



**Universidad Nacional del Comahue**  
**Centro Regional Universitario**  
**Bariloche**

**Efectos Allee en una avispa social invasora  
establecida en la Patagonia Argentina:  
determinación de umbrales para el control  
de poblaciones locales**

**Trabajo de Tesis para optar al Título de Doctora en  
Biología**

**Lic. Melo Romina Ayelén Luz**

**Director: Dr. Juan C. Corley**

**Codirectora: Dra. Maité Masciocchi**

**2024**

“Such is the power of theory over rocks that it can make rocks into solid cliffs, which, however, when looked at close at hand, present openings wide enough to drive hay wagons through”.

Norman Maclean, in *Young Men and Fire*

# **TABLA DE CONTENIDO**

TABLA DE CONTENIDO .....	i
AGRADECIMIENTOS .....	iii
RESUMEN .....	v
ABSTRACT .....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xiii
ÍNDICE DE TABLAS .....	xx
DECLARACIÓN .....	xxi
PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS .....	xxii
CAPITULO 1 .....	1
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
OBJETIVOS Y ORGANIZACIÓN DE LA TESIS .....	18
CAPITULO 2 .....	19
<b>Componentes del efecto Allee: un estudio experimental en colonias de <i>Vespa germanica</i></b> .....	19
Resumen .....	20
Introducción.....	22
Materiales y métodos.....	25
Análisis estadístico .....	28
Resultados.....	28
Discusión .....	30
CAPITULO 3 .....	33
<b>Comportamientos cooperativos como posibles mecanismos del efecto Allee</b> .....	33
Resumen .....	34
Introducción.....	35
Materiales y métodos.....	39
Análisis estadístico .....	40

Resultados.....	40
Discusión .....	44
CAPITULO 4 .....	48
<b>Trampeo masivo: ¿una herramienta sustentable para el manejo de avispas sociales invasoras?</b> .....	48
Resumen .....	49
Introducción.....	50
Materiales y métodos.....	54
Análisis estadístico .....	57
Resultados.....	59
Discusión .....	62
CAPITULO 5 .....	65
DISCUSIÓN GENERAL .....	65
BIBLIOGRAFÍA .....	71
ANEXO .....	91

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores Juan y Maité por guiar esta tesis, por compartir sus experiencias y conocimientos conmigo, por responder siempre ante cada duda o necesidad. En especial, les quiero agradecer por toda la paciencia y el apoyo que me dieron durante 6 años.

A Maité, también le quiero agradecer por laburar a la par mía y acompañarme al campo en cualquier horario o día de la semana. Por su “cualquier cosa chíflame”, porque siempre que le “chifle” me ayudó.

A los jurados, Carolina Morales, Luciana Elizalde y Andrés Arenas por el tiempo dedicado a revisar esta tesis y sus valiosos aportes.

A todos los miembros del GEPI por el tiempo compartido.

A Esteban, Sebastián y Fabian, por la asistencia en el campo.

A Elizabeth Zúñiga, estudiante del CRUB que me ayudó en gran parte de la metodología del capítulo 4.

A Inés Bertoldi, Juan Pablo Duprez y Denise Castagnola por la asistencia.

A IFAB, CONICET y Universidad del Comahue que hicieron posible esta tesis.

A mis amigas y compañeras, Ana y Agus, por todo el laburo compartido, por su ayuda, apoyo, y aliento.

A mi amiga Antonella, por acompañarme y apoyarme en todo momento.

A mi mamá, Liliana, por su ayuda, cuidando a Alma y Bruno durante este último tiempo para que pueda escribir esta tesis. Por su apoyo y por todo el esfuerzo realizado para que pueda estudiar una carrera de grado que luego me permitió tener una beca de CONICET para realizar un doctorado.

A mi amiga, Sofía, por todo su apoyo y aliento. Gracias por ser la Richie de mi Eddie.

A mi compañero, Gastón, por el aguante, la compañía, y por ser mi ayudante de campo siempre. *“Claro que sos mi camarada porque sos él que dice no, te equivocaste, o dice sí, está bien, vayamos”*.

A mis hijxs, Alma y Bruno por ser mi timón.

## **RESUMEN**

---

En ecología de poblaciones, el crecimiento poblacional de algunos organismos se describe típicamente por una curva de densidad-dependencia negativa donde la tasa de crecimiento *per cápita* decrece solo cuando se supera la capacidad de carga del ambiente. Sin embargo, en algunas especies sus poblaciones decrecen cuando la densidad poblacional es baja. Los **efectos Allee** se definen como la **relación positiva** entre el tamaño poblacional y la tasa de crecimiento. Este fenómeno se puede diferenciar en dos tipos: efectos Allee “demográficos” y “componentes”. Los **efectos Allee demográficos** se refieren a la relación positiva entre el tamaño de un grupo o población y la tasa de crecimiento, mientras que los **componentes del efecto Allee** se refieren a la relación entre el tamaño de un grupo o población y el éxito reproductivo (o *fitness*) de sus individuos.

Los efectos Allee se basan en la existencia de **interacciones intraespecíficas** mutuamente **beneficiosas** que hacen que el éxito reproductivo individual o la tasa de crecimiento *per cápita* aumenten con el número de individuos. Las especies de animales sociales se caracterizan por las **interacciones cooperativas** que ocurren entre individuos de un mismo **grupo** o **colonia**. Debido a esto es que se ha postulado que cualquier aumento en la sociabilidad en los animales, puede trasladarse a un aumento en la susceptibilidad a los efectos Allee. Específicamente los **insectos eusociales** son un ejemplo extremo de cooperación entre conespecíficos debido a su compleja organización social y su división de tareas. Las colonias de insectos eusociales están conformadas por cientos de individuos emparentados que se caracterizan por una marcada división de trabajo entre la casta reproductiva y la casta no reproductiva u obrera. Las obreras-hembras suprimidas reproductivamente- ayudan activamente en todas las tareas necesarias para que los individuos reproductivos puedan generar descendencia. A su vez, los congéneres son esenciales para realizar con éxito las diferentes tareas, que incluyen la búsqueda de alimento, la defensa de la colonia y el cuidado de la cría. Este alto grado de cooperación observado en insectos eusociales sugiere que deberían ser susceptibles a los efectos Allee. En consonancia, los **comportamientos sociales** como la búsqueda y adquisición de alimento, la defensa de la colonia, y el cuidado de la cría, han sido postulados como mecanismos que podrían conducir a **efectos Allee**. Estos comportamientos son una de las razones por las cuales hormigas, termitas, abejas y avispas se han vuelto especies dominantes en muchos hábitats y están relacionados con

el éxito de una colonia. El objetivo general de la tesis fue evaluar la existencia de componentes del efecto Allee y sus posibles mecanismos a nivel de colonia en la avispa eusocial invasora, *Vespula germanica* con el fin último de mejorar las estrategias de control actuales.

En el **capítulo 2** exploré experimentalmente los **componentes Allee** a nivel de colonia. Las colonias de *V. germanica*, están conformadas por una única reina reproductiva y numerosas obreras monomórficas estériles encargadas del cuidado de la cría, entre otras tareas. Una de las tareas más importantes de las obreras es cuidar de las futuras reinas para asegurar el éxito reproductivo de la colonia. El éxito reproductivo de la colonia no sólo consiste en la producción de futuras reinas sino también en las colonias exitosas generadas por esas reinas. Por ello, las reinas producidas en una colonia deben poseer atributos que maximicen las posibilidades de éxito. El tamaño corporal (indicativo de potencial reproductivo) y el peso (reservas nutricionales) de reinas al abandonar el nido parental son centrales para este éxito. El objetivo de este capítulo fue conocer el efecto de la remoción de obreras, como aproximación experimental a una colonia reducida, sobre dos componentes del éxito reproductivo de la colonia: el número de futuras reinas producidas y su índice de masa corporal. Para ello, busqué y extraje nidos de los alrededores de Bariloche, que se colocaron en cajas individuales bajo condiciones naturales. Posteriormente, procedí con la remoción de obreras de cada nido (del 0 al 80% aproximadamente) utilizando una aspiradora inalámbrica adaptada para la tarea. Durante abril y mayo capturé las reinas producidas por nido y calculé su índice de masa corporal a partir del largo de la tibia y el peso. Los resultados sugieren que la disminución en el número de obreras de la colonia se asocia con una reducción en el número de futuras reinas producidas. En aquellos casos donde la reducción de obreras fue superior al 44.4%, las colonias no produjeron reinas. A su vez, el índice de masa corporal de las reinas no se asocia a la disminución en el número de obreras. Estos resultados demuestran la importancia de la casta obrera en el éxito de la colonia, proporcionando evidencia de la existencia de efectos Allee a nivel de colonia en estas avispas sociales.

En el **capítulo 3**, exploré tres comportamientos sociales como posibles mecanismos que pueden conducir a efectos Allee a nivel de colonia. Específicamente, evalué el efecto de la remoción de obreras sobre el ingreso de proteína al nido y el número de obreras realizando algún comportamiento de higiene o vigilancia en la entrada del nido. Para ello,



en los mismos nidos utilizados en el capítulo 2, durante el mes de marzo realicé observaciones de cinco minutos por nido. En cada observación registré el número de obreras realizando comportamientos relacionados con la higiene (obreras sacando larvas, restos de obreras o restos del nido, así como acicalando el cuerpo de otras obreras al ingresar al nido) y el número de avispas guardianas presentes en la entrada del nido. Además, diariamente tomé una muestra del alimento proteico ingresado a cada nido capturando a todas las obreras ingresantes durante un minuto. Encontré que la disminución en el número de obreras de la colonia no afectó la cantidad de proteína ingresada al nido ni el número de obreras realizando algún comportamiento de higiene. En contraste, la defensa de la colonia, medida como el número de obreras guardianas en la entrada del nido, disminuyó con la reducción en el número de obreras. Estos resultados sugieren que las colonias poseen una notable flexibilidad para desempeñar diferentes roles, lo que les permite afrontar cambios en el número de obreras en la colonia. Esta flexibilidad, permite que la colonia relocalice individuos a tareas que podrían ser prioritarias, como el ingreso de proteína o la higiene, con el fin de continuar con su crecimiento, desarrollo y reproducción.

Por último, en el **capítulo 4**, evalué en parcelas experimentales el efecto de la captura masiva de avispas sobre la abundancia de *V. germanica* y la actividad de los nidos, el año de implementación del tratamiento y al año siguiente. Durante dos años consecutivos, implementamos un trampeo masivo a campo en ocho parcelas de una hectárea cada una (2 parcelas tratamiento y 2 parcelas control cada año). En las parcelas tratamiento, donde se aplicó el trampeo masivo, colocamos 25 trampas cebadas con carne durante 4 semanas. Para evaluar el efecto del tratamiento, comparé la abundancia de avispas en la semana previa y la posterior al mismo para cada parcela. Los resultados mostraron que la captura masiva de obreras redujo un 65 % la abundancia de avispas locales y un 48 % la actividad de los nidos ubicados en parcelas tratadas. A su vez, un año después de la captura masiva, se observó una disminución en la abundancia de avispas. De forma similar a lo hallado para nidos experimentales (cap.2), los nidos a campo sufrieron una disminución del 48% en la tasa de tráfico aéreo, luego de aplicar un trampeo masivo. Este último resultado, podría tener implicancias a nivel poblacional debido al efecto de la remoción de obreras sobre la generación de reproductivos observado experimentalmente. Además, el conocimiento de este umbral crítico es relevante para el diseño de estrategias de control. La captura masiva de obreras podría ser una herramienta útil y respetuosa con el ambiente

para reducir las poblaciones de estas avispas sociales invasoras a nivel local y durante el pico de actividad.

En conclusión, estos estudios evidenciaron efectos Allee en las colonias de *V. germanica*. Nidos con menos obreras, producen menos reinas e invierten menos en conductas de defensa, lo que podría afectar su supervivencia. Por otro lado, el trampeo masivo a escala local reduce la abundancia de avispas *V. germanica* teniendo un impacto significativo sobre las colonias naturales e incluso pudiendo afectar a las poblaciones a mediano plazo, al exponerlas a los efectos Allee. La técnica de trampeo masivo de obreras podría ser una estrategia eficaz para reducir localmente la abundancia de avispas, especialmente durante los meses de mayor actividad en áreas invadidas.

PALABRAS CLAVES: Componentes del efecto Allee, *fitness*, avispas eusociales, trampeo de alta densidad, control de plagas, chaqueta amarilla, *Vespula* spp.

## **ABSTRACT**

In population ecology, the population growth of some organisms is typically described by a negative density-dependence curve, wherein the per capita growth rate decreases only when the carrying capacity of the environment is exceeded. However, in some species, their populations decrease when population density is low. Allee effects can be defined as the positive relationship between population size and growth rate. This phenomenon can be differentiated into two types: “demographic” and “component” Allee effects. Demographic Allee effects refer to a positive relationship between the per capita population growth rate and population or group size, while the components of the Allee effect refer to a relationship between population or group size and individual fitness.

Allee effects are based on the existence of mutually beneficial intraspecific interactions among individuals. In social species these cooperative interactions may occur among individuals of the same group or colony. From the standpoint of cooperation, any increase in sociability could be translated into an increase in susceptibility to Allee effects. Specifically, eusocial insects are an emblematic example of cooperation between conspecifics that reaches division of labour between individuals that may lead to morphological variation among them. Colonies of eusocial insects are made up of hundreds of related individuals that are characterized by a marked identification between the reproductive caste and the non-reproductive or worker caste. Workers - reproductively suppressed females - actively help in all the tasks necessary so that reproductive individuals can generate offspring. Conspecifics are essential to successfully carry out different tasks, which include searching for food, defending the colony, and caring for the offspring. This high degree of cooperation observed in eusocial insects suggests that they should be susceptible to Allee effects. Accordingly, social behaviors such as foraging and acquiring food, colony defence, and brood care have been postulated as mechanisms that could lead to Allee effects. These behaviors are one of the reasons why ants, termites, bees, and wasps have become dominant species in many habitats and are related to the success of a colony. The main objective of the thesis was to evaluate the existence of components of the Allee effect and its possible mechanisms at the colony level in the invasive eusocial wasp, *Vespula germanica* with the purpose of improving current control strategies.

In **Chapter 2**, I experimentally explored component Allee effects at the colony level. *Vespula germanica* colonies are made up of a single reproductive queen and numerous sterile monomorphic workers in charge of caring for the brood, among other tasks. One of the workers' most important tasks is to care for gynes (future queens) to ensure the reproductive success of the colony. The colony fitness consists not only of gyne production but also of the success of the new colonies generated by those queens. Therefore, queens produced in a colony must possess attributes that maximize their chances of success. Body size (indicative of reproductive potential) and weight (nutritional reserves) of queens upon leaving the parental nest are central to this success. The objective of this chapter was to know the effect of worker removal, as an experimental approach to a reduced colony, on two components of the colony fitness: the number of gynes produced and their body mass index. To do this, I searched and extracted nests from the Bariloche city surrounding, which were placed in individual boxes under natural conditions. Subsequently, I proceeded with the worker removal from each nest (from approximately 0 to 80%) using a cordless vacuum cleaner adapted for the task. During April and May I captured the gynes produced per nest and calculated their body mass index from tibia length and weight. Results suggest that the decrease in the number of workers in the colony is associated with a reduction in the number of future queens produced. In those cases where the reduction in workers was greater than 44.4%, the colonies did not produce queens. In turn, the body mass index of the queens is not associated with the decrease in the number of workers. These results demonstrate the importance of the worker caste in colony success, providing evidence for the existence of colony-level Allee effects in these social wasps.

In **Chapter 3**, I explored three social behaviors as possible mechanisms that can lead to Allee effects at the colony level. Specifically, I evaluated the effect of worker removal on the amount (weight) of protein-foods collected by foragers, and the number of workers performing any hygiene or guarding behavior at the nest entrance. To do this, in the same nests used in chapter 2, during the month of March I carried out five-minute observations per nest. At each observation I recorded the number of workers performing hygiene-related behaviors (workers removing larvae, worker remains, or nest remains, as well as grooming the bodies of other workers upon entering the nest) and the number of guard wasps present at the entrance of the nest. In addition, I daily took a sample of the protein food entered each nest, capturing all the incoming workers for one minute. I found that

the decrease in the number of workers in the colony did not affect the amount of protein-foods collected or the number of workers performing any hygiene behavior. In contrast, colony defence, measured as the number of guard workers at the nest entrance, decreased with reduction in worker numbers. These results suggest that colonies have remarkable flexibility to perform different roles, which allows them to cope with changes in the number of workers in the colony. This flexibility allows the colony to relocate individuals to tasks that could be a priority, such as protein intake or hygiene, to continue its growth, development, and reproduction.

Lastly, in **Chapter 4**, I explored the impact of mass worker-wasp captures on the abundance of *V. germanica* and nest activity in experimental plots. During two consecutive years, we implemented mass field trappings in eight one-hectare plots (2 treatment and 2 control plots each year). In the treatment plots, where mass trapping was applied, we placed 25 traps baited with meat for 4 weeks. To evaluate the effect of the treatment, I compared the abundance of wasps captured in the week before and after the treatment for each plot. The results showed that the mass trapping of workers reduced local wasp abundance by 65% and the activity nest (of nests located in treated plots) by 48%. In turn, a year after treatment, a decrease in wasp abundance was still noted. In a similar way to what was found for experimental nests (Chap. 1), nests suffered a 48% decrease in the traffic rates. This last result could have implications at the population level due to the effect of worker removal in future reproductives, as observed experimentally. Furthermore, knowledge of a critical threshold is relevant for the design of control strategies. Employing worker trapping as a management tool could prove a useful and environmentally friendly way to reduce local wasp abundance during peak activity.

In conclusion, these studies showed Allee effects in *V. germanica* colonies. Nests with fewer workers produce fewer gynes and invest less in defence behaviours, which could affect populations. On the other hand, mass trapping at a local scale reduces the abundance of *V. germanica* wasps, having a significant impact on natural colonies and may even affect populations in the mid-term, by exposing them to Allee effects. The mass trapping of workers technique could be an effective strategy to locally reduce wasp abundance, especially during the months of greatest activity in invaded areas.

KEYWORDS: component Allee effect, fitness, eusocial wasps, high-density trapping, pest control, yellowjacket, *Vespula* spp.

# ÍNDICE DE FIGURAS

## **CAPÍTULO 1: Introducción general**

**Figura 1.** Esquema de la relación entre la densidad poblacional y el *fitness* individual para una curva de densodependencia negativa (A) y una de densodependencia positiva o Efecto Allee (B) (Adaptado de Courchamp et al., 2008). -----2

**Figura 2.** Curva clásica de denso-dependencia negativa (línea sólida) en comparación con un efecto Allee (denso-dependencia positiva) débil (línea de guiones) y fuerte (línea de puntos). En un efecto Allee débil, la tasa de crecimiento per cápita disminuye a baja densidad poblacional, pero permanece positiva; mientras que en un efecto Allee fuerte, la tasa de crecimiento per cápita se vuelve negativa por debajo de determinado valor de densidad poblacional o umbral Allee. -----3

**Figura 3.** Tipos de efecto Allee (componente y demográfico) que pueden ocurrir a nivel poblacional y de grupo en especies sociales. Se muestran ejemplos de tasas vitales que pueden estar correlacionadas positivamente con la variable predictora (número de individuos, grupos, etc.) según el nivel. La tasa vital determina el nivel y el tipo de efecto Allee. También, se muestran tres comportamientos cooperativos, como mecanismos, que están fuertemente relacionados con la organización social. -----7

**Figura 4.** Distribución mundial de *Vespula germanica*. Los puntos verdes indican las áreas de distribución nativa y los puntos rojos, las áreas invadidas. En el mapa de

Argentina se indica en color la distribución actual y el punto negro indica el sitio donde fue reportada por primera vez en 1980. Figura adaptada de Lester & Beggs, 2019. ----- **9**

**Figura 5.** Diferencias morfológicas entre *Vespula germanica* y *Vespula vulgaris*. (A).

Obrera de *Vespula vulgaris* con la mancha negra en forma de ancla en el frente de la cara. (B). Obrera de *Vespula germanica* sin la mancha negra en forma de ancla en el frente de la cara. (C). Obrera de *Vespula vulgaris* con mancha negra detrás del ojo. (D). Obrera de *Vespula germanica* sin mancha negra detrás del ojo. Fotos de Nicolas Mazzola. ----- **10**

**Figura 6.** Ilustración de un nido subterráneo típico de *Vespula* spp. El nido está

compuesto por varios estantes con celdas hexagonales (dispuestas hacia abajo) y suspendidos entre sí por tabiques. Los estantes inferiores poseen las celdas reales en las cuales se desarrollarán las reinas vírgenes. La estructura del nido y su revestimiento están hechos con pulpa de madera (fibra de madera y saliva) que colectan las obreras. El acceso al nido es a través de un orificio en la parte inferior que conecta con el exterior a través de un túnel. Figura adaptada de internet. ----- **12**

**Figura 7.** Abundancia relativa de avispas y ciclo anual de *Vespula* spp. en el hemisferio

sur. El ciclo consiste en tres fases: (1) el pico poblacional durante el verano (febrero-marzo), seguido de la producción, emergencia y apareamiento de nuevas reinas y zánganos durante el otoño (abril-mayo). Luego de la muerte del nido, de las obreras



y de los zánganos, (2) las nuevas reinas entran a un período de hibernación durante el otoño e invierno (junio-septiembre). (3) En primavera emergen las nuevas reinas que sobrevivieron a la hibernación para fundar su propia colonia. Figura adaptada de Lester & Beggs, 2019. ----- **13**

**Figura 8.** Casta reproductiva de *Vespula germanica*. (A) reina, (B) zángano y (C) reina y zángano apareándose. Fotos de Agustina Porrino.----- **14**

**Figura 9.** Ciclo de vida de las avispas *Vespula* spp. (A) En primavera, luego de hibernar, la reina solitaria fecundada comienza a construir el nido. (B) Pone los primeros huevos y se ocupa de su cuidado hasta que emergen las primeras obreras. (C) Cuando emergen las primeras obreras, aproximadamente un mes después, la reina se dedica exclusivamente a la oviposición, mientras que las obreras se ocupan de seguir expandiendo el nido y de alimentar a las larvas y la reina. (D) A finales del verano, la colonia alcanza el pico de abundancia y comienza la construcción de celdas reales. (E) Luego, comienza la producción de reinas y zánganos, (F) los cuales abandonan el nido para aparearse con individuos de otros nidos. Los zánganos y la colonia mueren gradualmente, (G) y la reina fecundada busca un lugar seco y protegido para hibernar hasta la primavera. ----- **15**

## **CAPÍTULO 2: Componentes del efecto Allee**

**Figura 10.** Predio experimental cerrado ubicado dentro del IFAB, en el cual se colocaron las cajas experimentales a nivel del suelo. Cada caja contenía un nido de *Vespula*

*germanica*. ----- 26

**Figura 11.** Caja experimental donde se colocaron los nidos de *Vespula germanica*. (A).

Vista superior del corte transversal de un diagrama de la caja. (B). Foto de una caja experimental con la manguera plástica por la cual las avispas entran y salen del nido.

----- 26

**Figura 12.** Número de reinas vírgenes de *Vespula germanica* producidas por nido según

el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los triángulos rojos representan los nidos

controles y los puntos negros representan los nidos tratamiento. ----- 29

**Figura 13.** Índice de masa corporal (media  $\pm$  se) de las reinas vírgenes de *Vespula*

*germanica* producidas por nido según el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los

triángulos rojos representan los nidos controles y los puntos negros representan los nidos tratamiento. ----- 30

### **CAPÍTULO 3: Mecanismo del efecto Allee**

**Figura 14.** Metodología para la colecta de alimento proteico en nidos de *Vespula*

*germanica*. (A) Esquema en vista lateral de la caja experimental y la manguera que permite el ingreso y egreso de los individuos al nido. (B) Para capturar las avispas

que ingresan al nido se bloqueó el orificio interno de la manguera. (C) Luego de un minuto, se bloqueó el extremo libre de la manguera. Esta manguera fue retirada y

reemplazada por otra similar. ----- 39

**Figura 15.** Proteína total ingresada a cada nido de *Vespula germanica* según el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los triángulos rojos representan los nidos controles y los puntos negros los nidos tratamiento. ----- 41

**Figura 16.** Número de obreras vigilando en la entrada del nido para cada nido según el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los triángulos rojos representan los nidos controles, los puntos negros representan los nidos tratamiento, y las barras verticales el error estándar.----- 42

**Figura 17.** Número de obreras realizando algún comportamiento de higiene (saliendo del nido con larvas muertas, restos de obreras muertas o restos del nido y avispa acicalando el cuerpo de otras obreras) por el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los triángulos rojos representan los nidos controles, los puntos negros representan los nidos tratamiento, y las barras verticales el error estándar.. ----- 43

#### **CAPÍTULO 4: Trampeo masivo**

**Figura 18.** Ubicación del ensayo de campo utilizado para evaluar el impacto de la captura masiva sobre la abundancia de avispa y la actividad de los nidos. Cada parcela de una hectárea se situó a una distancia mínima de 0,5 km entre sí. Los marcadores de

chinche indican las ubicaciones de las parcelas "sin trampeo masivo" (verde) y "con trampeo masivo" (púrpura) en 2021. Mientras tanto, los marcadores de gota representan la "sin trampeo masivo" (verde) y la "con trampeo masivo" (púrpura) en 2022. Todas las parcelas se ubicaron en un matorral suburbano de la ciudad de Bariloche (Argentina), ubicado dentro del Parque Nacional Nahuel Huapi. (Imagen: Google Earth, 06/05/2023).----- 55

**Figura 19.** Diseño del protocolo de trampeo masivo para *Vespula germanica*. Las parcelas “sin trampeo masivo” y “con trampeo masivo” tenían cuatro trampas centrales (puntos verdes) durante una semana antes y una después del tratamiento para estimar la abundancia inicial y final de avispas por parcela, respectivamente. En las parcelas “con trampeo masivo”, se colocaron 25 trampas (puntos púrpuras) durante cuatro semanas para la captura masiva de obreras. Cada parcela tenía un tamaño de una hectárea (100 x 100 metros). La distancia entre las trampas centrales (30 metros) y entre trampas (20 metros) se muestra con líneas de puntos. En 2021 este protocolo se aplicó desde el 2/03 al 12/4, y en 2022, desde 21/02 hasta 4/4. - 56

**Figura 20.** Trampa cebada estilo bolsa plástica. (A) Trampa cebada con carne vacuna colgada en arbusto a 1,5 metros del suelo (B) Trampa cebada utilizada en el ensayo donde se observan uno de los orificios laterales por el cual ingresan las avispas. - 56

**Figura 21.** Abundancia de *Vespula germanica* (media  $\pm$  se) antes del trampeo masivo (inicial) y después del trampeo masivo (final) para "parcelas sin trampeo masivo"

(izquierda) y "parcelas con trampeo masivo" (derecha). (GLMM con distribución de errores de Poisson y comparación post hoc de Tukey, \*\*\*  $p < 0,001$ ). ----- **59**

**Figura 22.** Tasas de tráfico (media  $\pm$  se) antes del trampeo masivo (inicial) y después del trampeo masivo (final) de los nidos de *Vespula germanica* para las "parcelas sin trampeo masivo " (izquierda) y las "parcelas con trampeo masivo" (derecho). (GLMM con una distribución de errores binomial negativa y comparación post hoc de Tukey, \*\*\*  $p < 0,001$ ,  $0,05 <$  no significativo (ns)). ----- **60**

**Figura 23.** Abundancia de *Vespula germanica* (media  $\pm$  se) en 2021 (antes del trampeo masivo) y en 2022 (después del trampeo masivo en 2021) para las "parcelas sin trampeo masivo" (izquierda) y las "parcelas con trampeo masivo" (derecha). (GLMM con distribución de errores de poisson y comparación post hoc de Tukey, \*\*\*  $p < 0,001$ ). ----- **61**

# **ÍNDICE DE TABLAS**

## **CAPÍTULO 1: Introducción general**

<b>Tabla 1.</b> Definiciones de los principales conceptos relacionados con efectos Allee (Adaptado de Courchamp et al., 2008).-----	<b>4</b>
--	----------

## **ANEXO**

<b>Tabla 2.</b> Nidos controles (en negrita) y nidos tratamiento de <i>Vespula germanica</i> observados durante 2019 y 2021. Para cada nido, se muestra la tasa de tráfico pretratamiento, la tasa de tráfico postratamiento, tamaño de la colonia (según Malham et al., 1990), porcentaje de avispas removidas, y el cambio proporcional de obreras (el tráfico postratamiento expresado como porcentaje del tráfico pretratamiento).-----	<b>91</b>
--	-----------

## **DECLARACIÓN**

*“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución”.*

## **PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS**

**Melo, R;** Masciocchi, M; Corley, JC (2023) Allee effects in an invasive social wasp: an experimental study in colonies of *Vespula germanica*. Scientific Reports 13, 16323. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43527-7>

**Melo, R;** Corley, JC; Mattiacci, A; Masciocchi, M (2024) Worker trapping: a sustainable management tool for invasive social wasps?, International Journal of Pest Management 1-8. <https://doi.org/10.1080/09670874.2024.2305965>



# **CAPITULO 1**

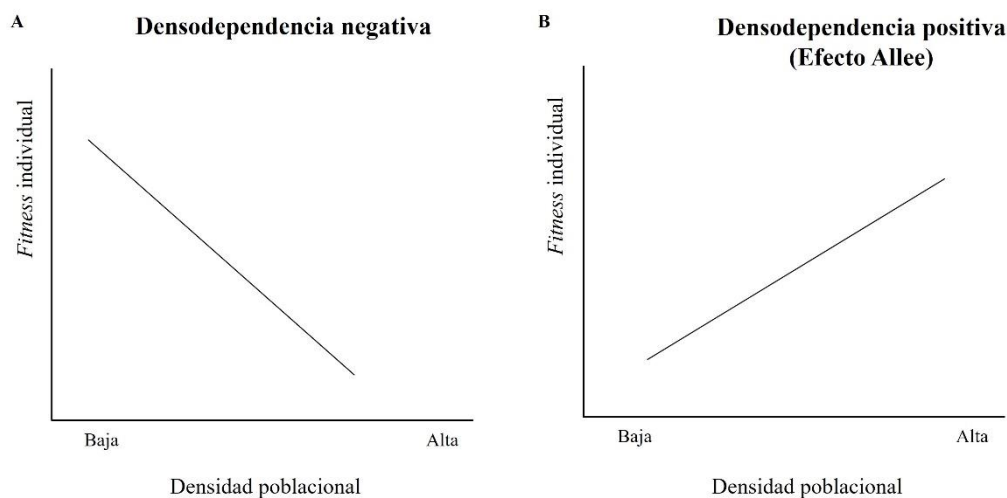
---

## INTRODUCCIÓN GENERAL

En ecología de poblaciones, el crecimiento poblacional de algunos organismos se describe típicamente por una curva de **densodependencia negativa** en la cual la tasa de crecimiento *per cápita* es positiva cuando la población se encuentra por debajo de la capacidad de carga del ambiente y se vuelve negativa cuando está por encima (**Figura 1 A**). Esta visión clásica de la dinámica de crecimiento de una población se centra exclusivamente en los principios de la competencia entre individuos. Conceptualmente, según este modelo, se propone que cuando en una población hay pocos individuos, disminuye la competencia y, en consecuencia, los individuos se benefician de una mayor disponibilidad de recursos. En la medida que el número de individuos aumenta, también aumenta la competencia por recursos, lo cual limita el potencial crecimiento indefinido de una población. Sin embargo, en la naturaleza, la dinámica de las poblaciones puede estar sujeta a otros procesos. Por ejemplo, existen numerosos casos en donde individuos se benefician de la presencia de conespecíficos ya que utilizan estrategias cooperativas para cazar, alimentarse o protegerse de depredadores. Se puede aseverar entonces que, para ciertas especies, la cooperación es tan importante como la competencia para explicar la dinámica de sus poblaciones (Courchamp et al., 1999).

