



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Efecto del estado fisiológico sobre la preferencia de
oviposición de la avispa parasitoide
Pachycrepoideus vindemmiae (Hymenoptera:
Pteromalidae) sobre *Drosophila suzukii* (Diptera:
Drosophilidae) y un hospedero alternativo

Tesina de grado

Licenciatura en Ciencias Biológicas

Jessica Pereyra Brun

Orientador: Dr. Hernán F. Groba¹

Co-orientador: Dr. Andrés González Ritzel¹

¹Laboratorio de Ecología Química, Facultad de Química, Universidad de la República.

INDICE

1. Resumen	4
2. Agradecimientos	5
3. Introducción.....	6
4. Objetivo	12
4.1 Objetivo general.....	12
4.2 Objetivos específicos	12
5. Materiales y métodos.....	13
5.1 Insectos	13
5.2 Arena experimental y ensayo comportamental.....	15
5.3 Efecto del estado fisiológico sobre la preferencia y el comportamiento de oviposición.....	16
5.4 Claves químicas de contacto sobre la pupa de <i>D. suzukii</i>	18
5.5 Análisis estadístico	20
6. Resultados	21
6.1 Evaluación de arena experimental	21
6.2 Efecto del estado fisiológico sobre la elección de la hembra	22
6.3 Efecto del estado fisiológico sobre el parasitismo	22
6.4 Alimentación sobre el hospedero (<i>Host-feeding</i>)	26
6.5 Claves químicas	28
7. Discusión.....	29
8. Bibliografía.....	33

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del ciclo de vida de <i>Drosophila suzukii</i> en arándano..	6
Figura 2. Fotografías digitales de hembra de <i>Pachycrepoideus vindemmiae</i> observadas bajo microscopio electrónico de barrido (MEB)	9
Figura 3. Comportamiento de oviposición de <i>Pachycrepoideus vindemmiae</i>	11
Figura 4. Ciclo de vida de <i>Drosophila suzukii</i> y de <i>Pachycrepoideus vindemmiae</i>	14
Figura 5. Diagrama de arena experimental .	15
Figura 6. Sistema utilizado para filmación de los ensayos comportamentales	16
Figura 7. Protocolo de extracción de compuestos cuticulares de la pupa de <i>Drosophila suzukii</i>	19
Figura 8. Controles de la arena experimental.	21
Figura 9. Elección de la especie de hospedero según el tratamiento.....	22
Figura 10. Ocurrencia de parasitismo sobre el hospedero sin importar la especie según el tratamiento.	23
Figura 11. Primera especie de hospedero parasitado según el tratamiento.	24
Figura 12. Ocurrencia de parasitismo múltiple sobre los hospederos sin importar la especie según el tratamiento.	25
Figura 13. Ocurrencia de <i>host-feeding</i> sobre los hospederos sin importar la especie según el tratamiento.....	26
Figura 14. Ocurrencia de <i>host-feeding</i> considerando la especie de hospedero según el tratamiento.	27
Figura 15. Elección y oviposición sobre hospederos con claves químicas (SWD+) y sin claves químicas (SWD-).	28

