciona los sitios de oviposición siguiendo un gradiente químico (*i.e.* quimiotaxis), tomando como estímulo al cultivo del hongo simbionte. Utilicé una arena rectangular (una caja de acrílico de largo: 14 cm; ancho: 7,5 cm; alto: 7 cm; foto I.4.), dividida en 2 sectores. En cada sector de la arena coloqué la fuente de estímulo a evaluar, mientras que en el otro sector coloqué el control correspondiente. Liberé al parasitoide en el centro de la arena y la duración del experimento fue de 5 min. Las variables respuesta fueron la primer fuente de olor elegida y si fue necesario el contacto con la fuente de estímulo. Todos los experimentos fueron realizados a temperatura ambiente y luz natural. Lavé y ventilé a la caja experimental entre réplicas. También evité la asimetría espacial, intercambiando de lugar las fuentes de olor entre los ensayos. Analicé los datos mediante una prueba de χ^2 (Zar, 1999). Las fuentes de olor que se ensayaron fueron: - papel impregnado con el medio de cultivo del hongo (discos de 170 mm²; control 2); - cultivo del hongo *A. aerolatum* (discos de 170 mm²); -papel de filtro sin estímulo (control 1).



Foto I.4. Caja de acrílico para medir atracción dentro de un gradiente químico (foto de la autora, 25X).

Experimento III. *Atracción dentro de un gradiente de concentración transportado por corriente de aire.*

Utilicé un olfatómetro tubo en “Y” (brazo mayor: 13 cm, brazos menores: 7 cm, diámetro: 2 cm). En el extremo del brazo mayor conecté una bomba de aire, que extraía aire con una tasa de 1 cm/seg. Antes de que el aire ingresara al olfatómetro, éste era filtrado a través de carbono activado que se colocó en los extremos de unas cajitas donde iban los estímulos a ensayar. El estímulo químico fue colocado en cajitas de acrílico (10 cm³) que se colocaban en los extremos de ambos brazos menores. Para evitar claves visuales, cubrí las cajitas con papel blanco y además coloqué al olfatómetro dentro de una caja de acrílico blanco (50 x 50 x 25 cm) (foto I.5.).



Foto I.5. Olfatómetro para medir la atracción de *I. leucospoides* hacia los compuestos volátiles del hongo simbiote de la plaga (foto de la autora, 25X)

Introduje a las hembras parasitoides individualmente en la base del olfactómetro, dándoles 1 min de adaptación y un máximo de 15 min para elegir uno de los brazos del tubo. La variable respuesta fue el porcentaje del total de las hembras que eligieron cada brazo. Tomé como elección válida aquellas hembras que cruzaban una línea imaginaria 5 cm adentro de cada brazo menor. La fuente de estímulo que probé fue el cultivo de hongo de 2-3 semanas y utilicé como control el medio de cultivo sin el hongo. Entre cada réplica lavé y ventilé el olfactómetro para evitar errores de pseudorreplicación (Ramirez *et al.*, 2000). También intercambié la posición de la fuente de olor entre los brazos menores para evitar asimetrías en cada experimento. Para evitar el decaimiento de la concentración de los volátiles, reemplacé a las fuentes de estímulo cada 5 réplicas.

El ensayo consistió en 3 partes, primero evalué la respuesta de las hembras a un nivel relativamente bajo de volátiles del hongo. Luego evalué la respuesta a un nivel alto de volátiles. Por último probé la preferencia entre estas dos concentraciones. Las fuentes de estímulo fueron

discos de 2-3 semanas de cultivo de hongo de 7 mm² para la concentración baja y de 170 mm² para la concentración alta. El control fue el medio de cultivo sin el hongo también de 2-3 semanas. La variable respuesta fue el porcentaje total de las hembras que eligieron cada brazo. Analicé los datos mediante una prueba de χ^2 (Zar, 1999)

Experimento IV. Atracción al hongo simbiote visitado previamente por un con-específico

Evalué a distancias cortas, siguiendo un gradiente químico, la preferencia por los parches visitados previamente por un conespecífico. Estos experimentos los llevé a cabo con hembras adultas (n=30) y temperatura y humedad semi-controladas (26,37 ± 0,2°C; 41,47 ± 1,14 % H.R.). Utilicé una arena rectangular, dividida en 2 sectores (la misma cajita del experimento II, ver foto I.4.). En un sector de la arena coloqué, como estímulo a evaluar, el cultivo del hongo visitado previamente por un con-específico (para esto previamente puse un parasitoide durante 5 min. para que esté en contacto con esta fuente), mientras que en el otro sector coloqué el control correspondiente, que es el cultivo del hongo sin visita. Deposité al parasitoide en el centro de la arena y luego de 1 min. lo liberé observando el comportamiento del individuo testado ininterrumpidamente durante 5 min. La variable medida fue la primera elección y toque del parasitoide en la fuente. Utilicé un parasitoide por réplica y limpié y ventilé la arena experimental entre cada ensayo. Las asimetrías espaciales las evité intercambiando a las fuentes de estímulo entre ensayo. Los datos los analicé mediante un test de χ^2 (Zar, 1999).

Evalué también la preferencia por parches con con-específicos, pero esta vez el gradiente químico era transportado por una corriente de aire. Para ello, puse a prueba la elección del parasitoide a distancias intermedias, a través de los olores transportados por corriente de aire, del sitio donde se encuentra el huésped que fue visitado previamente por un con-específico (escala de detección de los agujeros de oviposición ya visitados). En estos ensayos utilicé 30 hembras adultas. Utilicé un laberinto en “Y” con un sistema regulado de extracción de aire. A

cada uno de los extremos cortos del tubo en “Y” asocié un estímulo a ensayar, o bien un estímulo control (en este caso es el cultivo del hongo sin visita de con-específicos). Para eliminar los efectos de las claves visuales en el comportamiento de los parasitoides, cubrí a las cajas (donde eran colocados los estímulos a ensayar). En cada ensayo coloqué una avispa cerca de la base del brazo mayor del olfatómetro. Una vez dentro y luego de transcurrido 1 min., la liberé para que comenzara a moverse hacia la conjunción de ambos brazos menores. Una vez ahí, las avispas debían elegir entre las dos fuentes de olor. Observé cada parasitoide hasta que pasaba la marca al final de los brazos del tubo elegido o durante un máximo de 10 min. cuando no hubo decisión. Luego de cada ensayo cambiaba la fuente de olor entre los brazos del olfatómetro, para evitar las asimetrías dentro del experimento. También entre ensayos, lavé y ventilé el tubo en “Y”, para eliminar alguna marca potencial dejada por las avispas mientras caminaban por el tubo. Todos estos experimentos los conduje en un laboratorio cerrado bajo condiciones de luz, temperatura y humedad semi-controladas (70 lux; $26,37 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$; $41,47 \pm 1,14\%$ H.R.).

Los datos los analicé mediante el test χ^2 . La condición ensayada fue el cultivo del hongo simbiote visitado previamente por un individuo de la misma especie (acá también coloqué a un parasitoide previamente para que visite esta fuente de estímulo durante 5 min.).

Experimento V. Atracción hacia el hongo simbiote con la presencia de con-específicos

En este ensayo utilicé el olfatómetro en “Y”, en donde a cada uno de los extremos cortos del tubo asocié un estímulo a ensayar, o bien un estímulo control, bajo condiciones de luz, temperatura y humedad semicontroladas.

Las fuentes de estímulo que utilicé fueron: -ningún estímulo en un brazo (sólo papel de filtro) y en el otro 1 con-específico (CE) (n= 33); -cultivo de hongo vs cultivo de hongo + 1 CE (n=30); - ningún estímulo vs 3 CE (n= 34); - cultivo de hongo vs cultivo de hongo + 3CE (n= 37). Los datos los analicé con un test χ^2 .

I.4. Resultados

Experimento I. Actividad

Observé un aumento significativo en la actividad del parasitoide ante la presencia del hongo. Los resultados de este experimento demuestran que la cantidad de cruce de líneas aumentó significativamente cuando ofrecí a los parasitoides el cultivo del hongo ($t = -4,08919$; $gl=38$; $p < 0,05$; figura I.1.).

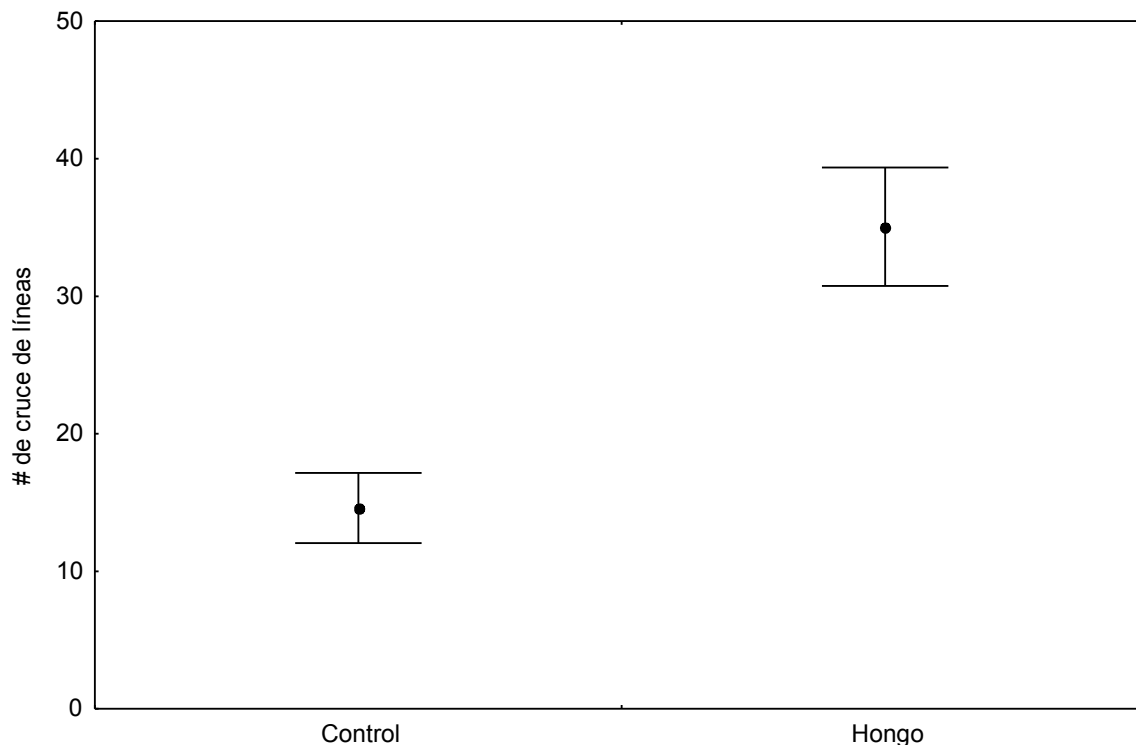


Figura I.1. Incremento en la cantidad de cruces de línea de *I. leucospoides* cuando lo estimulé con el cultivo del hongo (control: 14,6 ± 2,56; hongo: 35,05 ± 4,3 (media ± ES)).

Experimento II. *Atracción dentro de un gradiente de concentración*

En los ensayos de control, en donde coloqué discos de papel de filtro en ambos extremos de la arena experimental, las avispas eligieron al azar ($\chi^2 = 1,6$; $p > 0,05$; $n=15$). Esto demuestra que estos insectos no tienen preferencia por ningún lado de la arena experimental.

En el experimento de este punto, el 80% de las hembras prefirieron significativamente la fuente que contenía el cultivo del hongo ($\chi^2 = 10,8$; $p < 0,05$; $n=30$).

Experimento III. *Atracción dentro de un gradiente de concentración transportado por corriente de aire.*

En ausencia de estímulo, solamente papel de filtro, los parasitoides eligieron al azar ambos brazos del olfatómetro ($\chi^2 = 0,19$; $p = 0,669$; $n=22$).

Durante los experimentos, el 81 % de los parasitoides eligieron significativamente el brazo en donde se encontró el hongo a altas concentraciones (*i.e.* 170 mm² de cultivo de hongo) ($\chi^2 = 11,645$; $p = 0,0006$; $n=31$). El 75% de los parasitoides también eligieron el brazo en donde se encontraba el estímulo del hongo a bajas concentraciones (*i.e.* 7 mm²) ($\chi^2 = 5$; $p = 0,025$; $n=20$).

Cuando evalué la atractividad entre las distintas concentraciones del cultivo del hongo (170 vs 7 mm²), el 70% de los parasitoides se sintió atraído hacia el brazo que tenía la mayor concentración del cultivo ($\chi^2 = 4,067$; $p = 0,043$; $n=30$) (ver figura I.2.).

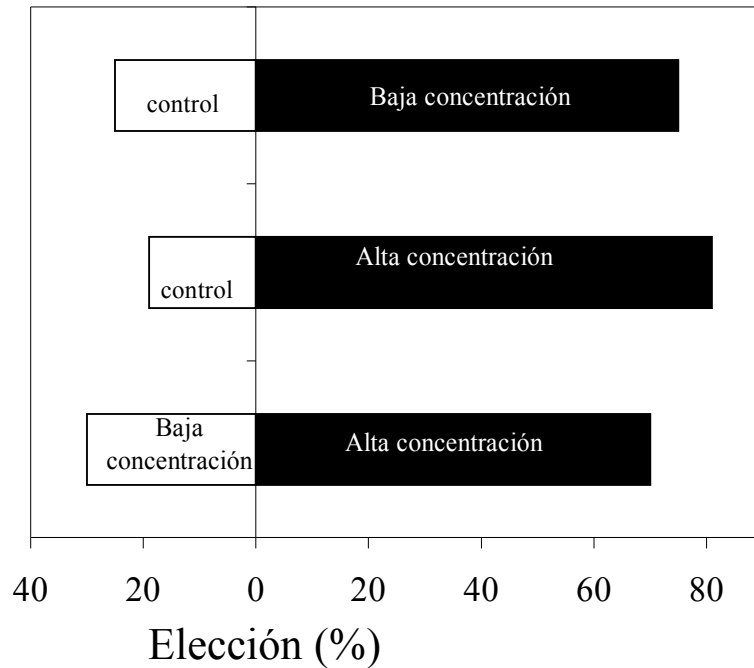


Figura I.2. Porcentaje de elección en cada uno de los brazos del olfatómetro

Experimento IV. *Atracción al hongo simbiote visitado previamente por un con-específico*

Guiados por un gradiente químico, a una distancia corta (*i.e.* a una escala cercana a un agujero de oviposición de *S. noctilio*), los parasitoides eligieron significativamente la fuente que estuvo visitada previamente por un con-específico (70 % a hongo visitado: $\chi^2= 4,8$; $p=0,028$; $n=30$).

En este ensayo en el cual evalué la preferencia por parches con con-específicos, pero transportando el gradiente químico a través de una corriente de aire, las avispas no mostraron preferencia hacia alguno de los dos tipos de fuente de olor (*i.e.* visitada o no por un con-específico; $\chi^2= 0,36$; $p=0,548$; $n= 25$; 5 avispas no respondieron). Contrariamente a lo obtenido en el ensayo anterior (preferencia a corta distancia), en este caso se rechaza la hipótesis experimental, esto es que a distancias mayores (o intermedias) la marca que deposita el parasitoide en el parche conteniendo hongo no es reconocida por el siguiente parasitoide que visita el mismo parche.

Experimento V. Atracción hacia el hongo simbiote con la presencia de con-específicos

Los parasitoides resultaron atraídos hacia la presencia simultánea de 3 con-específicos y el cultivo del hongo (70% eligió esta fuente; $\chi^2=4,8$; $p=0,0284$; $n= 30$; 7 parasitoides no respondieron). No observé preferencias significativas hacia los 3 individuos de la misma especie en ausencia de cultivo del hongo ($\chi^2=0,133$; $p=0,715$; $n=30$ y 3 parasitoides no respondieron). Las avispas no mostraron preferencia por ninguna fuente de olor cuando tuvieron que elegir entre un estímulo con cultivo de hongo conteniendo 1 con-específico y el parche sin con-específico ($\chi^2=0,154$; $p=0,694$; $n= 26$ y 5 no respondieron). Tampoco mostraron preferencia alguna cuando les presenté un individuo de la misma especie en ausencia de cultivo de hongo ($\chi^2= 0,133$; $p= 0,715$; $n=30$ y 4 parasitoides no respondieron). *I. leucospoides* reacciona positivamente (*i.e.* se reúne) a la presencia de otros con-específicos sólo en presencia del hongo simbiote del huésped.

I.5. Discusión

Los resultados demuestran que *I. leucospoides* se siente atraído y su actividad aumenta, ante la presencia de una kairomona, un compuesto volátil derivado del hongo simbiote del huésped, *A. aerolatum*. Estos resultados, confirman lo sugerido en trabajos anteriores (Madden, 1968; Spradbery, 1970_b; Bettinelli, 2001) quienes no descartan el uso de compuestos del hongo (además de sustancias químicas del huésped) como claves químicas para la localización de huevos y primer estadio larval de *S. noctilio*. La diferencia de los resultados aquí presentados, radica en que es la primera vez que se evalúa al hongo por sí sólo como un infoquímico direccional (ver también Martínez, 2003).

También demostré que este parasitoide es capaz de integrar información del ambiente para detectar a sus huéspedes, y puede distinguir parches con la presencia de con-específicos. Observé, no obstante que no evitan estos parches; muy por el contrario sienten atracción y se dirigen hacia los parches con olores de huéspedes que estuvieron en contacto previo con un con-específico, como así también a los olores con la presencia simultánea de huéspedes y con-específicos.

Dada la significativa respuesta de los parasitoides a los compuestos volátiles liberados por el hongo, es poco probable que la principal clave atractante para *I. leucospoides* provenga del propio huésped. Tanto en los experimentos con la arena experimental como con los de olfatómetro se ve que existe una respuesta direccional al hongo en ausencia de sustancias químicas del huésped, indicando que en *I. leucospoides*, las principales claves utilizadas para la localización del huésped son las indirectas (*i.e.* provenientes del hongo). Por otro lado, el pino también es un emisor de infoquímicos. Se ha demostrado que *I. leucospoides* distingue y prefiere una especie de pino sobre otra (ver Martínez, 2003). La desventaja de estas últimas claves, es que no son una fuente muy confiable para indicar la presencia de huéspedes, dado que los volátiles podrían ser liberados ante cualquier situación de estrés de los árboles (Lambers *et al.*, 2000).

Probablemente *I. leucospoides* utilice, a distintas escalas, ambos tipos de infoquímicos (volátiles de pino y hongo) para la localización de *S. noctilio*. Una hipótesis es que el parasitoide podría utilizar, como atractantes, las sustancias emitidas por los pinos para localizar los parches de pinos infestados (a nivel de macrohábitat) y después usar (también como atractantes) los volátiles del hongo para llegar al pino adecuado y buscar los sitios de oviposición de los huéspedes (escala de microhábitat). En las cercanías de un agujero de oviposición, *I. leucospoides* interrumpe su búsqueda para empezar a tocar con sus antenas la corteza hasta dar

con el agujero y a la vez comienza a mover el abdomen de manera ascendente y descendente cada vez con mayor rapidez (Madden, 1968). En los experimentos de actividad de este capítulo, donde no evalué la propiedad direccional de los volátiles del hongo pero sí su actividad, observé un aumento en la actividad de *I. leucospoides* por la sola presencia del hongo. Por lo tanto es muy probable que sustancias emitidas por el hongo dejen de actuar como atractantes y comiencen a actuar como arrestantes, cuando el parasitoide está en las cercanías de un agujero de oviposición.

A su vez, observé que el parasitoide pudo discriminar la abundancia relativa de los volátiles del hongo, prefiriendo el de mayor concentración de infoquímicos. Esto sugiere que no sólo utiliza los volátiles del hongo para localizar al huésped, sino que también los utiliza para evaluar la abundancia relativa de huéspedes en un sitio (cabe destacar que aunque las concentraciones que utilicé en este experimento no son las que se encuentran habitualmente en el ambiente natural del parasitoide, aun así resultaron adecuadas no sólo para atraer a *I. leucospoides* sino que también sirvieron para que éste las discrimine). Estos resultados nos indican que cuantas más oviposiciones halla realizado *S. noctilio*, mayor crecimiento fúngico habrá asociado con un mayor número de huéspedes disponibles. Por lo tanto, el parasitoide se dirigiría al sitio de mayor riqueza de huéspedes para incrementar de esta manera su tasa de parasitismo (Bettinelli, 2001; pero ver caps. II y III).

En los últimos años se ha estado tomando como una fuente de investigación de interés, el enfoque tritrófico en los estudios comportamentales de los parasitoides (Dicke & Vet, 1999; Sabelis *et al.*, 1999). Las plantas tienen un rol central para los parasitoides de insectos herbívoros, debido a que pueden llegar a determinar el desarrollo y el comportamiento de búsqueda de los mismos (Vet & Dicke, 1992). Estos parasitoides se ven atraídos hacia las plantas que sirven de alimento para sus huéspedes y de esta manera las plantas se han vuelto una

guía para que éstos los localicen (Turlings *et al.*, 1991). Vet (1999) analizó el rol de las plantas en el comportamiento de búsqueda de los parasitoides, demostrando que éstas tienen una consecuencia ecológica y evolutiva en todos los niveles tróficos (*i.e.* las plantas, los herbívoros y sus parasitoides). Por ejemplo, una planta poco atractiva va a ser menos visitada por los parasitoides, por lo que va a servir de refugio parcial para los herbívoros, afectando así el patrón espacial de parasitismo y por lo tanto la dinámica de las poblaciones de herbívoros y sus parasitoides.

Los resultados de este capítulo confirman la importancia del hongo como emisor de sustancias químicas confiables y detectables para *I. leucospoides*. Esto resalta la importancia del tercer nivel trófico, en este caso una especie de hongo simbiote del huésped, en la localización y determinación de su abundancia.