En la década 1930 Warder Clyde Allee, un ecólogo norteamericano, lideró la propuesta sobre la importancia de estudiar a los organismos en su interacción con otros organismos y su ambiente. Su interés principal era determinar los factores que condujeron a la formación y continuidad de las agregaciones animales. Allee observó que, en ciertos animales acuáticos, como los peces dorados, las planarias y las estrellas de mar, los individuos liberan protectores químicos que cambian la química del agua para mejorar su supervivencia, y cuantos más individuos agregados había en un dado espacio, mayor era el beneficio de cada individuo. A partir de datos experimentales y observacionales, Allee concluyó que la evolución de la estructura social fue impulsada por la cooperación (Allee, 1931, 1941). Sin embargo, el concepto no fue universalmente aceptado en la comunidad científica hasta algunos años después. En 1953 Eugene Odum, otro notable ecólogo norteamericano, lo llamó "el principio de Allee", ahora más conocido como "**el efecto Allee**" (Odum, 1953).

A baja densidad poblacional, es esperable que los individuos se beneficien de más recursos, sin embargo, en un número de especies se ha observado que los individuos se reproducen o sobreviven menos bajo ese contexto. En estos casos, el *fitness* y el tamaño o densidad poblacional están relacionados positivamente y es esto lo que se conoce como **efectos Allee** o **densodependencia positiva**. Los efectos Allee se definen como una correlación positiva entre el éxito reproductivo (o *fitness*) individual (o alguno de sus componentes) y el tamaño o densidad poblacional. El *fitness* disminuye como disminuye el número de individuos en una población. Quizás el ejemplo más claro y conocido, consiste en el fracaso en el encuentro entre machos y hembras, producto de las bajas densidades de uno o ambos sexos (Courchamp et al., 1999, 2008). Los efectos Allee han alcanzado enorme importancia en el ámbito aplicado, dada su relevancia en el diseño de estrategias de conservación de especies amenazadas (Berec et al., 2007; Kramer et al., 2009). Sin embargo, la existencia de efectos Allee no descarta que, a altas densidades poblacionales de una misma especie, no haya efectos negativos de la competencia, es decir, se exprese la densodependencia negativa (**Figura 1 B**).

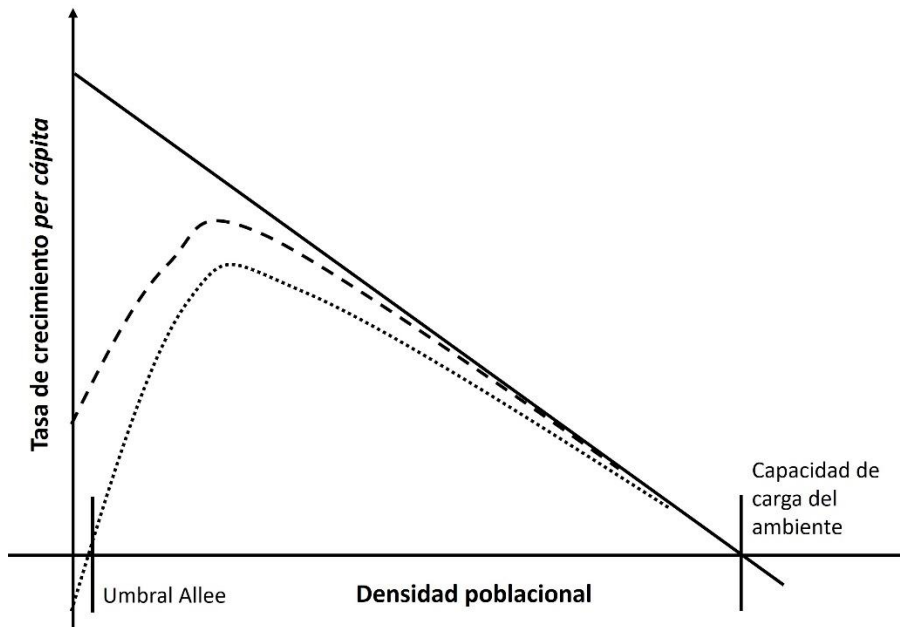


**Figura 1.** Esquema de la relación entre la densidad poblacional y el fitness individual para una curva de densodependencia negativa (A) y una de densodependencia positiva o Efecto Allee (B) (Adaptado de Courchamp et al., 2008).

Dentro de los efectos Allee podemos hacer la distinción entre dos conceptos: (1) los **componentes del efecto Allee** y (2) el **efecto Allee demográfico**. Por un lado, un componente del efecto Allee se observa a nivel de cualquier componente del *fitness* individual, cuyo valor medio *per cápita* está positivamente correlacionado con el tamaño poblacional, por ejemplo, tasa de reproducción, tamaño de la camada o supervivencia de la descendencia. Por otro, un efecto Allee demográfico ocurre a nivel de la dinámica

general de la población, siendo ésta una relación positiva entre la tasa de crecimiento poblacional *per cápita* y el tamaño poblacional.

A su vez, un efecto Allee puede ser fuerte o débil dependiendo de la existencia de un umbral, es decir, un número de individuos por debajo del cual la tasa de crecimiento poblacional *per cápita* se vuelve negativa (**Tabla 1, Figura 2**). Algunas especies a baja densidad poblacional sufren una disminución en la tasa de crecimiento *per cápita* como consecuencia de una disminución en la tasa de reproducción y/o supervivencia. Estas especies sujetas a un efecto Allee fuerte son más susceptibles a sufrir colapsos demográficos catastróficos a causa de un ligero aumento en la mortalidad (Courchamp et al., 1999, 2008).



**Figura 2.** Curva clásica de denso-dependencia negativa (línea sólida) en comparación con un efecto Allee (denso-dependencia positiva) débil (línea de guiones) y fuerte (línea de puntos). En un efecto Allee débil, la tasa de crecimiento per cápita disminuye a baja densidad poblacional, pero permanece positiva; mientras que en un efecto Allee fuerte, la tasa de crecimiento per cápita se vuelve negativa por debajo de determinado valor de densidad poblacional o umbral Allee.

Un efecto Allee demográfico siempre implica la existencia de al menos un componente Allee, aunque la inversa no necesariamente ocurre (Stephens et al., 1999). Si a baja densidad poblacional algún componente de la aptitud individual es afectado negativamente, puede que no se observe un efecto Allee demográfico porque existe una compensación a través de otros componentes de la aptitud, que son beneficiados a baja densidad. Un ejemplo clásico de esto se ha observado en los zorros monógamos *Urocyon*

*littoralis* en donde a baja densidad poblacional, es menor la cantidad de hembras que se reproducen. Sin embargo, las que logran reproducirse tienen camadas más grandes porque disponen de más recursos debido a la baja competencia (Angulo et al., 2007). En este caso, existe una relación negativa entre la tasa de reproducción *per cápita* y el tamaño poblacional (i.e., denso-dependencia negativa) pero que es compensada por otro componente del *fitness*. Si esta compensación no fuera suficiente, la tasa de crecimiento poblacional *per cápita* permanecerá baja, observándose un efecto Allee demográfico.

**Tabla 1.** Definiciones de los principales conceptos relacionados con efectos Allee (Adaptado de Courchamp et al., 2008).

**Umbral Allee: tamaño o densidad de población crítica por debajo del cual la tasa de crecimiento poblacional *per cápita* se vuelve negativa.**

**Componente del efecto Allee: cualquier aspecto de la aptitud individual, cuyo valor medio *per cápita* está positivamente correlacionado con la densidad poblacional, por ejemplo, tasa de reproducción o supervivencia de la descendencia.**

**Efecto Allee demográfico: relación positiva entre la tasa de crecimiento poblacional *per cápita* y el tamaño o densidad poblacional.**

**Efecto Allee fuerte: efecto Allee demográfico con un umbral Allee.**

**Efecto Allee débil: efecto Allee demográfico sin un umbral Allee.**

En los últimos años, los efectos Allee han sido muy estudiados debido a su influencia en la extinción de especies raras o en peligro (Fowler, 1991; Stephens & Sutherland, 1999), en la dinámica de las interacciones depredador-presa (Gascoigne & Lipcius, 2004; Morozov et al., 2004), en la transmisión de parásitos (Deredec & Courchamp, 2006) y en la dinámica de las especies invasoras (Keitt et al., 2001; Lewis & Kareiva, 1993; Taylor & Hastings, 2005; Tobin et al., 2011). Bajas densidades poblacionales en el frente de invasión o especies invasoras recién arribadas proporcionan una oportunidad para que los efectos Allee puedan modificar sustancialmente la dinámica de invasión. Además, se han documentado en una amplia variedad de taxa, desde plantas a animales, tanto invertebrados como vertebrados (Courchamp et al., 2008; Kramer et al., 2009).

Históricamente, los efectos Allee se han definido como la relación causal entre el tamaño

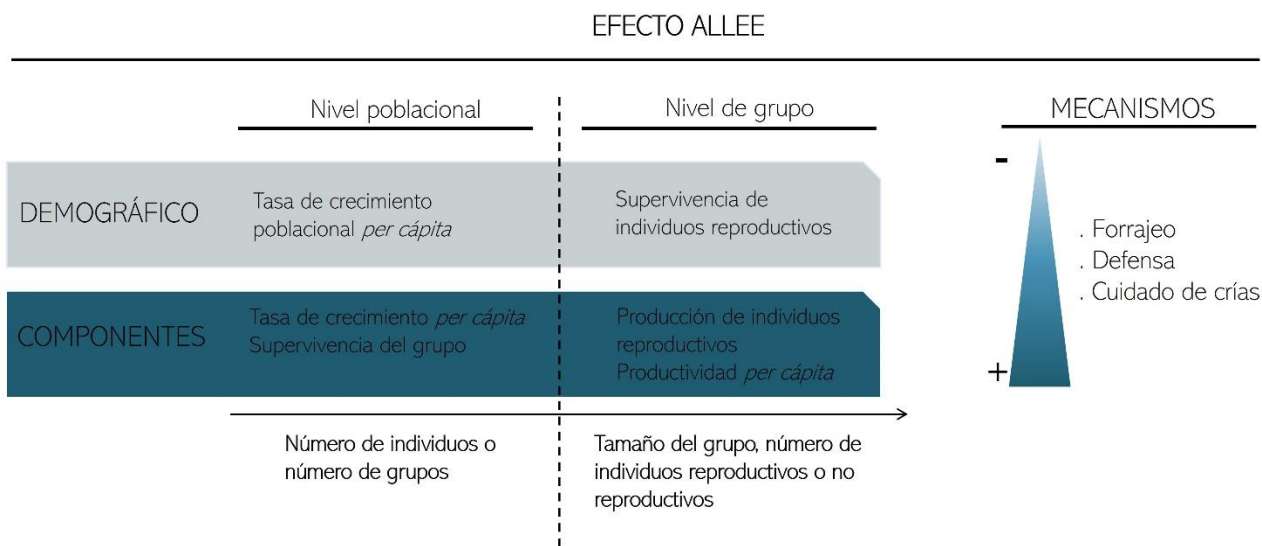
poblacional y la tasa de crecimiento *per cápita* (efectos Allee demográficos) o algún componente del *fitness* (componente del efecto Allee). Sin embargo, en especies sociales, la dinámica de sus poblaciones está influenciada por otro nivel de organización que es el **grupo**. En estos casos, los individuos se agrupan para maximizar su *fitness* a través de diferentes estrategias cooperativas por lo que la mayoría de las **interacciones cooperativas** ocurren entre individuos de un mismo **grupo**, mientras que la reproducción y las **interacciones competitivas** ocurren entre individuos de **diferentes grupos**. Angulo et al., (2018) propusieron que en especies sociales los efectos Allee pueden manifestarse en **tres diferentes niveles de organización social** (poblacional, de grupo y de subgrupo) dependiendo de en cuál el beneficio sea máximo (**Figura 3**). Por ejemplo, la supervivencia de los individuos que se dispersan es una tasa vital a nivel poblacional porque está correlacionada positivamente con el número de individuos en una población. Mientras que la productividad *per cápita*, es una tasa vital que depende del número de individuos del grupo más que del tamaño poblacional. Por lo tanto, la tasa vital (como variable respuesta) determina en qué nivel ocurren los efectos Allee (Angulo et al., 2013, 2018).

En muchas especies de animales se ha visto que algunas tasas vitales están correlacionadas con el tamaño del grupo. Uno de los ejemplos más populares, son los perros salvajes de África, *Lycaon pictus*, donde los efectos Allee actúan a nivel poblacional y de grupo (Angulo et al., 2013). *Lycaon pictus* es una especie social con cuidado cooperativo obligatorio. Las poblaciones de esta especie están conformadas por **manadas (grupos sociales)** de diversos tamaños. Dentro de cada manada hay una única pareja *alfa*, que se reproduce mientras que el resto de los adultos (suprimidos reproductivamente) llevan a cabo diferentes tareas esenciales para el grupo, como la búsqueda de alimento y el cuidado los cachorros (Courchamp, 2002). Se ha visto que el tamaño de la manada está positivamente correlacionado con la productividad *per cápita*, el tamaño de la camada de cachorros y la supervivencia de los cachorros, entre otros. Asimismo, cuando las crías llegan a determinada edad se dispersan para formar nuevas manadas. La supervivencia de estos individuos no sólo aumenta con el tamaño de la manada sino también con el número de manadas que hay en la población. De manera similar, ocurre en las arañas, *Anelosimus eximius*, una especie conocida como “cooperativa”. Estos artrópodos viven en colonias, aunque no tienen una división reproductiva del trabajo. Todos los miembros de una colonia cooperan para capturar presas, alimentarse y cuidar las crías. Avilés y Tufiño (1998) encontraron que el número

medio de huevos y la supervivencia de las crías de arañas están correlacionados positivamente con el tamaño de la colonia.

Así como la **denso-dependencia negativa** es impulsada por la **competencia**, los efectos Allee, son causados por **numerosos mecanismos** que afectan la reproducción y supervivencia. Los mecanismos causantes de un efecto Allee se han dividido en tres categorías: endogamia, estocasticidad demográfica y comportamientos cooperativos (Lande, 1998). Las interacciones o comportamientos cooperativos son el mecanismo en el cual se centró Allee para plantear su idea, refiriéndose a él como “facilitación” o “proto-cooperación”. En las especies sociales, existen numerosos comportamientos cooperativos, como el cuidado de la cría, la alimentación, la higiene y la defensa (**Figura 3**). En muchos casos se ha visto que estos **comportamientos** se vuelven **más eficientes** en grupos más grandes, lo que resulta en un **aumento** de la **reproducción** y/o **supervivencia** (**Figura 1b**; Courchamp et al., 1999; Liebhold & Bascompte, 2003; Stephens et al., 1999; Stephens & Sutherland, 1999).

Desde el punto de vista de la cooperación, podemos pensar que los efectos Allee serán más intensos en aquellas especies en que la cooperación entre individuos es mayor (Courchamp et al., 2008). A pesar de que los efectos Allee han sido poco estudiados en insectos eusociales, existen algunos estudios que han identificado que algunas colonias se benefician de aumentar el número de individuos. La hormiga argentina, *Linepithema humile*, vive en colonias poligínicas, es decir, conformadas por varias reinas que se dedican exclusivamente a la reproducción, y numerosas obreras. Las obreras se ocupan del mantenimiento de la colonia, lo cual incluye forrajeo, limpieza, alimentación y cuidado de larvas y huevos que ponen las reinas. Luque y colaboradores (2013) demostraron que el número de obreras dentro de la colonia está positivamente correlacionado con la productividad de las reinas. A su vez, el número de reinas en la colonia se correlaciona positivamente con la productividad y supervivencia de las obreras. Esta retroalimentación entre castas permite maximizar la productividad de la colonia. Probablemente esta retroalimentación se deba a que las obreras son las encargadas de cuidar los huevos y larvas de las reinas. De forma similar en otras especies de hormigas, también se ha visto que la producción de individuos sexuales está positivamente correlacionada con el tamaño de la colonia (Cole, 2009; Cole & Wiernasz, 2000).



**Figura 3.** Tipos de efecto Allee (**componente** y **demográfico**) que pueden ocurrir a **nivel poblacional** y de **grupo** en especies sociales. Se muestran ejemplos de **tasas vitales** que pueden estar correlacionadas positivamente con la **variable predictora** (número de individuos, grupos, etc.) según el nivel. La tasa vital determina el nivel y el tipo de efecto Allee. También, se muestran tres comportamientos cooperativos, como mecanismos, que están fuertemente relacionados con la organización social.

Los insectos eusociales son un caso emblemático de cooperación entre individuos. La **eusocialidad** se define por la **superposición** de dos o más **generaciones**, una marcada **división de trabajo** en una **casta reproductiva** (reinas y zánganos) y otra **casta**, mucho más abundante, llamada **obrero** o no reproductiva, y el **cuidado cooperativo** de la cría (Lin & Michener, 1972; Michener, 1969; Wilson, 1971). La eusocialidad es un fenómeno bien marcado y confirmado en insectos como hormigas, termitas y algunas abejas y avispas. Las colonias de estos insectos consisten en cientos de individuos emparentados, mayormente hembras, que viven en colonias que funcionan y se reproducen como una unidad (Queller & Strassmann, 1998; Wheeler, 1928).

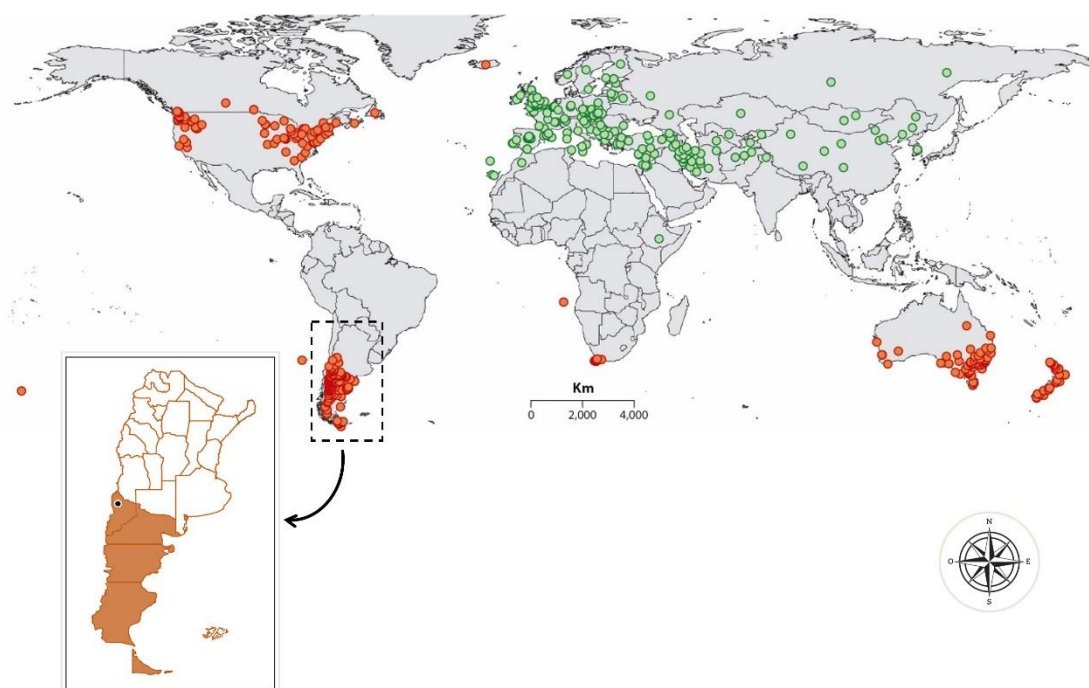
Las sociedades de insectos se encuentran entre los sistemas biológicos más complejos de la naturaleza. A pesar de que comprenden una fracción pequeña dentro de las especies de insectos, son ecológicamente muy exitosas. Se cree que la eusocialidad ha evolucionado varias veces de forma independiente dentro del orden de insectos Hymenoptera: una vez en las hormigas, una en las avispas de la familia Sphecidae, una en avispas de la familia Vespidae, y varias veces en abejas (Hines, 2008).

A excepción de una o dos especies, todas las avispas eusociales pertenecen a la familia Vespidae. Esta familia, que engloba aproximadamente 5000 especies, se divide a su vez

en tres subfamilias: Stenogastrinae, Polistinae y Vespinae. Dentro de la subfamilia Vespinae, se han descrito alrededor de 60 especies, que comprenden tanto avispas como avispones. Entre estos últimos, destacan los géneros *Vespa* y *Provespa*, mientras que las avispas son representadas por los géneros *Dolichovespula* y *Vespula* (Greene, 1991). Es relevante destacar que el género *Vespula* cuenta con 23 especies eusociales, de las cuales dos, *Vespula germanica* y *Vespula vulgaris*, se encuentran ampliamente distribuidas fuera de su área de origen (Beggs et al., 2011).

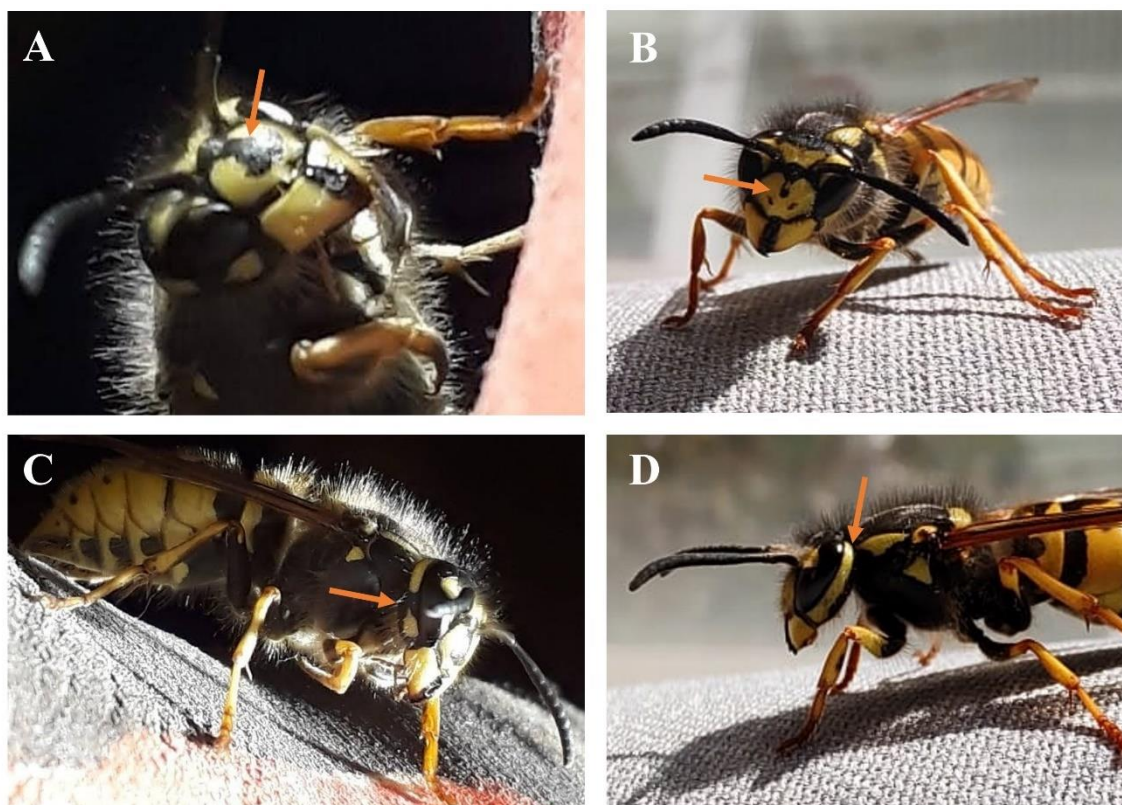
*Vespula germanica* (Vespidae: Vespinae) es una avispa eusocial altamente invasora conocida comúnmente como “avispa chaqueta amarilla”. *Vespula germanica* es nativa de Eurasia y norte de África, pero actualmente se encuentra distribuida mundialmente; ha logrado invadir y establecerse en Nueva Zelanda, Australia, Sudáfrica, Norte América, Chile y Argentina (Beggs et al., 2011). En Argentina, *V. germanica* fue reportada por primera vez en 1980 en Andacollo, al norte de la provincia de Neuquén (Masciocchi & Corley, 2013; Willink, 1980). Actualmente en Argentina se ha establecido desde el norte de Mendoza hasta Tierra del Fuego, y desde los Andes hasta el Océano Atlántico (**Figura 4**; Masciocchi & Corley, 2013) y en diferentes tipos de ambientes, como estepa, bosque, zona de transición, áreas urbanas y suburbanas (D’Adamo & Lozada, 2014).





**Figura 4.** Distribución mundial de *Vespa germanica*. Los puntos verdes indican las áreas de distribución nativa y los puntos rojos, las áreas invadidas. En el mapa de Argentina se indica en color la distribución actual y el punto negro indica el sitio donde fue reportada por primera vez en 1980. Figura adaptada de Lester & Beggs, 2019.

Las avispas adultas se caracterizan por tener el tórax negro y el abdomen con bandas amarillas y negras. Al final del abdomen se encuentra el aguijón con el cual inoculan el veneno. Poseen ojos compuestos, los cuales ocupan la mayor parte de la cabeza, un par de antenas y órganos sensoriales asociados con la boca. Las piezas bucales están diseñadas para morder, lamer y masticar, y sus grandes mandíbulas les permiten capturar, someter y procesar presas. Además, les permiten recoger piedras y escombros al excavar o limpiar el nido, y raspar fibras leñosas de material vegetal o tierra del suelo durante la construcción del nido. Poseen un par de alas anteriores bien desarrolladas y un par de alas posteriores más pequeñas (Spradbery, 1973). *Vespa germanica* es morfológicamente similar a *V. vulgaris*, otra especie invasora de avispas eusociales que también está presente en la Patagonia. Sin embargo, las avispas de *V. vulgaris* se distinguen por una mancha negra en forma de ancla en el frente de la cabeza, así como una mancha negra detrás de los ojos, las cuales no están presentes en *V. germanica* (**Figura 5**).