1. Resumen

La mosca de las alas manchadas, *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) es una plaga invasora de cultivos frutales de piel fina, detectada en Uruguay en 2014. Su capacidad para dañar frutos antes de la cosecha genera importantes pérdidas económicas. Actualmente, el control biológico mediante parasitoides se considera una estrategia prometedora, y *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae) es uno de los candidatos. Este estudio analiza el efecto del estado fisiológico de *P. vindemmiae* sobre 1) la preferencia de hospedero, comparando *D. suzukii* con un hospedero alternativo, *Drosophila melanogaster* (Meigen) (Diptera: Drosophilidae); 2) el comportamiento de oviposición de hembras y por otro lado, 3) la existencia de claves químicas del hospedero, utilizando únicamente *D. suzukii*. Avispas hembras jóvenes fueron sometidas a cuatro tratamientos que incluyen combinaciones de alimentación y estado reproductivo: agua miel (AM), agua miel y cópula (AMC), agua miel y *host-feeding* (AMH), agua miel, cópula y *host-feeding* (AMHC). Se registró la elección del hospedero, la oviposición y la ocurrencia de *host-feeding*. Por otra parte, se investigó el papel de compuestos cuticulares de la pupa del hospedero en la selección de hospedero, mediante ensayos de elección dual con hembras alimentadas solo con agua miel. Los resultados muestran que el estado fisiológico del parasitoide no influye en la elección, ni en la oviposición, aunque existe una tendencia que sugiere que *D. suzukii* podría ser el hospedero elegido en estos comportamientos. Por otra parte, las hembras copuladas y alimentadas con agua miel realizaron más eventos de *host-feeding*, sugiriendo que esta conducta depende del estado nutricional y reproductivo. Respecto a las claves químicas que presenta *D. suzukii* (SWD por el inglés *Spotted Wing Drosophila*), la eliminación (SWD-) y re aplicación (SWD+) de compuestos cuticulares no modificó la preferencia de oviposición, indicando que estas señales no son determinantes en el reconocimiento del hospedero. Estos hallazgos refuerzan el potencial de *P. vindemmiae* como agente de control biológico, debido a su capacidad para parasitar independientemente de su estado fisiológico. Este conocimiento contribuye al desarrollo de estrategias de manejo sostenible para el control de esta plaga.

2. Agradecimientos

A los responsables del Laboratorio de Ecología Química, Carmen Rossini y Andrés González, por brindarme la oportunidad de formar parte de este lugar que desde el inicio despertó en mí una profunda admiración.

A mis tutores, Hernán Groba y Andrés González, cuya guía, paciencia y dedicación han sido fundamentales en cada etapa de este proceso. Agradezco especialmente su compromiso y la generosidad con la que compartieron su conocimiento.

A Federico Triñanes, por introducirme al sistema de estudio y por acompañarme en cada desafío que se presentó, ofreciéndome siempre su experiencia, consejo y serenidad ante las dificultades.

A Paula Altesor y Ciro Invernizzi, integrantes del tribunal, por aceptar evaluar esta tesina. Es un privilegio contar con su mirada crítica y la posibilidad de enriquecer este trabajo con sus aportes.

A los Lequers, por su apoyo constante y por hacer más llevaderos los días de trabajo con su compañerismo.

Y, finalmente, a mi familia y amigos, por su apoyo incondicional, por sostenerme en cada paso y por estar presentes incluso en los momentos más inciertos. En particular, a mi madre, cuyo ejemplo de esfuerzo y dedicación ha sido, desde siempre, mi mayor inspiración.

A todos aquellos que me han acompañado a lo largo de este camino, les expreso mi gratitud más profunda.

3. Introducción

Las moscas del género *Drosophila* son principalmente consumidoras de microorganismos asociados a tejidos vegetales en descomposición, por lo que en su mayoría no son consideradas plagas de la agricultura. Sin embargo, *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), la mosca de las alas manchadas (SWD por el inglés *Spotted Wing Drosophila*), es una de las pocas excepciones en cuanto a sus hábitos alimentarios, ya que las larvas se alimentan de frutas en proceso de maduración (Funes et al., 2018).

Esta especie de origen asiático se ha expandido a lo largo del mundo, reportándose en 2013 en Sudamérica, principalmente en Brasil, logrando invadir rápidamente Argentina, Chile y Uruguay (Funes et al., 2018). En Uruguay fue detectada por primera vez en 2014 en el departamento de Canelones (González et al., 2015).

Las hembras utilizan frutas en proceso de maduración como sustrato de oviposición. Presentan un ovipositor aserrado adaptado para el corte de la piel del fruto (Figura 1a). Los huevos son depositados debajo de la herida de oviposición (Figura 1b), y el desarrollo larval avanza a través de tres estadios (Figura 1c), los cuales se alimentan de los tejidos internos del fruto (Asplen et al., 2015).