Muchos parasitoides son capaces de integrar información extrínseca cuando están forrajeando un parche con huéspedes. En una mayoría de estudios experimentales, se ha visto que los parasitoides evitan parches que ya han sido visitados por avispas tanto hetero como con-específicos debido a que evitarían de esta manera el super-parasitismo, pudiendo discriminar huéspedes ya parasitados tanto por ellos mismos como por otros individuos de la misma especie (Godfray, 1994; Castelo *et al.*, 2003). Los parasitoides tienen la habilidad de depositar cierta clase de olores en los huéspedes que atacan o en los parches que visitan, y estos olores son reconocidos por los otros individuos. *Leptopilina heterotoma* Thomson (Hymenoptera: Eucoilidae) y *Venturia canescens* Gravenhorst (Hymenoptera: Ichneumonidae) son ejemplos de parasitoides que discriminan entre olores que emanan de parches con huéspedes con o sin con-específicos (Janssen *et al.*, 1997; Castelo *et al.*, 2003).

Los experimentos de atracción al hongo simbiote que estuvo visitado previamente por un con-específico, guiados por un gradiente químico a corta distancia demostraron que las avispas se sienten atraídas y se dirigen a hacia esta fuente de estímulo. Por el contrario, cuando lo analicé a una mayor distancia (gradiente químico transportado por una corriente de aire) los parasitoides no mostraron preferencia alguna por dicha fuente. Esto podría significar que existe una potencia de la señal que deja el parasitoide cuando visita un huésped, pero esta señal es sutil, siendo significativa cuando los parasitoides están a distancias cortas (*i.e.* cerca de los agujeros de oviposición), ya que a distancias mayores no perciben su presencia.

Los resultados de este capítulo también nos muestran que *I. leucospoides* no evita los parches con hongo (*i.e.* huésped) ocupados por con-específicos. Este comportamiento se le atribuye a la combinación de ambos estímulos, ya que cuando probé la atracción solamente hacia los con-específicos, los resultados mostraron que el olor que liberaron estos individuos no produjo ninguna atracción hacia el parasitoide evaluado. Esto confirma que la agregación está dada por la combinación de ambas fuentes de olor, es decir la combinación simultánea de hongo y con-específicos. Existe también otro caso en donde un parasitoide discrimina un estímulo químico sólo cuando está combinado con su huésped y es el ejemplo del parasitoide *V. canescens*. Castelo, Corley y Deshouant (2003) exploraron en esta avispa los efectos que tienen los con-específicos sobre las decisiones de elección de parche de un solo individuo. Los resultados indicaron que esta especie evita a la distancia la competencia con con-específicos, pero solamente cuando estos están a una alta densidad de individuos (n=20). Asimismo la evitación ocurre cuando la avispa percibe los olores combinados del huésped y otras hembras.

Los individuos de una misma especie pueden evitarse o reunirse en una misma parcela. Existe una diferencia entre estos dos tipos de comportamientos, los cuales tienen sus consecuencias en el parasitismo. La reunión entre con-específicos facilita el aumento de la agregación, mientras

que la evitación conduce a espaciar a los individuos y en consecuencia al parasitismo (Castelo *et al.*, 2003).

Sección II

Explotación del recurso

Capítulo II

*Respuesta funcional de **I. leucospoides***



II.1. Introducción

La respuesta funcional es un componente central en las interacciones huésped - parasitoide. Este término, utilizado originalmente por Solomon (1949), describe la relación entre el número de presas consumidas por un depredador en función de la densidad de la presa, en un espacio e intervalo de tiempo fijos. La respuesta funcional es central para cualquier descripción sobre depredación o parasitismo, debido a que el número de presas atacadas y consumidas determina el desarrollo, supervivencia y reproducción de los depredadores o parasitoides (Oaten & Murdoch, 1975). Por lo tanto, es una herramienta importante para determinar la influencia del comportamiento individual de los parasitoides, tanto sobre la dinámica de sus poblaciones, como sobre la de sus huéspedes.

En su clásico trabajo, Holling (1959) describió tres tipos de curvas de respuesta funcional, las cuales afectan de manera diferente los niveles poblacionales de las interacciones huésped – parasitoide. En la respuesta de tipo I (figura II.1.a), se observa un aumento lineal de la tasa de ataque del depredador respecto a la densidad de la presa (con la pendiente igual a la eficiencia de búsqueda) hasta llegar a un valor máximo a partir del cual la tasa de ataque permanece constante aunque aumente la densidad de la presa. Este tipo de respuesta refleja uno de los aspectos más realistas de modelos clásicos como los de Thompson (1930) y de Nicholson – Bailey (1935) aplicables a interacciones huésped - parasitoide en ambientes estacionales, ya que como resultado produce una tasa de parasitismo denso – independiente (figura II.1.b) (Hassell, 2000).

En la respuesta funcional del tipo II (figura II.1.c) además de la eficiencia de búsqueda, se considera otro parámetro denominado “tiempo de manipulación” (T_m). El mismo se define, en el caso de los depredadores, como el tiempo dedicado a perseguir, dominar, consumir y digerir las

presas, así como el prepararse para la siguiente búsqueda. En el caso de los parasitoides se define como el tiempo en que tarda en atacar al huésped y prepararse para la siguiente puesta. Dado que el tiempo de manipulación reduce el tiempo disponible para la búsqueda, este tipo de respuesta resulta en una curva de tipo hiperbólica a medida que aumenta la disponibilidad de presas (o huéspedes), hasta llegar a una asíntota donde se expresa la máxima tasa de ataque (T/T_m). A esta densidad, el tiempo disponible por el depredador (o parasitoide) es utilizado para manipular la presa (o al huésped) y el tiempo para la búsqueda resulta entonces despreciable. En consecuencia, tiempos de manipulación largos conducen a tasas de ataque bajas y *viceversa* (Hassell, 2000). Este tipo de relación resulta en un parasitismo denso - dependiente inverso (figura II.1.d), lo que implica que los huéspedes, cuando se hallen en altas densidades poblacionales, tendrán una menor probabilidad de ser atacadas que cuando se hallen en densidades bajas. Según la teoría, la inclusión de este tipo de respuesta funcional dentro de modelos tipo Nicholson – Bailey desestabilizan al sistema (Hassell & May, 1973; Walde & Murdoch, 1988; Getz & Mills, 1997). Sin embargo, como el tiempo de manipulación suele ser una fracción pequeña dentro del tiempo disponible, es probable que este efecto desestabilizador sea insignificante (Gullan & Cranston, 2000). En el caso de los parasitoides, tanto el tiempo de manipulación constante como la limitación por escasez de huevos (*egg-limitation*) conducen a respuestas de tipo II (Ivlev, 1961).

Una curva sigmoidea es la que resulta de una respuesta de tipo III (figura II.1.e), donde el número de presas (o huéspedes) consumidas por unidad de tiempo se acelera con el aumento de la densidad de presas (o huéspedes) hasta que el tiempo de manipulación comienza a limitar su consumo. Esta respuesta produce, a bajas densidades de la presa (o huésped), una mortalidad denso - dependiente directa (figura II. 1.f). Es por esta razón que sólo la respuesta funcional de tipo III es potencialmente estabilizadora de la dinámica presa – depredador (huésped-parasitoide) y es importante aclarar que esto sucede a bajas densidades de presa (o huésped)

(Hassell *et al.*, 1977; Hassell, 1978; Collins *et al.*, 1981; Walde & Murdoch, 1988; Chesson & Rosenzweig, 1991; Berryman, 1999; Bernstein, 2000; Gullan & Cranston, 2000). Recordemos que superado el punto de inflexión, la curva se asemeja a la descrita para la respuesta de tipo II.

En la literatura, han sido descritos otros tipos de respuestas funcionales. Por ejemplo, respuestas con dos asíntotas, sin asíntotas y cupuliformes (Casas & Hulliger, 1994). Sin embargo, son muy escasos los ejemplos empíricos de estos modelos teóricos (Fernández- Arhex & Corley, 2003).

Holling (1959) sugirió que las respuestas de tipo I se observan generalmente en animales filtradores, mientras que las de tipo II son típicas de invertebrados depredadores y parasitoides. Las de tipo III, por su parte, aparecen en los depredadores vertebrados, ya que son consecuencia la capacidad de aprendizaje y/o la posibilidad de intercambiar una especie de presa por otra (*i.e. switching*). Sin embargo, trabajos posteriores sugirieron que los parasitoides pueden tener respuestas sigmoideas (*e.g.* cap. I.2; van Lenteren & Bakker, 1976; Hassell *et al.*, 1977; Hassell, 2000; pero ver Fernández Arhex & Corley, 2003).

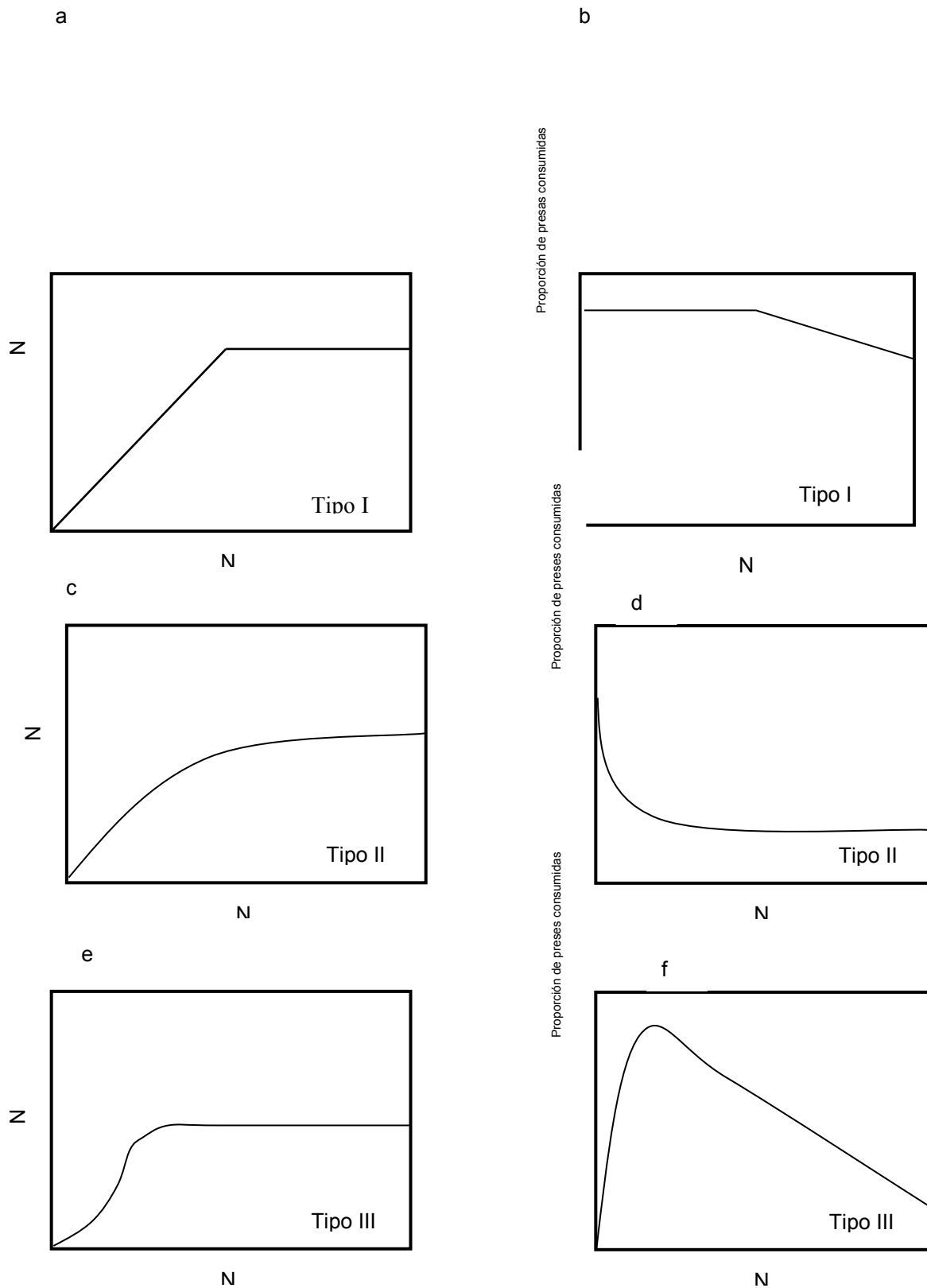


Figura II.1. Los 3 tipos de respuesta funcional más comunes. En los gráficos a, c y e, se muestran para cada respuesta, las relaciones entre el número de presas consumidas por depredador (N_c) y el número de presas ofrecidas (N), mientras que en los gráficos b, d y f, se muestran las relaciones entre la proporción de presas consumidas (N_c/N) y el número de presas ofrecidas al predador (N) (adaptado de Juliano 1993).

Conocer el tipo de respuesta funcional de un parasitoide o depredador puede servir, por ejemplo, para indicar si el tipo de respuesta tiene un efecto en la estabilidad del sistema depredador-presa o huésped-parasitoide (van Lenteren & Bakker, 1976; Hassell *et al.*, 1977). Otro aspecto importante en el estudio de la curva respuesta funcional es la estimación de los parámetros de la función que ajusta a dicha curva. Determinar la significancia de estos parámetros es útil para, por ejemplo, comparar diferentes especies o edades de depredadores y así poder decidir cuál de ellos es más efectivo para atacar a una presa en particular (Thompson, 1975) y para evaluar diferencias entre variaciones ambientales (O'Neil, 1989). El estudio de la respuesta funcional en términos evolutivos puede ser útil para comparar diferentes especies o poblaciones de presas y encontrar evidencias de coevolución diferencial entre presa y depredador (Livdhal, 1979; Houck & Strauss, 1985; Juliano & Williams, 1987). Entonces, tanto en términos básicos como aplicados las conclusiones biológicas obtenidas del estudio de respuesta funcional dependen fuertemente de su correcta estimación.

I. leucospoides es uno de los enemigos naturales de los himenópteros sirícidos (*Sirex* y *Urocerus spp.*), que es utilizado en programas de control biológico de plagas de este grupo, tanto clásico como fortuito (Madden, 1988; Corley, 2001). Este parasitoide originalmente fue introducido en Australia y en la actualidad se halla ampliamente distribuido en las plantaciones de pinos donde están presentes estos himenópteros sirícidos. Aunque es capaz de lograr un 40% de parasitismo y se la ha reportado como un exitoso agente de control (Kidd & Jervis, 1996), existen trabajos en donde describen su rol como secundario en comparación con otros enemigos naturales además de cuestionar la ambigüedad de su capacidad regulatoria en la población de su

huésped bajo determinadas condiciones ambientales (Taylor, 1978; Madden, 1981). La mayoría de los esfuerzos en controlar a *S. noctilio* se han basado en la introducción de un nematodo parásito *Deladenus siricidicola* Bedding (Nematoda: Neotylenchidae), y en un intenso manejo silvicultural (Bedding, 1984). El éxito en el control de esta plaga ha sido demostrado en Australia (Taylor, 1978), luego de una introducción simultánea de varios de sus enemigos naturales como así también la implementación de prácticas de manejo forestal con el objetivo de mejorar el estado de las forestaciones. Por lo tanto, no queda claro cuál fue la importancia relativa de los agentes de control individualmente, en la supresión de las poblaciones de *S. noctilio* en ese país. Más aún, sabiendo que esta plaga se distribuye exitosamente en hábitats con climas muy diferentes, el poder predictivo de acciones de control específicas continúa siendo una incógnita.

Numerosos trabajos se han focalizado en el comportamiento de búsqueda de *I. leucospoides* (Chrystal, 1930; Madden, 1968; Spradbery, 1970 a & b). Estos, han demostrado que este parasitoide utiliza claves olfativas para localizar los huevos de *S. noctilio*. Los huevos de esta plaga se hallan, en pequeños grupos dentro de túneles de 1,5 cm de profundidad que se bifurcan a partir de un único agujero de oviposición realizado por la plaga en la corteza del árbol. En una escala mayor, los parasitoides se sienten atraídos por pinos estresados que liberan α y β -terpenos, similar a lo que ocurre con los siricidos (Madden, 1968; 1988). Estos árboles atacados por la avispa de la madera se encuentran agrupados en el campo. Una vez en el árbol elegido estos parasitoides buscan en la corteza agujeros de oviposición realizados por el huésped, utilizando claves asociadas con el hongo simbiote de la plaga (ver Chrystal, 1930; Spradbery, 1974 y cap. I de esta tesis). Una vez descubierto el agujero, y luego de una minuciosa inspección del mismo con sus antenas y punta del ovipositor, el parasitoide puede rechazar o parasitar los huevos introduciendo su ovipositor dentro del agujero de oviposición (ver Introducción: Comportamiento de oviposición; Spradbery, 1970 a). Las hembras de *S. noctilio*, durante la

oviposición, depositan las esporas del hongo cerca de sus huevos. El hongo se desarrolla dentro del árbol y descompone la madera que luego será utilizada como alimento por las larvas de *S. noctilio* (Madden, 1968; Spradbery, 1970 a & b). El hongo *per se* actúa como un arrestante y attractante de este parasitoide (ver cap. I; Madden, 1968, Martínez *et al.*, en prep.).

II.2. Objetivos e hipótesis

En esta sección, estimé la respuesta funcional de *I. leucospoides* sobre su huésped, *S. noctilio*.

Dado que el sistema *S. noctilio* – *I. leucospoides* es claramente persistente, mi hipótesis experimental es que a bajas densidades de huéspedes *I. leucospoides* producirá una mortalidad denso – dependiente directa. Por lo tanto espero que *I. leucospoides* presente una respuesta de tipo III sobre su huésped.

II.3. Materiales y métodos

Experimento

El experimento lo diseñé para medir la respuesta funcional de *I. leucospoides* de la manera más parecida a las condiciones naturales (Fernández Arhex & Corley, 2004). El mismo consistió en exponer dentro de una jaula (1 x 0,40 m²) una hembra parasitoide, recientemente emergida (< 48 hs), en trozas de *P. contorta* de 0,5 m de longitud (el diámetro variaba entre 9,5 a 11 cm) (foto II.1). Las trozas presentaban agujeros de oviposición de la plaga y los experimentos fueron realizados a temperatura ambiente (26,2 ± 0,2 °C) y bajo condiciones naturales de iluminación.



Foto II.1. Diseño experimental para medir respuesta funcional en *I. leucospoides* (foto de la autora, 25 X).

Las densidades de huéspedes (*i.e.* los tratamientos) que utilicé fueron de 2, 4, 6, 10 y 14 agujeros de oviposición por troza. Se usaron bajas densidades dado que precisamente a esas densidades es donde se puede distinguir entre una curva hiperbólica de una sigmoidea. Cada tratamiento lo repliqué 10 veces, en cada caso cambiando los parasitoides y las trozas. El experimento consistió en exponer una hembra parasitoide por troza, la cual la observé continuamente hasta que abandonaba la troza volando hacia una de las paredes de la jaula y no retornaba a ella pasados los 5 min. (foto II.1). En este experimento no utilicé un tiempo fijo (*i.e.* preestablecido por el experimentador), sino que dejé la libre elección del parasitoide de cuándo abandonar la troza, de esta manera pude reflejar el comportamiento del parasitoide sin interrupción (*i.e.* tiempo variable). Las variables que medí por ensayo fueron, el número de agujeros de huéspedes visitados y atacados, y el tiempo total de permanencia en la troza. El análisis de estas variables tiene por objeto intentar responder: (a) ¿cuál es la forma de la respuesta funcional de *I. leucospoides*? y (b) ¿cuáles son los parámetros que mejor describen la función de la curva respuesta?

Las trozas con huéspedes las obtuve liberando una hembra de *S. noctilio* adulta (por réplica) en las trozas de pino y las dejaba oviponer hasta que obtenía la densidad de agujeros deseada. Resulta muy difícil saber si la oviposición es exitosa o no, debido a que los huevos son depositados dentro de la madera a partir de un único agujero de oviposición (el número de huevos que se encuentran por agujero es de 0 a 3) (Madden, 1974). Por lo tanto, consideré exitosos aquellos agujeros en donde la avispa de la madera insertaba completamente su ovipositor, y de esta manera obtenía (al menos) un huevo y esporas del hongo por agujero (ver Madden, 1968; 1974). Observé a las hembras sin interrupción y cada agujero de oviposición fue marcado con corrector blanco de escritura (tipo *liquid – paper*).

Cuando ofrecí a los parasitoides los troncos infestados con sirícidos, estos caminaron sobre la corteza de la troza explorándola con las puntas de sus antenas. Una vez que la avispa encontraba un agujero de oviposición, detenía su búsqueda y lo exploraba con sus antenas. Si el parasitoide se encontraba estimulado, retraía sus antenas del agujero e introducía su ovipositor dentro del mismo. Como la duración de la oviposición es variable dependiendo de la profundidad del agujero y el número de huevos del huésped (Chrystal, 1930; Spradbery, 1970 a y b), consideré un ataque exitoso en el agujero del huésped cuando el parasitoide permanecía más de 2 min en él, Spradbery (1970 a) demostró que las especies de *Ibalia* cuando permanecen menos de 2 min en los agujeros de los huéspedes, es porque tan sólo prueban la calidad de estos agujeros o porque no hay huevos de sirícidos en él. Una vez que el parasitoide acepta el agujero de oviposición, ataca todos los huevos que se encuentran en él. Generalmente un sólo huevo parasitoide es depositado por huevo de huésped (Chrystal, 1930; Spradbery, 1970 a).