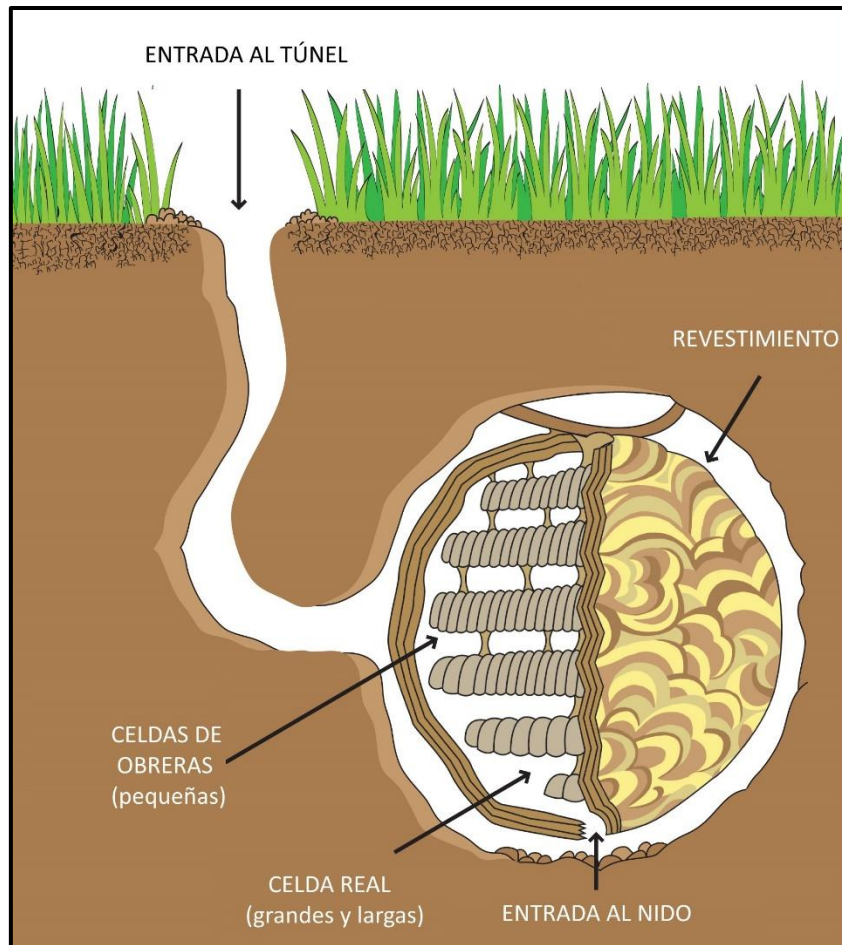


**Figura 5.** Diferencias morfológicas entre *Vespula germanica* y *Vespula vulgaris*. (A). Obrera de *Vespula vulgaris* con la mancha negra en forma de ancla en el frente de la cara. (B). Obrera de *Vespula germanica* sin la mancha negra en forma de ancla en el frente de la cara. (C). Obrera de *Vespula vulgaris* con mancha negra detrás del ojo. (D). Obrera de *Vespula germanica* sin mancha negra detrás del ojo. Fotos de Nicolas Mazzola.

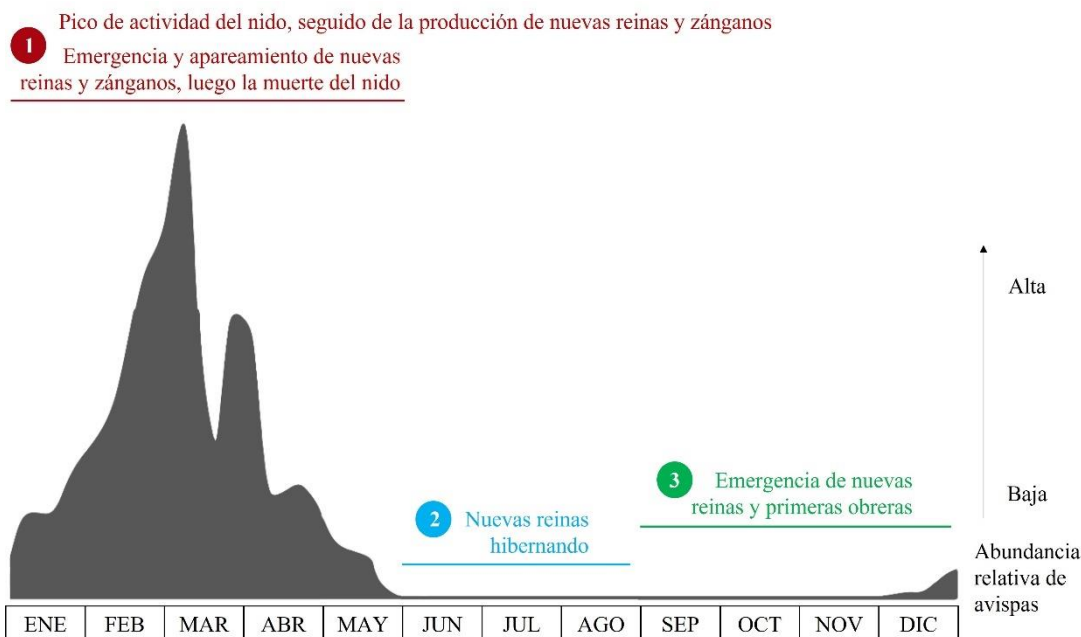
*Vespula germanica* es una avispa carroñera y generalista, y las obreras recolectan alimentos (carbohidratos o proteínas) según las necesidades de la colonia (Jeanne & Taylor, 2009; Pereira et al., 2022). Las obreras a lo largo de su ciclo de vida forrajean recursos proteicos, como otros insectos (principalmente larvas de lepidópteros, arañas, ortópteros y dípteros), vertebrados y carroña. Además, se alimentan de sustancias azucaradas, como el exudado de pulgones y néctar para satisfacer sus propias necesidades energéticas y de otros compañeros de nido. La búsqueda de proteínas está relacionada en gran medida con la alimentación de las larvas (Akre & Davis, 1978; Greene, 1991; Spradbery, 1973). Las obreras distribuyen alimentos dentro de la colonia vía trofalaxia: las larvas son alimentadas con alimentos proteicos y regurgitan un alimento rico en carbohidratos y aminoácidos nutritivos que es consumido por las obreras y, principalmente, por las reinas vírgenes para mantener el alto nivel de nitrógeno metabólico necesario para la producción de huevos (Hunt et al., 1982; Spradbery, 1973). Estas avispas no almacenan alimento dentro del nido, por lo que deben salir a forrajear a diario (Lester & Beggs, 2019; Richter, 2000). Además, esta especie se caracteriza por tener

nidos construidos principalmente con pulpa de madera por lo que también forrajea fibra de madera.

En el hemisferio sur, las colonias presentan un ciclo anual con alternancia entre fase solitaria y social (Edwards, 1980). A fines de la primavera, las reinas fecundadas buscan lugares para iniciar colonia. Los nidos generalmente son subterráneos, aunque también pueden ser aéreos, en cavidades de paredes, espacios en techos o entretechos, huecos de árboles y troncos en descomposición (**Figura 6**; Spradbery, 1973). Luego de que la reina escoge un sitio, inicia la construcción del nido con sus estantes y celdas. Las celdas son hexagonales y cuelgan verticalmente en la parte inferior del estante. En cada celda, la reina pone un huevo y se ocupa de alimentar y cuidar estas larvas hasta que se conviertan en adultos. Cuando emergen las primeras obreras, la reina se dedica exclusivamente a la oviposición y a la regulación de las actividades dentro de la colonia sin salir más del nido (Matsuura & Yamane, 1990). Las obreras se encargan de la construcción de nuevos estantes y celdas, mantenimiento del nido, alimentación y cuidado de las larvas. Las colonias continúan creciendo hasta que se alcanza el pico máximo de población en verano, pudiendo alcanzar varios miles de obreras (**Figura 7**).



**Figura 6.** Ilustración de un nido subterráneo típico de *Vespa* spp. El nido está compuesto por varios estantes con celdas hexagonales (dispuestas hacia abajo) y suspendidos entre sí por tabiques. Los estantes inferiores poseen las celdas reales en las cuales se desarrollarán las reinas vírgenes. La estructura del nido y su revestimiento están hechos con pulpa de madera (fibra de madera y saliva) que colectan las obreras. El acceso al nido es a través de un orificio en la parte inferior que conecta con el exterior a través de un túnel. Figura adaptada de internet

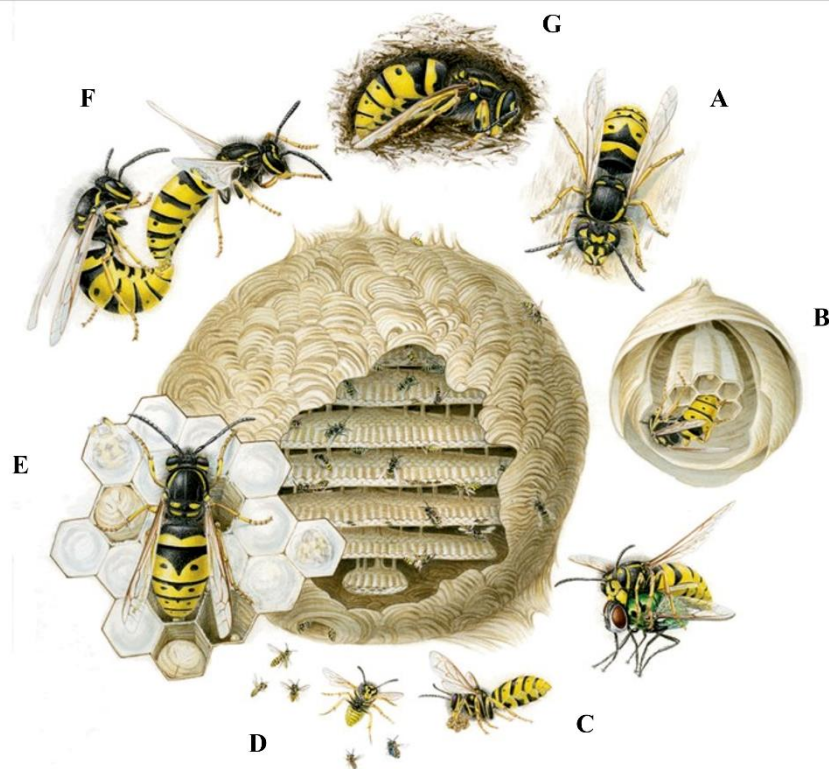


**Figura 7.** Abundancia relativa de avispas y ciclo anual de *Vespula* spp. en el hemisferio sur. El ciclo consiste en tres fases: (1) el pico poblacional durante el verano (febrero-marzo), seguido de la producción, emergencia y apareamiento de nuevas reinas y zánganos durante el otoño (abril-mayo). Luego de la muerte del nido, de las obreras y de los zánganos, (2) las nuevas reinas entran a un período de hibernación durante el otoño e invierno (junio-septiembre). (3) En primavera emergen las nuevas reinas que sobrevivieron a la hibernación para fundar su propia colonia. Figura adaptada de Lester & Beggs, 2019.

Hacia el final del verano, la colonia comienza a producir zánganos (individuos reproductores masculinos), los cuales provienen de huevos haploides o no fecundados. Luego, al inicio del otoño, las reinas vírgenes comienzan a emerger de las celdas reales (celdas construidas especialmente para ellas). Reinas y zánganos abandonan el nido para reproducirse con varios individuos de otros nidos (**Figura 8**). Los zánganos mueren y las reinas fecundadas buscan lugares secos para hibernar hasta la primavera siguiente (Beggs et al., 2011; Masciocchi & Corley, 2013; Spradbery, 1973). Después de que los individuos reproductivos abandonan los nidos, y con la llegada del invierno, las condiciones adentro de la colonia empeoran llevando a la colonia a su muerte (**Figura 9**).



**Figura 8.** Casta reproductiva de *Vespula germanica*. (A) reina, (B) zángano y (C) reina y zángano apareándose. Fotos de Agustina Porrino.



**Figura 9.** Ciclo de vida de las avispas *Vespula* spp. (A) En primavera, luego de hibernar, la reina solitaria fecundada comienza a construir el nido. (B) Pone los primeros huevos y se ocupa de su cuidado hasta que emergen las primeras obreras. (C) Cuando emergen las primeras obreras, aproximadamente un mes después, la reina se dedica exclusivamente a la oviposición, mientras que las obreras se ocupan de seguir expandiendo el nido y de alimentar a las larvas y la reina. (D) A finales del verano, la colonia alcanza el pico de abundancia y comienza la construcción de celdas reales. (E) Luego, comienza la producción de reinas y zánganos, (F) los cuales abandonan el nido para aparearse con individuos de otros nidos. Los zánganos y la colonia mueren gradualmente, (G) y la reina fecundada busca un lugar seco y protegido para hibernar hasta la primavera.

En las áreas invadidas y en altas densidades, las avispas pueden afectar los ecosistemas y numerosas actividades económicas tales como: apicultura, horticultura y cría de ganado entre otras (Beggs, 2001; Beggs et al., 2011; Cerda et al., 2017; MacIntyre & Hellstrom, 2015). Por ejemplo, en Nueva Zelanda durante los meses que ocurre el pico poblacional, las avispas son capaces de eliminar hasta el 99% del exudado producido por dos insectos endémicos (*Ultracoelostoma assimile* y *U. brittani*; Moller et al., 1991) del cual se alimentan numerosos vertebrados nativos. Además, se ha reportado que se alimentan en grandes cantidades de invertebrados y de algunas especies nativas de aves (Beggs & Wardle, 2006; Elliott et al., 2010) alterando las redes alimenticias (Beggs & Wardle, 2006). De igual manera, se ha observado que *V. germanica* tiene un impacto significativo sobre las colmenas de abejas *Apis mellifera* en Patagonia (Buteler et al., 2021). En Nueva

Zelanda, *Vespula* spp. puede destruir colmenas enteras provocando pérdidas que oscilan entre el 5 y el 9% de las colmenas en producción (Clapperton et al., 1989). También, pueden afectar la ganadería debido a que las avispa mastican las llagas o costras del ganado o las heridas en los pezones de vacas lecheras provocando mastitis e infecciones más severas (Haupt, 2015). Estas especies tienen una picadura muy dolorosa y pueden causar reacciones alérgicas severas en humanos y por ello pueden afectar actividades humanas al aire libre. Muchas de estas picaduras se deben a perturbaciones accidentales del nido dado que es común la presencia de nidos en jardines de ambientes urbanos y periurbanos (Beggs et al., 2011).

A pesar de la amplia investigación sobre la ecología y el control de esta especie en áreas invadidas, actualmente no existe ningún método de control efectivo. Algunos de los métodos usados son: matar las reinas durante la primavera cuando salen del período de hibernación, la destrucción manual de los nidos, el uso de cebos tóxicos, insecticidas y trampas, siendo su efectividad sobre las poblaciones, variable. En el caso de matar reinas y/o la destrucción de los nidos se desconoce cuál es su impacto sobre la población y puede ser muy peligroso dada la directa exposición con las avispa. Hasta la fecha, los cebos tóxicos o insecticidas son el método más efectivo y utilizado, siendo el fipronil ( $C_{12}H_4C_{12}F_6N_4OS$ ) el principio activo más eficiente. Sin embargo, en muchos países (incluida la Argentina), su uso está restringido y no hay disponibles cebos comerciales (Resolución 425/2021). En general, el uso de insecticidas conlleva efectos indeseables en el medio ambiente y en especies no blanco (Koul et al., 2008). Por último, es común recurrir al uso de trampas caseras en jardines, aunque se desconoce su efectividad y suele aplicarse principalmente como un paliativo de corto plazo y de escala local.

Otras técnicas emergentes para el control de las poblaciones de *V. germanica* y *V. vulgaris*, son el control biológico, uso de feromonas artificiales para la interrupción del apareamiento y la genética dirigida (*gene drive*; Lester et al., 2020; Lester & Beggs, 2019; Palmer et al., 2022). Para el control biológico se ha investigado una gran variedad de agentes como las avispa parásitas *Sphexophaga vesparum vesparum* (Hymenoptera: Ichneumonidae), *S. v. burra* y *S. orientalis*, todos sin éxito significativo reportado (Beggs et al., 2008; Beggs et al., 2002). Actualmente, hay otros organismos bajo consideración como *Volucella inanis* (Diptera: Syrphidae), *M. paradoxus* (Coleoptera: Ripiphoridae), *Leopoldius* spp. (Dípteros: Conopidae) y otros linajes de *S. v. vesparum* (Lester & Beggs,



2019). También se han probado nematodos y patógenos como enemigos naturales (Glare et al., 1996; Harris et al., 2000). Por otro lado, se ha explorado el uso de feromonas sexuales, que se liberan en el ambiente para confundir la capacidad de los machos de encontrar hembras receptivas, aunque esta técnica sería costosa para realizar a gran escala (Lester & Beggs, 2019). Por último, el uso de genética dirigida (*gene drive*) también es un enfoque emergente con mucho potencial para la erradicación de plagas, sin embargo, su uso en países como Nueva Zelanda aún está bajo discusión (Lester et al., 2020, 2023; Masciocchi et al., 2017).

## OBJETIVOS Y ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

El objetivo principal de la tesis fue evaluar la existencia de componentes del efecto Allee y sus posibles mecanismos a nivel de colonia en la avispa eusocial invasora, *V. germanica*. Los efectos Allee en especies sociales se basan en la existencia de relaciones cooperativas entre individuos que se traducen en un aumento de su *fitness*. Una característica sobresaliente de los insectos eusociales es que, dentro de una colonia, un grupo de individuos cede su propia reproducción y coopera para que otros individuos generen la descendencia. Esto nos permite pensar que una reducción en el número de individuos de una colonia afectará el normal despliegue de funciones, afectando en última instancia la inversión en reproducción. Esta división del trabajo y reproductiva es un extremo de cooperación por lo que es esperable que los efectos Allee estén presentes en colonias de insectos sociales como *V. germanica*. En el **capítulo 2** se exploró experimentalmente los **componentes Allee** a nivel de colonia. Para ello, se evaluó el efecto de la remoción de obreras sobre el *fitness*, es decir, sobre la producción de nuevas reinas y sobre la calidad de estas, en colonias experimentales de avispas. En el **capítulo 3**, se exploraron tres comportamientos sociales como posibles mecanismos que pueden conducir a efectos Allee a nivel de colonia. Específicamente, se evaluó el efecto de la remoción de obreras sobre el ingreso de proteína al nido y el número de obreras realizando algún comportamiento de higiene o defendiendo en la entrada del nido. Por último, en el **capítulo 4** en parcelas experimentales, se investigó el efecto de la captura masiva de avispas sobre la abundancia de *V. germanica* y la actividad de los nidos, el año de implementación del tratamiento y al año siguiente. Finalmente, en el **capítulo 5**, se resumen los principales hallazgos y discuten las implicancias prácticas y conceptuales de los resultados de esta tesis. **El conocimiento generado por esta tesis puede contribuir al conocimiento sobre los efectos Allee en insectos sociales y para mejorar nuestro entendimiento sobre la dinámica y el funcionamiento de las colonias de avispas sociales. A su vez, brindará información importante para el desarrollo de estrategias de manejo y control sustentables de insectos sociales invasores.**

## CAPITULO 2

### Componentes del efecto Allee: un estudio experimental en colonias de *Vespula germanica*.



## Resumen

---

El efecto Allee ha sido propuesto como un fenómeno a nivel poblacional, sin embargo, en especies sociales la dinámica poblacional está influenciada por otro nivel de organización: el grupo social. En las especies sociales, los individuos se agrupan para maximizar su *fitness*, por lo que la mayoría de las interacciones cooperativas ocurren entre individuos del mismo grupo. En consecuencia, en estos sistemas sociales, los **componentes del efecto Allee** pueden manifestarse a nivel de grupo, es decir, algún componente del éxito reproductivo está correlacionado positivamente con el número de individuos del grupo. Particularmente, en insectos eusociales, las obreras, suprimidas reproductivamente, ceden su reproducción y ayudan activamente en todas las tareas cooperativas para que el individuo reproductivo (reinas) pueda generar más descendencia. En colonias de *V. germanica*, las obreras monomórficas son las encargadas del cuidado cooperativo de la cría, entre otras tareas, mientras que la oviposición, normalmente, es una función exclusiva de la reina. Una de las tareas más importantes de las obreras es cuidar de las futuras reinas para asegurar el éxito reproductivo de la colonia. El éxito reproductivo de la colonia no sólo consiste en la producción de futuras reinas sino también en las colonias exitosas generadas por esas reinas. Por ello, las reinas producidas en una colonia deben poseer atributos que maximicen las posibilidades de éxito. El tamaño corporal (indicativo de potencial reproductivo) y el peso (reservas nutricionales) de reinas al abandonar el nido parental son centrales para este éxito. El objetivo de este capítulo fue conocer el efecto de la remoción de obreras, como aproximación experimental a una colonia reducida, sobre dos componentes del éxito reproductivo de la colonia: el número de futuras reinas producidas y su índice de masa corporal. Para ello, se buscaron y extrajeron nidos de los alrededores de Bariloche, que se colocaron en cajas individuales bajo condiciones naturales. Posteriormente, se realizó la remoción de obreras de cada nido (del 0 al 80% aproximadamente) utilizando una aspiradora adaptada para la tarea. Durante abril y mayo se capturaron las reinas producidas por nido y se calculó su índice de masa corporal a partir del largo de la tibia y el peso. Los resultados sugieren que la disminución en el número de obreras de la colonia se asocia con una reducción en el número de futuras reinas producidas. Específicamente en aquellos casos donde la reducción de obreras fue superior al 44.4%, las colonias no produjeron reinas. A su vez, el índice de masa corporal de las reinas no se asocia a la disminución en el número de obreras. Estos resultados demuestran la importancia de la casta obrera en el éxito de la colonia,

## CAPITULO 2: COMPONENTES DEL EFECTO ALLEE

proporcionando evidencia de la existencia de efectos Allee a nivel de colonia en estas avispas sociales.

PALABRAS CLAVES: Componentes del efecto Allee, *fitness*, avispas sociales, chaqueta amarilla

## Introducción

El efecto Allee ha sido propuesto como un fenómeno a nivel poblacional, sin embargo, en especies sociales la dinámica poblacional está influenciada por otro nivel de organización: el grupo social (Angulo et al., 2013, 2018; Luque et al., 2013). En las especies sociales, los individuos se agrupan para maximizar su *fitness*, por lo que la mayoría de las interacciones cooperativas ocurren entre individuos del mismo grupo. Por ejemplo, actividades como la reproducción, el forrajeo, la higiene y la protección contra depredadores se llevan a cabo de manera cooperativa, lo que permite un mayor éxito y eficiencia en todas estas tareas esenciales para cualquier organismo y, en última instancia, en el aumento del *fitness* de los individuos.

En estos sistemas sociales, los **componentes del efecto Allee** pueden manifestarse a nivel de grupo, es decir, algún componente del *fitness*, está correlacionado positivamente con el número de individuos del grupo. Por ejemplo, en las colonias de arañas “cooperativas”, *Anelosimus eximius*, los miembros de una colonia cooperan para capturar presas, alimentarse y cuidar las crías. Como resultado, se ha observado que **el número promedio de huevos y la supervivencia de las crías aumentan** a medida que crece el **número de individuos** en la colonia (Avilés & Tufiño, 1998). Del mismo modo, en colonias poligínicas de la hormiga argentina (*Linepithema humile*), las obreras son las encargadas de cuidar los huevos y larvas de las reinas, y se ha demostrado de manera concluyente que la **productividad** de las reinas **aumenta** con el incremento en el **número de obreras** en la colonia (Luque et al., 2013).

Los insectos eusociales, han llevado al extremo el cuidado cooperativo debido a su marcada división de trabajo entre la casta reproductiva y la casta obrera, esta última suprimida reproductivamente. Las colonias de estos insectos están formadas por cientos de individuos emparentados, mayormente hembras, por lo que el *fitness* inclusivo o *kin selection* cumple un papel fundamental (Queller & Strassmann, 1998; Wheeler, 1928). El *fitness* de una colonia está asegurado por el número de descendientes reproductivos y por la probabilidad de que las futuras reinas funden exitosamente nuevas colonias (Harris & Beggs, 1995). Las obreras ceden su capacidad de reproducirse y contribuyen activamente en las tareas cooperativas para que los individuos reproductivos, es decir, las reinas, puedan generar una mayor descendencia. Esta renuncia a la reproducción por parte de las

obreras se compensa con un aumento en la reproducción de los individuos reproductivos (Lee & Chu, 2023). El número de futuras reinas producidas por colonia y parámetros clásicos de su historia de vida, como el tamaño corporal, son buenos estimadores del *fitness* de las colonias como conjunto (Cremer et al., 2018). Las diferencias nutricionales durante la etapa larval en especies sociales desempeñan un papel crucial en la determinación del destino del individuo, ya sea como obrera o reina (Hunt, 2007; Karsai & Hunt, 2002; Schmidt et al., 2012; Walton et al., 2018). Durante la etapa larval, las reinas son alimentadas con mayor frecuencia y cantidad de alimento que las obreras. Además, la cantidad de alimento es un factor clave para la ovogénesis dado que el tamaño y el peso (calidad) de las reinas pueden afectar su capacidad reproductiva (Wheeler, 1986). Por ejemplo, en abejas, las reinas más grandes y pesadas tienen más ovarios, lo cual se traduce en una mayor producción diaria de huevos, así como espermatecas más grandes para almacenar mayor cantidad de espermatozoides. Como resultado, estas reinas poseen una mayor capacidad reproductiva y de supervivencia.

En *V. germanica*, al igual que en otros insectos sociales, las obreras monomórficas desempeñan un papel fundamental en el cuidado cooperativo de la cría, junto con otras tareas, mientras que la oviposición suele ser una función exclusiva de la reina. Esta división de tareas se establece desde el momento en que emergen las primeras obreras: la reina se dedica exclusivamente a las necesidades reproductivas de la colonia, mientras que las obreras se encargan de satisfacer todas las demás necesidades. Una de las tareas más importantes de las obreras es cuidar de las futuras reinas garantizando así el éxito reproductivo de la colonia (Awde et al., 2022; Spradbery, 1973).

La producción de reinas, que ocurre al inicio del otoño, es el acontecimiento más significativo en la vida de la colonia. En colonias anuales, como las que se realiza *Vespula* en la Patagonia Argentina, esto es de vital importancia ya que tienen una única temporada para generar nuevas reinas. La capacidad de producir reinas exitosas es el resultado de la eficiencia y productividad de la colonia, y está influida por múltiples factores. Estos incluyen, entre otros, el establecimiento exitoso y oportuno de la colonia, y la cría de suficientes obreras para mantener una población de forrajeras y para la construcción de las celdas reales. Es importante destacar que las larvas de reinas solo pueden desarrollarse en las celdas reales, por lo que el inicio de la construcción de estas celdas debe ocurrir en el momento adecuado del ciclo para garantizar la producción de reinas (Spradbery, 1973).

El *fitness* de la colonia se asegura por la producción de futuras reinas y la tasa de establecimiento exitoso de nuevas colonias por esas reinas (Spradbery, 1973). Durante el período de hibernación, las reinas enfrentan una tasa de mortalidad significativa, que puede atribuirse a enfermedades, depredación y condiciones nutricionales deficientes. Se ha reportado que reinas pequeñas de *V. vulgaris* están subrepresentadas en la población luego del periodo de hibernación (Archer, 1985) dado que poseen reservas de grasa reducidas, como consecuencia de una alimentación deficiente y, por lo tanto, tienen menos probabilidades de sobrevivir al invierno (Harris & Beggs, 1995).

El objetivo de este capítulo radica en identificar experimentalmente efectos Allee en las colonias de *V. germanica*. Basándonos en su condición de especie social con diferenciación de castas y tareas cooperativas, proponemos que existen componentes Allee; es decir que el éxito reproductivo de la colonia (cantidad y calidad nuevas reinas) depende de su tamaño. Por lo tanto, esperamos que la reducción en el número de individuos de la casta obrera afecte negativamente la cantidad y la calidad de nuevas reinas.

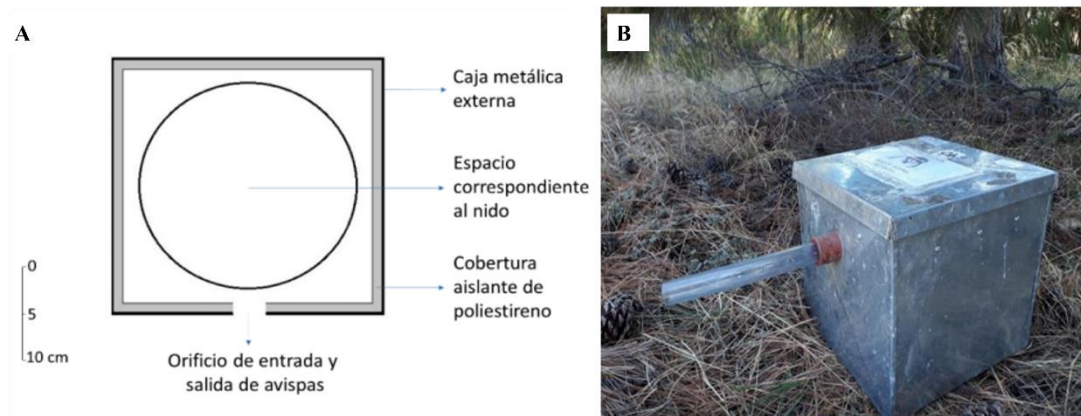


## Materiales y métodos

Durante febrero de 2019 y 2021, cuando las colonias están establecidas, pero aún sin rastros de futuras reinas y zánganos, se buscaron e identificaron nidos de *V. germanica* en las cercanías de San Carlos de Bariloche, Argentina (41°09'S, 71°18'W). Cada año, se seleccionaron 11 nidos, los cuales fueron anestesiados con éter etílico (98% de pureza; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) para su extracción. Una vez que los nidos fueron anestesiados, se desenterraron y se colocaron en cajas experimentales individuales. Luego, fueron transportados de inmediato al Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias Bariloche (IFAB; CONICET-EEA INTA Bariloche) donde las cajas experimentales se colocaron a una distancia mínima de 3 metros entre sí, dentro de un predio cercado, bajo condiciones ambientales naturales, hasta el final de los experimentos (**Figura 10**). Cada caja está fabricada en aluminio (30 x 30 x 30 cm) y aislada térmicamente con espuma de polietileno de alta densidad (2.5 cm) en sus laterales y base. En uno de sus lados tiene un orificio conectado a una manguera de plástico transparente (20 cm de largo y 2.5 cm de diámetro) para permitir el libre tránsito de las obreras (**Figura 11**). El lado superior tiene un techo doble, la capa aislante y una cubierta de vidrio para permitir observar el desarrollo de la colonia. Estudios previos mostraron que las avispas se adaptan rápidamente y continúan con sus actividades normales poco después de ser retiradas del campo (Martínez et al., 2021).