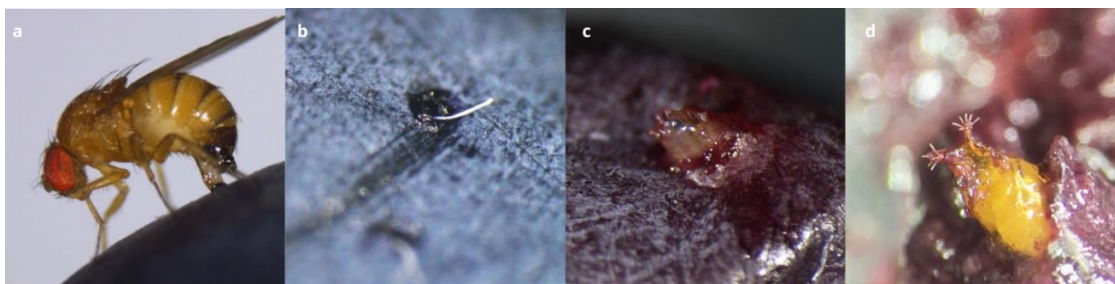


Figura 1. Estados del ciclo de *D. suzukii* en arándano. **a-** hembra oviponiendo, puede observarse el ovipositor aserrado (foto de Federico Triñanes); **b-** huevo, se observa un filamento que corresponde al espiráculo donde ocurre el intercambio gaseoso (en color blanco); **c-** larva alimentándose del interior de la fruta; **d-** pupa proyectando los espiráculos hacia el exterior de la fruta.

Su importancia económica radica en que las hembras atacan frutos que todavía se encuentran unidos a la planta y la herida causada en la oviposición favorece el ingreso de microorganismos saprófagos. Esto, en conjunto con el daño directo del insecto,

genera un rápido deterioro del fruto, provocando grandes pérdidas en los cultivos. Se ha observado que estos daños ocurren sobre especies de frutales cultivados, como así también en especies de frutales nativos en zonas de vegetación natural (Funes et al., 2018). En nuestra región, se ha registrado grandes daños en cultivos de frutas finas tales como arándano, cereza, frambuesa, frutilla, zarzamora y vid (Funes et al., 2018). La capacidad de *D. suzukii* de infestar una variedad de cultivos frutales, junto con su alta tasa de reproducción y su rápido ciclo de vida, plantea una amenaza para el sector frutícola. Actualmente, las estrategias de protección de la fruta se basan principalmente en aplicaciones de insecticidas químicos (Van Timmeren & Isaacs, 2013). Este no ha mostrado ser efectivo debido a que la deposición de huevos de *D. suzukii* tiene lugar poco antes de la cosecha y es difícil determinar el momento adecuado de las aplicaciones sin generar residuos peligrosos para la salud de los consumidores (Asplen et al., 2015). Es por ello que se busca implementar un manejo integrado de plagas mediante diferentes herramientas ambientalmente amigables en los sistemas de cultivo, para optimizar acciones preventivas, manteniendo la presión de plagas bajo el umbral de daño económico y minimizando el uso de pesticidas (Ehler, 2006; Asplen et al., 2015).

El control biológico es una estrategia de manejo de plagas segura y sostenible que aprovecha enemigos naturales de las especies plaga, tales como depredadores, insectos parasitoides y/o patógenos (Wang et al., 2019). En la actualidad, el control biológico de *D. suzukii* mediante el uso de parasitoides del orden Hymenoptera se está explorando como una opción de manejo (Gabarra et al., 2014; Haye et al., 2016).

Los parasitoides son insectos que ponen sus huevos en o sobre otros artrópodos (principalmente insectos). Luego, los huevos eclosionan y las larvas se alimentan del hospedero hasta que finalmente emergen adultos que continuarán el ciclo de vida de forma libre. Por tanto, la elección y aceptación (oviposición) del hospedero por parte de las hembras parasitoides es crucial en la historia de vida de este tipo de insectos (Godfray, 1994). Existen dos aspectos que modulan el comportamiento de oviposición de la hembra: la fisiología del individuo (estado interno) y las condiciones ambientales en donde se encuentra (factores externos) (Wajnberg, 2006). El estado interno incluye un conjunto de variables como la edad, el estado nutricional, la cantidad de reservas, carga y/o tipo de huevos, entre otros. Estas variables influyen en forma directa sobre las decisiones que toman los individuos, y por tanto se denominan estado-dependientes. Es decir, que las decisiones comportamentales que toman los insectos dependen de su

estado interno y pueden cambiar al variar las condiciones (Jervis et al., 2001). Se ha reportado que comportamientos como la orientación hacia los hospederos, la aceptación de un hospedero y la oviposición, son estado-dependientes (van Alphen & Bernstein, 2008; Crespo, 2011).