Análisis estadístico

Siguiendo los trabajos de Trexler *et al.* (1988) y Juliano (1993), para distinguir entre una curva de tipo II (hiperbólica) de una tipo III (sigmoidea) usé la regresión logística, que analiza la proporción de huéspedes parasitados en función de la densidad de huéspedes ofrecidos (SAS Institute Inc., 1999). De esta manera evito el problema de no poder discriminar, a bajas densidades de la presa, entre una curva de tipo II y III. Si la proporción de huéspedes parasitados desciende monotónicamente con la densidad de huéspedes ofrecidos resulta una respuesta de tipo II, en cambio si aparece una región densodependiente positiva con la densidad de huéspedes ofrecidas la respuesta resultante es una de tipo III (figura II.1). El signo del coeficiente lineal estimado por la regresión logística es el que nos indica el tipo de respuesta funcional resultante, es decir si es negativo la curva es de tipo II y si es positivo es de tipo III. Luego, estimé los parámetros de la respuesta utilizando una regresión no lineal (ajustada por cuadrados mínimos) del número de huéspedes atacados en función del número de huéspedes disponibles (estimación de *Quasi-Newton*). En este trabajo, para estimar los parámetros tiempo de manipulación (T_m) y tasa de ataque (a), usé la ecuación para parásitos para la curva de tipo III (Hassell, 1978), debido a que la regresión logística indicó una respuesta de este tipo. En esta ecuación,

$$a = (d + bN_0) / (1 + cN_0); \quad (1)$$

b , c y d son constantes y N_0 es el número de huéspedes ofrecidos. Como en este caso, los parámetros c y d no son significativamente diferentes de 0 (*i.e.* 95%, intervalo de confianza),

$$a = bN_0.$$

Por lo tanto, usé la siguiente ecuación,

$$Nat = N_0 * \{1 - \exp[-(b * N_0) * T / (1 + (b * T_m * (N_0)^2))]\}; \quad (2)$$

donde Nat y N_0 son el número de agujeros atacados (*i.e.* huéspedes atacados) y disponibles respectivamente, T_m es el tiempo de manipulación y T es el tiempo total del experimento.

Como utilicé tiempo variable para determinar la respuesta funcional de este parasitoide (Walde & Murdoch, 1988; Fernández-Arhex & Corley, 2003; Fernández-Arhex & Corley, 2004), estimé los parámetros de la respuesta funcional reemplazando el tiempo total (T) de la ecuación 1, por la siguiente ecuación,

$$T = P_1 / (1 + P_2 * \exp(-P_3 * N_0)) + R_0; \quad (3)$$

donde P_1, P_2 y P_3 son constantes (estimados mediante el ajuste de una curva no lineal), y R_0 es el tiempo promedio de residencia del parasitoide en trozas sin agujeros de oviposición (control). En este caso $P_1 = 6136 (\pm 247)$, $P_2 = 35 (\pm 21)$ y $P_3 = 0,75 (\pm 0,13)$ ($r^2 = 0,99$) y $R_0 = 14,08$ min.

Dado que durante los experimentos, pude observar que algunos parasitoides no pudieron encontrar ningún agujero de oviposición, estimé la probabilidad de no encontrar agujeros de oviposición en relación con la densidad de agujeros del huésped.

II.4. Resultados

Los análisis de la regresión logística indicaron que *I. leucospoides* presenta una respuesta funcional de tipo III, es decir que el número de huéspedes parasitados por unidad de tiempo se aceleró con el incremento de la densidad de huéspedes hasta que el tiempo de manipulación del parasitoide limitó su parasitismo (tabla II.1; figura II.2), considerando tiempo variable, donde permití que el parasitoide tuviera la libre elección de cuándo abandonar la troza. Los datos los ajusté a una regresión logística donde el procedimiento básico consistió en evaluar modelos polinomiales sucesivos y sus parámetros, desde una ecuación cúbica. Los resultados demostraron que la ecuación cúbica no resultó estadísticamente significativa, por lo que los ajusté a una ecuación cuadrática (tabla II.1). El parámetro constante (β_0) no fue particularmente informativo, mientras que el lineal (β_1) resultó positivo y significativo, indicando que en la proporción de agujeros atacados existió una región denso-dependiente directa. El tiempo medio

de observación, dependiendo de la densidad del huésped, varió desde 32 min. hasta 2 hs. Al ser la tasa de ataque función de la densidad de huéspedes ofrecidos, estimé el parámetro b dando 0,0001 ($\pm 0,00008$) y el tiempo de manipulación del parasitoide resultó ser de 12 (± 2) min. por agujero de oviposición ($r^2 = 0,57$). El bajo coeficiente de regresión ($r^2 = 57\%$) indica una alta variación de parasitismo entre las réplicas por densidad de huéspedes.

Tabla II.1. Resultado de la regresión logística de la proporción de los agujeros de oviposición de *S. noctilio* atacados por *I. leucospoides* sobre el número de agujeros ofrecidos.

Parámetro	Estimador	ES	χ^2	P
Constante (β_0)	-1.2167	0.5953	4.18	0.041
Lineal (β_1)	0.3263	0.1503	4.71	0.0299
Cuadrático (β_2)	-0.0179	0.0082	4.74	0.0294

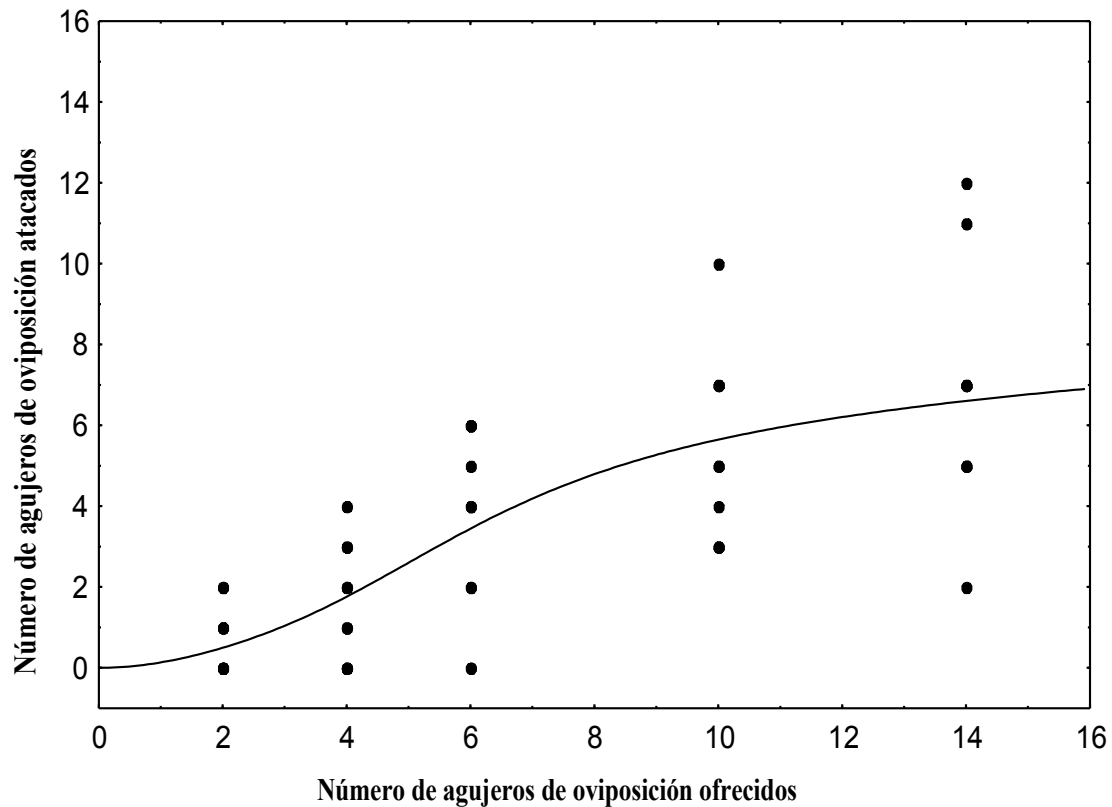


Figura II.2 Respuesta funcional de tipo III del parasitoide *I. leucospoides*. La curva fue ajustada según Hassell (1978). El $n=10$ para cada densidad, pero puntos muy cercanos o superpuestos no se muestran en la figura.

La respuesta funcional de tipo III en *I. leucospoides*, probablemente sea una consecuencia del éxito variable en el encuentro con el huésped. En este experimento, la probabilidad del parasitoide de no atacar ningún huésped varía con la densidad de huéspedes ofrecidos, siendo alta a bajas densidades de huéspedes ($n_2=0,5$; $n_4=0,3$; $n_6=0,2$; $n_{10}=0$; $n_{14}=0$) (figura II.3). La probabilidad observada de no encontrar ningún huésped, estimada por máxima verosimilitud a partir de los datos experimentales, difirió significativamente de lo esperado (*i.e.* probabilidad constante de encuentro con el huésped; $P=0,5^{(N_0)}$; $\chi^2_{19;0,05}=39,47$; $p<0,05$).

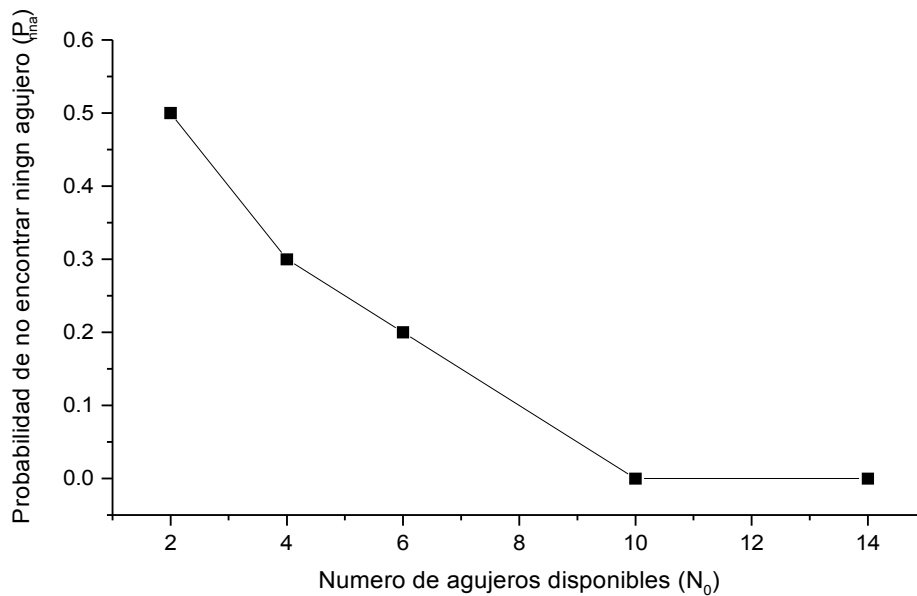


Figura II.3. Probabilidad de no encontrar ningún agujero (P_{nna} =número de veces que no encuentra ningún agujero /número de réplicas) en función del número de agujeros disponibles (N_0). Para cada valor de densidad, se efectuaron diez réplicas.

II.5. Discusión

I. leucospoides presenta una respuesta funcional de tipo III en un experimento que considera el tiempo variable que permite que el parasitoide exprese naturalmente las reglas de comportamiento tanto de búsqueda como de encuentro con el huésped. Las consecuencias poblacionales de una respuesta sigmoidea es el parasitismo denso-dependiente directo hasta cierto valor umbral de huéspedes ofrecidos, y puede contribuir a la persistencia de ambas poblaciones si el promedio de la densidad de huéspedes disminuye por debajo de ese umbral (Hassell *et al.*, 1977). Por lo tanto, los parasitoides que presentan este tipo de respuesta teóricamente pueden contribuir a regular las poblaciones de sus huéspedes, uno de los principales atributos de un agente de control exitoso (*i.e.* control biológico clásico o

umentativo) (see van Lenteren & Bakker, 1976; Hassell, 1978; Pandey *et al.*, 1984; Hughes *et al.*, 1992; Wiedenmann & Smith, 1993; Bernal *et al.*, 1994; Kumar *et al.*, 1994, van Steenis & El-Khawass, 1995; van Alebeek *et al.*, 1996; Berryman, 1999).

Las curvas de tipo III han sido relacionadas, por ejemplo, con el decrecimiento en el tiempo de manipulación al huésped o con un incremento en la tasa de búsqueda en respuesta al aumento del número de huéspedes. Sin embargo, estas curvas han sido observadas en un número limitado de especies parasitoides (Fernández-Arhex & Corley, 2003). Además, en muchos de estos estudios el valor umbral de densidad-dependencia resultó ser bajo en relación con las densidades ofrecidas del huésped y su distribución en el campo. Por ejemplo, Pandey *et al.* (1984) describieron una curva sigmoidea en *Diaeretiella rapae* M'Intosh (Hymenoptera: Aphidiidae) cuando parasita a *Lipaphis erymisi* Kalt (Homoptera: Aphididae), con un cambio de pendiente en los 10 huéspedes ofrecidos (rango de densidad de huéspedes testados 1-200). Existen otros ejemplos con respuestas de tipo III con bajos valores de umbral como los hallados por van Steenis & El-Khawass (1995) en la avispa *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) y su huésped *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). En este estudio, el valor el umbral resultó ser en 11,9 huéspedes por hoja, siendo las densidades estudiadas 0-100).

En *I. leucospoides*, la pendiente de la curva sigmoidea cambió a densidades de huéspedes menores a 5 agujeros de oviposición por troza (figura II.2). En este sentido, la contribución de una respuesta de tipo III a la regulación de la población de la plaga se ve limitada a bajas densidades de huéspedes.

La curva de respuesta III que nuestro aquí, como mencioné anteriormente, es una consecuencia del éxito variable en la búsqueda de los huéspedes (Collins *et al.*, 1981). La eficiencia de búsqueda de los parasitoides está determinada principalmente por la capacidad de éstos en

detectar evidencias de la presencia de huéspedes en un parche. La localización del huésped generalmente está influenciada por la detección de una determinada intensidad de un estímulo químico asociado con el huésped (*i.e.* kairomonas), la cual es usualmente proporcional a la densidad del huésped (Chiri & Legner, 1982; Vet *et al.*, 1995; Kumar *et al.*, 1994; Vet *et al.*, 2002). El éxito de *I. leucospoides* en encontrar al huésped estaría determinado por su habilidad en detectar olores derivados del hongo simbiote del huésped (ver cap. I; Madden, 1968; Martinez *et al.*; en prep.). Mediante la presencia y desarrollo de este hongo, el parasitoide es capaz de detectar huéspedes en un tronco, determinar su desarrollo y posiblemente su abundancia (ver cap. I; Madden, 1968; Bettinelli, 2001; Martinez *et al.*, en prep.). El fracaso de algunos de los parasitoides en encontrar a estos huéspedes escondidos dentro del tronco (más aún cuando se encuentran a bajas densidades) puede deberse a que existe cierto umbral de detección de la intensidad de químicos asociados al huésped, que es proporcional a la abundancia del mismo presente en un parche (Vet *et al.*, 2002). En este trabajo, pude observar que *I. leucospoides* fracasa más en encontrar a su huésped cuando éste está a muy bajas densidades más que a altas.

Algunos autores han hecho hincapié en la importancia de la eficiencia de búsqueda de los parasitoides relacionándola con la densidad del huésped y la forma de la respuesta funcional (e.g. Ives *et al.* 1999). A altas densidades de huéspedes, los parasitoides generalmente permanecen ocupados parasitando y tan sólo abandonan un dado parche luego de atacar a la mayoría de los huéspedes disponibles en él. Mientras que a bajas densidades de huéspedes, donde el número de huéspedes sanos es mucho menor, los parasitoides tienden a abandonar más rápido el parche que a altas concentraciones, debido a la menor concentración de sustancias volátiles atractivas (van Lenteren *et al.*, 1976).

La variable “encuentro con el huésped” es central en el estudio de la respuesta funcional, debido

a que muchos parasitoides buscan a sus huéspedes que están escondidos y/o distribuidos en parches. La curva de respuesta funcional en *I. leucospoides* probablemente sea una consecuencia de la ineficiencia de descubrir a sus huéspedes cuando estos están a bajas densidades. Además, la curva de tipo III presenta una zona de denso-dependencia por debajo de los 5 huéspedes por troza. Debido a que los huéspedes están altamente agregados en el campo (obs. pers.), la contribución de la respuesta de tipo III para regular la población y el control biológico probablemente sea mínimas.

Sección II

Explotación del recurso

Capítulo III

La respuesta funcional de parasitoides y sus implicancias en el control biológico



III.1. Introducción

La abundancia y distribución de las poblaciones de especies animales se encuentran reguladas por sus enemigos naturales (depredadores, parásitos/parasitoides, patógenos y/o competidores). Estas interacciones biológicas se ven limitadas o perjudicadas en los ecosistemas perturbados, y en consecuencia ciertas especies pasan a considerarse plagas. En control biológico se intenta restaurar esta regulación mediante la introducción o el incremento de los enemigos naturales de la plaga. Una de las ventajas de los enemigos naturales es su condición de ser presa - específicos pero la desventaja es que usualmente no erradican a la especie plaga. Por lo tanto, el control biológico se utiliza para reducir la abundancia de la plaga por debajo del umbral de daño económico y que esta reducción pueda permanecer a lo largo del tiempo es un objetivo primario (Gullan & Cranston, 2000).

Dentro del control biológico existen diversas estrategias para controlar a una especie plaga, las cuales son empleadas para maximizar la eficiencia de los enemigos naturales. Estas técnicas varían de acuerdo al tipo de plaga, su origen, y la naturaleza del ecosistema cultivado. Se las clasifican del siguiente modo (Speight *et al.*, 1999):

- **Clásico:** consiste en la importación y establecimiento de los enemigos naturales de plagas exóticas. Mediante esta estrategia se pretende lograr, con la menor asistencia posible, el control de la especie blanco. Esta forma de control generalmente es utilizada cuando existe una propagación de los insectos fuera de su hábitat natural o bien cuando estos fueron introducidos accidentalmente. Una de las causas de que estos insectos se vuelvan plaga es la ausencia de sus enemigos naturales en las nuevas áreas.

- **Neoclásico:** Este caso involucra la introducción de especies que no son nativas para controlar a especies plaga nativas. Cuando se utiliza este método hay que tener en cuenta que la plaga no ha co-evolucionado con los enemigos importados, por lo tanto esta nueva interacción tiene que ser lo suficientemente efectiva para controlar la plaga. Por otro lado, hay que considerar la posibilidad de que se vuelven una amenaza para las especies no blanco.
- **Aumentativo:** Suplementa o complementa los enemigos naturales ya existentes con liberaciones periódicas de aquellos enemigos que no se han establecido de manera permanente. Sin embargo, luego de la liberación se vuelven efectivos durante un período de tiempo limitado. Las liberaciones periódicas pueden ser realizadas de manera regular durante una temporada. Como resultado la densidad de la población del enemigo natural se ve incrementada gradualmente a un nivel en donde el control de la plaga puede ser muy efectivo.
- **Inoculativo:** Consiste en la liberación periódica de enemigos naturales que son incapaces de sobrevivir indefinidamente y/o incapaces de seguir el rastro del rango de expansión de la plaga. El control depende de la progenie del enemigo natural antes que de la liberación original.
- **Inundativo:** El control se logra mediante liberaciones o aplicaciones de individuos. Este método se asemeja a los insecticidas usados como control. El control es relativamente rápido pero de corto plazo.
- **Conservativo:** El objetivo de este método es el de proteger y/o incrementar las actividades de los enemigos naturales. En ciertos ecosistemas puede involucrar la

preservación de los enemigos naturales ya existentes a través de acciones que minimicen la interrupción de los procesos ecológicos naturales.

Es importante tener en cuenta las limitaciones de los distintos tipos de control biológico. Pese a su popularidad en términos conceptuales, los programas de control biológico de plagas fracasaron con mayor frecuencia de lo que han sido exitosos (Beddington *et al.*, 1978; Hawkins & Cornell, 1999). Esta alta tasa de fracasos puede estar relacionada con la habilidad individual de hallazgo y explotación de las presas-plaga. Por ejemplo en los parasitoides, la inhabilidad de hallar rápida y efectivamente a sus huéspedes cuando éstos se hallan en bajas densidades es un factor de fracaso, cuando las bajas densidades de la plaga no lo son en términos económicos. También, hay que tener en cuenta que un número de fracasos está relacionado con factores operacionales como ser el tiempo y la velocidad de las liberaciones, la calidad y cantidad de los enemigos naturales usados y con el clima y microclima en la zona, habitat o región donde se halla la plaga. Un factor que no debe menospreciarse es la falta de conocimiento teórico suficiente sobre la biología de la plaga, del agente de control y de la interacción entre ambos.

Surge entonces como relevante el tratar de identificar aquellas características de la interacción entre el insecto plaga y su enemigo natural, que permitan predecir un control biológico exitoso (Beddington *et al.*, 1978; Gullan & Cranston, 2000). Un aspecto fundamental del control biológico es la habilidad de un enemigo natural dado (o de un grupo de enemigos naturales) a responder a diferentes densidades poblacionales de la plaga. Específicamente, de incrementar la mortalidad de la plaga frente a aumentos en la densidad poblacional de la misma y así lograr su regulación. Por lo tanto, una propiedad del sistema cuyo estudio resulta relevante en términos aplicados, es la evaluación del comportamiento individual del posible agente de control en respuesta a incrementos en la densidad de su huésped. Este aspecto es el conocido como la **respuesta funcional** del depredador (Huffaker *et al.*, 1971; Berryman, 1999).

A partir del trabajo de Holling (1959), se han realizado numerosos experimentos en diferentes especies como así también trabajos teóricos, relativos a la medición de la respuesta funcional. Los mismos discuten diversos aspectos relacionados al diseño experimental más adecuado para poner en evidencia la forma de la curva de respuesta. Otros aspectos analizados se refieren al tratamiento estadístico de los datos y a los modelos matemáticos que mejor describen el proceso (Livdahl & Stiven, 1983; Houck & Strauss, 1985; Williams & Juliano, 1985; Juliano & Williams, 1987; Trexler *et al.*, 1988; Juliano, 1993; Casas & Hulliger, 1994; Manly & Jamienson, 1999).

Sin embargo, aún hoy no queda claro la importancia de la respuesta funcional en los procesos de depredación y parasitismo, y continúa sin resolverse el paradigma de la relevancia es estos estudios con el éxito en los programas de control biológico (Berryman, 1999; Bernstein, 2000; Hassell, 2000).