**Figura 10.** Predio experimental cerrado ubicado dentro del IFAB, en el cual se colocaron las cajas experimentales a nivel del suelo. Cada caja contenía un nido de *Vespula germanica*.



**Figura 11.** Caja experimental donde se colocaron los nidos de *Vespula germanica*. (A). Vista superior del corte transversal de un diagrama de la caja. (B). Foto de una caja experimental con la manguera plástica por la cual las avispas entran y salen del nido.

Después de 5 días de aclimatación de las colonias en la nueva ubicación, medimos el tráfico aéreo de cada nido, 5 veces por día durante cinco días consecutivos en el horario de mayor actividad diaria de las avispas (entre las 12 a.m. y las 2 p.m.; Spradbery, 1973). El tráfico aéreo es el número de avispas saliendo o entrando al nido en un minuto y se usa

como una estimación del tamaño de la colonia (Malham et al., 1991). Para determinar el **tráfico pretratamiento** (previo a la remoción), se calculó la media del tráfico máximo de los cinco días.

Los nidos se asignaron aleatoriamente a uno de dos grupos en ambos años: control (N = 6) y tratamiento (N = 16). Nuestro tratamiento consistió en remover -una sola vez- diferentes porcentajes de obreras de los nidos (del 0 al 80% aproximadamente) utilizando una aspiradora adaptada para la tarea. La manguera de la aspiradora se introdujo adentro de la caja experimental, asegurándose de que no se dañara la estructura del nido, para extraer a las obreras de adentro del nido (independientemente de la subcasta) y evitando que las avispas escaparan. Solo se removieron obreras, manteniendo así el tamaño original de huevos, larvas y pupas y dentro de cada colonia. El proceso de aspirado se realizó a las 6 am para garantizar que la mayoría de las obreras estuvieran dentro del nido. Los nidos seleccionados como “controles” se sometieron al mismo procedimiento, pero sin aspirar individuos.

Luego de la remoción se obreras y para calcular el **tráfico postratamiento**, se tomaron 5 medidas del tráfico de cada nido durante cinco días consecutivos y utilizando el tráfico máximo de cada día se calculó la media. Los valores de **tráfico pretratamiento** y **postratamiento** se utilizaron para calcular el cambio proporcional de obreras por nido como:  $(\text{tráfico postratamiento}/\text{tráfico pretratamiento}) \times 100$ . El cambio proporcional osciló entre 24% y 146%. Cuando el tráfico postratamiento es menor que el tráfico inicial, esta proporción toma valores menores a 100, lo que representa una reducción en la actividad del nido. Por el contrario, si el tráfico postratamiento es mayor que el tráfico pretratamiento, esta proporción toma valores mayores a 100, es decir, la actividad del nido aumentó.

Para evaluar si la eliminación de obreras afectó el *fitness* de las colonias, se capturaron las reinas vírgenes producidas por los nidos. Con este propósito, diariamente durante abril y mayo de 2019 y 2021, entre las 11 a.m. y las 4 p.m., se realizaron cinco observaciones de 10 minutos por nido para capturar las reinas que emergían naturalmente de los nidos (Martínez et al., 2021). Además, al concluir el experimento a finales de mayo, se abrieron los nidos para capturar cualquier reina que aún se encontrara dentro. Se registró el número de reinas producidas por cada colonia, y a cada reina capturada se la pesó y se le midió la

longitud de la tibia del tercer par de patas, utilizando un calibre digital (VWR®, Acero inoxidable 0-150 mm, resolución de 0.01 mm). Luego, se calculó el índice de masa corporal (IMC) dividiendo el peso (mg) por la longitud de la tibia (mm) ( $IMC = \text{peso}/\text{longitud de la tibia}$ ).

### Análisis estadístico

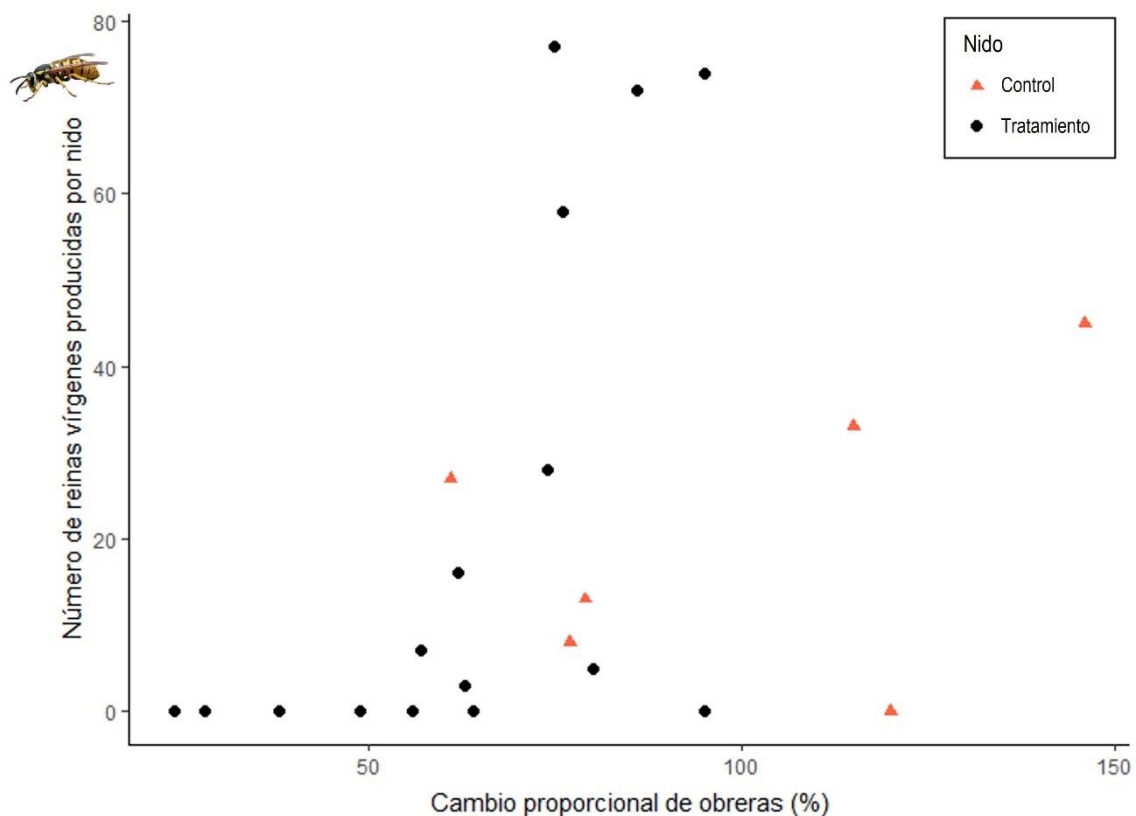
Para evaluar si el cambio proporcional en el número de obreras afecta la producción de futuras reinas, se realizó un Modelo Lineal Generalizado Mixto (GLMM) con una distribución de errores Poisson. Para este modelo se consideró el **cambio proporcional de obreras** como efecto fijo, y el **tamaño de la colonia** junto con la **identidad del nido** anidados dentro del **año** como efectos aleatorios. Además, se realizó un GLMM con una distribución de errores LogNormal para evaluar el efecto del cambio proporcional en el número de obreras sobre el índice de masa corporal de las reinas vírgenes. El **cambio proporcional de obreras** se utilizó como efecto fijo, y el **tamaño de la colonia** anidado dentro del **año** como efectos aleatorios. Los modelos se ajustaron utilizando la función *glmmTMB* del paquete *glmmTMB* (Brooks et al., 2017). La validez de los modelos se evaluó utilizando la función *simulateResiduals* del paquete *DHARMA* (Hartig, 2022). Para evaluar la correlación entre el peso y la longitud de la tibia se utilizó la función *cor.test*, método *kendall* del paquete Stats R (Hollander et al., 2013). Todos los análisis estadísticos se realizaron con R version 4.0.2 (R Core Team 2023).

### Resultados

Todos los nidos utilizados sobrevivieron hasta el final de los ensayos (i.e., finales de otoño) en ambos años. Para todos los nidos tratamiento (N=16), el cambio proporcional de obreras varió entre 24% y 95% con una media de  $63.87\% \pm 5.38\%$  (media  $\pm$  se), es decir que el tráfico disminuyó después de la remoción de obreras. Por otro lado, el rango del cambio proporcional de obreras dentro de los nidos controles fue de 61% a 146% con una media de  $99.67\% \pm 13.21\%$  (**Tabla 2**).

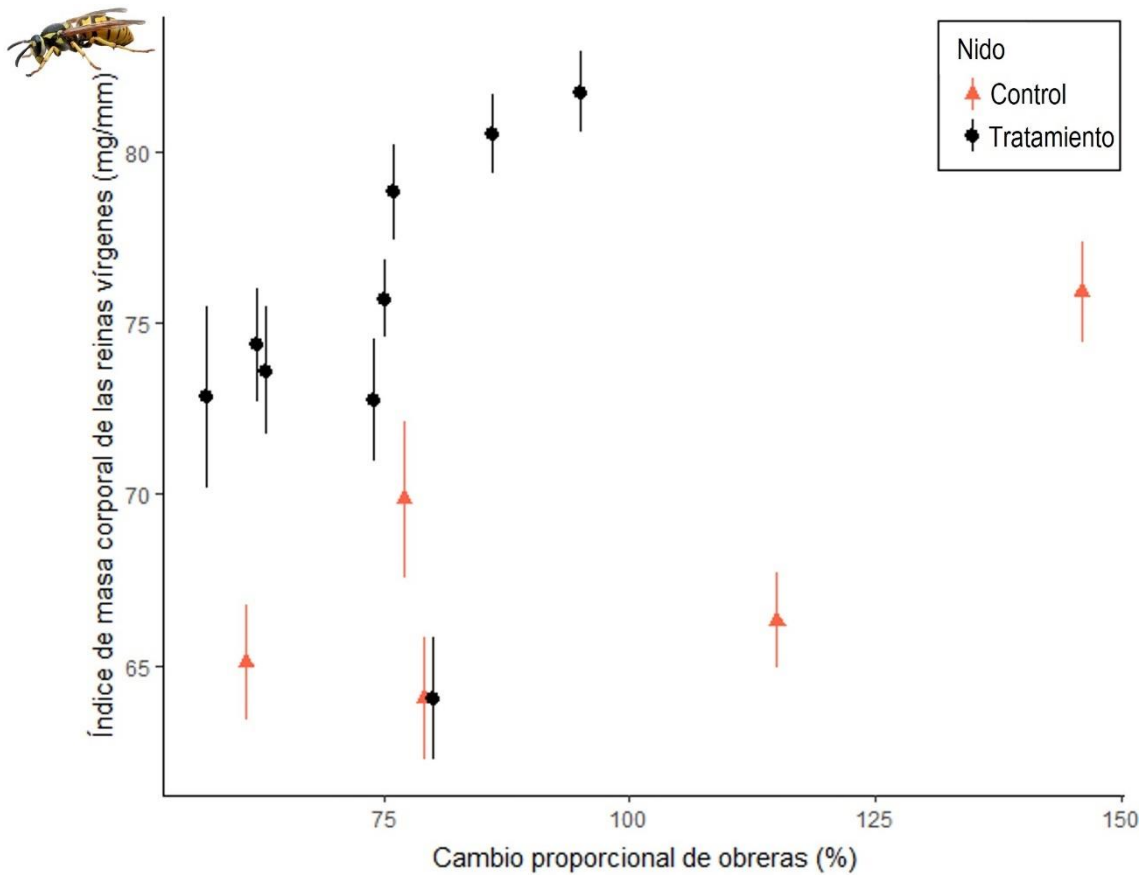
El número de reinas vírgenes producidas por colonia disminuyó significativamente cuando el cambio proporcional de obreras disminuyó ( $z_{\text{value}} = 2.40$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.016$ ,  $N=2$ ; **Figura 12**). Los nidos controles (N=6) produjeron entre 0 y 45 reinas vírgenes con

un promedio de  $21.00 \pm 6.90$  reinas (media  $\pm$  es). Además, el número de reinas que emergieron de los nidos tratamiento (N=16) varió de 0 a 77 reinas, con un promedio de  $21.25 \pm 7.59$  (media  $\pm$  se). Aquellos nidos en los que el cambio proporcional fue menor al 56% (N=7), es decir, el tráfico postratamiento se redujo un 44% respecto al tráfico pretratamiento, no produjeron reinas.



**Figura 12.** Número de reinas vírgenes de *Vespula germanica* producidas por nido según el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los triángulos rojos representan los nidos controles y los puntos negros representan los nidos tratamiento.

Por último, el índice de masa corporal de las reinas vírgenes no fue afectado por el cambio proporcional en el número de obreras ( $z_{\text{value}} = 0.47$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.642$ ,  $N = 14$ , **Figura 13**).



**Figura 13.** Índice de masa corporal de las reinas vírgenes de *Vespula germanica* producidas por nido según el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los triángulos rojos representan los nidos controles, los puntos negros representan los nidos tratamiento, y las barras verticales el error estándar.

## Discusión

En este capítulo se investigó algunos de los componentes del efecto Allee a nivel de colonia en nidos de avispa *V. germanica*. A través de nuestros experimentos, observamos que el número de futuras reinas producidas disminuye a medida que disminuye el número de obreras de la colonia. Además, los nidos no produjeron reinas vírgenes cuando el cambio proporcional en el número de obreras fue menor a 56%, es decir, una reducción del 44% en la tasa de tráfico. Sin embargo, el cambio proporcional en el número de obreras no tuvo efecto sobre la calidad de las reinas vírgenes medida como el índice de masa corporal (peso/largo de la tibia). Este es el primer estudio que muestra cuantitativamente la contribución de la casta obrera al éxito reproductivo de las colonias de *V. germanica*, proporcionando evidencia de la existencia de efectos Allee en estas avispas sociales. El dato sobre cuántas obreras deben eliminarse de los nidos para evitar el desarrollo de individuos reproductivos no solo es novedoso, sino que puede ayudar a

planificar estrategias de manejo para poblaciones de esta avispa altamente invasiva.

El éxito de los insectos eusociales puede explicarse, en parte, porque los individuos emparentados cooperan activamente en muchas tareas, como por ejemplo la captura de presas, la alimentación y el cuidado de las crías. La capacidad de ejecutar estas tareas está directamente asociada con una mayor productividad y supervivencia de la colonia (Wray et al., 2011). Por ejemplo, en abejas *Apis mellifera*, la cantidad de larvas que emergen de los huevos depende de los individuos dedicados a las tareas de cuidado como a la búsqueda de alimento (Russell et al., 2013). De forma similar, en la hormiga argentina (*Linepithema humile*), la productividad de la reina aumenta con la abundancia de obreras, ya que las obreras están directamente involucradas en la crianza de la cría (Hee et al., 2000; Luque et al., 2013). En *V. germanica* las reinas se dedican exclusivamente a la oviposición mientras las obreras realizan todas las demás tareas relacionadas con el nido, incluido el cuidado de las crías. Para producir futuras reinas, las colonias asignan más trabajadores a tareas como la búsqueda de alimento y el cuidado de las crías (Spradbery, 1973). Otros factores, como la expansión del nido, la construcción de celdas reales, el mantenimiento de la temperatura y la disponibilidad de alimentos, juegan un papel importante en la supervivencia de la colonia y la producción de reinas. Por lo tanto, se espera que una disminución abrupta en la población de obreras dentro de la colonia tenga un impacto negativo en las actividades de la colonia y, en consecuencia, en la producción de reinas.

Frente a la disminución en el número de obreras no se encontró evidencia de que las colonias alteraran la calidad de las reinas, aunque sí disminuyeron la cantidad producida. En *V. germanica* como en otros insectos sociales, las diferencias entre obreras y reinas se deben a la calidad y cantidad de alimento que reciben durante su etapa larval (Spradbery, 1973). Principalmente, el nitrógeno, asociado a la proteína, es un factor crítico para el desarrollo de las gónadas y las reinas requieren una mayor cantidad por masa que una obrera. Para satisfacer esta demanda nutricional, las reinas durante la etapa larval son alimentadas con alimentos de mayor nivel trófico, que presentan un contenido más elevado de nitrógeno, o con una mayor cantidad de presas y excreciones (Hunt et al., 2010; Karsai & Hunt, 2002; Schmidt et al., 2012). La eliminación de las obreras no afectó la calidad de las reinas, lo que sugiere que las larvas de reinas recibieron una alimentación adecuada. Sin embargo, la cantidad de reinas producidas se vio afectada negativamente.

Una posible explicación para este resultado es que las colonias produjeran mejores reinas (i.e., de igual calidad) a costa de cantidades más bajas en respuesta a la disminución abrupta en el número de obreras presentes en el nido.

Los mecanismos cooperativos que actúan a nivel de colonia no necesariamente son los mismos que actúan a nivel poblacional (Angulo et al., 2013; Courchamp et al., 2008). En el caso de la producción de futuras reinas, la disminución en su número como consecuencia de la reducción en el número de obreras podría afectar el número de nuevas colonias que puedan establecerse al año siguiente. Sin embargo, la mortalidad de las reinas durante el invierno es elevada, por ejemplo, para *V. vulgaris* está por encima del 97,8 % (Archer, 1985). Esto implica que solo un porcentaje muy bajo de reinas podrá establecer efectivamente una colonia al año siguiente. Ambos procesos, la supervivencia y el establecimiento de la colonia, son procesos vitales que influyen a nivel poblacional. Por lo tanto, sería interesante evaluar si la disminución del número de reinas vírgenes se traduce, a largo plazo, en una reducción de la tasa de crecimiento poblacional de esta especie invasora.

Nuestros resultados indican que la disminución en el número de obreras afecta negativamente la producción de reinas vírgenes mientras que no tiene ningún efecto sobre la calidad de éstas. Más importante aún, a partir de cierto porcentaje de remoción de obreras, los nidos no pueden reproducirse. Desde una mirada aplicada, este resultado podría utilizarse para desarrollar nuevas estrategias destinadas a captar obreras con el objetivo de reducir la producción de reproductivos. Esta es la primera investigación sobre la existencia de efectos Allee en colonias naturales de una avispa eusocial. También, aporta información novedosa para mejorar nuestra comprensión sobre la estructura social de las colonias de avispas sociales y respaldar la teoría de los efectos de Allee en los insectos sociales



## **CAPITULO 3**

**Comportamientos cooperativos como posibles mecanismos del efecto**

**Allee**



## Resumen

---

Existen múltiples mecanismos asociados a los efectos Allee, desde facilitación no cooperativa a comportamientos cooperativos obligatorios. Los comportamientos cooperativos o sociales, como la alimentación o la defensa contra depredadores han sido postulados como mecanismos que podría conducir a un efecto Allee. El éxito de los insectos sociales se debe, en parte, a los comportamientos cooperativos existentes entre los miembros de una colonia. Todos los miembros del grupo trabajan conjuntamente en la búsqueda y adquisición de alimento, la defensa de la colonia, la alimentación y el cuidado de la cría. Dichas tareas son comportamientos sociales ventajosos a nivel de nido y están relacionados con el éxito de una colonia. El objetivo de este capítulo fue evaluar el efecto de la remoción de obreras sobre el ingreso de proteína al nido y el número de obreras realizando algún comportamiento de higiene o vigilancia en la entrada del nido. Para ello, en los mismos nidos utilizados en el capítulo 2, durante el mes de marzo se realizaron observaciones de cinco minutos por nido. En cada observación se registró el número de obreras realizando comportamientos relacionados con la higiene (obreras sacando larvas, restos de obreras o restos del nido, así como acicalando el cuerpo de otras obreras al ingresar al nido) y el número de avispas guardianas presentes en la entrada del nido. Además, diariamente se tomó una muestra del alimento proteico ingresado a cada nido capturando a todas las obreras ingresantes durante un minuto. La disminución en el número de obreras de la colonia no afectó la cantidad de proteína ingresada al nido ni el número de obreras realizando algún comportamiento de higiene. En contraste, la defensa de la colonia, medida como el número de obreras guardianas en la entrada del nido, disminuyó con la reducción en el número de obreras. Estos resultados sugieren que las colonias poseen una notable flexibilidad para desempeñar diferentes roles, lo que les permite afrontar cambios en el número de obreras en la colonia. Esta flexibilidad, permite que la colonia realocalice individuos a tareas que podrían ser prioritarias, como el ingreso de proteína o la higiene, con el fin de continuar con su crecimiento, desarrollo y reproducción.

**PALABRAS CLAVES:** comportamientos sociales, insectos sociales, división del trabajo, chaqueta amarilla

## Introducción

Recientemente, los estudios sobre efecto Allee se han incrementado y han aportado evidencia empírica de su ocurrencia en muchas poblaciones naturales de animales (Angulo et al., 2018; Kramer et al., 2009). Existen múltiples mecanismos asociados a los efectos Allee, desde facilitación no cooperativa a comportamientos cooperativos obligatorios. Kramer et al., (2009) realizaron una revisión bibliográfica mostrando que los efectos Allee en poblaciones naturales son causados por seis mecanismos: limitación de pareja, defensa cooperativa, alimentación cooperativa, dispersión, saciedad del depredador y alteración del hábitat, siendo los primeros cuatro los más frecuentes en artrópodos terrestres. En esta tesis nos centraremos en evaluar los comportamientos cooperativos.

Los comportamientos cooperativos o sociales, como la alimentación o la defensa contra depredadores han sido postulados como mecanismos que podrían conducir a un efecto Allee. Los murciélagos de una misma colonia emiten llamados sociales para reclutar y coordinar la búsqueda de alimento con miembros del grupo obteniendo beneficios en términos de *fitness*. También, los juveniles crecen más rápido cuando se encuentran en dormitorios con más individuos (Gregory & Jones, 2010; Kerth, 2008; Wilkinson, 1992; Wilkinson & Wenrick, 1998). Se ha registrado algo similar en primates; la supervivencia de la cría es mayor en grupos grandes probablemente debido a los comportamientos anti-depredatorios. La tasa de defensa exitosa del grupo está correlacionada positivamente con el tamaño del grupo y con el número de machos (Stanford, 2002). También, en abejas, se ha visto que un aumento en el número de obreras forrajeras y obreras encargadas de la defensa de la colonia se asocia con un aumento de la productividad y supervivencia de la colonia (Wray et al., 2011).

La búsqueda de alimento es un comportamiento social esencial para los himenópteros sociales porque permite que la colonia crezca (produzca obreras) y se reproduzca (genere individuos reproductivos; Awde et al., 2022). Las obreras buscan fuentes de alimento principalmente para alimentar a las larvas. Ellas deben proveer los recursos suficientes para alimentar a las futuras reinas ya que el desarrollo ovárico y la ovogénesis están regulados por la nutrición. Las reinas requieren altos niveles de nitrógeno, en comparación con las obreras y zánganos, por lo que son alimentadas con mayor cantidad

de presas y de excreción de otros materiales o presas de niveles tróficos más altos para asegurar un desarrollo adecuado de las gónadas y así, asegurar su capacidad reproductiva (Fagan et al., 2002; Schmidt et al., 2012). Por lo que cantidad y calidad del alimento son importantes para responder a la demanda nutricional de las reinas durante la etapa larval.

Asimismo, las colonias son lugares propicios para el desarrollo y transmisión de parásitos y patógenos dado que la transmisión es más probable cuando los individuos viven en altas densidades, tienen contacto social frecuente y los miembros del grupo son parientes cercanos (Evans & Schwarz, 2011). En respuesta a estas amenazas, las colonias han desarrollado una “inmunidad social” que consiste en defensas conductuales, fisiológicas y organizativas llevadas a cabo individual o grupalmente por las obreras, con el objetivo de prevenir el ingreso, el establecimiento y la transmisión de patógenos en la colonia (Cremer et al., 2018; Meunier, 2015). El comportamiento de higiene se considera el principal mecanismo de resistencia a enfermedades.

Las avispa adultas eliminan o aíslan a las avispa o larvas muertas y a compañeros de nido enfermos, lo cual se considera como un mecanismo para evitar la propagación de parásitos o patógenos adentro del nido (Akre et al., 1976). También, las avispa reutilizan las celdas de las que emergen por lo que la eliminación de larvas muertas o enfermas de la colonia y la limpieza de las celdas podrían ser comportamientos de higiene propios para la reutilización de las celdas (Spradbery, 1973). Otro comportamiento de higiene que realizan las obreras de *Vespula*, es el aseo. Este comportamiento ocurre cuando una obrera utiliza sus patas y las piezas bucales para acicalar (cepillar, peinar y lavar) el cuerpo de otra avispa que está ingresando al nido (Spradbery, 1973). El acicalamiento permite limpiar el cuerpo de patógenos y parásitos por lo que, en animales sociales, tiene implicancias no solo a nivel individuo sino también a nivel de grupo.

De forma similar, las colonias de *Vespula* spp. exhiben comportamientos defensivos. Las avispa chaqueta amarilla, al igual que todas las avispa de la subfamilia Vespinae, son particularmente agresivas y defienden sus colonias ferozmente (Edwards, 1980). La defensa de la colonia está asegurada por la presencia de grupos de avispa guardianas en las entradas de los nidos y túneles. También, la defensa es coordinada a través de feromonas de alarma que son liberadas por las obreras. Frente a una amenaza, estas feromonas permiten marcar al objetivo y coordinar la defensa de la colonia, dirigiendo a

las obreras atacantes hacía la amenaza (Verheggen et al., 2010). Durante el ataque, un gran número de obreras pican, muerden o rocían con veneno al objetivo (Smith et al., 2001).

Se cree que los beneficios de los comportamientos cooperativos son una de las razones por las cuales hormigas, termitas, abejas y avispas se han vuelto especies dominantes en muchos hábitats (Wilson, 1971). Las obreras estériles llevan a cabo todas estas actividades no reproductivas de la colonia, como la búsqueda y adquisición de alimento, la defensa de la colonia, la alimentación y el cuidado de la cría. Estos comportamientos sociales son ventajosos a nivel de nido y están directamente relacionados con el éxito de una colonia (Okasha 2008, Schultner et al. 2014). Para poder realizar todas estas actividades de forma eficiente, los individuos no reproductivos suelen especializarse u organizarse según la edad (polietismo temporal) o la morfología (polietismo morfológico) de los individuos. El **polietismo temporal** es el más común en insectos sociales y se refiere al hecho que las obreras realizan determinadas **tareas** de acuerdo con su **edad**. Generalmente, las obreras más jóvenes realizan tareas adentro del nido (cuidado de las crías, construcción), y las obreras de más edad realizan tareas afuera del nido (búsqueda de alimento y defensa del nido). Mientras que el **polietismo morfológico**, presente en pocas especies de hormigas y en la mayoría de las especies de termitas se refiere a que las obreras realizan las tareas según su **tamaño** o **forma**. Por ejemplo, las obreras encargadas de la defensa de la colonia o “soldados” tienen las mandíbulas y la cabeza más grandes en comparación con el resto del cuerpo (Beshers & Fewell, 2001; Robinson, 1992; Wilson, 1971).

Aunque las obreras pueden realizar tareas según su morfología o edad, la distribución de tareas entre obreras tiene cierta flexibilidad para responder a requerimientos de la colonia, perturbaciones internas o cambios externos en el ambiente (Beshers & Fewell, 2001). En muchos insectos sociales se ha visto que son capaces de cambiar el número de individuos asignados a determinada tarea como respuesta a necesidades de la colonia o perturbaciones en el ambiente. Por ejemplo, en hormigas, el número de recolectores cambia como respuesta al riesgo de depredación (MacKay, 1982; Munger, 1992) o la disponibilidad de alimentos (Gordon, 1991; Schafer et al., 2006). En abejas ocurre que el reclutamiento de nuevas obreras recolectoras depende del número de recolectores en la colonia (Huang & Robinson, 1996). Esta flexibilidad y habilidad de las obreras de

cambiar entre tareas les permite responder, como unidad, a cambios o perturbaciones asegurando el éxito y supervivencia de la colonia (Gordon, 1996; Oster & Wilson, 1978).

*Vespula germanica* presenta una marcada división de tareas en una casta reproductiva (reinas y zánganos) y una casta obrera. Las obreras, al igual que otras avispas sociales, realizan numerosas tareas, como expansión y excavación del nido, defensa e higiene, cuidado y alimentación de las larvas y adultos y búsqueda de alimento. En esta especie, con un **polietismo temporal** débil, las colonias presentan una estrategia generalista de la división de tareas dentro de la casta obrera (sólo el 43% se especializan en una única tarea por día). Generalmente, las obreras comienzan con tareas adentro del nido, seguido por la recolección de pulpa, carbohidratos y, por último, proteína (Hurd et al., 2007). Sin embargo, las obreras no cambian abruptamente de recolectar un material a otro y es común que muchas de ellas recolecten múltiples materiales por día (Hurd et al., 2007; Spradbery, 1973).