En los parasitoides himenópteros existen dos aspectos internos preponderantes en la toma decisiones: el tipo de huevos (fertilizados o no) y/o su cantidad, y el estado nutricional (reservas para producir huevos). En lo que respecta al tipo de huevos, la mayoría de estos organismos tienen un sistema haplodiploide de determinación del sexo que proporciona a las hembras un mecanismo para controlar la proporción de sexos de la progenie (Hu et al., 2012). Las hembras apareadas pueden almacenar el esperma y manipularlo, obteniendo huevos fertilizados (diploides) que dan origen a hembras, y huevos no fertilizados (haploides) que originan machos. Esto se puede relacionar con la calidad del hospedero: hospederos de mejor calidad son utilizados para oviponer huevos diploides (Hardy, 1994), que tendrían para la hembra un mayor costo de producción (Andersson, 1994). Por tanto, las hembras deben tener la capacidad de evaluar la condición de los hospederos para parasitar aquellos que permitan el desarrollo de crías de mejor calidad (Godfray, 1994; Wolf et al., 2020). A su vez, el estado nutricional influye directamente en la longevidad y la capacidad reproductiva de las hembras. Las reservas de azúcares, que favorecen la supervivencia y el mantenimiento energético, pueden obtenerse tanto de nectarios florales y/o frutas, como de la alimentación sobre el hospedero (Burger et al., 2004). Por otra parte, las proteínas esenciales para el desarrollo y la maduración adecuada de los huevos son aportados por las reservas que traen del estado inmaduro o de la alimentación sobre el hospedero (Giron, et al., 2002).

Los factores externos son aquellas condiciones que influyen sobre el comportamiento desde el ambiente, tales como la temperatura, humedad, luz, presión atmosférica y también la interacción con otros individuos. En los insectos, la búsqueda del alimento u hospederos está fuertemente influenciada por estos factores (Bell et al., 1995). En los parasitoides la reproducción exitosa depende de encontrar hospederos en los que sus crías puedan completar su desarrollo. Durante esta búsqueda, las hembras generalistas se enfrentan a diversas especies de hospederos los cuales pueden diferir en las claves que emiten, y también en su idoneidad como recurso (Wolf et al., 2020). Estas claves pueden tener diferente origen (provenir directamente del mismo hospedero o del hábitat donde se encuentra) y ser de diferente naturaleza (sensorial, vibración sobre sustrato,

químicas, visuales, entre otras) (Goubault et al., 2011; Rios-Casanova, 2011). En el caso de los hospederos que están ocultos en el hábitat, las hembras parasitoides generalmente utilizan claves de diferentes modalidades sensoriales y de diferente origen (Vet & Dicke, 1992). Por tanto, para utilizar parasitoides en el control de insectos plaga, es fundamental conocer su biología, incluyendo las claves sensoriales que emplean en la detección y aceptación de sus hospederos.

En los insectos, el equipo sensorial está conformado por las sensilias, las cuales tienen la capacidad de detectar diferentes tipos de estímulos tales como mecánicos, químicos, térmicos o de humedad (Chapman, 2013). Particularmente, las hembras parasitoides poseen quimiorreceptores y mecanorreceptores en las antenas y el ovipositor (Figura 2b y 2c) (Godfray, 1994). En la mayoría de los parasitoides himenópteros, estos órganos están involucrados en la discriminación del hospedero y permiten la aceptación del hospedero y la oviposición precisa (Gullan & Craston, 2005). Las señales externas provenientes del hospedero por lo general son detectadas por receptores ubicados en las antenas de las hembras, mientras que las señales internas son detectadas por receptores presentes en su ovipositor (Goubault et al., 2011).