En teoría, las curvas que tienen una respuesta de tipo sigmoidea (*i.e.* tipo III) pueden llegar a estabilizar la dinámica poblacional de los sistemas huésped – parasitoide (ver modelo poblacional de Nicholson-Bailey; Nicholson & Bailey, 1935). Esto es debido a que este tipo de respuesta produce, a bajas densidades del huésped, un parasitismo denso - dependiente directo, donde el número de huéspedes atacados por unidad de tiempo se acelera con el aumento de la densidad de huéspedes hasta que el tiempo de manipulación comienza a limitar su consumo (Hassell *et al.*, 1977; Hassell, 1978; Collins *et al.*, 1981; Berryman, 1999; Bernstein, 2000). Por lo tanto los parasitoides que presenten este tipo de respuesta pueden ser potenciales agentes reguladores de las poblaciones de su huésped. Sin embargo los efectos estabilizantes en este tipo de respuesta son relativamente débiles en sistemas acoplados huésped – parasitoide (Hassell & Comins, 1978). Sólo bajo condiciones restrictivas las respuestas sigmoideas pueden, por sí

solas, tener un efecto marcado en la estabilidad de interacciones huésped - parasitoide (Bernstein, 1999). Ejemplos son sistemas donde el retraso en el tiempo es despreciable, está reducido o ausente (*i.e.* sistemas de tiempo continuo; Murdoch & Oaten, 1975) y aquellos en donde la dinámica del parasitoide no está acoplada con la de su huésped (Hassell, 2000).

III.2. Objetivos

El objetivo de esta sección fue analizar críticamente la asociación entre el tipo de respuesta funcional de diversos parasitoides y el éxito en los programas de control biológico de plagas. Las preguntas que me planteé fueron: ¿cuán frecuentemente incorporan el estudio de respuesta funcional de los parasitoides en programas de control biológico?, y ¿cuán frecuentes son las respuestas de tipo III en estos insectos?. Finalmente, busqué relacionar la información disponible al respecto con el éxito de los programas de control biológico.

III.3. Materiales y métodos

Para evaluar los antecedentes relativos a la respuesta funcional en parasitoides, realicé una búsqueda en una base bibliográfica denominada *INGENTA* (www.ingenta.com) y *CURRENT CONTENTS*, para todos los artículos que describen experimentos sobre respuesta funcional en parasitoides, desde aquel de Holling (1959) hasta los aparecidos en el año 2001. Lamentablemente, sé que esta búsqueda tiene un enfoque parcial, ya que por un lado estas bases de datos incluyen las revistas científicas de más difusión y, en consecuencia se pueden perder importantes trabajos publicados en revistas de circulación restringida, técnicas o regionales. Por otro lado, los trabajos recientes son los que aparecen con más facilidad en las bases de datos electrónicas, ya que los artículos publicados hace algunos años o décadas, no siempre están incorporados en las mismas. Para evitar este problema, revisé las referencias bibliográficas de los trabajos obtenidos, a fin de identificar trabajos de mayor antigüedad. Otro problema es que la búsqueda en la base bibliográfica se realiza normalmente en función de unas pocas palabras clave, cuya presencia se detecta en el título, o en el resumen, además de aquellas indicadas por los autores. Por esta razón, es probable que algunas publicaciones pudiesen no haber analizado directamente la respuesta funcional en si misma, pero si contener información relevante. Por último observé que en ciertos estudios o experimentos la calidad de los ensayos y su análisis previene su comparación. *A priori*, asumí que la respuesta funcional publicada de cualquier especie dada representa la verdadera forma de la función.

Para relacionar los estudios de respuesta funcional con el éxito de los programas de control biológico mediante parasitoides, utilicé la base de datos *BIOCAT* (Greathead & Greathead, 1992). De esta forma, estudié si la selección de parasitoides basándome en la forma de su respuesta funcional resultó o no un buen criterio, evaluando en cada caso el éxito o no de un

dado programa de control. Esta base de datos se encuentra disponible en una página de Internet (wdcm.nig.ac.jp/htbin/MSDN/search.cgi), la cual posee información acerca de 4000 programas de control de todo el mundo e incluye una clasificación sobre el resultado del programa empleado que se detalla a continuación (las definiciones fueron extraídas de De Bach, 1971):

Control completo: cuando se eliminó la necesidad de un estricto control de la plaga.

Control sustancial: cuando se minimizó la pérdida económica, posiblemente porque la plaga sea poco importante o el área de control sea mínima, o que sea necesario un control con insecticida.

Control parcial: cuando la introducción de un enemigo natural resultó en la reducción en la frecuencia de estallidos poblacionales (*outbreaks*) de la plaga y/o en la frecuencia de las aplicaciones de pesticidas.

Establecido: cuando el agente de control pudo establecerse en la zona de daño pero no se registró ningún informe acerca del control de la plaga.

Fracaso: cuando el agente de control no logró establecerse en la zona de daño.

Ignorado: cuando se desconoce el resultado de la liberación del agente de control.

Es importante destacar que en el caso en que la misma especie de parasitoide se introdujo para controlar la misma especie de plaga pero en diferentes áreas, consideré sólo el caso de mayor éxito en el resultado de la liberación.

III.4. Resultados y discusión

La respuesta funcional de los parasitoides

La revisión crítica de los antecedentes puso en evidencia el carácter limitado del número de trabajos en los cuales se estudió experimentalmente la respuesta funcional de insectos parasitoides. Encontré sólo 94 artículos sobre la respuesta funcional de estos insectos, publicados entre 1959 y 2001. De éstos, sólo 36 representan estudios experimentales de la respuesta funcional (tabla III.1). En ellos, 28 parasitoides mostraron una respuesta de tipo II, 7 de tipo III y en un caso apareció una respuesta de tipo I. El resto (58 artículos) discuten metodologías o aspectos teóricos.

En su clásico trabajo, Holling (1959) sugirió que sólo las respuestas de tipo III eran características de depredadores vertebrados, debido a que este tipo de curvas surgían típicamente por la capacidad de aprendizaje de los depredadores o por la posibilidad de estos de intercambiar una presa por otra (*switching*). Las respuestas de Tipo II eran típicas de invertebrados depredadores, incluidos los parasitoides. Sin embargo dos trabajos posteriores, van Lenteren & Bakker (1976) y Hassell *et al.* (1977), postularon que existían respuestas de tipo III en parasitoides y que éstas probablemente fueran comunes en esta clase de insectos. Estos autores sugieren que la carencia de trabajos que demuestran respuestas de tipo III en parasitoides, era producto de la falta de estudios adecuados de respuesta funcional (ver también Hassell, 2000). Por ejemplo, van Lenteren & Bakker (1976) sugirieron que la ausencia aparente de estas respuestas en parasitoides es causa de los procedimientos experimentales, donde el número de huéspedes que se dice son bajas densidades, son en la práctica más altas que aquella que se puede observar en el campo. Por otra parte, notaron que los parasitoides pueden emigrar de los

parches cuando, luego de haber permanecido cierto tiempo buscando, no lograron localizar a sus huéspedes. Es decir, que no se ven forzados a permanecer en parches no redituables o una vez finalizada la puesta de huevos. Estos autores demostraron esto, en experimentos con *Pseudocoila bochei* Weld (Hymenoptera: Cynipidae), parasitoide de *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae). En un experimento, los parasitoides fueron dejados con sus huéspedes durante un tiempo fijo (*i.e.* forzándolos a permanecer dentro del parche durante un tiempo preestablecido por los autores). El otro ensayo finalizaba cuando los parasitoides dejaban el parche y no regresaban a él pasado un minuto. A través de estos estudios los autores concluyeron que para que un análisis de respuesta funcional resulte correcto es esencial llevar a cabo observaciones comportamentales.

Por otra parte Hassell *et al.* (1977) argumentaron que el hecho de realizar los experimentos de respuesta funcional en dispositivos simples y pequeños, donde se introduce una gran cantidad de huéspedes, puede resultar en un enmascaramiento de parte del repertorio comportamental de los depredadores invertebrados (incluidos los parasitoides). En este trabajo, los autores primero realizaron 4 experimentos en donde se obtuvo una respuesta sigmoidea en 3 insectos depredadores y en un parasitoide. Un detalle curioso de este experimento es que las curvas de estas respuestas (ajustadas a ojo) fueron obtenidas de diseños simples de laboratorio en donde a un simple depredador se le permitió buscar a sus presas durante un período de tiempo fijo. Adicionalmente, presentaron algunos trabajos previos en donde se demostraban algunos insectos con respuesta funcional de tipo III.

En síntesis los trabajos de van Lenteren & Bakker (1976) y Hassell *et al.* (1977) concluyeron que las alteraciones en los diseños experimentales, como por ejemplo el uso de determinadas densidades de presas, pueden mostrar diferentes resultados con distintas implicancias ecológicas.

Diez años más tarde, Walde & Murdoch (1988) realizaron una revisión sobre denso-dependencia espacial en modelos de interacciones huésped-parasitoide, y además examinaron la evidencia empírica del parasitismo denso-dependiente. En este trabajo discuten, entre otras cosas, los diferentes resultados entre los experimentos de respuesta funcional a tiempo fijo y variable. Cuando los parasitoides están limitados a buscar a sus huéspedes durante un tiempo fijo, éstos generalmente presentan una respuesta de tipo II (Burnett, 1951; Griffiths, 1969; Allen & Gonzalez, 1975; van Lenteren & Bakker, 1978; Collins *et al.*, 1981; Hertlein & Thorarinsson, 1987). En este tipo de experimentos raramente es observado el comportamiento del parasitoide, pero el desaceleramiento de la curva se atribuye a un aumento en el tiempo de manipulación o a la limitante de huevos (Collins *et al.*, 1981). Por otro lado, los mecanismos que producen respuestas aceleradas (tipo III) a tiempo fijo, incluyen un decrecimiento en el tiempo de manipulación o un aumento en la tasa de búsqueda en respuesta a un incremento en la densidad de huéspedes. Un ejemplo de lo primero lo demostraron Collins *et al.* (1981) en *Aphelinus* sp. A su vez, Takahashi (1968) sugirió que un incremento en el tiempo empleado en buscar a sus huéspedes cuando éstos son abundantes es lo que explica la respuesta sigmoideal en el ichneumonido *V. canescens*.

Un importante componente del comportamiento de parasitoides es omitido en los experimentos de tiempo fijo (van Lenteren & Bakker, 1976; 1978). Esto es el comportamiento asociado a la agregación, es decir la tendencia del parasitoide a permanecer más tiempo en parches donde hay más huéspedes (Walde & Murdoch, 1988, Corley 1999).

Los experimentos a tiempo variable, por su parte, tienden a producir curvas tanto de tipo I como de tipo III (Matsumoto & Huffaker, 1974; Oaten, 1977; van Lenteren & Bakker, 1978; Collins *et al.*, 1981; Morrison, 1986; Hertlein & Thorarinsson, 1987). Por ejemplo, si un parasitoide busca

a sus huéspedes durante un tiempo constante en cada parche, éste permanecerá más tiempo en aquellos parches con mayor cantidad de huéspedes, debido a que encontrará más huéspedes por tiempo de búsqueda y los manipulará por más tiempo. Por lo tanto, el tiempo total en el parche incrementará linealmente con el número de presas presentes en el parche (respuesta de tipo I; Hertlein & Thorarinsson, 1987). Alternativamente, si el parasitoide busca mayormente en áreas más resguardadas, el tiempo de búsqueda y por ende el tiempo total en el parche incrementará con el número de presas, y en este caso el parasitismo será densodependiente (Hassell & May, 1974; Murdoch & Oaten, 1975). Bajo estas circunstancias, el tiempo total de permanencia en el parche se verá aumentado con el número de huéspedes presentes en él. Un ejemplo de esto se ha observado en *Trichogramma* sp., parasitoides que permanecen más tiempo buscando a sus huéspedes en parches con mayor densidad de los mismos, obteniendo así una respuesta de tipo III (Morrison, 1986).

Otra de las razones por las cuales se puede detectar una respuesta de tipo III en parasitoides, es cuando existe una complejidad espacial dentro del parche. Naturalmente, esto resulta muy difícil incluirlo en los experimentos de laboratorio (Walde & Murdoch, 1988). Sin embargo, algunos autores han demostrado que la distribución espacial de los huéspedes dentro del parche puede afectar el parasitismo (Burnett, 1958a,b; Madden & Pimentel, 1965; Cheke, 1974). Por ejemplo, el parasitismo provocado por *E. formosa* resultó mayor cuando los huéspedes se distribuyeron de manera agregada en el parche que si lo hubiesen hecho al azar (Burnett, 1958a). A su vez, Burnett (1958_b) también observó que si aumentaba el tamaño de la arena experimental (*i.e.* distancia entre huéspedes) la respuesta del parasitoide podía cambiar desde una curva de tipo I a una de tipo III.

La variabilidad en la probabilidad de ataque en los parasitoides también puede afectar el tipo de respuesta funcional (Ives *et al.*, 1999). Durante la búsqueda no todos los huéspedes tienen la

misma probabilidad de ser atacados. Estos autores estimaron la respuesta funcional de *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) parasitando al áfido de las arvejas *Acyrtosiphon pisum* Harris (Homoptera: Aphididae), y midieron la variabilidad en el número de huéspedes atacados por parasitoide, tanto dentro como entre las plantas. Los resultados demostraron que la eficiencia de búsqueda de estos parasitoides decrece cuando menor es el promedio de áfidos por planta, transformando una respuesta de tipo II en una de tipo I.

Desde van Lenteren & Bakker (1976) y Hassell *et al.* (1977), han sido reportados 5 casos de parasitoides con una respuesta de tipo III (ver tabla III. 1). Esto, considerando el limitado número de trabajos (4) que siguieron a Trexler *et al.*(1988), quienes mostraron métodos estadísticos más apropiados para poder distinguir entre una curva hiperbólica de una sigmoidal. De éstos últimos, sólo 2 presentaron una respuesta de tipo II (Molumby, 1995; Hoddle *et al.*, 1998), 1 de tipo III (Fernández –Arhex & Corley, 2005) y 1 de tipo I (Hoddle *et al.*, 1998).

Dos aspectos comportamentales que conducen a una respuesta de tipo III, son el *switching* y el aprendizaje y se sabe que estos ocurren en los insectos parasitoides (Cornell, 1976; Cornell & Pimentel, 1978; Turlings *et al.*, 1993). No obstante las respuestas de tipo II han aparecido aún en trabajos más recientes (Hoddle *et al.*, 1998; Liu & Sengonca, 1998; Ives *et al.*, 1999; Sagarra *et al.*, 2000; Greenberg *et al.*, 2001). Estos resultados probablemente indiquen que, aún con las herramientas estadísticas más apropiadas, con mejores, más completos y naturales diseños experimentales, las respuestas funcionales de tipo II en los insectos parasitoides son más comunes que las de tipo III.

La respuesta funcional en parasitoides y su éxito en el control biológico

Muchos trabajos han relacionado teóricamente los estudios de respuesta funcional con el control biológico (ver van Lenteren & Bakker, 1976; Hassell, 1978; Pandey *et al.*, 1984; Hughes *et al.*, 1992; Wiedenmann & Smith, 1993; Bernal *et al.*, 1994; Kumar *et al.*, 1994; van Steenis & El-Khawass, 1995; van Aleebeck *et al.*, 1996; Berryman, 1999). La capacidad de los parasitoides o depredadores de localizar a sus presas cuando éstas se encuentran a bajas densidades se ha vuelto uno de los criterios de selección de los candidatos para un control biológico clásico (van Lenteren, 1986; van Aleebeck *et al.*, 1996). Esto se debe a que los depredadores que exhiben una respuesta sigmoidal son capaces de regular a sus presas (Bernal *et al.*, 1994).

El resultado de la revisión de la literatura sobre la respuesta funcional junto con la base de datos *BIOCAT*, arrojó que sólo en 32 de las 94 publicaciones trataron experimentalmente la respuesta funcional de los parasitoides utilizados para el control biológico. De esos 32 trabajos, excepto por 4 especies (ver tabla III.1) los restantes parasitoides fueron utilizados como agentes de control de plagas agrícolas y forestales. La respuesta de tipo III solamente se reporta para 6 especies y de éstas tan sólo 4 (*Aphidius uzbeckistanicus*, *Aphidius salicis*, *Aphidius colemani* e *I. leucospoides*) resultaron exitosas para controlar a su respectiva plaga.

Por su parte, entre los 25 casos restantes, que presentaron una respuesta de tipo II y fueron usados en control biológico, solamente 4 especies resultaron exitosas, y una fue reportada como responsable del control parcial de la plaga. Tres especies lograron establecerse en la zona de daño, pero hay que tener en cuenta que esto no significa que hayan podido controlar a las plagas.

Tabla III.1. Respuesta funcional de insectos parasitoides y su éxito como agentes de control biológico.

Parasitoide	Huésped	Respuesta funcional	Éxito en control biológico	Fuente
<i>Dahlbominus fuscipennis</i> (Hym.: Eulophidae)	<i>Neodiprion sertifer</i> (Hym.: Diprionidae)	II	P	Burnett, 1951

<i>Venturia canescens*</i> (Hym.: Ichneumonidae)	<i>Cadra cautella</i> (Lep.: Pyralidae)	III	–	Takahashi, 1968
<i>Pleolophus basizonus</i> (Hym.: Ichneumonidae)	<i>Neodiprion sertifer</i> (Hym.: Diprionidae)	II	E	Griffiths, 1969
<i>Aphidius uzbekistanicus</i> (Hym.: Aphidiidae)	<i>Hylopteroides humilis</i> (Hom.: Aphididae)	III	S	Hassell <i>et al.</i> , 1977
<i>Pseudeucoila bochei*</i> (Hym.: Cynipidae)	<i>Drosophila melanogaster</i> (Dip.: Drosophilidae)	II	–	Van Lenteren & Bakker, 1978
<i>Aphelinus thomsoni</i> (Hym.: Aphelinidae)	<i>Drepanosiphum platanoidisi</i> (Hom.: Aphididae)	II	F	Collins <i>et al.</i> , 1981
<i>Diadegma fenestralis</i> (Hym.: Ichneumonidae)	<i>Plutella xylostella</i> (Lep.: Yponomeutidae)	II	F	Waage, 1983
<i>Agriotypus armatus*</i> (Hym.: Agriotypidae)	<i>Silo pallipes</i> (Trich.: Goeridae)	II	–	Elliot, 1983
<i>Ephedrus cerasicola</i> (Hym.: Aphidiidae)	<i>Myzus persicae</i> (Hom.: Aphididae)	II	?	Hosvang & Hågvar, 1983
<i>Diaeretiella rapae</i> (Hym.: Aphidiidae)	<i>Lipaphis erysimi</i> (Hom.: Aphididae)	III	?	Pandey <i>et al.</i> , 1984
<i>Telenomus reynoldsi</i> (Hym.: Scelionidae)	<i>Geocoris spp</i> (Het.: Lygaeidae)	II	?	Cave & Gaylor, 1987
<i>Cephalonomia waterstoni</i> (Hym.: Bethyidae)	<i>Cryptolestes ferrugineus</i> (Col.: Cucujidae)	II	?	Flinn, 1991
<i>Lariophagus distinguendus</i> (Hym.: Pteromalidae)	<i>Sitophilus oryzae</i> (Col.: Curculionidae)	II	?	Hong & Ryoo, 1991
<i>Aphidius rhopalosiphii</i> (Hym.: Aphidiidae)	<i>Metopolophium dirhodum</i> (Hom.: Aphididae)	II	S	Hughes <i>et al.</i> , 1992
<i>Aphidius salicis</i> (Hym.: Aphidiidae)	<i>Cavariella aegopodi</i> (Hom.: Aphididae)	III	S	Hughes <i>et al.</i> , 1992
<i>Aphidius sonchi</i> (Hym.: Aphidiidae)	<i>Hyperomyzus lactucae</i> (Hom.: Aphididae)	II	E	Hughes <i>et al.</i> , 1992
<i>Trioxys complanatus</i> (Hym.: Aphididae)	<i>Therioaphis trifolii</i> (Hom.: Aphididae)	II	S	Hughes <i>et al.</i> , 1992
<i>Microcharops anticarsiae</i> (Hym.: Ichneumonidae)	<i>Anticarsia gemmatalis</i> (Lep.: Noctuidae)	II	?	Patel & Habib, 1993
<i>Diaeretiella rapae</i> (Hym.: Aphidiidae)	<i>Diuraphis noxia</i> (Hom.: Aphididae)	II	?	Bernal <i>et al.</i> , 1994
<i>Encarsia formosa</i> (Hym.: Aphelinidae)	<i>Bemisia tabaci</i> (Hom.: Aleyrodidae)	II	?	Enkegaard, 1994
<i>Campoletis chloridae</i> (Hym.: Ichneumonidae)	<i>Heliothis armigera</i> (Lep.: Noctuidae)	III	F	Kumar <i>et al.</i> , 1994
Parasitoide	Huésped	Respuesta funcional	Éxito en control biológico	Fuente
<i>Melittobia femorata*</i> (Hym.: Eulophidae)	<i>Trypoxylon politum</i> (Hym.: Sphecidae)	II	–	Molumby, 1995
<i>Aphidius colemani</i> (Hym.: Braconidae)	<i>Aphis gossypii</i> (Hom.: Aphididae)	III	S	Van Steenis & El-Khawass, 1995
<i>Encarsia formosa</i> (Hym.: Aphelinidae)	<i>Trialeurodes ricini</i> (Hom.: Aleyrodidae)	II	?	Shishehbor & Brennan, 1996
<i>Uscana lariophaga</i> (Hym.: Trichogrammatidae)	<i>Callosobruchus maculatus</i> (Col.: Bruchidae)	II	?	Van Alebeek <i>et al.</i> , 1996
<i>Cardiochiles philippinensi</i> (Hym.: Braconidae)	<i>Cnaphalocrocis medinalis</i> (Lep.: Pyralidae)	II	?	Zhang <i>et al.</i> , 1996
<i>Encarsia formosa</i> (Hym.: Aphelinidae)	<i>Trialeurodes vaporariorum</i> (Hym.: Aleyrodidae)	II	S	Van Roermund <i>et al.</i> , 1997
<i>Encarsia formosa</i> (Hym.: Aphelinidae)	<i>Bemisia argentifolii</i> (Hom.: Aleyrodidae)	II	?	Hoddle <i>et al.</i> , 1998
<i>Eretmocerus eremicus</i> (Hym.: Aphelinidae)	<i>Bemisia argentifolii</i> (Hom.: Aleyrodidae)	I	?	Hoddle <i>et al.</i> , 1998

<i>Eretmocerus longipes</i> (Hym.: Aphelinidae)	<i>Aleurotuberculatus takahashi</i> (Hom.: Aleyrodidae)	II	?	Liu & Sengonca, 1998
<i>Aphidius ervi</i> (Hym.: Braconidae)	<i>Acyrtosiphon pisum</i> (Hom.: Aphididae)	II	E	Ives <i>et al.</i> , 1999
<i>Anagyrus kamali</i> (Hym.: Encyrtidae)	<i>Maconellicoccus hirsutus</i> (Hom.: Pseudococcidae)	II	S	Sagarra <i>et al.</i> , 2000
<i>Encarsia pergandiella</i> (Hym.: Aphelinidae)	<i>Bemisia argentifolii</i> (Hom.: Aleyrodidae)	II	?	Greenberg <i>et al.</i> , 2001
<i>Eretmocerus mundus</i> (Hym.: Aphelinidae)	<i>Bemisia argentifolii</i> (Hom.: Aleyrodidae)	II	?	Greenberg <i>et al.</i> , 2001
<i>Mastrus ridibundus</i> (Hym.: Ichneumonidae)	<i>Cydia pomonella</i> (Lepidoptera: Tortricidae)	II	?	Bezemer & Mills, 2001
<i>Ibalia leucospoides</i> (Hym.: Ibalidae)	<i>Sirex noctilio</i> (Hym.: Siricidae)	III	S	Fernández -Arhex & Corley, 2005.