El objetivo de este capítulo fue identificar posibles mecanismos que generan los componentes del efecto Allee en colonias de *V. germanica*. La hipótesis de trabajo plantea que el forrajeo, la defensa y la higiene, tareas que se realizan de forma cooperativa y que contribuyen al éxito de las colonias, dependerán del número de obreras de la colonia. Por lo tanto, se espera que la remoción experimental de obreras tenga un impacto negativo en la cantidad de proteína ingresada al nido y en el número de obreras dedicadas a las tareas de defensa e higiene. Además, este estudio pretende comprender cómo estas tareas cooperativas afectan la dinámica de la colonia aportando información para mejorar nuestra comprensión de la ecología y comportamiento social de *V. germanica*, especialmente en relación con los efectos Allee y cómo las tareas cooperativas juegan un papel fundamental en el funcionamiento y desarrollo de las colonias.

## Materiales y métodos

En este capítulo, se utilizaron los nidos previamente descritos en el Capítulo 2 (ver detalles en la sección Materiales y Métodos). Específicamente, se evaluó el ingreso de proteína en los 22 nidos (16 nidos tratamiento, 6 nidos controles), de los cuales 11 fueron observados en 2019 y los otros 11 en 2021; y la defensa e higiene se evaluaron únicamente en los 11 nidos extraídos en 2021.

### Alimentación cooperativa como mecanismo que conlleva a un componente Allee

Para evaluar si la reducción de obreras de los nidos afecta la cantidad de proteína ingresada al nido, luego de la remoción se tomaron muestras del alimento proteico ingresado a los nidos durante todo el mes de marzo, cuando la demanda de proteínas es alta (D'Adamo & Lozada, 2005). El procedimiento consistió en bloquear la entrada del nido con una bola de algodón en la abertura de la manguera más cercana al nido. Después de un minuto, se bloqueó el extremo exterior de la manguera con las avispas dentro, se retiró y se reemplazó por una nueva manguera para permitir que la colonia continuara su funcionamiento normal (**Figura 14**). Posteriormente, todas las avispas dentro del tubo fueron anestesiadas con dióxido de carbono, y se separaron los fragmentos de comida que acarreaban las avispas. A continuación, se identificaron y pesaron los fragmentos correspondientes a proteína (partes de insectos principalmente) bajo lupa (*ZEISS Stemi 305: 25X*). Se tomó una muestra por día por nido durante las horas de mayor actividad (entre las 12 a.m. y las 2 p.m.) durante 15 días para los 11 nidos en 2019 y 23 días para los 11 nidos en 2021. La cantidad total de proteína ingresada por nido se calculó sumando todas las muestras colectadas.



**Figura 14.** Metodología para la colecta de alimento proteico en nidos de *Vespula germanica*. (A) Esquema en vista lateral de la caja experimental y la manguera que permite el ingreso y egreso de los individuos al nido. (B) Para capturar las avispas que ingresan al nido se bloqueó el orificio interno de la manguera. (C) Luego de un minuto, se bloqueó el extremo libre de la manguera. Esta manguera fue retirada y reemplazada por otra similar.

### **Defensa e higiene cooperativa como mecanismos que conllevan a un componente Allee**

Para evaluar el impacto de la reducción de obreras en las tareas cooperativas de la colonia, específicamente en la defensa e higiene, luego de la remoción se realizaron observaciones de cinco minutos por nido. Durante cada observación, se registraron los siguientes comportamientos relacionados con la defensa del nido: el número de avispas vigilando en la entrada del nido (obreras guardianas); y relacionados con la higiene: el número obreras sacando larvas, restos de obreras o restos del nido, así como también acicalando el cuerpo de otras obreras al ingresar al nido. Cada uno de los 11 nidos se observaron secuencialmente todos los días entre las 12 a.m. y 4 p.m. durante 16 días en 2021.

### **Análisis estadístico**

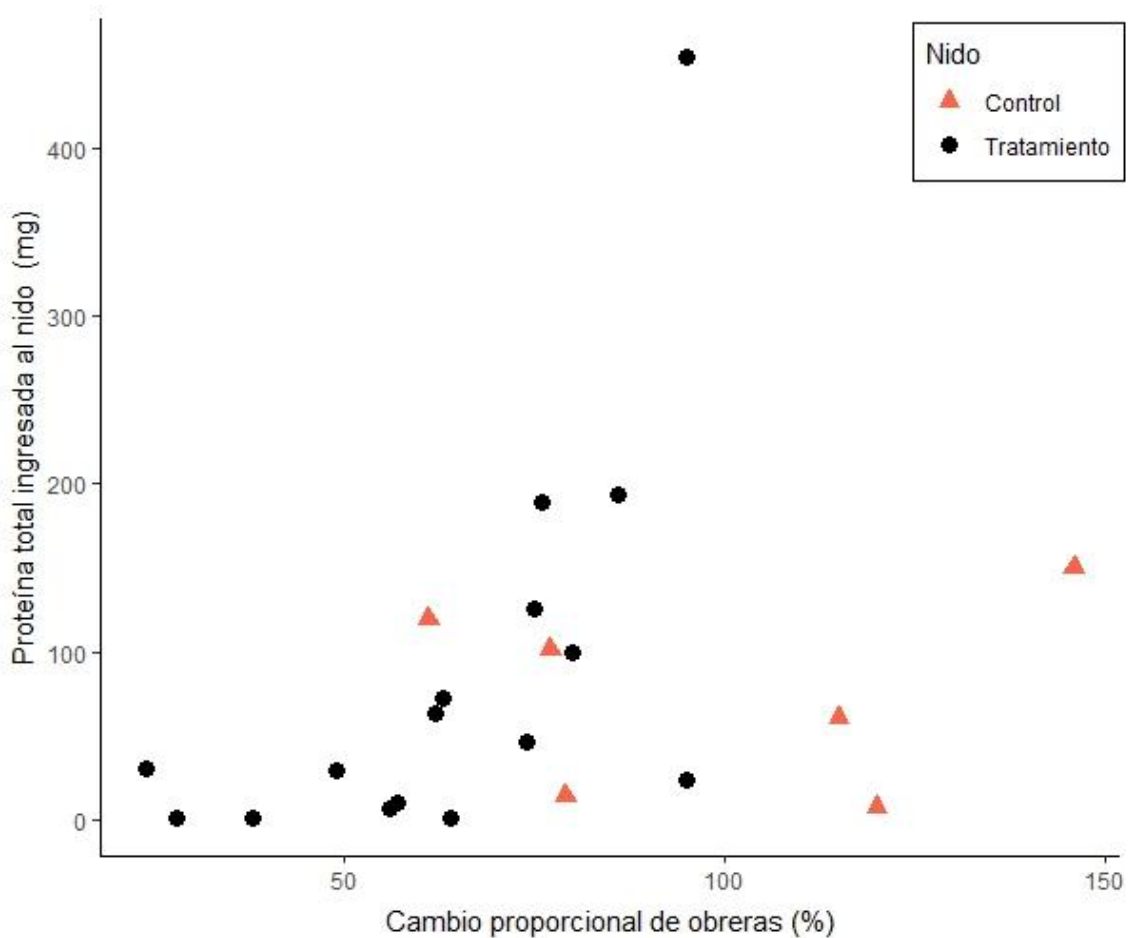
Para evaluar el efecto del cambio proporcional en el número de obreras sobre el ingreso de proteína al nido se realizó un Modelo Lineal Mixto con una distribución de errores Normal (función *lmer* del paquete *lme4*, Bates et al., 2014). El **cambio proporcional en el número de obreras** se consideró como efecto fijo y el **tamaño de la colonia** anidado dentro de **año** como efectos aleatorios. Para evaluar el efecto del cambio proporcional en el número de obreras sobre el número de obreras vigilando en la entrada del nido o realizando tareas de higiene se realizó un Modelo Lineal Generalizado Mixto (GLMM) con una distribución de errores Binomial Negativa para datos de conteo con sobredispersión para el número de obreras realizando una tarea de higiene o vigilando en la entrada del nido (función *glmmTMB* del paquete *glmmTMB*, Brooks et al., 2017). El **cambio proporcional en el número de obreras** se consideró como efecto fijo y **tamaño de la colonia** anidado dentro de la identidad del nido como efectos aleatorios. La validez de los modelos se evaluó utilizando la función *simulateResiduals* del paquete *DHARMA* (Hartig, 2022). Todos los análisis estadísticos se realizaron con R versión 4.0.2 (R Core Team 2023).

### **Resultados**

No se observó un efecto de la reducción experimental en el número de obreras sobre el ingreso de proteína al nido ( $t_{\text{value}} = 1.91$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.06$ ,  $N = 22$ , **Figura 15**). En los nidos controles, el alimento proteico recolectado varió de 7.5 a 150.5 mg ( $75.65 \pm 23.64$  mg,

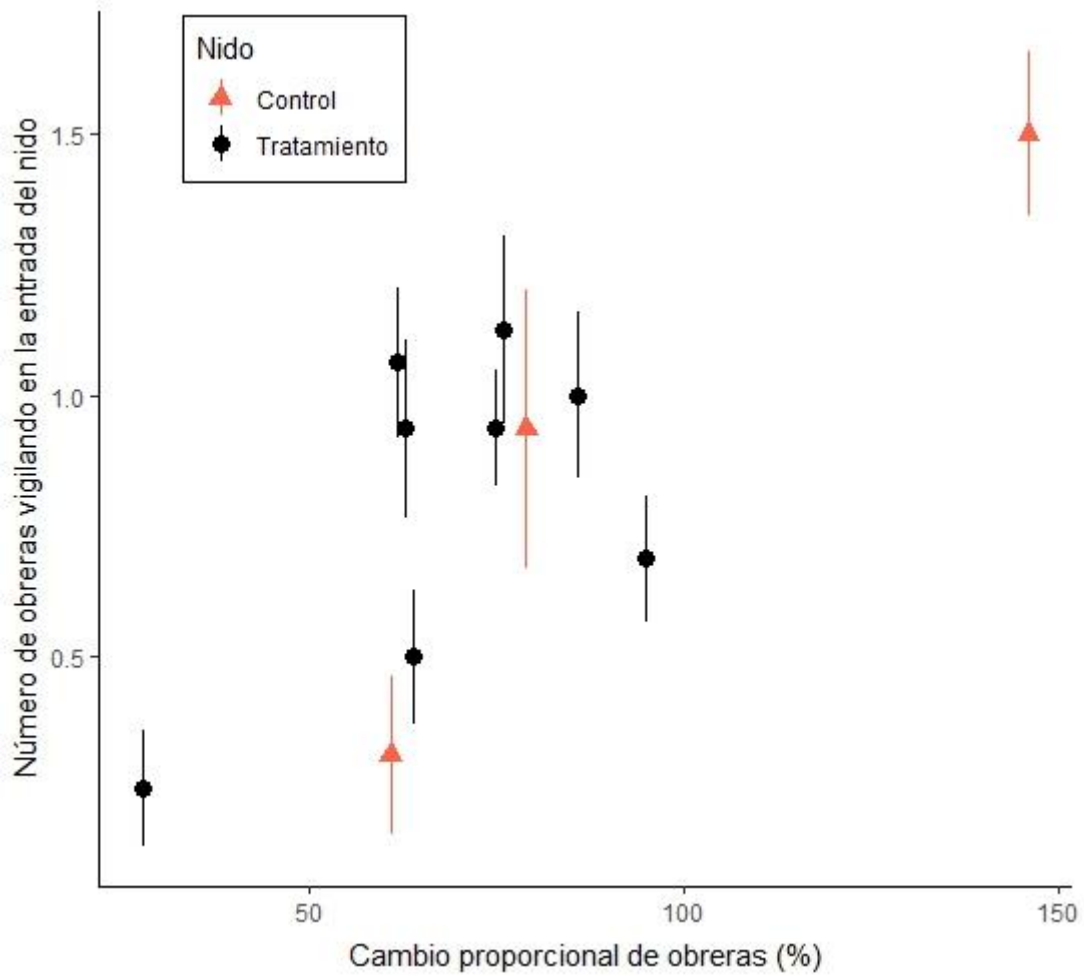


media  $\pm$  se), mientras que, en los nidos tratamiento, varió de 1 a 454.6 mg ( $84.24 \pm 29.28$  mg, media  $\pm$  se). Las muestras de alimento tomadas de los nidos consistieron principalmente en artrópodos enteros o sus partes, predominantemente arácnidos, coleópteros, dípteros y otros himenópteros, así como fragmentos de proteína animal. Además de proteínas, las avispas también ingresaban al nido pequeñas cantidades de material vegetal que no han sido consideradas en este análisis.

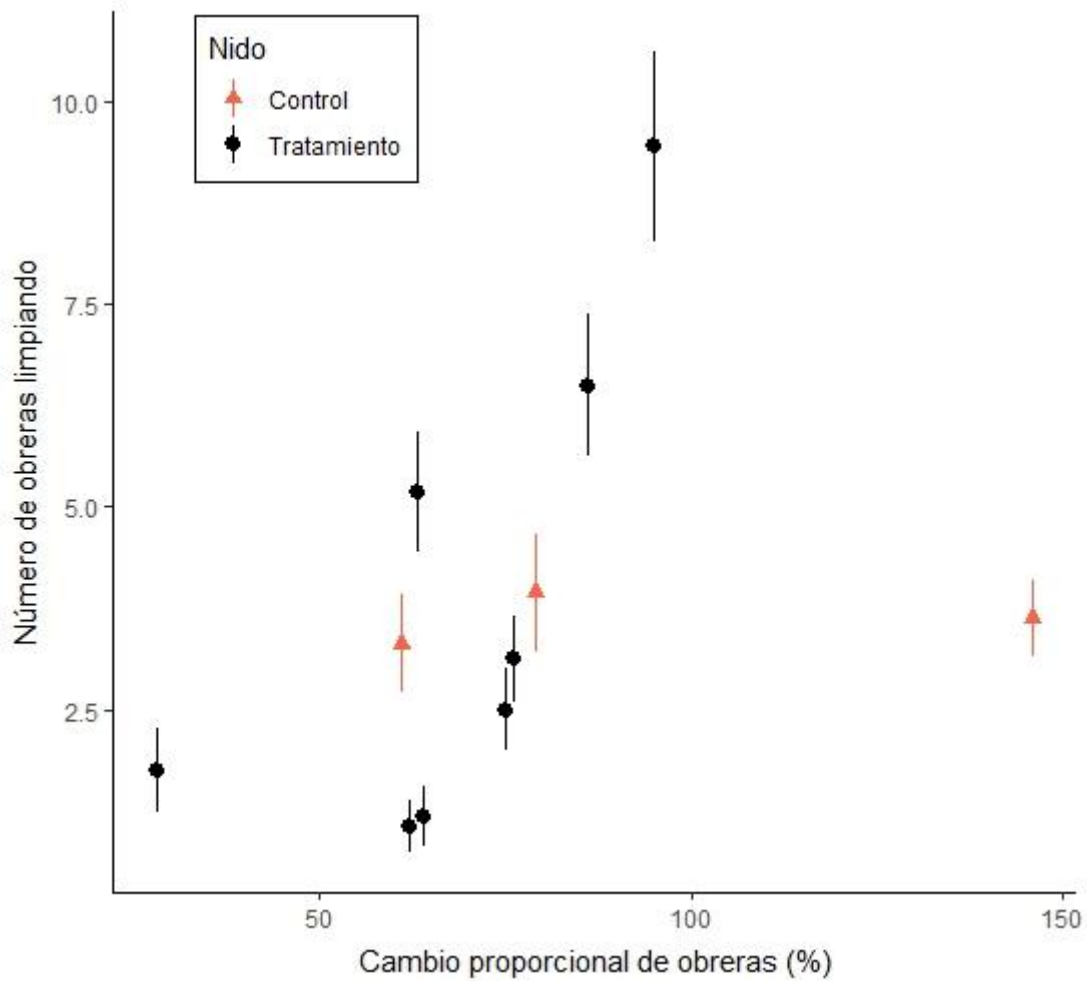


**Figura 15.** Proteína total ingresada a cada nido de *Vespula germanica* según el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los triángulos rojos representan los nidos controles y los puntos negros los nidos tratamiento.

La reducción experimental en el número de obreras impactó significativamente en la cantidad de obreras vigilando en la entrada de los nidos ( $z_{\text{value}} = 3.19$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.0014$ ,  $N = 11$ , **Figura 16**). Sin embargo, no se encontró ningún efecto en cuanto al número de obreras realizando algún comportamiento de higiene del nido ( $z_{\text{value}} = 1.62$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.105$ ,  $N = 11$ , **Figura 17**).



**Figura 16.** Número de obreras vigilando en la entrada del nido para cada nido según el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los triángulos rojos representan los nidos controles, los puntos negros representan los nidos tratamiento, y las barras verticales el error estándar.



**Figura 17.** Número de obreras realizando algún comportamiento de higiene (saliendo del nido con larvas muertas, restos de obreras muertas o restos del nido y avispas acicalando el cuerpo de otras obreras) por el cambio proporcional de obreras (tráfico postratamiento expresado como un porcentaje del tráfico pretratamiento). Los triángulos rojos representan los nidos controles, los puntos negros representan los nidos tratamiento, y las barras verticales el error estándar.

## Discusión

En este capítulo evaluamos tres comportamientos cooperativos como posibles mecanismos que podrían causar un componente del efecto Allee a nivel de colonias de *V. germanica*. Se evaluó, cómo la remoción experimental de obreras afecta la dinámica de la colonia en términos de alimentación, defensa e higiene. La disminución en el número de obreras presentes en la colonia impactó en la cantidad de obreras vigilando en la entrada de la colonia, mientras que el forrajeo (ingreso de proteína) y la higiene (número de obreras destinadas a tareas de limpieza) no fueron afectadas. Estos resultados sugieren que podría existir una relocalización de tareas a nivel colonia que permite responder a las fluctuaciones de obreras. Estos hallazgos contribuyen al entendimiento de los mecanismos que regulan la dinámica de las colonias de *V. germanica* y su comportamiento cooperativo.

Al contrario de lo esperado, la remoción de obreras no afectó el ingreso de proteína al nido. La proteína es un factor determinante para la ovogénesis de las reinas durante la etapa larval por lo que estas reciben una alimentación diferenciada en términos de cantidad, calidad y frecuencia (Akre & Davis, 1978; Hunt et al., 2010; Karsai & Hunt, 2002; Richter, 2000; Spradbery, 1973). Para cumplir con esa demanda, dentro de la colonia hay una proporción variable de obreras que forrajean. En colonias jóvenes el 53-56% son forrajeras mientras que en colonias más maduras disminuye a 37.4%, sugiriendo que la colonia hace una división temporal del trabajo según la ontogenia del nido y la demanda (Spradbery, 1973). Asimismo, las colonias de *V. germanica* presentan una estrategia de división del trabajo generalista, es decir, que las obreras no se especializan en una única tarea, sino que realizan múltiples tareas diariamente (Hurd et al., 2007). Este tipo de estrategia podría ser ventajosa en zonas templadas, donde las colonias son anuales y tienen solo una temporada para crecer, producir obreras y reproducirse (Hurd et al., 2007; Wilson, 1971).

De forma similar, la remoción de obreras tampoco tuvo un efecto sobre el número de obreras realizando tareas de higiene del nido. Las colonias de insectos sociales son particularmente vulnerables a las infecciones por patógenos o virus debido a su hacinamiento y comportamiento social (Cremer et al., 2018; Stroeymeyt et al., 2014). Los comportamientos de aseo entre obreras son la primera barrera que protege a la colonia del

ingreso de parásitos, mientras los comportamientos de higiene como la eliminación de larvas, huevos o adultos enfermos evita que patógenos o parásitos se esparzan rápidamente por la colonia (Zhukovskaya et al., 2013). El fin último de la “inmunidad social” no sólo es asegurar la supervivencia de los individuos sino también de la colonia y disminuir el riesgo de infección de individuos valiosos, como los reproductivos y obreras jóvenes (Naug & Smith, 2006). La efectividad de estos mecanismos depende del grado de cooperación y organización entre los miembros del grupo (Simone-Finstrom, 2017). Ante la disminución de obreras, las colonias podrían estar respondiendo de forma flexible aumentando la cooperación entre individuos o reasignando más obreras a esta tarea para asegurar la supervivencia de la colonia, principalmente de las futuras reinas.

A pesar de que las especies que viven en grupo con numerosos individuos, pueden beneficiarse de una mayor eficiencia en el forrajeo o la defensa, esto a menudo conlleva una mayor incidencia de enfermedades y parásitos (Cremer, 2019; Cremer et al., 2007; Stroeymeyt et al., 2014). En condiciones normales u óptimas, las colonias utilizan estas estrategias comportamentales para evitar el ingreso de parásitos o patógenos o la propagación de enfermedades. Sin embargo, en situaciones de estrés, como la pérdida significativa de individuos, las colonias pueden volverse más susceptibles a infecciones y, como consecuencia, presentar un mayor riesgo de mortalidad (Keiser et al., 2018). En esta tesis únicamente se evaluaron comportamientos de higiene por lo que sería valioso examinar el efecto de la remoción de obreras y el tamaño de la colonia sobre la incidencia de enfermedades. Esto nos permitiría tener una comprensión más completa de la dinámica de las colonias.

El esfuerzo en defensa es una inversión que también trae beneficios en términos de protección contra depredadores y, por ende, en el éxito de la colonia. No obstante, también conlleva un costo debido al riesgo de muerte y requiere una inversión de energía. En las áreas nativas, las colonias de *V. germanica*, particularmente, colonias juveniles, son susceptibles a presión de depredación por otras avispas sociales (Matsuura & Yamane, 1990), aves (Birkhead, 1974) y mamíferos (Schmidt, 2016; Spradbery, 1973). Esta presión de depredación puede ser sustancialmente menor o nula en zonas de invasión, debido a la ausencia o menor presencia de depredadores. Bajo este contexto y frente a la disminución en número de obreras, las colonias podrían haber relegado estos comportamientos relacionados con la defensa del nido, como serían los comportamientos

de vigilancia, destinando obreras a otras tareas más relevantes como la higiene acicalamiento o la eliminación de larvas muertas para evitar la propagación de patógenos o parásitos en el nido o el forrajeo.

Muchas especies del género *Vespula* spp. son comúnmente conocidas por su agresividad, y al igual que otros himenópteros sociales, utilizan feromonas de alarma que activan la defensa colectiva. Cuando el nido es perturbado desde el exterior, un grupo de obreras sale del nido para defenderse, utilizando como estrategia de defensa su picadura (Edwards, 1980; Greene, 1991; McCann et al., 2015). Este comportamiento cooperativo confiere beneficios en términos de *fitness* grupal dado que las conductas agresivas, como la movilización de un grupo de obreras hacia la señal y el ataque al depredador, así como las estrategias de huida o evasión, disminuyen la probabilidad de depredación de los individuos dentro de la colonia (London & Jeanne, 2003). En el contexto de esta investigación, se evaluó el número de obreras vigilando en la entrada del nido, identificándose como el agente responsable de activar la defensa colectiva. Este parámetro se vio afectado tras la remoción; sin embargo, podría ser poco representativo del esfuerzo destinado a dicha tarea. Para obtener una comprensión más amplia del esfuerzo destinado a dicha tarea se debería observar, por ejemplo, el número de ataques a un objetivo en diferentes contextos de remoción. Asimismo, evaluar el efecto de la remoción de obreras sobre la agresividad y en el grado de respuesta de la colonia ante perturbaciones externas. Se ha comprobado en otros insectos eusociales estos rasgos se correlacionan con otras variables como el tamaño de la colonia, la inversión en descendencia y con la actividad de forrajeo (London & Jeanne, 2003).

Luego de la remoción de obreras adultas, la cantidad de huevos, larvas y pupas no se modificó; en consecuencia, las colonias disponen de menos adultos para llevar a cabo todas las tareas. La distribución de individuos a diferentes tareas tiene como objetivo maximizar el *fitness* de la colonia. Asimismo, el comportamiento social es altamente plástico y está fuertemente influenciado por las edades relativas de las obreras y la demanda de la colonia (Gadagkar, 2001; Huang & Robinson, 1996; Robinson, 1992). Frente a una disminución en el número de obreras, es posible que la colonia haya priorizado otras tareas, como el forrajeo y, por lo tanto, el número de obreras guardianas disminuyó luego de la remoción. Esta flexibilidad les permitiría relocalizar los individuos para poder seguir creciendo, desarrollarse y finalmente reproducirse, es decir, generar una

nueva cohorte de individuos sexuales (Beshers & Fewell, 2001; Gordon, 1996). Investigaciones futuras deberían investigar el efecto de reducir el número de trabajadores en la asignación de individuos a tareas específicas, y evaluar cómo esto, afecta la aptitud de la colonia.

Nuestros resultados indican que la cantidad de obreras defendiendo la entrada del nido es la única tarea que se vio afectada frente a la disminución en el número de obreras de las colonias. En contraste, comportamientos cooperativos como el forrajeo y la higiene no se vieron afectados por este cambio. Este hallazgo podría sugerir que la estrategia de división del trabajo generalista que emplean las colonias de *V. germanica* les permite responder, y adaptarse a cambios imprevistos en la cantidad de integrantes (Hurd et al., 2007). Esta flexibilidad en la asignación de tareas es una característica frecuente en insectos sociales, permitiéndoles responder frente a perturbaciones internas y externas a la colonia (Beshers & Fewell, 2001; Gordon, 1996). Además, la cooperación entre los individuos de una colonia no solo mejora la eficiencia de las tareas, generando beneficios en términos de aptitud grupal, sino que también les brinda la capacidad de responder eficazmente a perturbaciones, como la pérdida de individuos (Angulo et al., 2018; Kramer et al., 2009).

## **CAPITULO 4**

**Trampeo masivo: ¿una herramienta sustentable para el manejo de avispas sociales invasoras?**





## Resumen

---

*Vespula germanica* es una avispa social que ha invadido muchas partes del mundo convirtiéndose en una plaga, principalmente en ambientes urbanos. A pesar de la extensa investigación sobre ecología y control, actualmente no existen estrategias efectivas y sustentables para manejar las poblaciones en el área de distribución invadida. Hasta la fecha, la principal acción utilizada se basa en la aplicación de cebos tóxicos, que pueden tener resultados no deseados para otras especies y el medio ambiente. El trampeo masivo es un método que permite eliminar un gran número de individuos utilizando algún cebo atractivo no tóxico. Este método se ha probado en muchos taxones, aunque ha sido poco explorado en insectos sociales. En este capítulo se evaluó el efecto del trampeo masivo de obreras sobre la abundancia de *V. germanica* y la actividad de los nidos en las cercanías de San Carlos de Bariloche, donde estas avispas están establecidas desde principios de la década del `80. Para ello, durante dos años consecutivos, se implementó un ensayo de trampeo masivo en cuatro parcelas de una hectárea cada una (2 parcelas tratamiento y 2 parcelas control cada año). En las parcelas tratamiento, donde se aplicó el trampeo masivo, se colocaron 25 trampas cebadas con carne no tóxica, separadas 20 metros entre sí, creando una cuadrícula de trampas de 5x5 durante 4 semanas. La abundancia de avispas en las trampas y la tasa de tráfico de todos los nidos encontrados en las parcelas, se midieron una semana antes y una después de la aplicación del tratamiento. Los resultados mostraron que la captura masiva de obreras resultó en una reducción del 65% en la abundancia de avispas locales y un 48% en el tráfico de nidos dentro del área tratada. De manera similar, se obtuvo una disminución en la abundancia de avispas un año después de la captura masiva. La captura masiva de obreras puede resultar una herramienta útil y respetuosa con el medio ambiente para disminuir la abundancia de avispas sociales invasoras a nivel local y durante el pico de actividad.

**PALABRAS CLAVES:** Trampeo de alta densidad, insectos sociales, control de plagas, chaqueta amarilla

## Introducción

En las últimas décadas, el notable aumento en el comercio internacional y los viajes alrededor del mundo han acelerado la propagación de especies invasoras a regiones donde antes estaban ausentes. Si bien se han introducido deliberadamente especies exóticas de mamíferos, aves y plantas con fines comerciales y/u ornamentales, muchas especies exóticas de insectos y crustáceos se han introducido accidentalmente, la mayoría de las veces, a través del comercio y el transporte de bienes y personas (Seebens et al., 2017; Tittensor et al., 2014). Las especies invasoras pueden tener impactos ecológicos y económicos significativos en sus nuevos hábitats, como dañar la biodiversidad, alterar servicios ecosistémicos como la polinización, las interacciones bióticas y las redes ecológicas (Lockwood et al., 2013; Rust & Su, 2012; Simberloff, 2011; Sousa et al., 2011). Sumado a esto, en algunos casos, las especies exóticas pueden tener un impacto económico significativo e incluso afectar la salud humana (Diagne et al., 2021; Nicholson et al., 2009).

Los insectos se encuentran entre los invasores más importantes y exitosos. Particularmente, los insectos sociales -especies que viven en colonias con sus congéneres- han invadido con éxito muchos ambientes terrestres alrededor del mundo (Moller et al., 1991). Según los datos de la IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza), los insectos sociales representan el 41% de todos los invertebrados invasores y representan más de la mitad de las especies de insectos invasores con mayores daños reportados (Simberloff & Rejmanek, 2019). Algunos de ellos pueden afectar muchas actividades económicas, dañar edificios y aumentar los gastos médicos (Beggs et al., 1998; Clapperton et al., 1989), además de convertirse en una amenaza para las comunidades invadidas debido al desplazamiento o hibridación con especies nativas, o cambios en la estructura de las comunidades (Holway et al., 2002; Lester & Beggs, 2019). Dada la complejidad de sus relaciones con otras especies, su entorno y sus congéneres, el manejo y la erradicación de insectos sociales sigue siendo un desafío (Beggs et al., 1998; Hoffmann et al., 2016).