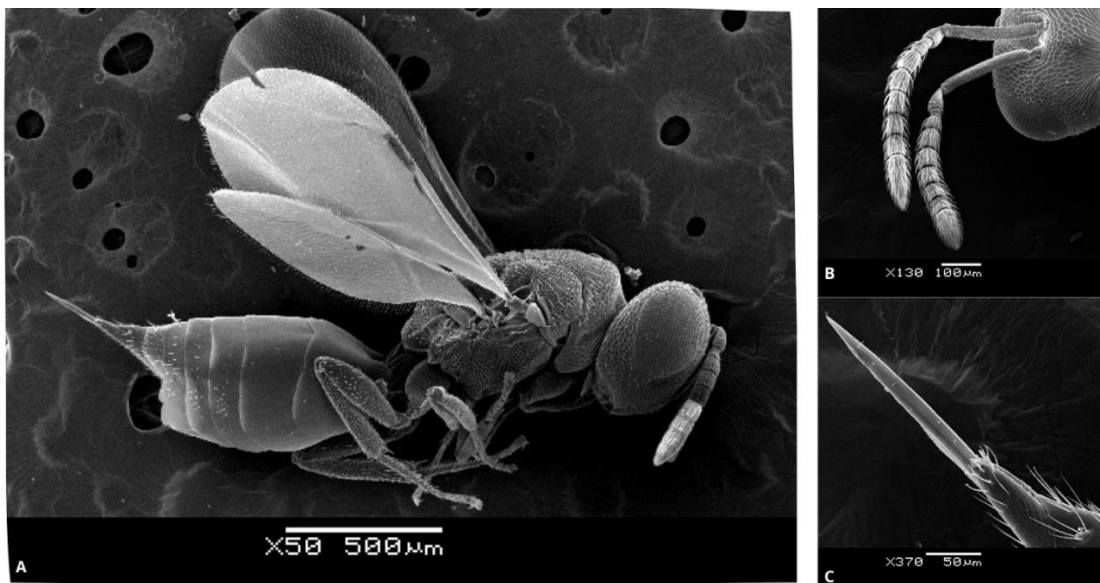


Figura 2. Microfotografías digitales de *Pachycrepoideus vindemmiae* bajo microscopio electrónico de barrido (MEB). **a-** Vista lateral del cuerpo completo de una hembra. **b-** Detalle de antenas en vista dorsal. **c-** Vista ventral del extremo abdominal, detalle del ovipositor. Las escalas están en cada fotografía.

Entre los parasitoides himenópteros utilizados como potenciales controladores biológicos de *D. sukii* se encuentra la especie cosmopolita *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). Se trata de un micro himenóptero, ectoparasitoide de pupas (ovipone fuera de la pupa), generalista e idiobionte (detiene el desarrollo del hospedero al momento de oviponer). Es un parasitoide solitario, es decir, solo emerge un individuo de cada hospedero. No obstante, puede poner más de un huevo en un mismo hospedero (superparasitismo) y tiene la peculiaridad de ser hiperparasitoide, es decir, parasita a otros parasitoides de dípteros (Wang & Messing 2004). Es una especie sinovigénica por lo que la hembra emerge sin tener la totalidad de su carga de huevos madura. Por tanto, la hembra debe alimentarse, generalmente del hospedero, para adquirir los nutrientes para la maduración de los huevos (Shimbori et al., 2020).

El comportamiento de alimentación del hospedero se denomina en inglés *host-feeding*, y a partir de éste, las hembras pueden acceder al agua y nutrientes necesarios en el mantenimiento del adulto, la producción de huevos o ambos (Giron et al., 2002; Bezerra Da Silva et al., 2019). Se han descrito dos tipos de *host-feeding*: concurrente, donde se utiliza el mismo hospedero tanto para la alimentación como para la oviposición; y no concurrente, en el que se utilizan diferentes hospederos para cada comportamiento (Phillips, 1993). Existen evidencias de que la alimentación concurrente presenta un costo para la(s) larva(s) en desarrollo relativamente bajo (Phillips, 1993). Trabajos previos han demostrado que *P. vindemmiae* realiza alimentación concurrente del hospedero, y la alimentación por parte de una hembra no tiene costo para su descendencia ni en términos de supervivencia ni de tamaño (Bezerra Da Silva et al., 2019). No obstante, hay pocos estudios que evalúen los efectos de esta y otras variables fisiológicas sobre el comportamiento de parasitismo de esta especie.