S= éxito, incluye control completo y sustancial, E= establecido, P= control parcial, F= fracaso, ?= se ignora el resultado (no aparece en *BIOCAT*), *= el parasitoides no fue usado como agente de control.

El éxito parece no estar directamente relacionado con el tipo de respuesta funcional. Ambos tipos de respuesta (II y III) se relacionan de una manera similar cierto grado de éxito (*i.e.* incluyendo en el análisis el control parcial y el establecido; prueba de Fisher, $\alpha=0,05$; $p>0.05$). Sin embargo, cuando excluyo los fracasos, debido a que están más relacionados con otros aspectos más que con la explotación del huésped, pude observar que muchas de las especies que presentan una respuesta de tipo II lograron establecerse pero sin mostrar un control exitoso (lograron establecerse o controlar parcialmente el daño; figura III.1). El establecimiento sin control, puede deberse a la inhabilidad del agente de control para con un rápido encuentro con su huésped, especialmente cuando el mismo se encuentra a bajas densidades. Por otro lado, es importante destacar que entre los escasos casos con respuesta de tipo III, todas las especies que lograron establecerse controlaron exitosamente a la plaga (figura III.1).

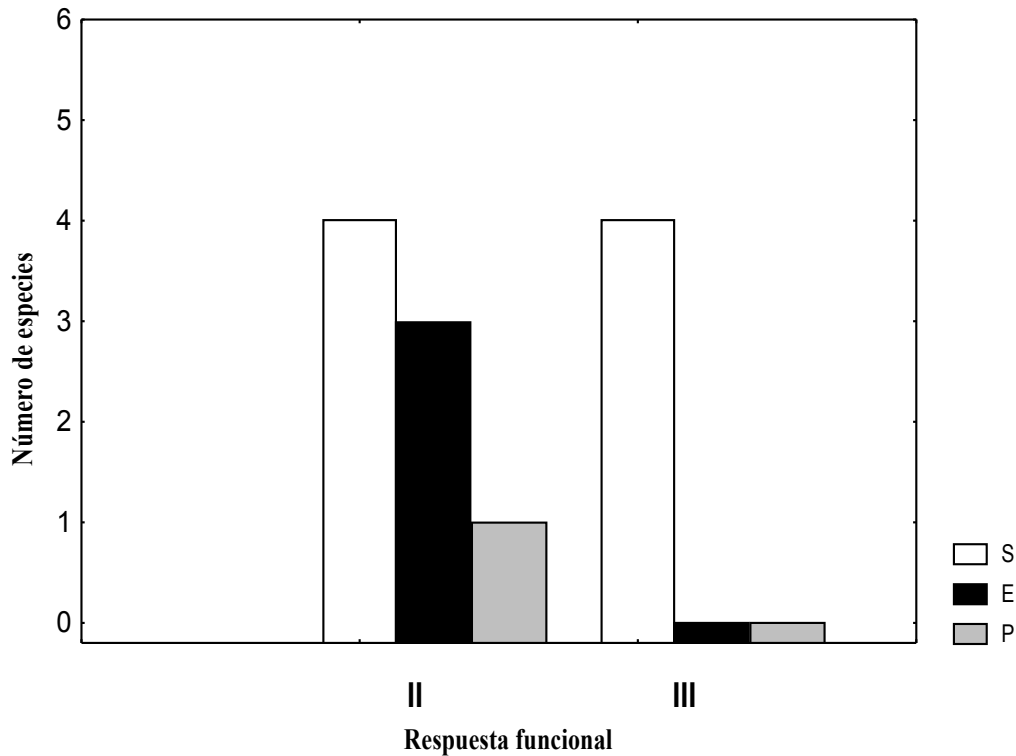


Figura III.1. Resultado del control biológico de las introducciones de los parasitoides a quienes se les estudió la respuesta funcional. Barras blancas muestran los casos exitosos (S), las barras en negro son los casos establecidos (E) y las blancas muestran los casos reportados de control parcial (P).

III.5. Conclusión

Según la teoría, la respuesta funcional ha sido considerada un componente esencial en la selección de agentes de control (ver van Lenteren & Bakker, 1976; Hassell, 1978; Pandey *et al.*, 1984; Hughes *et al.*, 1992; Wiedenmann & Smith, 1993; Bernal *et al.*, 1994; Kumar *et al.*, 1994; van Steenis & El-Khawass, 1995; van Alebeek *et al.*, 1996; Berryman, 1999). Los parasitoides que presenten una respuesta de tipo III, pueden contribuir a la regulación de la población del huésped.

Este trabajo sugiere que probablemente las respuestas de tipo III no sean comunes en los insectos parasitoides y que el éxito de los programas de control biológico no esté relacionado con el tipo de curva funcional que presenten. La mayoría de los trabajos empíricos publicados indican que las respuestas de tipo II son más frecuentes en insectos parasitoides (pero ver Hassell, 2000).

Sin embargo hay ciertos aspectos a tener en cuenta. Primero y principal es que a la respuesta funcional por si sola, no se le puede atribuir el éxito o fracaso de un programa de control biológico. Bajo las condiciones bióticas y abióticas muy variables en donde el control biológico usualmente debe implementarse, otros aspectos son más importantes en determinar su éxito. Por ejemplo, son importantes la tasa de crecimiento intrínseca tanto de plaga como del parasitoide, la depredación y competencia del agente de control, las características del huésped (*e.g.* su nicho ecológico), la complejidad ambiental del sistema en estudio, los umbrales económicos determinados y las prácticas agrícolas que se ejercen en el lugar. Estos factores pueden interactuar con la respuesta funcional y transformarla en un débil indicador de la calidad de un agente de control biológico.

Es necesario aclarar que no todos los estudios de respuesta funcional considerados en este trabajo son comparables, tanto en los diseños experimentales como en el análisis estadístico y el modelo empleado. Los resultados de las respuestas funcionales pueden estar sobrestimando curvas de tipo II. Ciertos trabajos han sugerido que los experimentos a tiempo fijo (limitados por el experimentador) pueden estar forzando el comportamiento individual del parasitoide a una respuesta de tipo II (van Lenteren & Bakker, 1976; Walde & Murdoch, 1988; Ives *et al.*, 1999). Más aún, los datos que se usaron para ajustar la ecuación para una curva de tipo II pueden ser ajustados en ecuaciones para una respuesta de tipo III, sobre todo en los trabajos más antiguos en donde fueron utilizadas herramientas estadísticas menos precisas.

Por lo demostrado hasta el momento, sigue abierta la pregunta sobre la frecuencia de respuestas funcionales de tipo III en parasitoides. Futuros trabajos mejor diseñados, bajo condiciones más realistas y junto con el uso de herramientas estadísticas apropiadas para su determinación, van a poder proveer mejores evidencias a este cuestionamiento. Igualmente, según los resultados que obtuve en este trabajo, creo que la teoría de los programas de control biológico se beneficiaría poco con el estudio de la respuesta funcional. Hay que tener en cuenta otros estudios más importantes sobre la ecología del agente de control para evaluar su éxito. Por ejemplo, considerar la interacción comportamental tanto intra como interespecífica, y realizar estos experimentos bajo condiciones más realistas (*i.e.* similares a las del campo) Sin embargo, hay que tener en cuenta que los insectos parasitoides son comunes en la naturaleza y que pueden influir en la dinámica de poblaciones de especies tanto fitófagas como xilófagas. Por lo tanto estudios comportamentales individuales que detallan la mortandad causada a sus huéspedes continúa y continuará siendo un tema de gran relevancia en la ecología de los insectos.

En el capítulo anterior (*i.e.* cap. II) demostré que *I. leucospoides* presenta una respuesta funcional de tipo III, y esto podría ser considerado como un factor de regulación importante de la dinámica de población de *S. noctilio*. Sin embargo, esta revisión sugiere que otros factores podrían ser más importantes para regular la población de la plaga. Por ejemplo, factores como la competencia intraespecífica de *I. leucospoides* (ver cap. IV), la eficiencia del parasitoide en detectar la intensidad de hongo asociado al huésped, y los eventos climáticos.

Sección II

Explotación del recurso

Capítulo IV

Interferencia intraespecífica



IV.1. Introducción

En las últimas décadas, uno de los temas que ha recibido mayor atención dentro de la ecología, es el estudio acerca de cómo influyen el comportamiento de los individuos huéspedes y de sus parasitoides sobre la dinámica poblacional de ambas especies (*e.g.* Hassell, 1975; Beddington *et al.*, 1978; Vinson & Iwantsch, 1980; May *et al.*, 1981; Hassell & May, 1985; Bernstein, 1986; Beckage & Riddiford, 1993; Getz, 1996; Harvey, 1996). Los parasitoides, por un lado, resultan perjudiciales para sus huéspedes, pero a su vez dependen de su persistencia para la propia supervivencia.

A diferencia de los depredadores, los insectos parasitoides no remueven los huéspedes atacados de su hábitat y en consecuencia, es posible que huéspedes parasitados sean reencontrados e incluso superparasitados. Las hembras de la mayoría de las especies tienen la capacidad de distinguir los huéspedes parasitados, tanto por ellas mismas como por con-específicos (Salt, 1961, Visser *et al.*, 1990).

El super-parasitismo es un fenómeno común en la naturaleza, aún en los insectos parasitoides solitarios donde sólo existe una descendencia por huésped (Salt, 1961). Durante mucho tiempo, se consideró al super-parasitismo como un comportamiento no adaptativo (van Lenteren, 1976; Huffaker & Matsumoto, 1982). Pero, trabajos más recientes, sugieren su valor adaptativo al elaborar mecanismos más complejos en relación con la disponibilidad de huéspedes a parasitar (ver Bakker *et al.*, 1985; van Alphen & Visser, 1990). Por ejemplo, el super-parasitismo puede ser adaptativo en especies en donde el último huevo depositado en el huésped sea aquel que llegue a adulto (van Alphen & Visser, 1990).

En esencia, la selección a favor del super-parasitismo por con-específicos es proporcional a la probabilidad de que un huevo depositado resulte en un nacimiento exitoso. El éxito depende entonces del número de huevos presentes en el huésped y del intervalo de tiempo transcurrido entre oviposiciones. En cambio el valor adaptativo del auto-super-parasitismo (se considera nulo), dado que una vez que se ha parasitado y superparasitado el huésped por el mismo individuo, siempre dará lugar a un sólo nacimiento (ver Visser *et al.*, 1990). Sin embargo, algunos trabajos han demostrado que no siempre el auto-super-parasitismo es negativo o nulo (van Alphen, 1988; Visser *et al.*, 1990). Por ejemplo, puede ser ventajoso auto-super-parasitar cuando los huéspedes hayan sido atacados en otra instancia por otros individuos (van Alphen, 1988; Visser *et al.*, 1990). Las diferencias de éxito entre el auto-super- y super-parasitismo por con-específicos, está dado por el número de parasitoides que se encuentran en el parche. Esto es porque las decisiones de aceptación o rechazo de huéspedes y la permanencia en el parche están influenciadas por el número de parasitoides forrajeando dentro de un mismo parche (Visser *et al.*, 1990).

Dos hipótesis se han propuesto para explicar el tiempo óptimo de residencia en un parche con con-específicos. Por un lado, van Alphen (1988) demostró que el tiempo de permanencia en un parche de un animal forrajeando simultáneamente con sus competidores depende del tiempo que los otros individuos están dispuestos a permanecer en ese parche. Esto sugiere una “guerra de desgaste” cuando buscan en grupo en un mismo parche. La otra hipótesis, postulada por van Alphen & Visser (1990), sugiere que los parasitoides abandonarían el parche cuando la tasa de ganancia de una hembra (*i.e.* nacimientos por unidad de tiempo) disminuye por debajo de una cierta tasa de abandono. Es importante aclarar que los parasitoides mostrarían una tasa de abandono más baja cuando buscan en un parche con con-específicos, en comparación a cuando buscan solos. Esto es porque un hábitat con la misma calidad de parche, pero con una alta densidad de con-específicos es menos provechoso *per capita* (Visser *et al.*, 1990).

La interferencia entre individuos de una misma especie, es un proceso por el cual la eficiencia del parasitoide disminuye (y por ende su tasa de parasitismo) a medida que aumenta el encuentro entre individuos en una misma parcela (Hassell, 1978; van Alphen & Vet, 1986). A partir del trabajo de Hassell & Varley (1969) se distinguieron distintos tipos de interferencia. La **interferencia mutua directa**, se refiere a las interacciones directas entre parasitoides que están buscando simultáneamente en un mismo parche, dando como resultado una reducción en la eficiencia de búsqueda con el aumento de la densidad de parasitoides (Rogers & Hassell, 1974; Beddington, 1975; Stillman *et al.*, 1997). La **pseudo-interferencia** es la disminución de la tasa de búsqueda, como consecuencia de la distribución no uniforme de los parasitoides a través de los parches con huéspedes, a medida que incrementa de la densidad de los parasitoides (Free *et al.*, 1977). Por último, la **interferencia mutua indirecta** que se refiere a la disminución en la eficiencia de búsqueda que no se detecta a nivel de parche, sino a nivel de población (*e.g.* reflejada en la disminución en la fecundidad o en la relación entre sexos) (Visser & Driessen, 1991; Speight *et al.*, 1999).

La interferencia, tiene la propiedad de promover fuertemente su estabilidad en las interacciones huésped – parasitoide. Esto es porque las tasas de parasitismo *per capita* disminuyen al aumentar la densidad de los parasitoides, y esta disminución ejercerá un efecto adverso sobre la fecundidad y el crecimiento, pero positivo sobre la mortalidad de cada individuo (Hassell & Varley, 1969; Kidd & Jervis, 1996; Hassell, 2000). Es decir, la persistencia en estos sistemas está explicada por la disminución en la eficiencia *per capita* de los parasitoides. Por otro lado, la interferencia también puede tener un efecto en los ambientes que están distribuidos en parches, en donde los parasitoides tienden a agregarse en algunos parches más que en otros. El mayor número de encuentros en esos parches dará lugar a la dispersión hacia otros parches y esto puede ser importante en la redistribución de los parasitoides durante el curso de la interacción

entre los individuos, ya que reduce la agregación de los parasitoides (Corley, 1999; Hassell, 2000).

IV.2. Objetivo e hipótesis general

Estudí el fenómeno de interferencia entre individuos de la misma especie. Mi hipótesis de trabajo es que existe interferencia intra-específica en *I. leucospoides*, ya que probablemente este parasitoide defiende sus parches debido a su breve tiempo de vida, y por tener que atacar a sus huéspedes que se encuentran escondidos dentro de la madera. Estos factores hacen que la hembra esté limitada para buscar y atacar a sus huéspedes, y la presencia de individuos de la misma especie puede afectar negativamente el tiempo dedicado a la búsqueda.

IV.3 Objetivo e hipótesis particulares

La interferencia intraespecífica es un proceso que podría promover la persistencia de la asociación *I. leucospoides* –*S. noctilio*. La hipótesis experimental es que existe interferencia entre individuos del parasitoide que conducen a una disminución en la eficiencia per capita del parasitoide. Se espera que la tasa de ataque de *I. leucospoides* (como medida de la eficiencia de búsqueda), disminuya por la presencia de un con-específico.

Asimismo, evalué si existe alguna relación de dominancia en esta especie de parasitoides, debido a que en todas las réplicas del experimento anterior (*i.e.* eficiencia de búsqueda) uno de los dos parasitoides evaluados siempre abandonaba primero el tronco. La hipótesis de trabajo es en este caso que existe una relación de dominancia y sumisión entre individuos que será responsable de la interferencia. Se espera, entonces que el parasitoide dominante sea aquel de mayor tamaño corporal.

IV.4. Materiales y métodos

Experimento

En sistemas conformados por una troza de *P. contorta* (0,50 m de longitud) con 2, 4 y 6 agujeros de oviposición/troza, se colocaron 2 hembras (foto IV.1.). Como control se colocó un individuo en una troza (0,50 m de largo). Se realizaron 10 réplicas por cada densidad estudiada. Las variables-respuesta fueron: tiempo de permanencia en el tronco de ambos parasitoides y número de agujeros atacados. Se estimó la tasa de ataque-interferencia (ecuación IV.1). Los resultados se compararon mediante un análisis de varianza no paramétrico, Kruskal-Wallis (Zar, 1999).

$$Ta-i = Na / (T * No) \quad (1)$$

Donde, $Ta-i$ es la tasa de ataque-interferencia, Na el número de agujeros atacados, No el número de agujeros ofrecidos, y T el tiempo de permanencia en el tronco.

A su vez, se marcó al parasitoide que abandonó primero la troza y no volvió a ella pasados los 5 min. Las variables que se midieron en ambos individuos fueron: (a) tamaño del cuerpo (largo en cm); (b) largo de la tibia (cm); (c) distancia interocular y (d) tamaño de la cabeza (n= 20).

Se utilizó una regresión logística para evaluar si el abandono de la troza tenía una relación con las variables medidas.

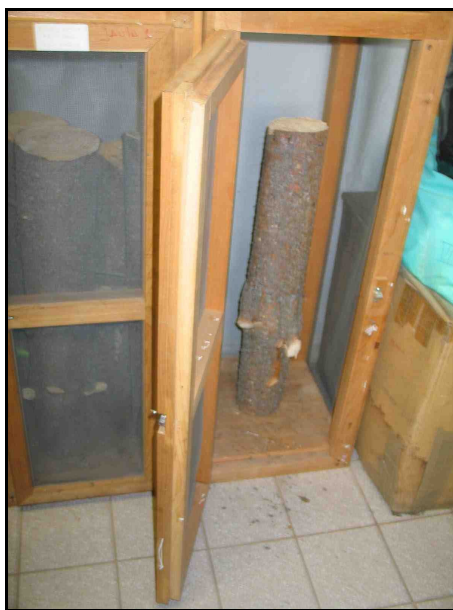


Foto IV. 1. Diseño experimental para medir interferencia intraespecífica en *I. leucospoides*. Liberé, en forma simultánea, 2 avispas en la base de la troza (foto de la autora, 25X).

IV.4. Resultados

La tasa de ataque de *I. leucospoides* disminuyó significativamente frente a la presencia de un con-específico ($H_{2, 98} = 11,301$; $p < 0.05$; tabla IV.1. y figura IV.1.). Los dos tratamientos que se compararon con el control fueron: (1) las variables número de agujeros atacados y el tiempo en que permanecieron ambos parasitoides juntos en el tronco (tomando los datos del parasitoide que permaneció más tiempo en el tronco); (2) las mismas variables pero cuando el parasitoide se quedó solo en el tronco, luego de que el otro individuo lo abandonara.

Tabla IV.1. Resultado del análisis Kruskal - Wallis, que evidencian una diferencia significativa en la tasa de ataque-interferencia entre el parasitoide que permaneció solo en la troza (control) y el que estuvo junto a otro individuo de la misma especie.

Test Kruskal-Wallis: $H(2, N=98) = 11,30109$ $p=0,0035$

	N	Suma de Rangos
Control	28	1768,5
Parasitoide + conespecífico	35	1496
Parasitoide solo	35	1586,5

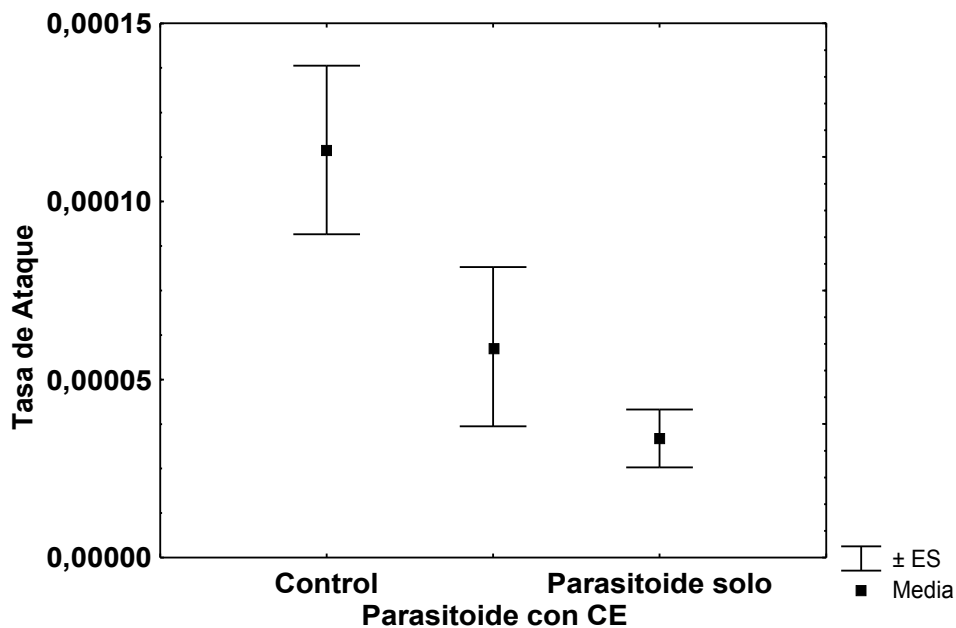


Figura IV.1. Tasa de ataque (estimada según ecuación 1) de los parasitoides control y de los que estuvieron con otro con-específico. Tratamientos: (1) cuando ambos parasitoides permanecieron juntos en el tronco, tomando los datos del parasitoide que permaneció más tiempo en el tronco (eje X: parasitoide con CE) y (2) cuando el parasitoide se quedó solo en el tronco, luego de que el otro individuo abandonara el tronco (eje X: parasitoide solo). El control corresponde a un solo parasitoide buscando sobre la troza.