Los himenópteros eusociales forman sociedades elaboradas de individuos emparentados, con superposición de generaciones, división del trabajo y diversos comportamientos cooperativos, como la recolección de alimentos, la defensa y la reproducción (Moller,

1996). Algunas especies han invadido con éxito los hábitats terrestres y se han vuelto cosmopolitas, probablemente debido a varias características de su biología (Beggs et al., 2011; Holway et al., 2002). Por ejemplo, pueden regular las condiciones físicas de sus nidos para maximizar la supervivencia y la reproducción, lo que les permite adaptarse rápidamente a nuevos entornos (Haskins & Haskins 1965; Gambino et al. 1990; Fordham et al., 1991). En algunas especies de avispas, las reinas fecundadas buscan lugares secos y oscuros para hibernar, son fácilmente transportables y pueden establecer una colonia en un nuevo territorio, aún a baja densidad poblacional, sin la necesidad de encontrar pareja para reproducirse (Beggs et al., 2011).

La avispa *V. germanica* es una especie invasora que se ha establecido en varios tipos de ambientes y se ha convertido en una plaga perjudicial, principalmente en entornos urbanos (Beggs et al., 2011; Masciocchi & Corley, 2013). En grandes cantidades, estas avispas pueden afectar actividades antrópicas de importancia económica, como la apicultura (Buteler et al., 2021; Rust & Su, 2012) y la producción de frutas (Cerdeira et al., 2017; Curkovic et al., 2018), así como los ecosistemas invadidos (Barr et al., 1996; Sackmann et al., 2000; Wilson & Holway, 2010). Sin embargo, su mayor problemática radica en que, puede interferir con las actividades recreativas al aire libre y/o afectar áreas residenciales debido a una picadura dolorosa (Beggs et al., 2011).

Actualmente, los cebos tóxicos son la estrategia más utilizada y efectiva para controlar a *Vespula* spp dado que tienen un efecto directo sobre los nidos (Beggs et al., 1998; Lester & Beggs, 2019; Sackmann & Corley, 2007). El principio detrás de esto considera que los recolectores transportan el alimento envenenado, generalmente proteína mezclada con algún insecticida indetectable, hasta el nido. Una vez en el nido, este alimento se utiliza para alimentar a las larvas y, posteriormente, se distribuye por toda la colonia vía trofalaxia, un comportamiento social que implica el intercambio de alimento boca a boca. Este proceso permite matar una gran cantidad de avispas adentro de los nidos, incluyendo las futuras reinas, lo que conduce a una disminución significativa de las poblaciones (Beggs et al., 1998; Curkovic et al., 2018; Harper et al., 2016; Ulloa et al., 2006). A pesar de su gran eficacia, el uso de insecticidas plantea preocupaciones significativas para la salud humana y el medio ambiente debido a su toxicidad y los residuos que dejan en el suelo, el agua y los cultivos (Koul et al., 2008). Además, a menudo es difícil desarrollar productos disponibles comercialmente, ya que muchos de los principios activos utilizados

son de uso restringido en muchos países, incluida Argentina (también los probados para *Vespula* spp.).

Un método menos investigado que ofrece beneficios ambientales, ya que no utiliza insecticidas, es el trampeo masivo. Esta técnica para el manejo de insectos permite eliminar o matar a un gran número de individuos utilizando algún cebo atractivo. Por lo general, se utilizan señuelos químicos sintéticos especie-específicos como feromonas sexuales o de agregación o atrayentes de alimento/huésped, para atraer insectos a una trampa (El-Sayed et al., 2006, 2009). Este enfoque es uno de los más antiguos para el control y erradicación de insectos plaga. La densidad de trampas y el tipo de señuelo utilizado deben capturar suficientes insectos de manera de reducir el daño económico de la plaga (El-Sayed et al., 2009). Las ventajas del trampeo masivo podrían resumirse en su especificidad para las especies plagas objetivo (la mayoría de los semioquímicos utilizados como cebos no tóxicos para los vertebrados, así como para los insectos benéficos), y su fácil aplicación. Se ha implementado en algunos taxones de insectos como polillas (Jamieson et al., 2008), escarabajos (Birch et al., 1982; James et al., 2001), moscas (Avery et al., 1994; Broumas et al., 2002; Navarro-Llopis & Vacas, 2014) y mosquitos (Kline, 2007).

En avispas sociales, se ha planteado la utilización del trampeo masivo para atraer y matar individuos en ecosistemas naturales. Generalmente, la remoción masiva y sistemática de obreras de *Vespula* se realiza utilizando insecticidas de acción lenta mezclados con un cebo proteico (Landolt et al., 2000; Sackmann et al., 2001). Sin embargo, recientemente, Sullivan et al. (2020) exploró por primera vez este método para la avispa social *V. vulgaris*, utilizando trampas con señuelos de kairomona y reinas vivas para capturar zánganos y obreras (Sullivan et al., 2020). Los señuelos de kairomona mostraron un potencial limitado para capturar avispas debido a su baja atractividad y rápida evaporación, sugiriendo la necesidad de señuelos mucho más atractivos y duraderos. Existe evidencia de una feromona sexual producida por las reinas vírgenes que podría utilizarse como atrayente; sin embargo, esta estrategia estaría dirigida solo a la captura de zánganos y con el objetivo específico de interrumpir el apareamiento. En este sentido, el enfoque del trampeo masivo podría dirigirse preferentemente a la captura de obreras, dado que la eliminación de estas tiene un impacto directo en la aptitud (*fitness*) de la colonia (Melo et al., 2023).

Los cebos utilizados para atraer obreras suelen ser a base de proteínas, como carne picada vacuna, pescado o pollo, dependiendo del sitio, región o momento de la temporada (Harris, 1991; Pereira et al., 2013; Sackmann & Corley, 2007; Spurr, 1996). También, en otros países se utilizan cebos a base de carbohidratos, por ejemplo, a base de azúcar, glucosa, sacarosa, frutas, o solución de miel mezcladas con algún veneno. Sin embargo, los carbohidratos no se utilizan habitualmente porque atraen a especies no objetivo, especialmente las abejas melíferas (Sackmann & Corley, 2007). Por esto, es que las proteínas generalmente se utilizan como cebo para el control de las avispas (Sackmann & Corley, 2007; Spurr, 1991, 1996).

El objetivo de este capítulo fue evaluar los efectos del trampeo masivo de obreras sobre la abundancia de *V. germanica* utilizando trampas cebadas con un cebo no tóxico (carne vacuna). Nuestra hipótesis es que la captura masiva afectará a las poblaciones de avispas a nivel local, esperando una disminución significativa en la abundancia de avispas y la actividad de los nidos del área tratada, tanto inmediatamente como a largo plazo.

## Materiales y métodos

### Área de estudio

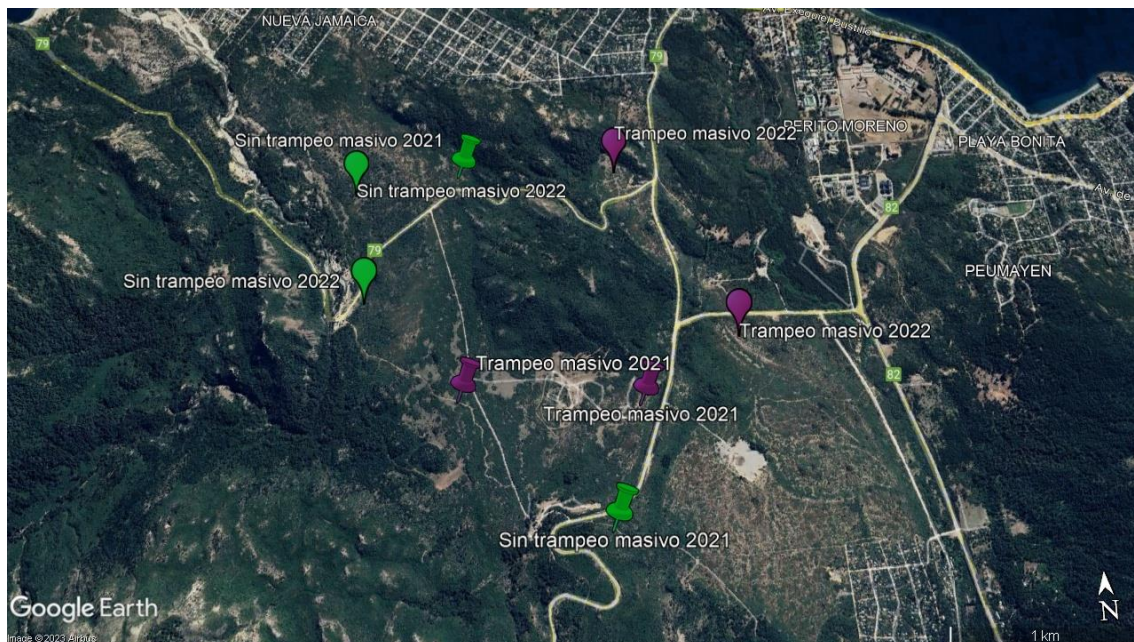
Durante dos años consecutivos: 2021 y 2022 se realizó un diseño de trampeo masivo conocido como “*Impact control design before-after*” (Smith, 2014). Cada año se seleccionaron cuatro parcelas de una hectárea cada una, en áreas naturales aledañas a la ciudad de San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina (71° 35'40" O, 41° 01'40" S y 71° 07'41" O, 41° 13' 12" S). La distancia mínima entre las parcelas (de borde a borde) fue de 500 metros para asegurar su independencia, considerando evidencia que sugiere que el área de alimentación de las obreras es de hasta 200 metros del nido (Edwards, 1980; Spradbery, 1973). Bariloche se encuentra en una franja a lo largo del margen sur del lago Nahuel Huapi, en el noroeste de la Patagonia Argentina, en un ambiente de bosque andino patagónico. El clima de la región es templado-frío y húmedo y las precipitaciones se concentran en invierno. El ambiente predominante de las parcelas fue el matorral, dominado por especies de *Nothofagus antarctica*, *Lomatia hirsuta* y *Schinus patagonicus* (Figura 18).

### Trampeo masivo

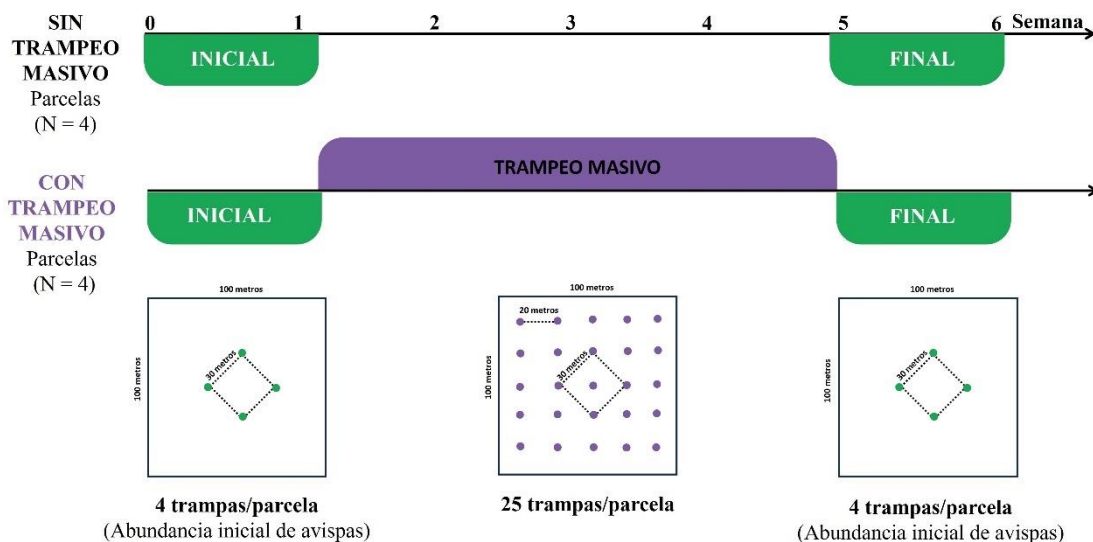
Cada año se instaló el diseño de trampeo masivo en dos parcelas, en adelante “parcelas con trampeo masivo”, donde se colocaron 25 trampas cebadas durante cuatro semanas, creando una grilla de trampas de 5x5. Cada trampa estaba separada una de otra por una distancia de 20 metros. Las dos parcelas restantes, denominadas en adelante “parcelas sin trampeo masivo” (usadas como controles), no contenían trampas durante el ensayo de trampeo masivo (Figura 19). La asignación de las parcelas a cada tratamiento, con o sin trampeo masivo, se realizó de forma azarosa.

Las trampas utilizadas consistieron en bolsas plásticas comerciales (Scotts Canada Ltd., Delta, BC, Canadá) con dos orificios de entrada que contenían 450 ml de agua con unas gotas de un detergente neutro (líquido de ahogamiento) y un trozo de 10 gr de carne vacuna como cebo (suspendido con un alambre). Cada trampa se colgó en arbustos o árboles con un hilo de alambre delgado a 1,5 metros del suelo (Figura 20). Cada 2 días, se vaciaron las trampas y se renovó el cebo para garantizar que siempre fuera atractivo para las avispa. Es importante señalar que *V. vulgaris*, otra avispa social exótica

estrechamente relacionada con *V. germanica*, también está presente en el área donde se realizó el ensayo. Por esta razón, todos los individuos atrapados fueron identificados a nivel de especie, y solo las avispas de la especie *V. germanica* fueron contadas y consideradas para análisis posteriores.



**Figura 18.** Ubicación del ensayo de campo utilizado para evaluar el impacto de la captura masiva sobre la abundancia de avispas y la actividad de los nidos. Cada parcela de una hectárea se situó a una distancia mínima de 0,5 km entre sí. Los marcadores de chinche indican las ubicaciones de las parcelas "sin trapeo masivo" (verde) y "con trapeo masivo" (púrpura) en 2021. Mientras tanto, los marcadores de gota representan la "sin trapeo masivo" (verde) y la "con trapeo masivo" (púrpura) en 2022. Todas las parcelas se ubicaron en un matorral suburbano de la ciudad de Bariloche (Argentina), ubicado dentro del Parque Nacional Nahuel Huapi. (Imagen: Google Earth, 06/05/2023).



**Figura 19.** Diseño del protocolo de trampeo masivo para *Vespa germanica*. Las parcelas “sin trampeo masivo” y “con trampeo masivo” tenían cuatro trampas centrales (puntos verdes) durante una semana antes y una después del tratamiento para estimar la abundancia inicial y final de avispas por parcela, respectivamente. En las parcelas “con trampeo masivo”, se colocaron 25 trampas (puntos púrpuras) durante cuatro semanas para la captura masiva de obreras. Cada parcela tenía un tamaño de una hectárea (100 x 100 metros). La distancia entre las trampas centrales (30 metros) y entre trampas (20 metros) se muestra con líneas de puntos. En 2021 este protocolo se aplicó desde el 2/03 al 12/4, y en 2022, desde 21/02 hasta 4/4.



**Figura 20.** Trampa cebada estilo bolsa plástica. (A) Trampa cebada con carne vacuna colgada en arbusto a 1,5 metros del suelo (B) Trampa cebada utilizada en el ensayo donde se observan uno de los orificios laterales por el cual ingresan las avispas.



### **Efecto de la captura masiva sobre la abundancia de avispas**

Cada año en todas las parcelas, una semana antes y una después del trampeo masivo, se colocaron cuatro trampas en el centro, en forma de cruz y separadas 30 metros, para estimar la abundancia inicial y final de avispas, respectivamente (**Figura 19**). La abundancia de avispas *V. germanica* se calculó para cada parcela como la suma del número de avispas capturadas en las cuatro trampas centrales, por semana.

### **Efecto del trampeo masivo en la actividad del nido**

Los nidos de *V. germanica* presentes en cada parcela fueron buscados y georreferenciados antes de aplicar el tratamiento. Luego, a cada nido se le midió la tasa de tráfico antes y después de la captura masiva para evaluar sus efectos sobre la actividad del nido. La tasa de tráfico es el número de avispas que salen o entran del nido durante un minuto y se utilizó a su vez, como un estimador del tamaño de la colonia (Harper et al., 2016; Malham et al., 1991). Para considerar las variaciones en la actividad diaria, se registraron tres medidas consecutivas de la tasa de tráfico y se calculó un promedio de las tres mediciones para cada nido por semana.

### **Efecto del trampeo masivo sobre las poblaciones de avispas al año siguiente**

Para evaluar el efecto del tratamiento aplicado sobre la abundancia de avispas al año siguiente, durante una semana (del 4 al 10 de marzo de 2022) se colocaron las mismas cuatro trampas centrales (como se describió anteriormente) colocadas en cada parcela de 2021 (dos parcelas sin captura masiva y dos con captura masiva). La abundancia de avispas se calculó para cada parcela, como la suma del número de avispas capturadas en las cuatro trampas centrales.

### **Análisis estadístico**

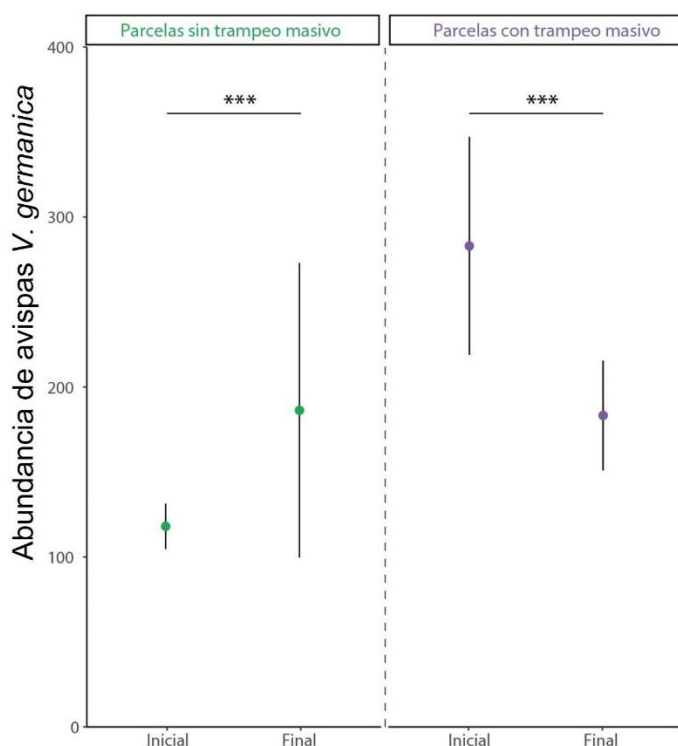
Para analizar el efecto de la captura masiva de obreras sobre la abundancia de avispas chaqueta amarilla, se utilizó un Modelo Lineal Generalizado Mixto (GLMM) con una distribución de errores de Poisson. **Tratamiento** (“sin trampeo masivo” y “con trampeo masivo”) y **semana** (pre y postratamiento) se utilizaron como efectos fijos, mientras que la identidad del **sitio** anidado dentro de **año** como efectos aleatorios. Para analizar el efecto sobre la actividad del nido, se utilizó un GLMM con una distribución

de errores Binomial Negativa recomendada para datos de conteo con sobre-dispersión. **Tratamiento** y **semana** se usaron como efectos fijos y la identidad del **nido** se anidó dentro de **año** como efectos aleatorios. Por último, para analizar si el trampeo masivo afecta la abundancia de avispas en el año siguiente, se utilizó un GLMM con una distribución de errores de Poisson. **Tratamiento** y **año** se consideraron como efecto fijo, mientras que **sitio** se incluyó como efecto aleatorio. Los modelos se ajustaron utilizando la función *glmmTMB* del paquete *glmmTMB* (Bolker, 2019). La significancia del tratamiento se probó con ANOVA basado en una prueba de  $\chi^2$ . La validez del modelo se evaluó mediante la función *simulateResiduals* del paquete *DHARMA* (Hartig, 2022). Para la comparación post hoc de medias, utilizamos la función *glht* de la biblioteca *multcomp* (Hothorn et al., 2008). Todos los análisis estadísticos se realizaron con R versión 4.0.2 (R Core Team 2023).

## Resultados

### Efecto de la captura masiva sobre la abundancia de avispas

Durante el período de muestreo, la abundancia de avispas de *V. germanica* en las “parcelas sin trapeo masivo” aumentó significativamente ( $0.46 \pm 0.06$ ,  $p < 0.001$ , estimación  $\pm$  se) de  $117.25 \pm 13.29$  avispas (abundancia inicial, media  $\pm$  se) a  $185.50 \pm 86.69$  avispas (abundancia final). Por el contrario, la abundancia de avispas en las “parcelas con captura masiva” disminuyó significativamente ( $-0.43 \pm 0.05$ ,  $p < 0.001$ , estimación  $\pm$  se) de  $283.00 \pm 64.09$  avispas (abundancia inicial, media  $\pm$  se) a  $183.25 \pm 64.61$  avispas (abundancia final; **Figura 21**), logrando una reducción promedio de la abundancia de avispas del 65%.

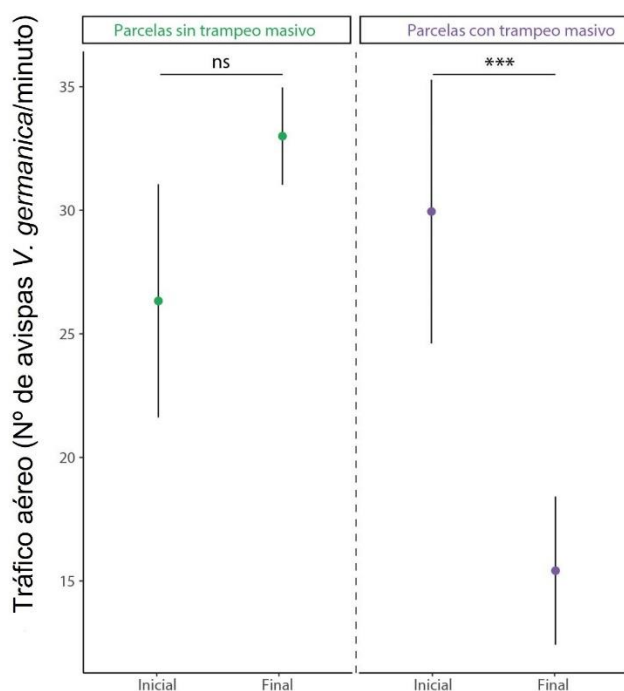


**Figura 21.** Abundancia de *Vespula germanica* (media  $\pm$  se) antes del trapeo masivo (inicial) y después del trapeo masivo (final) para "parcelas sin trapeo masivo" (izquierda) y "parcelas con trapeo masivo" (derecha). (GLMM con distribución de errores de Poisson y comparación post hoc de Tukey, \*\*\*  $p < 0.001$ ).

### Efecto del trapeo masivo sobre la actividad del nido

Se encontraron dos nidos de *V. germanica* en las “parcelas sin trapeo masivo”, y cinco nidos en las “parcelas con trapeo masivo”. Todas las colonias sobrevivieron hasta el

final del experimento. Las tasas de tráfico en los nidos encontrados en las "parcelas sin trampeo masivo" aumentaron durante el período de muestreo ( $0.26 \pm 0.19$ ,  $p = 0,558$ , estimación  $\pm$  se), siendo  $26.33 \pm 4.72$  avispas/minuto (tasa de tráfico inicial, media  $\pm$  se) y  $33.00 \pm 1.97$  avispas/minuto (tasa de tráfico final). Por el contrario, la tasa de tráfico en nidos en las "parcelas con captura masiva" disminuyó significativamente ( $-0.61 \pm 0.14$ ,  $p < 0.001$ , estimación  $\pm$  se) de  $29.93 \pm 5.33$  avispas/minuto (tasa de tráfico inicial, media  $\pm$  se) a  $15.40 \pm 2.99$  avispas/minuto (tasa de tráfico final; **Figura 22**). Este resultado significó una reducción promedio de la tasa de tráfico del 48%.

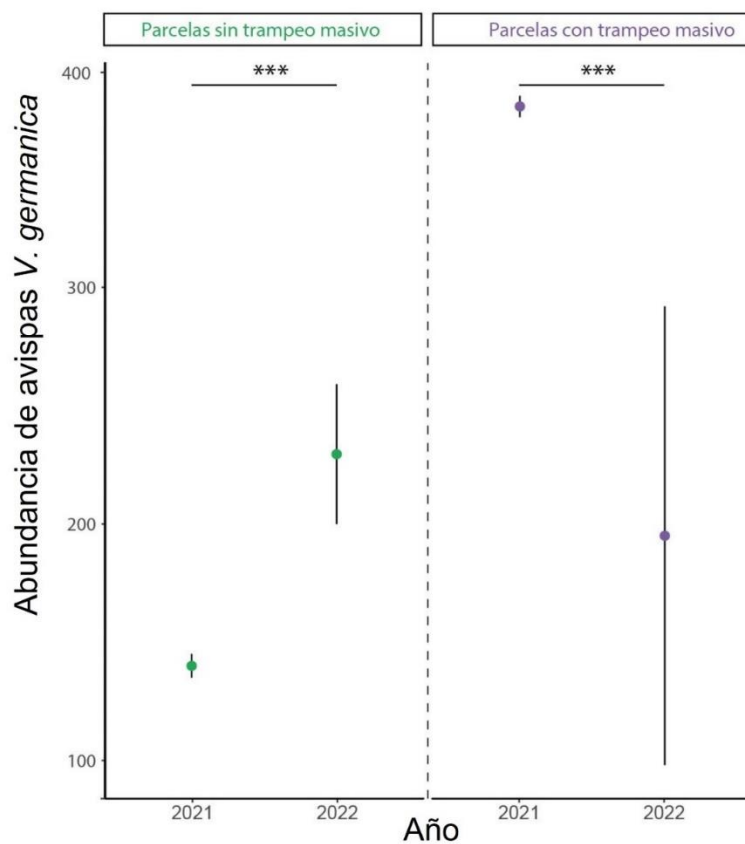


**Figura 22.** Tasas de tráfico (media  $\pm$  se) antes del trampeo masivo (inicial) y después del trampeo masivo (final) de los nidos de *Vespula germanica* para las "parcelas sin trampeo masivo" (izquierda) y las "parcelas con trampeo masivo" (derecho). (GLMM con una distribución de errores binomial negativa y comparación post hoc de Tukey, \*\*\*  $p < 0.001$ ,  $0.05 <$  no significativo (ns)).

### Efecto sobre la abundancia de avispas al año siguiente

Se encontró un efecto significativo del trampeo masivo aplicado en 2021 sobre la abundancia de avispas en 2022 ( $\chi^2 = 137.68$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.001$ ). La abundancia de avispas en las "parcelas sin captura masiva" en 2021 fue de  $140.00 \pm 5$  avispas (media  $\pm$  se) y aumentó significativamente a  $229.50 \pm 29.50$  avispas en 2022 ( $0.49 \pm 0.08$ ,  $p < 0.001$ , estimación  $\pm$  se). Mientras que la abundancia en las "parcelas con captura masiva" fue de  $376.50 \pm 4.50$  avispas (media  $\pm$  se) y disminuyó significativamente a  $195.00 \pm 97.00$

avispas ( $-0.66 \pm 0.06$ ,  $p < 0.001$ , estimación  $\pm$  se, **Figura 23**).



**Figura 23.** Abundancia de *Vespula germanica* (media  $\pm$  se) en 2021 (antes del trampeo masivo) y en 2022 (después del trampeo masivo en 2021) para las “parcelas sin trampeo masivo” (izquierda) y las “parcelas con trampeo masivo” (derecha). (GLMM con distribución de errores de poisson y comparación post hoc de Tukey, \*\*\*  $p < 0,001$ ).

## Discusión

La implementación del trampeo masivo de obreras de *V. germanica* en un área determinada durante cuatro semanas consecutivas pudo reducir las poblaciones de avispas. La abundancia de obreras y la actividad de los nidos en las áreas tratadas disminuyeron 65% y 48% respectivamente. Además, la captura masiva puede afectar la abundancia de avispas incluso un año después de su aplicación, lo que sugiere un efecto a nivel poblacional. Este es el primer trabajo que demuestra la eficacia de la captura masiva de obreras de una avispa social invasora utilizando cebos no tóxicos.

La captura masiva utilizando trampas cebadas es uno de los primeros enfoques utilizados para el control de insectos, sin embargo, su aplicación para el manejo de insectos sociales es poco frecuente (El-Sayed et al., 2006). En nuestro estudio, el trampeo masivo tuvo como objetivo capturar obreras por lo que se utilizaron trampas cebadas con carne fresca (cebo altamente atractivo y eficiente para esta casta). Los resultados obtenidos son notables dado que se logró una reducción en la abundancia de avispas locales, sin utilizar insecticidas, comparable a la obtenida por otros estudios que utilizaron enfoques con mayor impacto ambiental (Beggs et al., 1998; Sackmann et al., 2001, 2008). Por ejemplo, un estudio realizado en la Patagonia logró una reducción del 81,1% en la abundancia de *V. germanica* en los sitios tratados con cebos tóxicos (Sackmann et al., 2001; Sackmann et al., 2008). Mientras que los resultados de este estudio indican una reducción del 65% en la abundancia de avispas en el momento de la temporada con mayor abundancia y utilizando un cebo sin insecticida. Sin embargo, el trampeo masivo requiere un trabajo intensivo ya que se necesita renovar el cebo para mantener la atracción alta. Futuros estudios deberían considerar el uso de alternativas de cebos como la carne liofilizada, que se ha demostrado es igual de atractiva que la carne fresca pero se puede renovar con menor frecuencia o el desarrollo de extractos de carne volátiles sintéticos, para facilitar aún más el uso en el campo (Haupt et al., 2019; Sackmann & Corley, 2007; Spurr, 1996). Asimismo, es necesario evaluar e identificar que otras especies no blanco, ya sean exóticas o nativas, como hormigas y moscas, son atraídas por los cebos proteicos.