Para averiguar cual de los dos tratamientos difería del control, se realizaron contrastes no paramétricos (método de Dunn; Zar, 1999) entre el control y los dos tratamientos. Los resultados mostraron que ambos grupos difirieron significativamente del control ($Q_{\text{control vs. tratamiento } 2(2,0.05)} = 3.01$ y $Q_{\text{control vs. tratamiento } 3(2,0.05)} = 2.63$; $Q_{\text{tabla}} = 2.24$). Estos resultados nos confirman que la

tasa de ataque disminuye significativamente en los parasitoides que compartieron por un tiempo la misma parcela con un individuo de la misma especie.

Por otro lado, el parasitoide que permaneció en la troza resultó ser el de mayor tamaño corporal (en largo de cuerpo, $\chi^2_{(1)}=10,412$ $p=0,00125$; como en el largo de la tibia, $\chi^2_{(1)}=5,1337$; $p=0,023$).

No hubo una relación con el abandono de la troza cuando se midió la distancia interocular (IOc) y el tamaño de la cabeza (Cab). La regresión logística en ambos casos resultó no significativa ($\chi^2_{(1)IOc}=2.116$ $p=0,145$; $\chi^2_{(1)Cab}= 0.079$, $p=0,409$).

a) *Largo corporal (mm)*: regresión logística significativa ($\chi^2_{(1)}=10,412$ $p=0,00125$; figura IV.2.).

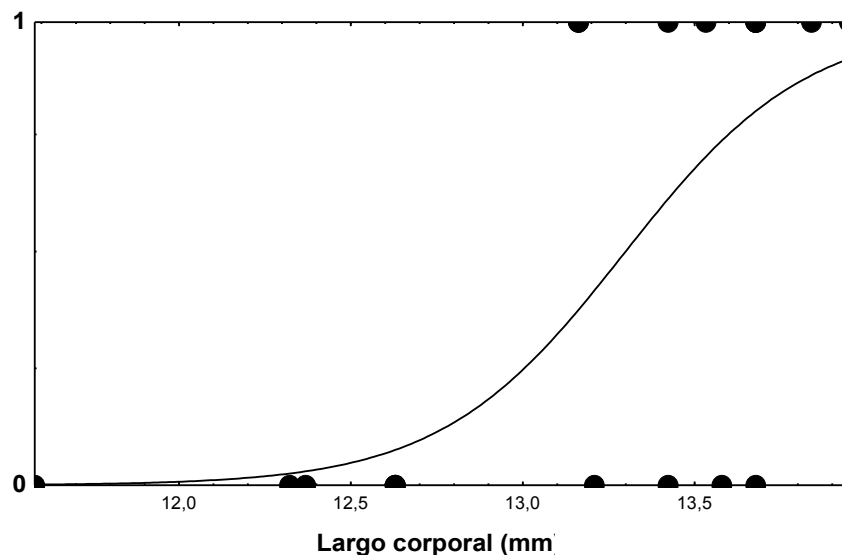


Figura IV.2. Regresión logística del largo corporal (mm) de ambos parasitoides que se liberaron simultáneamente en la misma troza de *P. contorta* (ejes Y: 0= abandono y 1= permanencia).

b) *Largo de la tibia (mm)*: regresión logística significativa ($\chi^2_{(1)}=5,1337$; $p=0,023$; figura IV.3.).

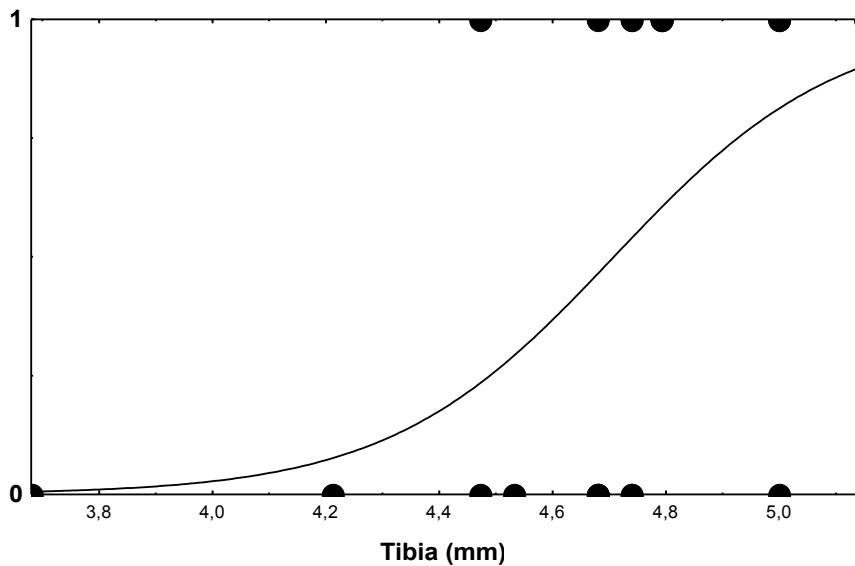


Figura IV:3. Regresión logística del largo de la tibia (en mm) de ambos parasitoides que se liberaron simultáneamente en la misma troza de *P. contorta* (ejes Y: 0= abandono y 1= permanencia).

IV.5. Discusión

Los resultados demuestran que existe interferencia intra-específica en *I. leucospoides*. La tasa de ataque *per capita* disminuyó con la presencia de con-específicos, tanto durante el cual cada individuo estuvo acompañado, como cuando se quedó solo (*i.e.* luego de que su competidor abandonara el tronco). A su vez, se observó que el parasitoide que permaneció resultó ser el de mayor tamaño corporal, sugiriendo la posible existencia de un mecanismo de dominancia y sumisión en esta especie.

Una consecuencia de la interferencia es la disminución de la eficiencia *per capita* de parasitismo a medida que incrementa la densidad (Hassell & Varley, 1969; Hassell, 1978; van Alphen & Jervis, 1996). Por ejemplo, se han observado diferentes especies de parasitoides que se han dispersado luego de que aumentó el encuentro con individuos de la misma especie o después de haber detectado huéspedes previamente parasitados. Existen numerosos ejemplos de

comportamiento agresivo y marcado de huéspedes parasitados (ver Hassell, 1978). Un estudio realizado con *V. canescens* demostró que la eficiencia de búsqueda de éste disminuía a medida que aumentaba la densidad de conespecíficos. Los resultados indicaron, entonces, que cuando dos hembras de esta especie se encontraban dentro de un mismo parche, con huéspedes, ambas interferían causando (al menos a una de ellas) algún movimiento de evitación o abandono (ver Hassell & Varley, 1969).

En *I. leucospoides*, la interferencia intraespecífica observada podría contribuir a explicar las tasas de parasitismo sobre *S. noctilio* observadas a campo. La disminución en la eficiencia de búsqueda del parasitoide es un proceso que depende de su densidad. Aquí demostré que la eficiencia de búsqueda (en este caso definida como la disminución en la tasa de ataque) disminuye con la presencia de otros individuos, lo que podría estar asociado a algún mecanismo de dominancia en esta especie. Por un lado vi que cuando una hembra de esta especie busca en un tronco, su estrategia reside en buscar y parasitar los agujeros de oviposición del huésped y la cantidad de huéspedes atacados dependerá de la densidad de los huéspedes ofrecidos (para más detalle ver cap. II). En cambio, cuando dos hembras buscan simultáneamente en un tronco, una de ellas siempre abandona primero el parche y nunca llega a atacar ningún huésped (independientemente de la densidad ofrecida). En contraste, el parasitoide que permanece en el tronco, ataca a sus huéspedes normalmente, es decir sin aumentar el número de ataques.

La agregación en una misma parcela no siempre conduce a una disminución en la tasa de parasitismo. Por el contrario, y especialmente cuando las densidades de huéspedes son bajas, se puede producir un incremento en la tasa de parasitismo debido a la facilitación entre individuos de la misma especie (Corley, 1999). Por ejemplo, un aumento en la densidad de individuos puede conducir a una disminución en el tiempo que cada uno de ellos perdería en detectar la

presencia de sus propios depredadores, y así aumentaría el tiempo para el ataque a sus huéspedes y por consiguiente su éxito reproductivo (Begon *et al.*, 1995; Corley, 1999).

Los resultados del estudio comportamental de *I. leucospoides* en presencia de sus con-específicos presentan una interesante contradicción. Por un lado, observé una disminución en la eficiencia de búsqueda de este parasitoide. Esto demuestra que la agregación de los parasitoides en un mismo parche no conlleva a un aumento en el porcentaje de parasitismo *per capita*, sino una disminución. Por otro lado, noté (en el cap. I) que esta especie se agrega en parches con la presencia simultánea de con-específicos y el huésped. Este fenómeno de agregación facilitaría la tarea de encontrar a sus huéspedes, sobre todo porque estos se encuentran escondidos dentro del tronco, y más aún si se le suma su corto tiempo de vida que tiene este parasitoide en estado adulto (aproximadamente 10 días).

El fenómeno de “facilitación” en esta especie, para encontrar a sus huéspedes, tendría un costo que sería una pérdida en la eficiencia de búsqueda y por ende una pérdida en el porcentaje de parasitismo *per capita*. Esto podría ser uno de los posibles factores que contribuyen a la persistencia observada.

El rol de la interferencia en los modelos huésped-parasitoide ha sido criticado por muchos investigadores. Es importante recordar que en los experimentos de laboratorio, generalmente son llevados a cabo en ambientes homogéneos atípicos y con densidades atípicas de con-específicos. Además los parasitoides a menudo están impedidos en dispersarse de los parches cuando están repletos, por lo que se han observado niveles irreales de interferencia y super-parasitismo (Griffiths & Holling, 1969; Hassell *et al.*, 1976). En cambio, sí son importantes los experimentos de laboratorio en el concepto de cría masiva, ya que el uso de una alta densidad de

parasitoides puede resultar en un declinamiento en la producción de la progenie de enemigos naturales.

IV.6. Conclusión

Las decisiones que toman los parasitoides son de un interés particular, sobre todo desde que estos insectos son utilizados en programas de control biológico. Los parasitoides suelen parasitar tantos huéspedes como les sea posible y de esta manera logran disminuir sus números, siendo este uno de los objetivos del control biológico efectivo.

La interferencia en *I. leucospoides* involucra un fenómeno de denso-dependencia. Esto puede contribuir a la persistencia de la interacción *I. leucospoides*-*S. noctilio*, lo cual sugiere la relevancia del comportamiento individual para las poblaciones del sistema huésped – parasitoide.

Conclusión general



Los resultados más destacados de esta tesis son:

- 1- *I. leucospoides* utiliza compuestos volátiles emitidos por el hongo *A. aerolatum*, como clave asociada a su huésped, para la detección, orientación hacia y posiblemente cuantificación de la densidad de *S. noctilio*.
- 2- el parasitoide se agrega a parches con con-específicos, cuando se hallasen en compañía del hongo de su huésped; esta agregación trae como consecuencia una pérdida en la eficiencia del parasitismo *per capita*.
- 3- *I. leucospoides* presenta una respuesta funcional tipo III en su interacción con *S. noctilio*.
- 4- *I. leucospoides* expresa un fenómeno de interferencia intraespecífica.

En esta tesis remarco la importancia de los infoquímicos en la localización y determinación de la abundancia de huéspedes por insectos parásitos. El hongo *A. aerolatum*, simbiote de *S. noctilio*, provee información direccional para la localización de huevos y primer estadio larval de la plaga. Trabajos previos (Madden, 1968; Spradbery, 1970 a & b; Spradbery, 1974; Bettinelli, 2001) han sugerido la capacidad del hongo de arrestar a *I. leucospoides* en sitios donde la plaga está presente. En esta tesis, se demuestra por primera vez que el hongo por si sólo confiere suficiente información direccional, de localización y cuantificación sobre el recurso en términos de abundancia relativa de huéspedes (ver Prokopy & Roitberg, 2001).

La atracción mutualista mediada a través de un tercer nivel trófico, satisface el paradigma teórico de detectabilidad - confiabilidad de la información química percibida por parasitoides para localizar a sus huéspedes (Vet *et al.*, 1995; 2002). La utilización de un tercer nivel trófico, en este caso, de rápido desarrollo dentro de la madera y estrechamente vinculado con la presencia de la plaga, podrían garantizar una alta razón detectabilidad - confiabilidad. Es muy

Tesis Doctoral – Valeria Fernández Arhex

posible que mecanismos similares de localización de huéspedes sean frecuentes en parasitoides de especies lignívoras, debido a que podrían optimizar la eficiencia de búsqueda de los mismos. La interacción entre los Ibalidae y los Siricidae es posiblemente muy antigua (ver Quicke, 1992; 1997; Whitefield, 1998) sugiriendo que la utilización de claves indirectas de localización sería un mecanismo ancestral. Una explicación de esto último podría basarse en que ambas especies tuvieron un antecesor común fitófago, los sirícidos siguen siendo especies fitófagas mientras que los Ibalidae pasaron de la alimentación fitófaga a la ectoparásita y luego endoparásita. Estas dos especies coevolucionaron una siendo parásita de la otra, y esta coevolución se evidencia a través de las modificaciones que tuvo el ovipositor en *Ibalia* (Whitefield, 1998).

En términos aplicados la estrecha relación entre hongo y plaga limita la desviación del parasitoide hacia especies no blanco. Recordemos que todas las especies de plagas forestales lignívoras posee especies de degradadores de la celulosa que se benefician a través de la dispersión que los insectos le permiten alcanzar. Cada especie de insecto, incluso aquellas co-genéricas, poseen mutualismos con especies diferentes.

Por otro lado, demostré que *I. leucospoides* presenta una respuesta funcional del tipo III en condiciones semi-naturales. Este tipo de respuesta implica un parasitismo denso-dependiente a bajas densidades de la plaga que puede, en teoría, contribuir a la persistencia de la interacción entre plaga y parasitoide. Las respuestas de tipo III han sido sugeridas como indicadoras de la capacidad reguladora de parasitoides, concepto que se ha trasladado al ámbito de aplicación. Las condiciones para un efectivo control biológico mediante parasitoides se apoyan fuertemente en las cualidades supresoras y reguladoras de los enemigos naturales sobre la densidad de la plaga. La forma de la respuesta funcional es uno de los criterios de elección de agentes posibles para el control biológico clásico (Kidds & Jervis, 1996; Berryman 1999).

La contribución de la respuesta sigmoideal es, no obstante, posiblemente muy limitada en términos de control biológico. En un análisis sobre la asociación entre el éxito en control biológico y el tipo de respuesta funcional, no hallé evidencias suficientes para sustentar la hipótesis de que respuestas del tipo III, sean un elemento determinante del éxito del control biológico mediante parasitoides. Otros factores podrían predecir mejor el éxito del control biológico clásico, como por ejemplo: la tasa de crecimiento intrínseca del huésped y su parasitoide; la tasa, calidad y cantidad de parasitoides liberados; los eventos climáticos y la competencia intraespecífica en las poblaciones de parasitoides.

La competencia intraespecífica entre parasitoides resulta de un proceso por el cual la tasa de parasitismo disminuye a medida que aumenta el encuentro entre los individuos en una misma parcela (Hassell & Huffaker, 1969; Rogers & Hassell, 1974; Beddington, 1975; Hassell, 1978; van Alphen & Vet, 1986; Stillman *et al.*, 1997). El estudio de competencia entre individuos de una misma especie, resulta importante no sólo desde la visión del control biológico, sino también desde un punto de vista teórico, porque involucra un fenómeno de denso-dependencia, el cual promueve la estabilidad de las interacciones huésped-parasitoide. La disminución del

parasitismo provocada por el aumento de la densidad de los parasitoides ejerce un efecto opuesto sobre la natalidad y positivo sobre la mortalidad de cada individuo.

En esta tesis, la competencia fue evaluada a través de estudios sobre la interferencia directa entre individuos frente a diferentes densidades de huéspedes. La hipótesis de que la interferencia debiera ser mínima o inexistente dado la notable respuesta agregada observada quedó descartada. Los resultados demuestran que la interferencia es importante y sugieren adicionalmente que estarían asociados con encuentros agonísticos en vez de evitación. Las consecuencias inmediatas de la repulsión entre conespecíficos se observa sobre el parasitismo final.

Las avispas parasíticas invierten una considerable cantidad de tiempo de su vida adulta buscando huéspedes. Su progenie se alimenta del huésped, habitualmente otro insecto, hasta finalmente matarlo. Por ello, para los parasitoides, el encuentro de huésped se relaciona directamente con el éxito reproductivo. Las decisiones relacionadas con la localización y selección de parches y huéspedes estaría bajo una fuerte presión de selección. Una variedad de información química es usada por los parasitoides para hallar y seleccionar a sus huéspedes y a su vez provee información sobre la calidad de los parches.

Los resultados de esta tesis en su conjunto, podrían ser aplicados a interpretar el impacto de *I. leucospoides* sobre las poblaciones de *S. noctilio* y predecir su potencial en futuros programas de control biológico. La importancia del hongo simbiote de la plaga como emisor de sustancias volátiles indicadoras de la presencia, ubicación, calidad y cantidad de *S. noctilio* y a su vez, la reunión de con-específicos facilitaría el aumento de la agregación de parasitoides. Esto podría conducir, por un lado, a la disminución en el tiempo de búsqueda *per capita* del parasitoide y por otro, a reducir la eficiencia del parasitismo al favorecer la interferencia. Ambos mecanismos comportamentales se establecen como un “trade-off” (*i.e.* compromiso), determinado entre

varios elementos, por la distribución espacial natural de la plaga. La interferencia observada, y la marcada agregación de parasitoides probablemente limiten la capacidad supresora y reguladora del parasitoide sobre la plaga en bosques cultivados.

Bibliografía general

- AGELOPOULOS, NG & KELLER, MA. 1994. Plant-natural enemy association in the tritrophic system, *Cotesia rubecula*-*Pieris rapae*-Brassicaceae (Cruciferae): I. Sources of infochemicals. *Journal of Chemical Ecology*, 20: 1725-1734.
- AGUILAR, A.M. & D. LANFRANCO. 1988. La avispa de la madera (*Sirex noctilio*) y las implicancias de su introducción potencial en Chile. Tema: Aspectos biológicos y sintomatológicos de *S. noctilio* Fabricius (Hymenoptera: Siricidae). *Corporación Nacional Forestal, Concepción, Chile*.
- AGUILAR, AM; D. LANFRANCO & O. PUENTES. 1990. Prospección para la detección de *S. noctilio* (Hymenoptera: Siricidae) en Bariloche, Argentina. *Informe de convenio N°180, CONAF/UACH, Valdivia, Chile*
- ALLEN, J.C. & GONZALEZ, D. 1975. The effects of temperature and host refuge on insect host – parasitoid models. *Environmental Entomology* 4, 57-65.
- ALLISON JD, BORDEN JH, MCINTOSH RL, DE GROOT P & GRIES R. 2001. Kairomonal response by four *Monochamus* species (Coleoptera: Cerambycidae) to bark beetle pheromones. *Journal of Chemical Ecology*, 27(4): 633-646.
- ANDREWARTHA, H.G. & BIRCH, L.C. 1954. *The distribution and abundance of animals*. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- AUGER J, LECOMTE C & THIBOUT E. 1990. Origin of kairomones in leek moth (*Acrolepiopsis assectella*, Lep.) frass. Possible pathway from methylthio to propylthio compounds. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 1743-1750.
- BAKKER, K.; VAN ALPHEN, J.J.M; VAN BATENBERG, F.H.D.; VAN DER HOEVEN, N.; NELL, N.W.; VAN STRIEN-VAN LIEMPT, W.T.F.H. & TURLINGS, T.C. 1985. The function of host discrimination and superparasitism in parasitoids. *Oecologia*, 67: 572-576.
- BECKAGE, N.E. & RIDDIFORD, L.M. 1993. Growth and development of the endoparasitic wasp *Apanteles congregatus*: dependence on host nutritional status and parasite load. *Physiological Entomology*, 8: 231–241.
- BEDDING, R.A. 1967. Parasite and free – living cycles in entomogenous nematodes of the genus *Deladenus*. *Nature*, 214: 174-175.
- BEDDING, R.A. 1984. Nematode parasites of Hymenoptera, in *Plant and Insect Nematodes* (NICKLE, W. R., Eds.), Marcel Dekker Inc., New York, pp. 755-795.
- BEDDINGTON, J.R. 1975. Mutual Interference between parasites or predators and its effect on searching efficiency. *Journal of Animal Ecology*, 44: 331-340.
- BEDDINGTON, J.R., FREE, C.A. & LAWTON, J.H. 1978. Characteristics of successful natural enemies in models of biological control of insect pests. *Nature* 273, 513-519.

- BEGON, M.; JL. HARPER & C.R. TOWNSEND. 1995. El comportamiento de los depredadores. Pp. 298-334 en: Omega (ed.). *Ecología: Individuos, Poblaciones y Comunidades*.
- BERNAL, J.S., BELLOWS, T.S. Jr & GONZALES, D. 1994. Functional Response of *Diaeretiella rapae* (Mc Intosh) (Hymenoptera: Aphididae) to *Diuraphis noxia* (Morawiko) (Homoptera: Aphididae) hosts. *Journal of Applied Entomology* 118, 300-309.
- BERNSTEIN, C. 1986. Density dependence and the stability of host–parasitoid systems. *Oikos*, 47: 176–180
- BERNSTEIN, C. 2000. Host-Parasitoid Models: the story of successful failure, in *Population biology of Host-Parasitoid interactions* (HOCHBERG, M & IVES, A., Eds.). Princeton University Press, pp. 41-57.
- BERRYMAN, A.A. 1999. The theoretical foundations of biological control, in *Theoretical Approaches to Biological Control* (HAWKINS, B.A. & CORNELL, H.V., Eds). Cambridge University Press, pp. 3-21.
- BETTINELLI, J. 2001. Mecanismos de elección y explotación de parches del parasitoide *Ibalia leucospoides* (Hymenoptera: Ibalidae). *Graduate Dissertation Universidad Nacional del Comahue (UNC)*, Argentina pp. 61.
- BEZEMER, M.T. & MILLS, N.J. 2001. Host density responses of *Mastrus ridibundus*, a parasitoid of codling moth, *Cydia pomonella*. *Biological Control* 22, 169-175.
- BISCHOFF, H. 1927. *Biologie der Hymenopteren*. Berlín.
- BURNETT, T. 1951. Effects of temperature and host density on the rate of increase of an insect parasite. *American Naturalist* 85, 337-352.
- BURNETT, T. 1958 a. Effect of host distribution of the reproduction of *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Canadian Entomologist* 90, 179-191.
- BURNETT, T. 1958 b. Effect of area of search on reproduction of *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Canadian Entomologist* 90, 225-229.
- CARVALHO, A.G. 1993. Aspectos biológicos de *Ibalia leucospoides* (Hochenwarth) (Hymenoptera: Ibalidae). *Conferencia Regional da vespa-da-madeira, Sirex noctilio, na América do Sul*.
- CASAS, J. & HULLIGER, B. 1994. Statistical analysis of functional response experiments. *Biocontrol Science and Technology* 4, 133-145.
- CASTELO, MK; CORLEY, JC. & DESOUHANT, E. 2003. Conspecific avoidance during foraging in *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae): The roles of host presence and conspecific densities. *Journal of Insect Behavior* 16, 307-314.

- CAVE, R.D. & GAYLOR, M.J. 1987. Functional response of *Telenomus reynoldsi* (Hymenoptera: Scelionidae) at five constant temperatures and in an artificial plant arena. *Entomophaga* 34, 3-10.
- COLLINS, M.D., WARD, S.A. & DIXON, A.F.G. 1981. Handling time and the functional response of *Aphelinus thomsoni*, a predator and parasite of the aphid *Drepanosiphum platanoidis*. *Journal of Animal Ecology* 50, 479-487.
- CORLEY JC 1999. Host density signal and aggregation in an insect parasitoid. *Netherlands Journal of Zoology* , 49: 97-109.
- CORLEY, J.C. 2001. La diapausa prolongada y su papel en la dinámica poblacional de sistemas huésped-parasitoide. *Tesis doctoral FCEyN, UBA*.
- CORLEY, J.C. & VILLACIDE, J.M.. 2002. Dinámica poblacional de la plaga *S. noctilio*: epidemias y epidemias. *SAGPyA Forestal* 23: 2-8.
- CORLEY, J.C ; KLASMER, P ; BOTTO, E. N ; FERNÁNDEZ-ARHEX, V. ; BETTINELLI, J. & VILLACIDE, J.M. 2004. Aspectos de la regulación poblacional de *Sirex noctilio* por el parasitoide *Ibalia leucospides* de interés para el control biológico de la plaga. Investigación forestal al servicio de la producción II. 2da. entrega. Ciudad autónoma de Buenos Aires, *SAGPyA*, 73-74.
- CORNELL, H.V. 1976. Search strategies and the adaptative significance of switching in some general predators. *American Naturalist* 110, 317-320.
- CORNELL, H.V. & PIMENTEL, D. 1978. Switching in the parasitoid *Nasonia vitripennis* and its effects on host competition. *Ecology* 59, 297-308.
- COUTTS, M.P. 1969. The mechanism of pathogenicity of *Sirex noctilio* on *Pinus radiata*. I Effects of the symbiotic fungus *Amylostereum* sp. (Thelophoraceae). *Australian Journal of Biological Sciences* 22: 915-924.
- CHEKE, R.A. 1974. Experiments on the effect of host spatial distribution on the numerical response of parasitoids. *Journal of Animal Ecology* 43, 107-114.
- CHESSON, P. & ROSENZWEIG, M. 1991. Behaviour, heterogeneity, and the dynamics of interacting species. *Ecology* 72, 1187-1195.
- CHIRI, A.A. & LEGNER, E.F. 1982. Host searching kairomones alter behaviour of *Chelonus* sp. nr. *curvimaculatus*, a hymenopterous parasite of the pink bollworm *Pectinophora gossypiella* (Saunders). *Environmental Entomology* 11, 452-455.
- CHRYSTAL, R.N. 1930. Studies of the *Sirex* parasites. *Oxford For Memories N°11*. Oxford Univ. Press, London. Pp 63.

- DE BACH, P. 1971. The use of imported natural enemies in insect pest management ecology. *Proceedings of the Tall Timbers Conference on Ecological Animal Control by Habitat Management* 3, 211-233.
- DEMAS FA, MWANGI EN, HASSANALI A, KUNJEKU EC & MABVENI AR. 2002. Visual evaluation and recognition of hosts by the tick parasitoid, *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Journal of Insect Behavior*, 15(4): 477-494.
- DEMPSTER, JP. & MC. LEAN, IFG. 1998. *Insect Populations*. Chapman & Hall, London.
- DEN BOER, P.J. 1991. Seeing the wood for the trees: random walks or bounded fluctuations of populations? *Oecologia*, 79: 143-149.
- DICKE, M.; VAN LENTEREN, J.C.; BOSKAMP, G.J.F. & VAN VOORST, R. 1985. Intensification and prolongation of host searching in *Leptopilina heterotoma* (Thomson) (Hymenoptera: Eucoilidae) through a kairomone produced by *Drosophila melanogaster*. *Journal of Chemical Ecology*, 11: 125-136.
- DIETHIER VG, BROWNE, LB & SMITH, CN. 1960. The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. *Journal of Economic Entomology*, 53: 134-136.
- DUAN, J.J. & MESSING, R.H. 2000. Effects of host substrate and vibration cues on ovipositor-probing behavior in two larval parasitoids of Tephritid fruit flies. *Journal of Insect Behavior*, 13(2): 175-186.
- EGGLETON, P. & GASTON, K.J. 1990. "Parasitoid" species and assemblages: Convenient definitions or misleading compromises? *Oikos*, 59: 417-421.
- EGGLETON, P. & BELSHAW, R. 1992. Insect parasitoids: an evolutionary overview. *Philos. Trans. R. Soc. London, Series B*, 337: 1-20.
- ELLIOT, J.M. 1983. The responses of the aquatic parasitoid *Agriotypus armatus* (Hymenoptera: Agriotypidae) to the spatial distribution and density of its caddis host *Silo pallipes* (Trichoptera: Goeridae). *Journal of Animal Ecology* 52, 315-330.
- ENKEGAARD, A. 1994. Temperature dependent Functional Response of *Encarsia formosa* parasitizing the Poinsettia – strain on the cotton whitefly , *Bemissia tabaci*, on Poinsettia. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 73, 19-29.
- ESPINOZA, Z.H.; LAVANDEROS, V.A. & LOBOS, A.C. 1986. Informe reconocimiento de la plaga de *Sirex noctilio* en plantaciones de pinos de Uruguay y Argentina. Santiago de Chile, Chile.
- FARJI-BRENER, A.G. & J.C. CORLEY. 1998. Successful invasion of hymenopteran insects in NW Patagonia. *Ecología Austral* 8: 237-249.
- FEENER DH JR & BROWN BV. 1997. Diptera as parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 42: 73-97.

- FERNÁNDEZ-ARHEX, V. & CORLEY, J.C. 2003. The Functional Response of Parasitoids and its Implications for Biological Control. *Biocontrol Science and Technology* 13, 403-413.
- FERNÁNDEZ – ARHEX, V. & CORLEY, J.C. 2004. La Respuesta Funcional: Una Revisión y Guía Experimental. *Ecología Austral* 14: 83-93.
- FERNÁNDEZ – ARHEX, V. & CORLEY, J.C. 2005. The Functional Response of *Ibalia leucospoides* Hochenwarth (Hymenoptera: Ibalidae), a Parasitoid of *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae). Relating Host Encounter Success with the Response. *Biocontrol Science and Technology* 15: 1-6.
- FLINN, P.W. 1991. Temperature - Dependent functional response of the parasitoid *Cephalonomia waterstoni*(Gahan) (Hymenoptera: Bethyridae) attacking Rusty Grain beetle larvae (Coleoptera: Cucujidae). *Environmental Entomology* 20, 872-876.
- FREE, C.A.; BEDDINGTON, J.R. & LAWTON, J.H. 1977. On the inadequacy of simple models of mutual interference for parasitism and predation. *Journal of Animal Ecology*, 46: 543-554.
- GETZ, W.M. 1996. A hypothesis regarding the abruptness of density dependence and the growth rate of populations. *Ecology*, 77: 2014–2026.
- GETZ, W.M.& N.J. MILLS. 1997. Host-parasitoid coexistence and egg-limited encounter rates. *American Naturalist* 148: 333-347.
- GLAS, P.C.G. & VET L.E.M. 1983. Host-habitat location and host location by *Diachasma alloeum* Muesebeck (Hym.; Braconidae), a parasitoid of *Rhagoletis pomonella* Walsh (Dipt.; Tephritidae). *Netherlands Journal of Zoology*, 33: 41-54.
- GODFRAY, H.C.J. 1994. *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton, University Press, NJ, USA.
- GREATHEAD, D. & GREATHEAD, A.H. 1992. Biological Control of insect pests by parasitoids and predators: the BIOCAT database. *Biocontrol News Information* 13, 61-68.
- GREENBERG, S.M., LEGASPI, B.C. & JONES, W.A. 2001. Comparison of Functional Response and Mutual interference between Aphelinid Parasitoids of *Bemissia argentifolli* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Entomological Science* 36, 1-8.
- GRIFFITHS, K.J. 1969. The importance of coincidence in the functional and numerical responses of two parasites of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer*. *The Canadian Entomologist* 101, 673-713.
- GRIFFITHS, K.J. & HOLLING, C.S. 1969. A competition submodel for parasites and predators. *Canadian Entomologist*, 101: 785-818.

- GULLAN, P.J. & CRANSTON, P.S. 2000. Pest Management: Biological control. Pp. 385-395 in: Blackwell Science LTD (ed.) *The Insects: an outline of entomology*.
- HARVEY, J.A. 1996. *Venturia canescens* parasitizing *Galleria mellonella* and *Anagasta kuehniella*: is the parasitoid a conformer or a regulator? *Journal of Insect Physiology*, 42: 1017–1025.
- HASSELL, M.P. 1975. Density dependence in single – species populations. *Journal of Animal Ecology*, 44: 283-295.
- HASSELL, M.P. 1978. *The Dynamics of Arthropod Predator-Prey Systems. Monographs in population biology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- HASSELL, M.P. 2000. *The Spatial and temporal Dynamics of host-Parasitoid Interactions*. Oxford Series in Ecology and Evolution, Oxford University Press.
- HASSELL, M. P. & HUFFAKER, C. 1969. An appraisal of delayed and direct density-dependence. *Canadian Entomologist*. 101:353-67.
- HASSELL, M.P. & VARLEY, G.C. 1969. New inductive population model for insect parasites and its bearing on biological control. *Nature, London*, 223: 1133-1137.
- HASSELL, M.P. & MAY, R.M. 1973. Stability in host – parasite models. *Journal of Animal Ecology* 42: 693-726.
- HASSELL, M.P. & R.M. MAY. 1974. Aggregation in predators and insect parasites and its effect on stability. *Journal of Animal Ecology* 43: 567-594.
- HASSELL, M.P., LAWTON, J.H. & MAY, R.M. 1976. Patterns of dynamical behaviour in single-species populations. *Journal of Animal Ecology*, 45, 471–486.
- HASSELL, M.P., LAWTON, J.H. & BEDDINGTON, J.R. 1977. Sigmoid Functional Responses by invertebrate predators and parasitoids. *Journal of Animal Ecology* 46, 249-262.
- HASSELL, M.P. & COMINS, H.N. 1978. Sigmoid responses and population stability. *Theoretical Population Biology* 14, 62-66.
- HASSELL, M.P. & MAY, R.M. 1985. From individual behaviour to populations dynamics, in: *Behavioural ecology* (SIBLY, R.M. & SMITH, R., eds), pp. 3-32. Blackwell Science, Oxford.
- HAWKINS, B.A. & CORNELL, H.V. 1999. *Theoretical Approaches to Biological Control*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- HEGAZI, E.M.; SCHOPF, A.; FUHRER, E. & FOUAD, S.H. 1988. Developmental synchrony between *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and its parasite *Microplitis rufiventris*. *Journal of Insect Physiology*, 8: 773–778.

- HERTLEIN, M.B. & THORARINSSON, K. 1987. Variable patch times and the functional response of *Leptopilina bouhardi* (Hymenoptera: Eucoilidae). *Environmental Entomology* 16, 593-598.
- HOCHBERG, M.E. & IVES, A.R. 2000. *Parasitoid Population Ecology*, Princeton University Press, New Jersey.
- HODDLE, M.S., VAN DRIESCHE, R.G., ELKINTON, J.S. & SANDERSON, J.P. 1998. Discovery and utilization of *Bemisia argentifolii* patches by *Eretmocerus eremicus* and *Encarsia formosa* (Beltsville strain) in greenhouses. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 87, 15-28.
- HOLLING, C.S. 1959. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *The Canadian Entomologist* 91, 385-398.
- HONG, Y.S. & RYOO, M.I. 1991. Effect of temperature on the functional and numerical response of *Lariophagus distinguendus* (Hymenoptera: Pteromalidae) to various densities of the host, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 84, 837-840.
- HOSFVANG, T. & HÅGVAR, E.B. 1983. Functional response to prey density of *Ephedrus cerasicola* (Hymenoptera: Aphidiidae) an aphidiid parasitoid of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Entomophaga* 28, 317-324.
- HOUCK, M.A. & STRAUSS, R.E. 1985. The comparative study of functional responses: experimental design and statistical interpretation. *The Canadian Entomologist* 117, 617-629.
- HOWARD, L.O. & FISKE, W.F. 1911. The importation into the United States of the parasites of the gypsy-moth and the brown – tailed moth. *Bulletin of the Bureau of Entomology, US Department of Agriculture*, 91: 1-312.
- HUFFAKER, C.B., MESSENGER, P.S. & DE BACH, P. 1971. The natural enemy component in natural control and the theory of biological control, in *Biological Control* (HUFFAKER, C.B., Ed.). Academic Press, New York, pp. 16-67.
- HUFFAKER, C.B. & MATSUMOTO, B.M. 1982. Difference in egg wastage by superparasitism, contrasting *Venturia* (= *Nemeritis*) *canescens* searching singly versus searching in groups. *Researches in Population Ecology* 24:270-275.
- HUGHES, R.D., WOOLCOK, L.T. & HUGHES, M.A. 1992. Laboratory evaluation of parasitic Hymenoptera used in attempts to biologically control aphid pests of crops in Australia. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 63, 177-185.

- IVES, A.R., SCHOOLER, S.S., JAGAR, V.J., KNUTESON, S.E., GRBIC, M. & SETTLE, W.H. 1999. Variability and parasitoid foraging efficiency: A case study of pea aphids and *Aphidius ervi*. *American Naturalist* 154, 652-673.
- IVLEV, V.S. 1961. *Experimental ecology of the feeding of fishes*. Yate Un. Pr. 302 pp.
- JANSSEN, A.; PALLINI, A.; VENZON, M. & SABELIS, M.W. 1999. Absence of odour-mediated avoidance of heterospecific competitors by the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 92: 73 – 82.
- JULIANO, S.A. 1993. Nonlinear Curve Fitting: Predation and Functional Response curves, in *Design and Analysis of Ecological Experiments* (SCHEINER, S.M. & GUREVITCH, J., Eds.), Chapman and Hall, New York, pp.159-182.
- JULIANO, S.A. & WILLIAMS, F.M. 1987. A comparison of methods for estimating the functional response parameters of the random predator equation. *Journal of Animal Ecology* 56, 641-653.
- KIDDS, N. & JERVIS, M. 1996. Populations dynamics, in *Insect natural enemies. Practical approaches to their study and evaluation* (KIDD, N & JERVIS, M, Eds.),Chapman & Hall, U.K., pp. 21-284.
- KLASMER, P. & G. FRITZ. 1995. Acciones de detección y control de *Sirex noctilio* en la región cordillerana Andino-Patagónica Argentina (Hymenoptera: Siricidae: Siricinae). Informe de la temporada 1993-1994. *INTA-Campo Forestal Gral. San Martín, El Bolsón, Río Negro, Argentina*.
- KLASMER P, BOTTO EN, CORLEY JC, M VILLACIDE JM & FERNADEZ; ARHEX V. 2000. Advances in *sirex noctilio* biological control in Patagonia. *Anais do 1º Simposio de Cone Sul sobre Manejo de Pragas e Doencas de Pinus. Serie Técnica IPEF* 13:21-30.
- KUMAR, N., KUMAR, A. & TRIPATHI, C.P.M. 1994. Functional response of *Campoletis chloridae* Uchida (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in an enclosed experimental system. *Biological Agriculture and Horticulture*. 10, 287-295.
- LEWIS WJ & MARTIN WR JR. 1990. Semiochemicals for use with parasitoids: Status and future. *Journal of Chemical Ecology*, 16:3067-3089.
- LIU, B. & SENGONCA, C. 1998. Functional responses of the parasitoid, *Eretmocerus longipes* Compere (Hymenoptera: Aphelinidae) to densities of the whitefly, *Aleurotuberculatus takahashi* David et subramaniam (Homoptera: Aleyrodidae) at different temperatures. *Anzeiger Fur Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz* 71, 53-56.
- LIVDHAL, T.P.1979. Evolution and handling time: The functional response of a predator to the density of sympatric and allopatric strains of prey. *Evolution* 33: 765-768.

- LIVDAHL, T.P. & STIVEN, A.E. 1983. Statistical difficulties in the analysis of predator functional response data. *The Canadian Entomologist*. 115, 1365-1370.
- LOTKA, A.J. 1925. *Elements of physical biology*. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
- LOU Y & CHENG J. 2001. Host-recognition kairomone from *Sogatella furcifera* for the parasitoid *Anagrus nilaparvatae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101: 559-67.
- LUCK, R.F. 1990. Evaluation of natural enemies for biological control: a behavioural approach. *Trends in Ecology and Evolution*, 5: 196-199.
- MADDEN, J.L. 1968. Behavioural responses of parasites to the symbiotic Fungus associated with *Sirex noctilio* F. *Nature* 218, 189-190.
- MADDEN, J.L. 1974. Oviposition behaviour of the woodwasp, *Sirex noctilio* F. *Australian Journal of Zoology* 22, 341-351.
- MADDEN, J.L. 1981. Egg and larval development in the woodwasp *Sirex noctilio*. *Australian Journal of Zoology* 29: 493-506.
- MADDEN, J. L. 1988. *Sirex* in Australasia, in *Dynamics of forest insect populations: patterns, causes and implications* (Berryman, A. A., Ed.) Plenum Press, p 407-427.
- MADDEN, J.L. & PIMENTEL, D. 1965. Density and Spatial relationships between a wasp parasite and its housefly host. *The Canadian Entomologist* 97, 1031-1037.
- MADDEN, J.L. & M.P. COUTTS. 1979. The role of the fungi in the biology and ecology of woodwasps (Hymenoptera: Siricidae). En: *Insects –Fungus Symbiosis* (Batra, Wiley & Sons; eds.). New York, U.S.A.
- MANLY, B.F.J. & JAMIENSON, C.D. 1999. Functional Response and parallel curve analysis. *Oikos* 85, 523 – 528.
- MARTÍNEZ, A. 2003. Comportamiento y aprendizaje en *Ibalia Leucospoides* (Hymenoptera, Ibalidae). *Graduate Dissertation Universidad Nacional del Comahue (UNC)*, Argentina.
- MATSUMOTO, B.M. & HUFFAKER, C.B. 1974. Regulatory processes and population cyclicity in laboratory populations of *Anagasta kugniella* (Zeller) (Lepidoptera: Phycitidae). VI. Host finding and parasitization in a “large” universe by an entomophagous parasite, *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Res. Population Ecology* 15, 193-212.
- MAY, M.P.; HASSELL, M.P.; ANDERSON, R.M. & TONKYN, D.W. 1981. Density dependence in host-parasitoid models. *Journal of Animal Ecology*, 50: 855-865.
- MC. EWEN, P. 1997. Sampling, Handling and Rearing Insects. En *Methods in Ecological and Agricultural Entomology* (Dent, D.R. & Walton, M.P. eds.). University Press, Cambridge.