El principal objetivo del trampeo masivo es capturar suficientes insectos en las áreas tratadas antes de que se reproduzcan (El-Sayed et al., 2006). En los insectos sociales, el

tamaño de la colonia y la reproducción (es decir, el *fitness* de la colonia) están estrechamente relacionados (Awde et al., 2022; Hee et al., 2000; Luque et al., 2013; Melo et al., 2023). Las colonias de *V. germanica* están formadas por cientos de obreras, las cuales tienen un papel crucial en el éxito de la colonia (se encargan de la alimentación, limpieza y protección; Spradbery, 1973). En nuestro ensayo encontramos que la captura masiva de obreras generó una disminución en el tráfico de nidos del área tratada sugiriendo una disminución en el tamaño de las colonias (Malham et al., 1991). En la misma línea, la remoción de obreras en nidos experimentales (capítulo 2) indicó que una remoción de la casta estéril superior al ~45% afecta negativamente la producción de reinas vírgenes. Por tal motivo, sería valioso realizar más investigaciones sobre la reducción de la abundancia de trabajadores y determinar umbrales críticos para diseñar estrategias de manejo que incluyan la captura masiva de obreras. También, sería interesante evaluar el efecto de la captura de obreras al inicio de la temporada, principio de febrero cuando los nidos son más susceptibles a la pérdida de individuos.

Se ha observado que las avispas invasoras, como *Vespula* spp., exhiben patrones poblacionales fluctuantes con abundancias significativamente diferentes entre años, así como variaciones locales y regionales (Archer, 1985; Masciocchi et al., 2016). Nuestros hallazgos sugieren que la captura masiva de obreras en una sola temporada puede afectar a las poblaciones de avispas del año siguiente, pero no se puede descartar la influencia de otros factores. Factores como variaciones en las temperaturas primaverales, las precipitaciones, la disponibilidad de sitios de anidación adecuados, así como también la presencia de otras especies, han sido sugeridos como modeladores de la abundancia de avispas (p. ej., Akre & Reed, 1981; Masciocchi et al., 2016; Sackmann et al., 2001). A pesar de estas consideraciones y teniendo en cuenta la posibilidad de re-invasión de sitios vecinos, se alcanzó una reducción del ~52% al año siguiente de aplicado el trampeo masivo, en un área donde la densidad de nidos es de 3,4 por hectárea (alrededor de 6.000 avispas/ha; Sackmann et al., 2001).

La demanda de métodos de control sostenibles y respetuosos con el medio ambiente está aumentando a nivel mundial. Hasta la fecha, el método de control más eficiente para estas avispas sociales invasoras son los cebos tóxicos. Métodos como *gene drive* y el uso de feromonas artificiales tienen un gran potencial; sin embargo, quedan varios desafíos como, por ejemplo, descubrir y describir compuestos específicos como feromonas

sexuales y, en el caso de la tecnología *gene drive*, los riesgos potenciales debido a la liberación de individuos modificados genéticamente, así como la producción de una línea de avispas transgénicas (Lester et al., 2020, 2023; Lester & Beggs, 2019; Palmer et al., 2022). El trampeo masivo con cebos proteicos -en lugar de tóxicos- reduce la abundancia de obreras y las tasas de tráfico de nidos de *V. germanica* en un área invadida, pudiendo influir en la abundancia de avispas en la temporada siguiente. El trampeo masivo podría ser una estrategia para disminuir la abundancia de avispas en el pico de su actividad, por ejemplo, en parques y campamentos durante los meses de verano. Reducir la abundancia de avispas y la actividad de los nidos sin necesidad de encontrar los nidos también es una gran ventaja, ya que reduce los costos, riesgos y aumenta la eficiencia del control. La información presentada en este capítulo es novedosa porque la captura masiva para el control de insectos sociales ha sido poco explorada (El-Sayed et al., 2006; Sullivan et al., 2020). Además, proporciona información que puede ayudar a desarrollar estrategias adecuadas para el manejo de insectos sociales invasores no deseados de una manera respetuosa con el medio ambiente.



## **CAPITULO 5**

### DISCUSIÓN GENERAL

Los efectos Allee se basan en la existencia de interacciones beneficiosas entre individuos de un mismo grupo o población, que generan una disminución en el *fitness* individual cuando el número de individuos disminuye. En organismos sociales, la mayoría de las interacciones cooperativas ocurren entre individuos de una misma colonia (Angulo et al., 2018). Específicamente en los insectos sociales, esta cooperación alcanza niveles extremos debido a su división reproductiva del trabajo y su compleja organización social (Hölldobler & Wilson, 1990). Mientras que la reproducción está restringida a un pequeño número de hembras, numerosas hembras suprimidas sexualmente asumen diversas tareas para facilitar la reproducción de sus hermanas reproductivas. Esta forma de cooperación proporciona ventajas en términos de producción y reproducción, lo que ha favorecido la evolución de este tipo de organización social (Lee & Chu, 2023). A pesar de que la cooperación es el pilar de la estructura de las sociedades de insectos, los estudios sobre efectos Allee en insectos sociales y el papel en su evolución son aún limitados (a excepción de Angulo et al., 2018; Luque et al., 2013; Melo et al., 2023).

El objetivo principal de la tesis fue evaluar la existencia de componentes del efecto Allee, en términos de calidad y cantidad de futuras reinas, y explorar tres comportamientos cooperativos que podrían actuar como mecanismos Allee en colonias de la avispa eusocial invasora, *Vespula germanica*. Los experimentos de remoción de individuos indican que, la disminución en el número de obreras impactó negativamente en la generación de futuras reinas, uno de los componentes del *fitness* de la colonia. Asimismo, se observó que, de los tres comportamientos cooperativos evaluados, únicamente la defensa de la colonia, medida como el número de obreras vigilando en la entrada del nido, disminuyó luego de la remoción de obreras. Estos resultados sugieren la presencia de efectos Allee a nivel de colonia en esta especie y contribuye al conocimiento sobre la relevancia de este proceso en los insectos sociales.

En el ensayo de campo se evaluó la captura masiva de obreras trampas cebadas con carne vacuna fresca obteniendo una reducción significativa tanto de la abundancia de avispas (en un 65%), como la actividad de los nidos (en un 48%) en el área tratada. Además, se

observó una disminución en la abundancia de avispas un año después de la captura masiva, aunque este resultado aún es preliminar. La técnica de trampeo masivo podría representar una estrategia eficaz y ambientalmente amigable para controlar las poblaciones de avispas en áreas invadidas, especialmente durante los meses de mayor actividad de esta especie y/o en sitios de alta afluencia de personas.

Los comportamientos sociales, como la búsqueda de alimento, la defensa o la higiene de la colonia están directamente relacionados con el *fitness* incluso de una colonia (Okasha 2008, Schultner et al. 2014). Las colonias de insectos sociales han desarrollado estrategias para llevar a cabo todas estas actividades de forma eficiente, organizando y distribuyendo las tareas según la edad o la tamaño de las obreras (politeísmo etario o morfológico) o ajustando el esfuerzo destinado a diversas tareas en respuesta a condiciones cambiantes, fenómeno comúnmente denominado como asignación de tareas o *task allocation* (Gordon, 1996). Particularmente, *V. germanica* presenta un polietismo temporal débil con una transición entre sub-castas poco marcada (Hurd et al., 2007). Las obreras muestran variabilidad tanto en la edad en la que desempeñan tareas específicas como en la secuencia de tareas que realizan a lo largo de su vida, con un porcentaje reducido dedicándose exclusivamente a una sola tarea (Hurd et al., 2007). Además, los cambios en las preferencias del tipo de alimento no sólo están modulados por la experiencia individual sino también por la interacción con otros miembros de la colonia (Mattiacci et al., 2022). Este tipo de estrategia generalista junto con la capacidad de reasignar obreras a las diferentes tareas según las necesidades de la colonia podrían explicar por qué la remoción de obreras solo afectó la defensa de la colonia mientras el ingreso de proteína y las conductas de higiene se mantuvieron.

El éxito de una colonia de avispas sociales no sólo se atribuye a la producción de un número significativo de nuevas reinas sino también a su calidad. En especies hibernantes como *V. germanica*, el tamaño y el peso de las reinas, así como su capacidad para almacenar grasa, pueden predecir su competitividad reproductiva y su probabilidad de sobrevivir a dos periodos críticos del ciclo: la hibernación y la fundación de la nueva colonia (Chandrashekara & Gadagkar, 1991; Gadagkar et al., 1991; Harris & Beggs, 1995; Spradbery, 1973). El tamaño corporal de las reinas y su capacidad reproductiva están directamente relacionados con la calidad y la cantidad de alimento que reciben durante su etapa larval (Edwards, 1980; Harris, 1995; Spradbery, 1973). En particular, la

ingesta de proteína con un alto contenido de nitrógeno se ha asociado con el desarrollo de las gónadas (Fagan et al., 2002). Para satisfacer esas demandas nutricionales, las obreras deben alimentarlas con presas de niveles tróficos superiores (el contenido de nitrógeno aumenta con el nivel trófico) o con una mayor cantidad de presas y excreciones (Schmidt et al., 2012). Notablemente, la remoción de obreras en colonias de *V. germanica* tuvo un impacto negativo en la cantidad de reinas producidas, pero no sobre su calidad ni en la cantidad de proteína que las avispas forrajeras ingresaban al nido. La disponibilidad de proteínas para alimentar a las larvas de la colonia se mantuvo constante, incluso cuando había menos obreras presentes, sugiriendo que las colonias de *V. germanica* son capaces de mantener las condiciones nutricionales necesarias para el desarrollo de las reinas aún bajo condiciones adversas como la pérdida de individuos.

A pesar de que la disminución en el número de obreras de la colonia no afectó la calidad de las reinas, se observó un efecto negativo sobre la cantidad de reinas producidas. Las especies con cuidado cooperativo, donde unos pocos individuos se reproducen y los individuos subordinados son ayudantes, los grupos requieren un número mínimo de individuos para sobrevivir (Courchamp, 2002; Courchamp et al., 1999; Courchamp & Macdonald, 2001). En algunos casos se han identificado umbrales de tamaño de grupo que son determinantes para su éxito reproductivo. Por ejemplo, en el caso del perro salvaje, *Lycaon pictus*, las manadas pequeñas parecen no ser viables porque existe un "tradeoff" entre el número destinados a tareas de cuidado de la cría y aquellos individuos destinados otras tareas (Rannala & Brown 1994; Clutton-Brock 2002; Courchamp et al. 2002). En *V. germanica* el cuidado de la cría también se realiza de forma cooperativa; la reina se ocupa exclusivamente de la oviposición y las obreras son las encargadas del cuidado de la cría, entre otras tareas. La remoción alteró el número de obreras que dispone la colonia para realizar diversas tareas, por lo que la colonia tuvo que responder a todas las demandas de la cría y de la reina con menos individuos. Esto podría haber generado un *tradeoff* entre el número de reinas que la colonia puede producir y la calidad de esas reinas. A pesar de que el ingreso de alimento se mantiene constante, si la colonia posee menos obreras para construir celdas reales, cuidar y alimentar las larvas, producirá una cantidad limitada de futuras reinas.

Esta tesis además de demostrar que la disminución en el número de obreras afecta el número de reinas producidas, uno de los componentes del *fitness* de la colonia, también

demuestra que con una remoción por encima del 45%, las colonias no generan futuras reinas. Este último hallazgo sugiere que existe un número mínimo de obreras (i.e., umbral) necesario para asegurar la reproducción de la colonia. En insectos sociales se han identificado umbrales de tamaño de colonia para la reproducción, es decir, el número mínimo de obreras necesario para producir individuos reproductivos (Hölldobler & Wilson 1990; Tschinkel 1993). Por ejemplo, Cole y Wiernasz (2000) encontraron que en colonias de la hormiga *Pogonomyrmex occidentalis*, el tamaño de la colonia afecta significativamente la probabilidad de reproducción.

La existencia de un umbral o un número mínimo de individuos implica la presencia de efectos Allee fuertes (Courchamp, 2002; Courchamp et al., 1999; Courchamp & Macdonald, 2001). Por debajo de ese umbral, la falta de individuos afecta la supervivencia y/o reproducción del grupo. Esta podría concluir en un grupo social aún más pequeño, en la extinción del grupo o la generación de un efecto Allee adicional a nivel poblacional. En especies amenazadas como *L. pictus*, conocer la existencia de un umbral o tamaño mínimo de grupo tiene implicancias en su conservación, para especies invasoras podría tener implicancias para su control. En el caso particular de *V. germanica*, este hallazgo resulta especialmente significativo, ya que hasta el momento no se disponía de información acerca de cuántas obreras había que remover para interrumpir la reproducción de la colonia.

El trampeo masivo también generó una disminución del ~48% en el tráfico de nidos que, según Malham et al. (1991), puede traducirse en una disminución en el tamaño de la colonia. Esta reducción estaría cercana al umbral hallado para la reproducción de los nidos, y se esperaría que los nidos en los cuales la tasa de tráfico se redujo por debajo de ese umbral no hayan podido generar futuras reinas. Si la captura masiva afecta la producción de reinas, como resultado tendremos una temporada con pocas reinas vírgenes que podría disminuir las probabilidades de encuentro con los zánganos, y por consiguiente impactar en el número de nuevas colonias al año siguiente. Lo cual se conocería como un efecto Allee nivel poblacional.

Asimismo, los resultados sugieren una disminución en abundancia de obreras una temporada después del trampeo masivo, que podría ser consecuencia de la disminución del ~48% en el tráfico de nidos. Sin embargo, no es posible descartar otros factores. Las

poblaciones de avispas, como la mayoría de los insectos, muestran fluctuaciones en sus abundancias, las cuales pueden deberse a las temperaturas, las precipitaciones, la disponibilidad de sitios de anidación y la presencia de otras especies (ej., competidores, depredadores; Akre & Reed, 1981; Masciocchi et al., 2016; Sackmann et al., 2001). Para estudios futuros es necesario investigar el efecto del trapeo masivo sobre la generación de nuevas reinas en nidos a campo, y repetir este ensayo los años subsiguientes para evaluar su efecto a nivel poblacional.

Al igual que otras especies invasoras, es probable que la avispa *V. germanica* continúe expandiéndose al ritmo del aumento de la población humana y el comercio. A su vez, otras especies invasoras y el cambio climático también pueden alterar la abundancia y distribución de las poblaciones de estas avispas (Lester & Beggs, 2019; Masciocchi et al., 2022; Sola et al., 2015; Sopow et al., 2017). La compleja organización social y su gran flexibilidad dificultan el control de avispas invasoras como *V. germanica* y *V. vulgaris*. Actualmente no hay métodos ni herramientas de detección y manejo para reducir la tasa de propagación de avispas. De los métodos de control desarrollados, los cebos a base de proteínas mezclados con un insecticida, es el más efectivo. Esta herramienta ha sido ampliamente probada obteniéndose reducciones significativas de la abundancia de avispas (Beggs et al., 1998; Sackmann et al., 2001; Sackmann & Corley, 2007). Sin embargo, al implicar el uso y manipulación de insecticidas tóxicos de amplio espectro, puede afectar a especies no blanco y seriamente la salud humana y ambiental debido a su toxicidad y los residuos que dejan en el suelo, el agua y los cultivos (Koul et al., 2008).

En esta tesis se evaluó una técnica amigable con el medio ambiente para el control de las poblaciones de estas avispas. El trapeo masivo con cebos proteicos -en lugar de cebos tóxicos- en un área invadida reduce la abundancia de obreras y las tasas de tráfico de sus nidos, afectando también la abundancia de avispas en la temporada siguiente. Luego de 4 semanas de trapeo masivo, la abundancia de avispas al igual que la actividad de los nidos se redujeron en porcentajes similares a los obtenidos aplicando cebos tóxicos. Estos resultados son alentadores dado que nos permiten pensar al trapeo masivo como una herramienta alternativa y complementaria para disminuir la abundancia local de avispas. Por ejemplo, en la temporada de verano/otoño cuando la abundancia de obreras alcanza el pico máximo poblacional, y las avispas interfieren con las actividades humanas al aire libre, el trapeo masivo podría utilizarse en sitios de acampe o en zonas residenciales.

Además, este método es de fácil aplicación, los materiales necesarios son económicamente accesibles y al no utilizar cebos tóxicos no hay riesgo para los humanos y otros animales.

Los insectos eusociales presentan un desafío significativo en términos de control y erradicación, como resultado de su compleja biología y su intrincado comportamiento social (Couchamp et al., 2008; Stephens & Sutherland, 1999). En estas especies la dinámica poblacional está influenciada por otro nivel más de organización que es la colonia. La cooperación ocurre principalmente entre individuos que comparten un mismo nido por lo que conocer los mecanismos que operan a nivel de la colonia y su relación con la población en su conjunto podría brindar información valiosa para la planificación de estrategias de control basadas en los efectos Allee. Además, la determinación de umbrales Allee podría resultar esencial, ya que permitiría el diseño de estrategias destinadas a reducir deliberadamente el número de individuos en una colonia por debajo de dicho umbral, con un potencial efecto a nivel poblacional (Luque et al., 2013). En particular, cuando se trata de especies con una única reina por colonia, el enfoque se podría centrar en la reducción de obreras a través de técnicas como el trampeo masivo. Adicionalmente, la evaluación futura del impacto del trampeo masivo en la reproducción de colonias naturales de *V. germanica*, podría proporcionar datos más sólidos acerca de la efectividad de la captura o eliminación de individuos reproductores durante las estaciones de otoño o primavera.

La identificación de componentes del efecto Allee, así como de los mecanismos subyacentes, no solo brindan aportes valiosos para el desarrollo de estrategias de control de especies invasoras, sino que también enriquecen nuestra comprensión de la ecología y evolución de las especies sociales, brindando información para impulsar investigaciones sobre efectos Allee en otras especies de insectos sociales, también con el propósito de conservar especies amenazadas. Ambos aspectos cobran relevancia en el contexto actual de cambio global.

## BIBLIOGRAFÍA

Akre, R. D., & Davis, H. G. (1978). Biology and pest status of venomous wasps. *Annual Review of Entomology*, 23(1), 215-238. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.23.010178.001243>

Akre, R. D., Garnett, W. B., Donald, J. F. M., Greene, A., & Landolt, P. (1976). Behavior and colony development of *Vespula pensylvanica* and *V. atropilosa* (Hymenoptera: Vespidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 49(1), 63-84.

Akre, R. D., & Reed, H. C. (1981). Population Cycles of yellowjackets (Hymenoptera: Vespinae) in the Pacific Northwest 1. *Environmental Entomology*, 10(3), 267-274. <https://doi.org/10.1093/ee/10.3.267>

Allee, W. C. (1931). Co-operation among animals. *American Journal of Sociology*, 37(3), 386-398. <https://doi.org/10.1086/215731>

Allee, W. C. (1941). Integration of problems concerning protozoan populations with those of general biology. *The American Naturalist*, 75(760), 473-487. <https://doi.org/10.1086/280987>

Angulo, E., Luque, G. M., Gregory, S. D., Wenzel, J. W., Bessa-Gomes, C., Berec, L., & Courchamp, F. (2018). Review: Allee effects in social species. *Journal of Animal Ecology*, 87(1), 47-58. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12759>

Angulo, E., Rasmussen, G. S. A., Macdonald, D. W., & Courchamp, F. (2013). Do social groups prevent Allee effect related extinctions?: The case of wild dogs. *Frontiers in Zoology*, 10(1), 11. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-10-11>

Angulo, E., Roemer, G. W., Berec, L., Gascoigne, J., & Courchamp, F. (2007). Double Allee effects and extinction in the island fox. *Conservation Biology*, 21(4), 1082-1091. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2007.00721.x>

Archer, M. E. (1985). Population dynamics of the social wasps *Vespula vulgaris* and *Vespula germanica* in England. *The Journal of Animal Ecology*, 54(2), 473.

<https://doi.org/10.2307/4492>

Avery, J. W., Chambers, D. L., Cunningham, R. T., & Leonhardt, B. A. (1994). Use of ceralure and trimedlure in mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) mass-trapping tests. *Journal of Entomological Science*, 29(4), 543-556. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-29.4.543>

Avilés, L., & Tufiño, P. (1998). Colony size and individual fitness in the social spider *Anelosimus eximius*. *The American Naturalist*, 152(3), 403-418. <https://doi.org/10.1086/286178>

Awde, D. N., Skandalis, A., & Richards, M. H. (2022). Foraging gene expression patterns in queens, workers, and males in a eusocial insect. *Canadian Journal of Zoology*, 100(1), 1-9. <https://doi.org/10.1139/cjz-2021-0124>

Barr, K., Moller, H., Christmas, E., Lyver, P., & Beggs, J. (1996). Impacts of introduced common wasps (*Vespula vulgaris*) on experimentally placed mealworms in a New Zealand beech forest. *Oecologia*, 105(2), 266-270. <https://doi.org/10.1007/BF00328556>

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2014). *Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4* (arXiv:1406.5823). arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1406.5823>

Beggs, J. (2001). The ecological consequences of social wasps (*Vespula* spp.) invading an ecosystem that has an abundant carbohydrate resource. *Biological Conservation*, 99(1), 17-28. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(00\)00185-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(00)00185-3)

Beggs, J. R., Brockerhoff, E. G., Corley, J. C., Kenis, M., Masciocchi, M., Muller, F., Rome, Q., & Villemant, C. (2011a). Ecological effects and management of invasive alien Vespidae. *BioControl*, 56(4), 505-526. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9389-z>

Beggs, J. R., Brockerhoff, E. G., Corley, J. C., Kenis, M., Masciocchi, M., Muller, F., Rome, Q., & Villemant, C. (2011b). Ecological effects and management of invasive alien Vespidae. *BioControl*, 56(4), 505-526. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9389-z>

Beggs, J. R., Rees, J. S., & Harris, R. J. (2002). No evidence for establishment of the



wasp parasitoid, *Sphecophaga vesparum burra* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae) at two sites in New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, 29(3), 205-211. <https://doi.org/10.1080/03014223.2002.9518304>

Beggs, J. R., Toft, R. J., Malham, J. P., Rees, J. S., Tilley, J. A. V., Moller, H., & Alspach, P. (1998). The difficulty of reducing introduced wasp (*Vespula vulgaris*) populations for conservation gains. *New Zealand Journal of Ecology*, 22(1), 55-63.

Beggs, J. R., & Wardle, D. A. (2006). Keystone Species: Competition for honeydew among exotic and indigenous species. En R. B. Allen & W. G. Lee (Eds.), *Biological Invasions in New Zealand* (pp. 281-294). Springer. [https://doi.org/10.1007/3-540-30023-6\\_18](https://doi.org/10.1007/3-540-30023-6_18)

Beggs, J., Rees, J. S., Toft, R. J., Dennis, T. E., & Barlow, N. D. (2008). Evaluating the impact of a biological control parasitoid on invasive *Vespula* wasps in a natural forest ecosystem. *Biological Control*, 44(3), 399-407. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.10.016>

Berec, L., Angulo, E., & Courchamp, F. (2007). Multiple Allee effects and population management. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(4), 185-191. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.12.002>

Beshers, S. N., & Fewell, J. H. (2001). Models of division of labor in social insects. *Annual Review of Entomology*, 46(1), 413-440. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.46.1.413>

Birch, M. C., Miller, J. C., & Paine, T. D. (1982). Evaluation of two attempts to trap defined populations of *Scolytus multistriatus*. *Journal of Chemical Ecology*, 8(1), 125-136. <https://doi.org/10.1007/BF00984010>

Birkhead, T. R. (1974). Predation by birds on social wasps. *British Birds*, 67(6), 221-229.

Bolker, B. (2019). *Getting started with the glmmTMB package*.

Brooks, M. E., Kristensen, K., Benthem, K. J. van, Magnusson, A., Berg, C. W., Nielsen,

A., Skaug, H. J., Mächler, M., & Bolker, B. M. (2017). *Modeling zero-inflated count data with glmmTMB* (p. 132753). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/132753>

Broumas, T., Haniotakis, G., Liaropoulos, C., Tomazou, T., & Ragoussis, N. (2002). The efficacy of an improved form of the mass-trapping method, for the control of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Dipt., Tephritidae): Pilot-scale feasibility studies. *Journal of Applied Entomology*, *126*(5), 217-223. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2002.00637.x>

Buteler, M., Yossen, M. B., Alma, A. M., & Lozada, M. (2021). Interaction between *Vespula germanica* and *Apis mellifera* in Patagonia Argentina apiaries. *Apidologie*, *52*(4), 848-859. <https://doi.org/10.1007/s13592-021-00871-9>

Fowler, C. (1991). A review of animal population dynamics at extremely reduced population levels. *Rep Int Whaling Comm*, *41*, 545-554.

Cerda, C., Cruz, G., Skewes, O., Araos, A., Tapia, P., Baeriswyl, F., & Critican, P. (2017). Especies exóticas invasoras en Chile como un problema económico: Valoración preliminar de impactos. *Revista Chagual 15:12-22. 2017. 15*, 12-22.

Chandrashekara, K., & Gadagkar, R. (1991). Behavioural Castes, Dominance and Division of Labour in a Primitively Eusocial Wasp. *Ethology*, *87*(3-4), 269-283. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.1991.tb00252.x>

Clapperton, B. K., Möller, H., & Sandlant, G. R. (1989). Distribution of social wasps (Hymenoptera: Vespidae) in New Zealand in 1987. *New Zealand Journal of Zoology*, *16*(3), 315-323. <https://doi.org/10.1080/03014223.1989.10422896>

Cole, B. J. (2009). *The ecological setting of social evolution: The demography of ant populations.*

Cole, B. J., & Wiernasz, D. C. (2000). Colony size and reproduction in the western harvester ant, *Pogonomyrmex occidentalis*: *Insectes Sociaux*, *47*(3), 249-255. <https://doi.org/10.1007/PL00001711>

Courchamp, F. (2002). Small pack size imposes a trade-off between hunting and pup-guarding in the painted hunting dog *Lycaon pictus*. *Behavioral Ecology*, *13*(1), 20-27. <https://doi.org/10.1093/beheco/13.1.20>

Courchamp, F., Berec, L., & Gascoigne, J. (2008). *Allee effects in ecology and conservation*. Oxford University Press.

Courchamp, F., Clutton-Brock, T., & Grenfell, B. (1999). Inverse density dependence and the Allee effect. *Trends in Ecology & Evolution*, *14*(10), 405-410. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01683-3](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01683-3)

Courchamp, F., & Macdonald, D. W. (2001). Crucial importance of pack size in the African wild dog *Lycaon pictus*. *Animal Conservation*, *4*(2), 169-174. <https://doi.org/10.1017/S1367943001001196>

Cremer, S. (2019). Social immunity in insects. *Current Biology*, *29*(11), R458-R463. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.03.035>

Cremer, S., Armitage, S. A. O., & Schmid-Hempel, P. (2007). Social Immunity. *Current Biology*, *17*(16), R693-R702. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.06.008>

Cremer, S., Pull, C. D., & Fürst, M. A. (2018). Social Immunity: Emergence and Evolution of Colony-Level Disease Protection. *Annual Review of Entomology*, *63*(1), 105-123. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043110>

Curkovic, T., Santibáñez, D., Araya, J. E., Contreras, A., Curkovic, T., Santibáñez, D., Araya, J. E., & Contreras, A. (2018). Attraction of *Vespula germanica* workers to protein baits mixed with insecticides. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, *34*(3), 199-204. <https://doi.org/10.4067/S0719-38902018005000503>

D'adamo, P., & Lozada, M. (2005). Conspecific and food attraction in the wasp *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae), and their possible contributions to control. *Annals of the Entomological Society of America*, *98*(2), 236-240. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2005\)098\[0236:CAFAIT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2005)098[0236:CAFAIT]2.0.CO;2)

D'Adamo, P., & Lozada, M. (2014). How context modification can favor the release of past experience in *Vespula germanica* wasps, enabling the detection of a novel food site. *Journal of Insect Behavior*, 27(3), 395-402. <https://doi.org/10.1007/s10905-013-9434-0>

Deredec, A., & Courchamp, F. (2006). Combined impacts of Allee effects and parasitism. *Oikos*, 112(3), 667-679. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2006.14243.x>

Diagne, C., Leroy, B., Vaissière, A.-C., Gozlan, R. E., Roiz, D., Jarić, I., Salles, J.-M., Bradshaw, C. J. A., & Courchamp, F. (2021). High and rising economic costs of biological invasions worldwide. *Nature*, 592(7855), 571-576. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03405-6>

Edwards, R. (1980). Social wasps. Their biology and control. *Social Wasps. Their Biology and Control*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19800574991>

Elliott, G. P., Wilson, P. R., Taylor, R. H., & Beggs, J. R. (2010). Declines in common, widespread native birds in a mature temperate forest. *Biological Conservation*, 143(9), 2119-2126. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.05.022>

El-Sayed, A. M., Suckling, D. M., Byers, J. A., Jang, E. B., & Wearing, C. H. (2009). Potential of “Lure and Kill” in long-term pest management and eradication of invasive species. *Journal of Economic Entomology*, 102(3), 815-835. <https://doi.org/10.1603/029.102.0301>

El-Sayed, A. M., Suckling, D. M., Wearing, C. H., & Byers, J. A. (2006). Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species. *Journal of Economic Entomology*, 99(5).

Evans, J. D., & Schwarz, R. S. (2011). Bees brought to their knees: Microbes affecting honey bee health. *Trends in Microbiology*, 19(12), 614-620. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.09.003>

Fagan, W. F., Siemann, E., Mitter, C., Denno, R. F., Huberty, A. F., Woods, H. A., & Elser, J. J. (2002). Nitrogen in insects: implications for trophic complexity and species diversification. *The American Naturalist*, 160(6), 784-802.

<https://doi.org/10.1086/343879>

Gadagkar, R. (2001). Division of labour and organization of work in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata*. *Proceedings of the Indian National Science Academy - Part B: Biological Sciences*, 67(6), Article 6.

Gadagkar, R., Bhagavan, S., Chandrashekara, K., & Vinutha, C. (1991). The role of larval nutrition in pre-imaginal biasing of caste in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* (Hymenoptera: Vespidae). *Ecological Entomology*, 16(4), Article 4.

Gascoigne, J. C., & Lipcius, R. N. (2004). Allee effects driven by predation. *Journal of Applied Ecology*, 41(5), 801-810. <https://doi.org/10.1111/j.0021-8901.2004.00944.x>

Glare, T. R., Harris, R. J., & Donovan, B. J. (1996). *Aspergillus flavus* as a pathogen of wasps, *Vespula* spp., in New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, 23(4), 339-344. <https://doi.org/10.1080/03014223.1996.9518093>

Gordon, D. M. (1991). Behavioral flexibility and the foraging ecology of seed-eating ants. *The American Naturalist*, 138(2), 379-411. <https://doi.org/10.1086/285223>

Gordon, D. M. (1996). The organization of work in social insect colonies. *Nature*, 380(6570), 121-124.

Greene, A. (1991). *Dolichovespula and Vespula*. The social biology of wasps, 263, 305.

Gregory, S., & Jones, G. (2010). As social species that cooperate to improve their fitness, bats should be prone to ‘Allee effects’, or a breakdown in social behaviour in small groups with a detrimental cost for individual – and possibly population – fitness. But what are Allee effects? And what is the evidence that they will affect bats? *Biologist*, 57(4).

Harper, G. A., Joice, N., Kelly, D., Toft, R., & Clapperton, B. K. (2016). Effective distances of wasp (*Vespula vulgaris*) poisoning using clustered bait stations in beech forest. *New Zealand Journal of Ecology*, 40(1), 65-71.

Harris, R. J. (1991). Diet of the wasps *Vespula vulgaris* and *V. germanica* in honeydew

beech forest of the South Island, New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, 18(2), 159-169. <https://doi.org/10.1080/03014223.1991.10757963>

Harris, R. J. (1995). Effect of starvation of larvae of *Vespula vulgaris* (L) (Hymenoptera: Vespidae) on subsequent survival and adult size. *New Zealand Journal of Zoology*, 22(1), 33-38. <https://doi.org/10.1080/03014223.1995.9518021>

Harris, R. J., & Beggs, J. R. (1995). Variation in the quality of *Vespula vulgaris* (L.) queens (Hymenoptera: Vespidae) and its significance in wasp population dynamics. *New Zealand Journal of Zoology*, 22(2), 131-142. <https://doi.org/10.1080/03014223.1995.9518030>

Harris, R. J., Harcourt, S. J., Glare, T. R., Rose, E. A. F., & Nelson, T. J. (2000). Susceptibility of *Vespula vulgaris* (Hymenoptera: Vespidae) to generalist entomopathogenic fungi and their potential for wasp control. *Journal of Invertebrate Pathology*, 75(4), 251-258. <https://doi.org/10.1006/jipa.2000.4928>

Hartig, F. (2022). *DHARMA: Residual diagnostics for hierarchical (multi-level/mixed) regression models* [Software]. <https://cran.r-project.org/web/packages/DHARMA/vignettes/DHARMA.html>

Haupt, K. (2015). Assessment of the invasive German wasp, *Vespula germanica*, in South Africa (Doctoral dissertation, Stellenbosch: Stellenbosch University). <http://hdl.handle.net/10019.1/97092>

Haupt, K., Addison, P., & Veldtman, R. (2019). Fresh meat baits are currently the only available effective option to detect low-density *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae) populations in South Africa. *Austral Entomology*, 58(4), 783-791. <https://doi.org/10.1111/aen.12393>

Hee, J. J., Holway, D. A., Suarez, A. V., & Case, T. J. (2000). Role of propagule size in the success of incipient colonies of the invasive Argentine Ant. *Conservation Biology*, 14(2), 559-563. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.99040.x>

Hines, H. M. (2008). Historical biogeography, divergence times, and diversification

patterns of Bumble bees (Hymenoptera: Apidae: Bombus). *Systematic Biology*, 57(1), 58-75. <https://doi.org/10.1080/10635150801898912>

Hoffmann, B. D., Luque, G. M., Bellard, C., Holmes, N. D., & Donlan, C. J. (2016). Improving invasive ant eradication as a conservation tool: A review. *Biological Conservation*, 198, 37-49. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.03.036>

Hollander, M., Wolfe, D. A., & Chicken, E. (2013). *Nonparametric Statistical Methods*. John Wiley & Sons.

Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). *The Ants*. Harvard University Press.

Holway, D. A., Lach, L., Suarez, A. V., Tsutsui, N. D., & Case, T. J. (2002). The Causes and consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33(1), 181-233. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150444>

Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal*, 50(3), 346-363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>

Huang, Z.-Y., & Robinson, G. E. (1996). Regulation of honey bee division of labor by colony age demography. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 39(3), 147-158. <https://doi.org/10.1007/s002650050276>

Hunt, B. G., Wyder, S., Elango, N., Werren, J. H., Zdobnov, E. M., Yi, S. V., & Goodisman, M. A. D. (2010). Sociality is linked to rates of protein evolution in a highly social insect. *Molecular Biology and Evolution*, 27(3), 497-500. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp225>

Hunt, J. H. (2007). *The Evolution of Social Wasps*. Oxford University Press.

Hunt, J. H., Baker, I., & Baker, H. G. (1982). Similarity of amino acids in nectar and larval saliva: the nutritional basis for trophallaxis in social wasps. *Evolution*, 36(6), 1318-1322. <https://doi.org/10.2307/2408164>

Hurd, C. R., Jeanne, R. L., & Nordheim, E. V. (2007). Temporal polyethism and worker specialization in the wasp, *Vespula germanica*. *Journal of Insect Science*, 7(43), 1-13. <https://doi.org/10.1673/031.007.4301>

James, D. G., Vogele, B., Faulder, R. J., Bartelt, R. J., & Moore, C. J. (2001). Pheromone-mediated mass trapping and population diversion as strategies for suppressing *Carpophilus* spp. (Coleoptera: Nitidulidae) in Australian stone fruit orchards. *Agricultural and Forest Entomology*, 3(1), 41-47. <https://doi.org/10.1046/j.1461-9563.2001.00086.x>

Jamieson, L. E., Suckling, D. M., & Ramankutty, P. (2008). Mass trapping of *Prays nephelomima* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in citrus orchards: optimizing trap design and density. *Journal of Economic Entomology*, 101(4), 1295-1301. <https://doi.org/10.1093/jee/101.4.1295>

Jeanne, R. L., & Taylor, B. J. (2009). Food exploitation by social insects: ecological, behavioral, and theoretical approaches. CRC Press.

Karsai, I. N., & Hunt, J. H. (2002). Food quantity affects traits of offspring in the paper wasp *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *Environmental Entomology*, 31(1).

Keiser, C. N., Vojvodic, S., Butler, I. O., Sartain, E., Rudolf, V. H. W., & Saltz, J. B. (2018). Queen presence mediates the relationship between collective behaviour and disease susceptibility in ant colonies. *Journal of Animal Ecology*, 87(2), 379-387. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12696>

Keitt, T. H., Lewis, M. A., & Holt, R. D. (2001). Allee Effects, invasion pinning, and species' borders. *The American Naturalist*, 157(2), 203-216. <https://doi.org/10.1086/318633>

Kerth, G. (2008). Causes and consequences of sociality in bats. *BioScience*, 58(8), 737-746. <https://doi.org/10.1641/B580810>

Kline, D. L. (2007). Semiochemicals, traps/targets and mass trapping technology for mosquito management. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(sp2),



241-251. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[241:STAMTT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[241:STAMTT]2.0.CO;2)

Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G. S. (2008). *Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints*. 4(1).

Kramer, A. M., Dennis, B., Liebhold, A. M., & Drake, J. M. (2009). The evidence for Allee effects. *Population Ecology*, 51(3), 341-354. <https://doi.org/10.1007/s10144-009-0152-6>

Lande, R. (1998). Demographic stochasticity and allee effect on a scale with isotropic noise. *Oikos*, 83(2), 353-358. <https://doi.org/10.2307/3546849>

Landolt, P. J., Smithhisler, C. S., Reed, H. C., & McDonough, L. M. (2000). Trapping social wasps (Hymenoptera: Vespidae) with Acetic acid and saturated short chain alcohols. *Journal of Economic Entomology*, 93(6), 1613-1618. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.6.1613>

Lee, R., & Chu, C. Y. C. (2023). Reproduction and production in a social context: Group size, reproductive skew and increasing returns. *Ecology Letters*, 26(2), 219-231. <https://doi.org/10.1111/ele.14157>

Lester, P. J., & Beggs, J. R. (2019). Invasion success and management strategies for social *Vespula* wasps. *Annual Review of Entomology*, 64(1), 51-71. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011118-111812>

Lester, P. J., Bulgarella, M., Baty, J. W., Dearden, P. K., Guhlin, J., & Kean, J. M. (2020). The potential for a CRISPR gene drive to eradicate or suppress globally invasive social wasps. *Scientific Reports*, 10(1), 12398. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69259-6>

Lester, P. J., O'Sullivan, D., & Perry, G. L. W. (2023). Gene drives for invasive wasp control: Extinction is unlikely, with suppression dependent on dispersal and growth rates. *Ecological Applications*, 33(7), e2912. <https://doi.org/10.1002/eap.2912>

Lewis, M. A., & Kareiva, P. (1993). Allee dynamics and the spread of invading organisms. *Theoretical Population Biology*, 43(2), 141-158.

<https://doi.org/10.1006/tpbi.1993.1007>

Liebhold, A., & Bascompte, J. (2003). The Allee effect, stochastic dynamics and the eradication of alien species. *Ecology Letters*, 6(2), 133-140. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00405.x>

Lin, N., & Michener, C. D. (1972). Evolution of sociality in insects. *The Quarterly Review of Biology*, 47(2), 131-159. <https://doi.org/10.1086/407216>

Lockwood, J. L., Hoopes, M. F., & Marchetti, M. P. (2013). *Invasion Ecology*. John Wiley & Sons.

London, K. B., & Jeanne, R. L. (2003). Effects of colony size and stage of development on defense response by the swarm-founding wasp *Polybia occidentalis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 54(6), 539-546.

Luque, G. M., Giraud, T., & Courchamp, F. (2013). Allee effects in ants. *Journal of Animal Ecology*, 82(5), 956-965. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12091>

MacIntyre, P., & Hellstrom, J. (2015). *An evaluation of the costs of pest wasps in New Zealand*.

MacKay, W. P. (1982). The effect of predation of western widow spiders (Araneae: Theridiidae) on harvester ants (Hymenoptera: Formicidae). *Oecologia*, 53(3), 406-411. <https://doi.org/10.1007/BF00389022>

Malham, J. P., Rees, J. S., Alspach, P. A., Beggs, J. R., & Moller, H. (1991). Traffic rate as an index of colony size in *Vespula* wasps. *New Zealand Journal of Zoology*, 18(2), 105-109. <https://doi.org/10.1080/03014223.1991.10757956>

Martínez, A. S., Rousselot, N., Corley, J. C., & Masciocchi, M. (2021). Nest-departure behaviour of gynes and drones in the invasive yellowjacket *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae). *Bulletin of Entomological Research*, 111(2), 174-181. <https://doi.org/10.1017/S0007485320000462>

Masciocchi, M., & Corley, J. (2013). Distribution, dispersal and spread of the invasive social wasp (*Vespula germanica*) in Argentina. *Austral Ecology*, 38(2), 162-168. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2012.02388.x>

Masciocchi, M., Dimarco, R. D., & Corley, J. C. (2017). Pest management of social insects in urban settings. *International Journal of Pest Management*, 63(3), 205-206. <https://doi.org/10.1080/09670874.2017.1310413>

Masciocchi, M., Pereira, A. J., & Corley, J. C. (2016). Local dynamics of worker activity of the invasive *Vespula germanica* and *V. vulgaris* (Hymenoptera: Vespidae) wasps in Argentina: Activity fluctuations of *Vespula* spp. in Argentina. *Ecological Entomology*, 41(1), 105-111. <https://doi.org/10.1111/een.12277>

Masciocchi, M., Villacide, J. M., Buteler, M., & Martínez, A. S. (2022). Are invasive species promoting yellowjacket invasion in Patagonia? *Journal of Applied Entomology*, 146(5), 547-556. <https://doi.org/10.1111/jen.12977>

Matsuura, M., & Yamane, S. (1990). Biology of the vespine wasps. *Biology of the Vespine Wasps*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19910230589>

Mattiacci, A., Masciocchi, M., & Corley, J. C. (2022). Flexible foraging decisions made by workers of the social wasp *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae) in response to different resources: influence of ontogenetic shifts and colony feedback. *Insect Science*, 29(2), 581-594. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12942>

McCann, S., Moeri, O., Ibarra Jimenez, S., Scott, C., & Gries, G. (2015). Developing a paired-target apparatus for quantitative testing of nest defense behavior by vespine wasps in response to con- or heterospecific nest defense pheromones. *Journal of Hymenoptera Research*, 46, 151-163. <https://doi.org/10.3897/JHR.46.6585>

Melo, R., Masciocchi, M., & Corley, J. C. (2023). Allee effects in an invasive social wasp: An experimental study in colonies of *Vespula germanica*. *Scientific Reports*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43527-7>

Meunier, J. (2015). Social immunity and the evolution of group living in insects.

*Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1669), 20140102. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0102>

Michener, C. D. (1969). Comparative social behavior of bees. *Annual Review of Entomology*, 14(1), 299-342. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.14.010169.001503>

Moller, H. (1996). Lessons for invasion theory from social insects. *Biological Conservation*, 78(1-2), 125-142. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(96\)00022-5](https://doi.org/10.1016/0006-3207(96)00022-5)

Moller, H., Clapperton, B. K., Alspach, P. A., & Tilley, J. A. V. (1991). Comparative seasonality of *Vespula germanica* (F.) and *Vespula vulgaris* (L.) colonies (Hymenoptera: Vespidae) in urban Nelson, New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, 18(2), 111-120. <https://doi.org/10.1080/03014223.1991.10757957>

Morozov, A., Petrovskii, S., & Li, B. (2004). Bifurcations and chaos in a predator-prey system with the Allee effect. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1546), 1407-1414. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2733>

Munger, J. C. (1992). Reproductive potential of colonies of desert harvester ants (*Pogonomyrmex desertorum*): Effects of predation and food. *Oecologia*, 90(2), 276-282. <https://doi.org/10.1007/BF00317186>

Naug, D., & Smith, B. (2006). Experimentally induced change in infectious period affects transmission dynamics in a social group. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1606), 61-65. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3695>

Navarro-Llopis, V., & Vacas, S. (2014). Mass Trapping for Fruit Fly Control. En T. Shelly, N. Epsky, E. B. Jang, J. Reyes-Flores, & R. Vargas (Eds.), *Trapping and the Detection, Control, and Regulation of Tephritid Fruit Flies: Lures, Area-Wide Programs, and Trade Implications* (pp. 513-555). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9193-9\\_15](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9193-9_15)

Nicholson, E., Mace, G. M., Armsworth, P. R., Atkinson, G., Buckle, S., Clements, T., Ewers, R. M., Fa, J. E., Gardner, T. A., Gibbons, J., Grenyer, R., Metcalfe, R., Mourato, S., Muûls, M., Osborn, D., Reuman, D. C., Watson, C., & Milner-Gulland, E. J. (2009).

Priority research areas for ecosystem services in a changing world. *Journal of Applied Ecology*, 46(6), 1139-1144. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01716.x>

Oster, G. F., & Wilson, E. O. (1978). *Caste and Ecology in the Social Insects*. Princeton University Press.

Palmer, S., Dearden, P. K., Mercier, O. R., King-Hunt, A., & Lester, P. J. (2022). Gene drive and RNAi technologies: A bio-cultural review of next-generation tools for pest wasp management in New Zealand. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 52(5), 508-525. <https://doi.org/10.1080/03036758.2021.1985531>

Pereira, A. J., Masciocchi, M., Bruzzone, O., & Corley, J. C. (2013). Field preferences of the social wasp *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae) for protein-rich baits. *Journal of Insect Behavior*, 26(5), 730-739. <https://doi.org/10.1007/s10905-013-9388-2>

Pereira, A. J., Masciocchi, M., & Corley, J. C. (2022). Long-term coexistence of two invasive vespid wasps in NW Patagonia (Argentina). *Oecologia*, 199(3), 661-669. <https://doi.org/10.1007/s00442-022-05210-y>

Queller, D. C., & Strassmann, J. E. (1998). Kin selection and social insects. *BioScience*, 48(3), 165-175. <https://doi.org/10.2307/1313262>

Richter, M. R. (2000). Social wasp (Hymenoptera: Vespidae) foraging behavior. *Annual Review of Entomology*, 45(1), 121-150. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.121>

Robinson, G. E. (1992). Regulation of division of labor in insect societies. *Annual Review of Entomology*, 37(1), 637-665. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.003225>

Russell, S., Barron, A. B., & Harris, D. (2013). Dynamic modelling of honey bee (*Apis mellifera*) colony growth and failure. *Ecological Modelling*, 265, 158-169. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2013.06.005>

Rust, M. K., & Su, N.-Y. (2012). Managing social insects of urban importance. *Annual Review of Entomology*, 57(1), 355-375. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100634>

Sackmann, P., & Corley, J. C. (2007). Control of *Vespula germanica* (Hym. Vespidae) populations using toxic baits: Bait attractiveness and pesticide efficacy. *Journal of Applied Entomology*, 131(9-10), 630-636. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2007.01132.x>

Sackmann, P., D'Adamo, P., Rabinovich, M., & Corley, J. C. (2000). Arthropod prey foraged by the German wasp (*Vespula germanica*) in NW Patagonia, Argentina. *New Zealand Entomologist*, 23(1), 55-59. <https://doi.org/10.1080/00779962.2000.9722067>

Sackmann, P., Farji-Brener, A., & Corley, J. (2008). The impact of an exotic social wasp (*Vespula germanica*) on the native arthropod community of north-west Patagonia, Argentina: An experimental study. *Ecological Entomology*, 33(2), 213-224. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2007.00952.x>

Sackmann, P., Rabinovich, M., & Corley, J. C. (2001). Successful removal of german yellowjackets (Hymenoptera: Vespidae) by toxic baiting. *Journal of Economic Entomology*, 94(4), 811-816. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.4.811>

Schafer, R. J., Holmes, S., & Gordon, D. M. (2006). Forager activation and food availability in harvester ants. *Animal Behaviour*, 71(4), 815-822. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2005.05.024>

Schmidt, K. C., Hunt, B. G., & Smith, C. R. (2012). Queen, worker, and male yellowjacket wasps receive different nutrition during development. *Insectes Sociaux*, 59(2), 289-295. <https://doi.org/10.1007/s00040-012-0220-3>

Seebens, H., Blackburn, T. M., Dyer, E. E., Genovesi, P., Hulme, P. E., Jeschke, J. M., Pagad, S., Pyšek, P., Winter, M., Arianoutsou, M., Bacher, S., Blasius, B., Brundu, G., Capinha, C., Celesti-Grapow, L., Dawson, W., Dullinger, S., Fuentes, N., Jäger, H., ... Essl, F. (2017). No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nature Communications*, 8(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/ncomms14435>

Simberloff, D. (2011). How common are invasion-induced ecosystem impacts? *Biological Invasions*, 13(5), 1255-1268. <https://doi.org/10.1007/s10530-011-9956-3>

Simberloff, D., & Rejmanek, M. (Eds.). (2019). 100 of the World's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. En *Encyclopedia of Biological Invasions* (pp. 715-716). University of California Press. <https://doi.org/10.1525/9780520948433-159>

Smith, E. P. 2014. BACI design. In: Wiley Statistics Reference Online. Wiley.

Simone-Finstrom, M. (2017). Social immunity and the superorganism: behavioral defenses protecting honey bee colonies from pathogens and parasites. *Bee World*, 94(1), 21-29. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2017.1307800>

Smith, A. R., O'Donnell, \* Sean, & Jeanne, R. L. (2001). Correlated evolution of colony defence and social structure: A comparative analysis in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Evolutionary Ecology Research*, 3(3), 331-344.

Sola, F. J., J. Valenzuela, A. E., Anderson, C. B., Martínez Pastur, G., & Lencinas, M. V. (2015). Reciente invasión del Archipiélago de Tierra del Fuego por la avispa *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 74(3-4), 197-202.

Sopow, S. L., Jones, T., McIvor, I., McLean, J. A., & Pawson, S. M. (2017). Potential impacts of *Tuberolachnus salignus* (giant willow aphid) in New Zealand and options for control. *Agricultural and Forest Entomology*, 19(3), 225-234. <https://doi.org/10.1111/afe.12211>

Sousa, R., Morais, P., Dias, E., & Antunes, C. (2011). Biological invasions and ecosystem functioning: Time to merge. *Biological Invasions*, 13(5), 1055-1058. <https://doi.org/10.1007/s10530-011-9947-4>

Spradbery, J. P. (1973). Wasps. An account of the biology and natural history of social and solitary wasps, with particular reference to those of the British Isles. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19730585965>

Spurr, E. B. (1991). Reduction of wasp (Hymenoptera: Vespidae) populations by poison-baiting; experimental use of sodium monofluoroacetate (1080) in canned sardine. *New*

*Zealand Journal of Zoology*, 18(2), 215-222.  
<https://doi.org/10.1080/03014223.1991.10757969>

Spurr, E. B. (1996). Carbohydrate bait preferences of wasps (*Vespula vulgaris* and *V. germanica*) (Hymenoptera: Vespidae) in New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, 23(4), 315-324. <https://doi.org/10.1080/03014223.1996.9518090>

Stanford, C. B. (2002). Avoiding Predators: Expectations and Evidence in Primate Antipredator Behavior. *International Journal of Primatology*, 23(4), 741-757. <https://doi.org/10.1023/A:1015572814388>

Stephens, P. A., & Sutherland, W. J. (1999). Consequences of the Allee effect for behaviour, ecology and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(10), 401-405. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01684-5](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01684-5)

Stephens, P. A., Sutherland, W. J., & Freckleton, R. P. (1999). What Is the Allee Effect? *Oikos*, 87(1), 185. <https://doi.org/10.2307/3547011>

Stroeymeyt, N., Casillas-Pérez, B., & Cremer, S. (2014). Organisational immunity in social insects. *Current Opinion in Insect Science*, 5, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.09.001>

Sullivan, T. E. S., Sullivan, N. J., El-Sayed, A. M., Brierley, S., & Suckling, D. M. (2020). Experimental high-density trapping of social wasps: Target kairomones for workers or gynes for drones? *New Zealand Entomologist*, 43(2), 65-76. <https://doi.org/10.1080/00779962.2020.1802880>

Taylor, C. M., & Hastings, A. (2005). Allee effects in biological invasions. *Ecology Letters*, 8(8), 895-908. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00787.x>

Tittensor, D. P., Walpole, M., Hill, S. L. L., Boyce, D. G., Britten, G. L., Burgess, N. D., Butchart, S. H. M., Leadley, P. W., Regan, E. C., Alkemade, R., Baumung, R., Bellard, C., Bouwman, L., Bowles-Newark, N. J., Chenery, A. M., Cheung, W. W. L., Christensen, V., Cooper, H. D., Crowther, A. R., ... Ye, Y. (2014). A mid-term analysis of progress toward international biodiversity targets. *Science*, 346(6206), 241-244.



<https://doi.org/10.1126/science.1257484>

Tobin, P. C., Berec, L., & Liebhold, A. M. (2011). Exploiting Allee effects for managing biological invasions: Exploiting Allee effects. *Ecology Letters*, 14(6), 615-624. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01614.x>

Ulloa K., A., Curkovic S., T., & Araya C., J. (2006). Toxicidad oral de seis insecticidas en larvas de *Vespula germanica* (F.) en laboratorio. *Agricultura Técnica*, 66(2), 133-140. <https://doi.org/10.4067/S0365-28072006000200003>

Verheggen, F. J., Haubruge, E., & Mescher, M. C. (2010). Alarm pheromones-chemical signaling in response to danger. *Vitamins & Hormones* (Vol. 83, pp. 215-239). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(10\)83009-2](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(10)83009-2)

Walton, A., Dolezal, A. G., Bakken, M. A., & Toth, A. L. (2018). Hungry for the queen: Honeybee nutritional environment affects worker pheromone response in a life stage-dependent manner. *Functional Ecology*, 32(12), 2699-2706. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13222>

Wheeler, D. E. (1986). Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: Evolutionary implications. *The American Naturalist*, 128(1), 13-34. <https://doi.org/10.1086/284536>

Wheeler, W. M. (1928). Emergent evolution and the development of societies. W.W. Norton, Incorporated.

Wilkinson, G. S. (1992). Communal nursing in the evening bat, *Nycticeius humeralis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 31(4), 225-235. <https://doi.org/10.1007/BF00171677>

Wilkinson, G. S., & Wenrick boughman, J. (1998). Social calls coordinate foraging in greater spear-nosed bats. *Animal Behaviour*, 55(2), 337-350. <https://doi.org/10.1006/anbe.1997.0557>

Willink, A. (1980). Sobre la presencia de *Vespula germanica* (Fabricius) en la Argentina

(Hymenoptera: Vespidae). *Neotropica*, 26, 205-206.

Wilson, E. E., & Holway, D. A. (2010). Multiple mechanisms underlie displacement of solitary Hawaiian Hymenoptera by an invasive social wasp. *Ecology*, 91(11), 3294-3302. <https://doi.org/10.1890/09-1187.1>

Wilson, E. (1971). Social Insects. *Science*, 172(3981), 406-406. <https://doi.org/10.1126/science.172.3981.406>

Wray, M. K., Mattila, H. R., & Seeley, T. D. (2011). Collective personalities in honeybee colonies are linked to colony fitness. *Animal Behaviour*, 81(3), 559-568. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.11.027>

Zhukovskaya, M., Yanagawa, A., & Forschler, B. T. (2013). Grooming behavior as a mechanism of insect disease defense. *Insects*, 4(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/insects4040609>

## ANEXO

**Tabla 2.** Nidos controles (en negrita) y nidos tratamiento de *Vespula germanica* observados durante 2019 y 2021. Para cada nido, se muestra la tasa de tráfico pretratamiento, la tasa de tráfico postratamiento, tamaño de la colonia (según Malham et al., 1990), porcentaje de avispas removidas, y el cambio proporcional en el número de obreras (el tráfico postratamiento expresado como porcentaje del tráfico pretratamiento).

Año	Nido	Tráfico pretratamiento (# obreras/minuto)	Tráfico postratamiento (# obreras/minuto)	Tamaño colonial (# obreras)	Remoción (%)	Cambio proporcional de obreras (%)
2019	<b>1</b>	<b>11.0</b>	<b>13.2</b>	<b>354.7</b>	<b>0</b>	<b>120</b>
	<b>2</b>	<b>16.8</b>	<b>19.4</b>	<b>541.7</b>	<b>0</b>	<b>115</b>
	<b>3</b>	<b>17.6</b>	<b>13.5</b>	<b>567.5</b>	<b>0</b>	<b>77</b>
	4	4.2	4.0	135.4	5	95
	5	10.8	8.6	348.2	20	80
	6	9.4	7.0	303.1	26	74
	7	16.6	9.4	535.2	43	57
	8	12.6	7.0	406.3	44	56
	9	22.6	11.0	728.7	51	49
	10	12.0	4.6	386.9	62	38
	11	9.0	2.2	290.2	76	24
2021	<b>12</b>	<b>7.0</b>	<b>10.2</b>	<b>225.7</b>	<b>0</b>	<b>146</b>
	<b>13</b>	<b>20.4</b>	<b>12.4</b>	<b>657.8</b>	<b>0</b>	<b>61</b>
	<b>14</b>	<b>14.6</b>	<b>11.6</b>	<b>470.7</b>	<b>0</b>	<b>79</b>
	15	21.6	20.6	696.4	5	95
	16	16.0	13.8	515.9	14	86
	17	20.4	15.6	657.8	24	76
	18	15.8	11.8	509.4	25	75
	19	13.4	8.6	432.1	36	64
	20	19.8	12.5	638.4	37	63
	21	11.0	6.8	354.7	38	62
	22	16.6	4.6	535.2	72	28