- MOLUMBY, A. 1995. Dynamics of parasitism in the organ – pipe wasp, *Trypoxylon politum*: effects of spatial scale on parasitoid functional response. *Ecological Entomology* 20, 159-168.
- MOREHAED, S.A. & FEENER, D.H. JR. 2000. Visual and chemical cues in host location and acceptance by a dipteran parasitoid. *Journal of Insect Behavior*, 13(4): 613-625.
- MORRISON, G. 1986. “Searching time aggregation” and density dependent parasitism in a laboratory host – parasitoid interaction. *Oecologia* Berlin 68, 198-303.
- MURDOCH, W.W. & OATEN, A. 1975. Predation and population stability. *Advances in Ecological Research* 9, 1-131.
- MURDOCH WW, CHESSON J & CHESSON PL. 1985. Biological control in theory and practice. *American Naturalist*, 125: 344-366.
- NEUMAN, F.G. & G.MINKO. 1981. The *Sirex* woodwasp in Australian radiata pine plantations. *Australian Forestry* 44: 46-63.
- NICHOLSON, A.J. 1933. The balance of animal populations. *Journal of Animal Ecology*, 2: 131-178.
- NICHOLSON, A.J. & BAILEY, V.A. 1935. The balance of animal populations. Part1. *Proc. Zool. Soc. London* 3: 551-598.
- NORDLUNG DA & LEWIS WJ. 1976. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 2: 211-220.
- NUTTALL, M.J. 1980. Insects parasites of sirex (Hymenoptera: Ichneumonidae, Ibalidae and Orussidae). En *Insect parasites of Sirex*. New Zealand Forest Service. Forest and Timber Insects in New Zealand N°47, pp. 12.
- O’NEIL, R.J. 1989. Comparison of laboratory and field measurements of the functional response of *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *J. Kansas Entomol. Soc.* 62: 148-155.
- OATEN, A. 1977. Optimal foraging in patches: a case of stochasticity. *Theoretical Population Biology* 12, 263-285.
- OATEN, A. & MURDOCH, W.W. 1975. Functional Response and stability in predator – prey systems. *Am. Nat.* 109: 289-298.
- PANDEY, K.P, SINGH, R. & TRIPATHI, C.P.M. 1984. Functional response of *Diaeretiella rapae* (M’ Intosh) (Hymenoptera: Aphidiidae), a parasitoid of the mustard aphid *Lipaphis erymisi* Kalt. (Homoptera: Aphididae). *Zeitschrift fur Angewandte Entomologie* 98, 321-327.

- PAPAJ, D.R. & VET, L.E.M. 1990. Odor learning and foraging success in the parasitoid, *Leptopilina heterotoma*. *Journal of Chemical Ecology*, 16:3137-3150.
- PARKIN, E.A. 1942. Symbiosis and siricid woodwasps. *Annals of Applied Biology* 29: 264-268.
- PATEL, P.N. & HABIB, M.E.M. 1993. *Microcharops anticarsiae* (Hymenoptera: Ichneumonidae), parasitoid of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae): Host age preference, sex ratio effects and functional response. *Entomophaga* 38, 511-517.
- PROKOPY, R.J. & ROITBERG, B.D. 2001. Joining and avoidance behavior in nonsocial insects. *Annual Review of Entomology* 46: 631-665.
- QUICKE, D.L.J., INGRAM, S. N. & FITTON, M. G., 1992. Phylogenetic implications of the structure and distribution of ovipositor valvilli in the Hymenoptera. *J. Nat. Hist.* 26: 587-608.
- QUICKE, D.L. 1997. Parasitic wasps. *Chapman & Hall, London*.
- QUICKE, D.L.J. Parasitic wasp taxonomy into the 21st century. In: Melika, G. & Thuroczy, C. (eds) *Parasitic Hymenoptera: Taxonomy and Biological Control*, Ministry of Agriculture and Regional Development of Hungary (*in press*).
- REBUFFO, S. 1980. La avispa de la madera: *Sirex noctilio* en el Uruguay. *Dirección General de recursos Naturales, Montevideo, Uruguay*.
- REUTER, O.M. 1913 *Lebensgewohnheiten und Instinkte der Insekten*, Berlin.
- ROGERS, D. J. & HASSELL, M. P.. 1974. General models for insect parasite and predator searching behaviour: interference. *Journal of Animal Ecology*, 43:239–253.
- ROGERS, ME & POTTER DA. 2002. Kairomones from scarabaeid grubs and their frass as cues in below-ground host location by the parasitoids *Tiphia vernalis* and *Tiphia pygidialis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102: 307-314.
- SAGARRA, L.A., VINCENT, C., PETERS, N.F. & STEWART, R.K. 2000. Effect of host density, temperature, and photoperiod on the fitness of *Anagyrus kamali*, a parasitoid of the hibiscus mealybug *Maconellicoccus hirsutus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 96, 141-147.
- SALT, G. 1934. Experimental studies in insect parasitism, II. Superparasitism. *Proceedings of the Royal Society, London B*, 114: 455-476.
- SALT, G. 1961. Competition among insect parasitoids. Mechanisms in biological competition. *Symposium of the Society for Experimental Biology*, 15: 96-119.
- SAS INSTITUTE INC. 1999. SAS® System for Microsoft® Windows®, version 8.0 (TSMO), Cary, NC-USA.

- SHISHEHBOR, P. & BRENNAN, P.A. 1996. Functional Response of *Encarsia formosa* (Gahan) parasitizing castor whitefly, *Trialeurodes ricini* misra (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Applied entomology* 120, 297-299.
- SOLOMON, J.E. 1949. The natural control of animal populations. *Journal of Animal Ecology* 18, 1-35.
- SPEIGHT, M.R.; HUNTER, M.D. & WATT, A. D. 1999. *Ecology of Insects: concepts and applications*. Blacwell Science LTD.pp 350.
- SPRADBERY, J.P. 1970_a. Host finding by *Rhyssa persuasoria*, an ichneumonid parasite of siricid woodwasps. *Animal Behaviour* 18, 103-114.
- SPRADBERY, J. P. 1970_b. The biology of *Ibalia drewseni* Borries, a parasite of siricid woodwasps. *Proceedings of the Entomological Society London B* 45, 104-113.
- SPRADBERY, J.P. 1974. The responses of *Ibalia* species (Hymenoptera: Ibalidae) to the fungal symbiontes of siricid woodwasps hosts. *Journal of Entomology* 48 (2) : 217-222.
- STEINBERG S, DICKE M & VET LEM. 1993. Relative importance of infochemicals from first and second trophic level in long-range host location by the larval parasitoid *Cotesia glomerata*. *Journal of Chemical Ecology*, 19: 47-59.
- STILLMAN, R.A.; GOSS-CUSTARD, J.D. & CALDOW, R. W.G. 1997. Modelling interference from basic foraging behaviour. *Journal of Animal Ecology*, 66: 692-703.
- TAKAHASHI, F. 1968. Functional Response to host density in parasitic wasp, with reference to population regulation. *Res. Population Ecology* X, 54-68.
- TAYLOR, K.L. 1967. The introduction, culture, liberation and recovery of parasites of *Sirex noctilio* in Tasmania, 1962-1967. *Division of Entomology Technical Paper N^o8*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. Melbourne, Australia.
- TAYLOR, K.L. 1976. The introduction and establishment of insect parasitoids to control *Sirex noctilio* in Australia. *Entomophaga* 21: 429-440.
- TAYLOR, K.L. 1978. Evaluation of the insects parasitoids of *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae) in Tasmania. *Oecologia* 32, 1-10.
- THOMPSON, D.J. 1975. Towards a predator – prey model incorporating age structure: effects of predator and prey size on the predation of *Daphnia magna* by *Ischnura elegans*. *Journal of Animal Ecology* 44: 907-916.
- THOMPSON, W.R. 1930. The utility of mathematical methods in relation to work on biological control. *Ann. Appl. Biol.* 17: 641-648.
- THOMSEN, I.M. & HARDING, S. 1996. A technique for isolation of fungi from wood wasps. *In: Thomsen, I.M. Amylostereum aerolatum and Amylostereum chailletii, symbiotic fungi*

- of wood wasps (*Sirex* sp. and *Urocerus* sp.) Ph. D. Thesis. Danish Forest and Landscape Research Institute, Hørsholm, Denmark.
- THORPE, W.H. 1939. Further experiments on olfactory conditioning in a parasitic insect. The nature of the conditioning process. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 126: 370-397.
- TINBERGEN, N. 1932. Ueber die Orientierung des Bienenwolfes (*Philanthus triangulum* Fabr.). *Zeitschrift für Vergleichende Physiologie*, 16: 305-334.
- TINBERGEN, N. 1935. Ueber die Orientierung des Bienenwolfes (*Philanthus triangulum* Fabr.) II. *Zeitschrift für Vergleichende Physiologie*, 2: 699-716.
- TREXLER, J.C, MC. CULLOGH, C.E. & TRAVIS, J. 1988. How can the functional response best be determined? *Oecologia* 76, 206-214.
- TURLINGS TCJ, TUMLINSON JH, ELLER FJ & LEWIS WJ. 1991. Larval-damaged plants: Source of volatile synomones that guide the parasitoid *Cotesia marginiventris* to the microhabitat of its hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 58: 75-82.
- TURLINGS, T.C.J., WÄCKERS, F.L., VET, L.E.M., LEWIS, W.J. & TUMLINSON, J.H. 1993. Learning of Host-Finding Cues by Hymenopterous Parasitoids, in *Insect Learning: Ecological and Evolutionary Perspectives* (PAPAJ, d. & LEWIS, A., Eds.) Chapman & Hall, Routledge, pp. 53- 77.
- ULLYET, G.C. 1936. Host selection by *Mycroplectron fuscipennis*, Zett. (Chalcidae, Hymenoptera). *Proceedings of the Royal Society of London B*, 120: 253- 291.
- VAN ALEBEEK, F.A.N., KONING, C.M., DE KORTE, E.A.P. & VAN HUIS, A. 1996. Egg limited, Functional Response of *Uscana lariophaga*, egg parasitoid of bruchid beetle pests in stored cowpea. . *Entomologia Experimentalis et Applicata* 81, 215-225.
- VAN ALPHEN, JJM. 1988. Patch time allocation by insect parasitoids: Superparasitism and aggregation. In: De Jong G (Ed.), *Population Genetics and Evolution*, pp 215-231.
- VAN ALPHEN JJM & VET LEM. 1986. An Evolutionary approach to host finding and selection, pp. 23-61. In: Waage J & Greathead D (Eds.). *Insect parasitoids*. 13th Symposium of Royal Entomological Society of London. Academic press, London
- VAN ALPHEN JJM & VISSER ME. 1990. Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 35: 59-79.
- VAN ALPHEN, JJM & JERVIS, MA. 1996. Foraging behaviour, pp. 62. In: Jervis, M & Kidd, N. (Eds.). *Insect Natural Enemies: Practical Approaches to their Study and Evaluation*. Chapman & Hall, London.

- VAN LENTEREN, J.C. 1986. Parasitoids in the greenhouse: successes with seasonal inoculative release systems. In: Waage, J.K & Greathead, D. (eds.), *Insect Parasitoids*, Academic Press, London: 341-374.
- VAN LENTEREN, J.C. & BAKKER, K. 1976. Functional Responses in invertebrates. *Netherlands Journal of Zoology* 26, 567-572.
- VAN LENTEREN, J.C. & BAKKER, K. 1978. Behavioural aspects of the Functional responses of a parasite (*Pseudeucoila bochei* Weld) to its host (*Drosophila melanogaster*). *Netherlands Journal of Zoology* 28, 213-233.
- VAN LENTEREN, J.C.; NELL, HW; VAN DER LELIE SEVENSTER, LA & WOETS, J. 1976. The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). I. Host finding by the parasite. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 20: 123-130.
- VAN ROERMUND, H.J.W., VAN LENTEREN, J.C. & RABBINGE, R. 1997. Analysis of foraging behavior of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa* on leaf : A simulation study. *Biological Control* 8, 22-36.
- VAN STEENIS, M.J. & EL – KHAWASS, K.A.M.H. 1995. Behaviour of *Aphidius colemani* searching for *Aphis gossypii*: Functional Response and Reaction to previously searched aphid colonies. *Biocontrol Science and Technology* 5, 339-347.
- VET, L.E.M. 1999. How do higher trophic levels influence the ecology and evolution of plant animal interactions. In: Olf, H.; Brown, VK & Drent, (eds.), *Herbivores between plants and predators*. Blackwell Science. Pp 477-481.
- VET, LEM & GROENEWOLD AW. 1990. Semiochemicals and learning in parasitoids. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 3119-3135.
- VET, LEM & DICKE M. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology*, 37: 142-172.
- VET, LEM; DEJONG, R; VAN GIESSEN, WA & VISSER, JH. 1990. A learning-related variation in electroantennogram responses of a parasitic wasp. *Physiological Entomology*, 5: 243-247.
- VET, L.E.M., LEWIS, W.J. & CARDÉ, R.T. 1995. Parasitoid foraging and learning, in *Chemical Ecology of Insects* (CARDE, R.T. & BELL, W.J., Eds.) 2nd edn. Chapman & Hall, NY.
- VET, L.E.M., HEMERIK, L., VISSER, M.E. & WÄKERS, F.L. 2002. Flexibility in Host-search and Patch-use Strategies of Insect Parasites, in *The Behavioural Ecology of parasites*

- (LEWIS, E.E., CAMPBELL, J.F. & SUKHDEO, M.V.K., Eds.). CAB International, pp. 39-64.
- VILLACIDE, J.M. & J.C. CORLEY. 2003. Distribución potencial del parasitoide *Ibalia leucospoides* (Hymenoptera: Ibalidae) en la Argentina. *Quebracho* 10: 7-13.
- VILLACIDE, J. M ; FERNÁNDEZ-ARHEX, V. ; KLASMER, P.;CORLEY, JUAN C.2004. Estrategias de manejo de la plaga *Sirex noctilio* : Definiendo escalas y acciones. *SAGPyA Forestal*, N.30:13-18
- VINSON, SB. 1976. Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 21:109-133.
- VINSON SB. 1981. Habitat location. In: Nordlung DA, Jones RL & Lewis WJ (Eds.), *Semiochemicals, Their role in Pest Control*, pp 51-78. John Wiley, New York.
- VINSON, SB. 1984. How parasitoid locate their hosts: A case of insect espionage. In: Lewis T (Ed.). *Insect Communication*, 1: 325-348. 12th Symposium of Royal Entomological Society of London. Academic Press. London, 414 pp.
- VINSON SB & IWANTSCH GF. 1980. Host suitability for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 25: 397-419.
- VISSER, M.E. & DRIESSEN, G. 1991. Indirect mutual interference in parasitoids. *Netherlands Journal of Zoology*, 41: 214-227.
- VISSER, M. E., VAN ALPHEN, J. J. M. & NELL, H. W. 1990. Adaptive superparasitism and patch time. *Behaviour*, 114: 21-36.
- VOLTERRA, V. 1926. Variazioni e fluttuazioni del numero d'individui in specie animali conviventi. *Memorie della Accademia Nazionale dei Lincei*, 2: 31-113.
- WAAGE, J.K. 1983. Aggregation in field parasitoid populations: foraging time allocation by a population of *Diadegma* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Ecological Entomology* 8, 447-453.
- WAAGE, J.K. & HASSELL M.P. 1982. Parasitoids as biological control agents: A fundamental approach. *Parasitology* 84: 241-268.
- WALDE, S.J. & MURDOCH, W.W. 1988. Spatial density dependence in parasitoids. *Annal Review Entomology* 33, 441-466.
- WHITEFIELD, J.B. 1998. Phylogeny and evolution of host-parasitoid interactions in hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 43:129-151.
- WIEDENMANN, R.N. & SMITH Jr., J.W. 1993. Functional Response of the Parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) at Low Densities of the Host *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Biological Control* 22, 849-858.

- WILLIAMS, F.M. & JULIANO, S.A. 1985. Further difficulties in the analysis of functional response experiments and a resolution. *The Canadian Entomologist* 117, 631-640.
- ZAR, H.J. 1999. Biostatistical Analysis (REYV, T., Ed.), Prentice Hall, Inc. New Jersey, pp. 663.
- ZHANG, R., HEONG, K.L. & DOMINGO, I.T. 1996. Relationship between temperature and functional response in *Cardiochiles philippinensis* (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology* 25, 1321-1324.

Apéndice A

*Cultivo de **Amylostereum aerolatum***

Amylostereum aerolatum Boidin (1958) es un hongo, perteneciente al orden Aphyllophorales y de la familia Corticiaceae que posee una relación simbiótica con *Sirex noctilio*. Todas las avispas de la familia Siricidae poseen un hongo simbiote alojado en estructuras especializadas denominadas micangias, siendo la relación especie-específica. La simbiosis se basa en la incapacidad de las avispas de degradar la celulosa de la madera y el vehículo que estas ofrecen para la dispersión del hongo en el espacio.

Se obtuvo un cultivo del hongo simbiote de *S. noctilio* como fuente exclusiva de claves químicas, para poder conducir experimentos de localización y orientación hacia el hospedador, y su relación con otros individuos de la misma especie. El poder trabajar con el hongo aislado nos permitió descartar la presencia de otros químicos como claves atractantes y arrestantes para las hembras parasitoides. Por ejemplo, descartar evidencias de que los huevos de la plaga *per se*, o la asociación de éstos con el hongo u otro material introducido por *S. noctilio* durante la oviposición, sean estímulos involucrados con la localización del huésped.

Las esporas del hongo simbiote se encuentran en el par de micangias localizadas por arriba del ovipositor de la avispa sirícida (foto A.1.). La técnica que se utilizó para aislarlas fue descrita por Thomsen y Harding (1996). Las hembras de *S. noctilio* que se utilizaron para aislar las esporas y cultivarlas, fueron criadas del material capturado en el campo. En el momento en que se realizó el aislamiento, todas las hembras que se utilizaron fueron muertas ese mismo día. Una vez aisladas las esporas se las cultivó en placas de petri, en un medio de agar-agar (12,5 grs.), malta (10 grs.), levadura (1 gr.) y extracto de *Pinus ponderosa* (aserrín de pino 100 grs.). En cada una de las placas se transfirió el contenido de las micangias de cada una de las avispas (una por placa). La incubación del hongo se llevó a cabo en oscuridad y a una temperatura promedio de 20°C. Luego de 2-3 semanas de incubación, el hongo estaba listo para ser utilizado en los experimentos (foto A.2.)

Preparación del medio de cultivo

PINO - AGAR - LEVADURA - MALTA (PALM)

Para obtener el medio de cultivo, primero se autoclavó el aserrín de pino con medio litro de agua destilada durante 20 min. a 121 psi. Una vez obtenido el extracto de pino, se lo diluyó en agua destilada hasta completar 500 ml. Luego se colocó el extracto a fuego, hasta ebullición, cuando se le agregó la malta, la levadura y por último el agar. El medio resultante se lo autoclavó durante 20 min a 121 psi.

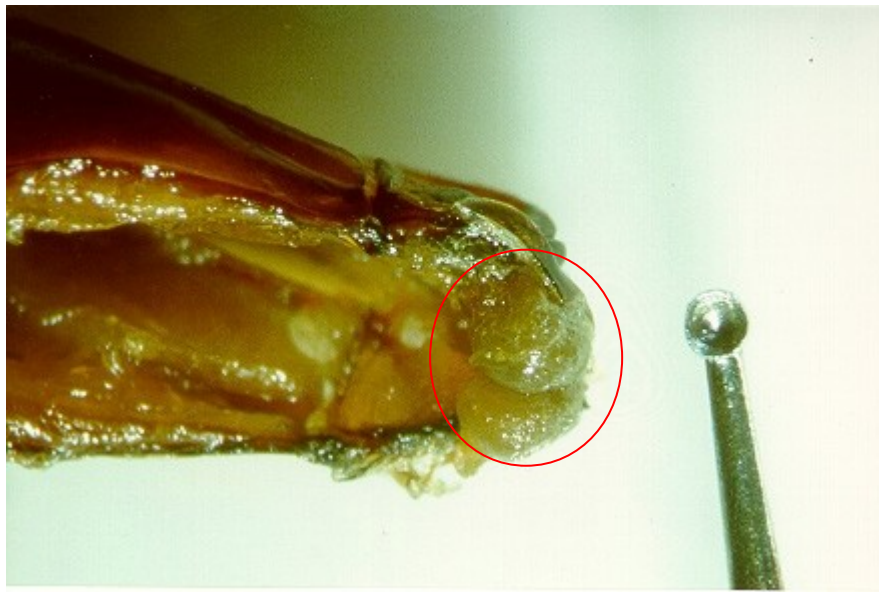


Foto A.1. Micangias donde se alojan las esporas de *Amylostereum aerolatum* en la hembra de la avispa sirícida. El par de mycangias (en el círculo rojo) se ubican por encima del ovipositor (foto A. Martinez)



Foto A.2. Desarrollo del hongo simbiote *Amylostereum aerolatum*, en un medio de cultivo de extracto de pino, malta, levadura y agar (foto A. Martinez, 25X).

Agradecimientos

Agradezco a todas las personas e instituciones que de una manera u otra participaron en la realización de mi tesis, especialmente a:

Tesis Doctoral – Valeria Fernández Arhex

- mis directores, Juan Corley y Claudio Lazzari.
- Carlos Bernstein.
- Angel Capurro.
- CONICET, por el otorgamiento de la beca para poder realizar el doctorado.
- Laboratorio de Ecología de Insectos, INTA EEA-Bariloche y al Laboratorio de Fisiología de Insectos de la Facultad de Cs. Exactas y Naturales, UBA, por brindarme el lugar de trabajo para realizar mi tesis.
- especialmente a los laboratorios que colaboraron brindándome material para poder realizar mis objetivos;
- en INTA EEA-Bariloche: Lab. Genética Forestal; Leo Gallo, Fernanda, Paula, María Marta, Mario, Alejandro.

Lab. Ecología Forestal; Tomás Schlister, Vero, María Elena, Javier, Mauro, Guille, Mariana.

Lab. Histología; Alicia Sbriller, Laura.

Área Producción Animal; María Rosa, Franca, Alejandro, Marcela, Patricia.

Área recursos Naturales; Sonia, Donald, los Guillemos, Paulita, Fernando.

- en Centro Atómico Bariloche: MECOM y Lab. Microscopía Electrónica, en especial a Cacho.
- en Fac. Cs. Exactas y Naturales, UBA: a Ana y Lab. Fisiología de Insectos; Tere, Marcela, Gabo, Alicia, Romina, Sebas.
- a mis compañeros de laboratorio; July, y por tantos años compartidos con José. También a Vicky Klasmer y Eduardo Botto.
- a mis amigos por escucharme y alentarme en los momentos más débiles: Muy especialmente a Ceci, Mecha, Mercedes, Pauli, Caro, Pao, Fabi, Cris, Fer, Joe, Yami, Noe, Marian, Andrés, Kari, Octavio, Pupi y María Laura.
- a mis padres, a mi hermanito, a mis abuelos, por estar en todo momento.
- a “mi familia de Bariloche”, Sandra, el Gato, mis sobrinos Kaia y Sacha, Gaby, Ale, Cata y Luana, por acompañarme siempre.
- a mis locuras Adrián y Male.