Figura 3. Hembra de *P. vindemmiae* parasitando una pupa de *D. suzukii* que se encuentra dentro de un arándano. ([Video 1](#))

En lo que respecta a la interacción entre *P. vindemmiae* y la elección de hospederos, un trabajo que comparó el parasitismo en tres especies de *Drosophila* observó que existe una preferencia por parasitar *D. suzukii* frente a otras especies de drosophilidos. A su vez, este trabajo muestra que emergen un mayor número de adultos y mayor proporción de hembras en *D. suzukii* que en hospederos alternativos. Por tanto, esto indicaría que *D. suzukii* es un hospedero de buena calidad (Wolf et al., 2020). Estos datos son relevantes debido a que las interacciones entre *P. vindemmiae*, *D. suzukii* y otras especies tiene implicancias en la eventual eficacia de este parasitoide generalista cuando se libera como agente de control biológico. Esto se debe a que *D. suzukii* comparte en gran medida su actual rango de distribución y hábitat con *Drosophila melanogaster* (Meigen) (Diptera: Drosophilidae) (Dancu et al., 2016). Aunque ambas especies usan diferentes recursos del ambiente, coexisten en el campo por lo que es importante estudiar si los parasitoides son capaces de encontrar y distinguir a *D. suzukii* frente a otros hospederos alternativos. Sin embargo, no está claro si existe un efecto del estado fisiológico de la hembra en la preferencia por una u otra especie de hospedero lo que determinaría la eficiencia de *P. vindemmiae* al momento de liberarlo a campo en un contexto de control biológico.

En este estudio se explorará la interacción entre *P. vindemmiae* – *D. suzukii* y el impacto de los factores internos y externos en dicha interacción.

4. Objetivo

4.1 Objetivo general

Estudiar la preferencia por el hospedero y el comportamiento de oviposición de la hembra de *P. vindemmiae* evaluando el efecto de su estado fisiológico y las claves químicas asociadas al hospedero.

4.2 Objetivos específicos

1. Evaluar si existe preferencia de *P. vindemmiae* por la especie del hospedero en función del estado fisiológico.
2. Determinar si el estado nutricional y reproductivo de *P. vindemmiae* condiciona el comportamiento de oviposición.
3. Analizar si las claves químicas de contacto en la superficie de la pupa de *D. suzukii* pueden ser relevantes para la selección de hospedero por *P. vindemmiae*.

5. Materiales y métodos

5.1 Insectos

El Laboratorio de Ecología Química (Facultad de Química, Universidad de la República) cuenta con crías de laboratorio de dos especies de drosófilidos, *D. suzukii* y *D. melanogaster*, y tres especies de microhimenópteros parasitoides, entre ellos *P. vindemmiae*. Estas fueron establecidas en 2019 a partir de individuos que fueron colectados en predios de Facultad de Agronomía (UdelaR, Montevideo).

Los drosófilidos se mantienen en un medio artificial compuesto por agar, levadura, harina de maíz, glucosa, y solución conservante (bactericida y fungicidas) (Goñi, 2018). Este medio se dosifica en tubos de plástico, se tapan con un algodón y se guardan en heladera (4 °C) hasta su uso. Las moscas adultas se colocan en estos tubos para que ovipongan y se mantienen en cámara de incubación bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperiodo [$21,8 \pm 0,4$ °C, 62 ± 4 %HR, 12:12 L:D]. Bajo estas condiciones, el ciclo biológico se completa en 15 días, donde a los 8 días del ciclo comienzan a aparecer pupas (Figura 1). Parte de ellas se destinan al parasitismo artificial y obtención de parasitoides.

Los adultos de *P. vindemmiae* que emergen de las pupas parasitadas se mantienen en matraces y son alimentados con solución de agua-miel (50:50) de forma periódica. El suministro constante de agua y azúcares en un entorno sin huéspedes puede dar como resultado una supervivencia de hasta 72 días, lo que permite el mantenimiento de las poblaciones de parasitoides (Bezerra Da Silva et al., 2019). Al igual que las moscas, los parasitoides se mantienen en cámara de incubación bajo las mismas condiciones mencionadas anteriormente, donde tardan en completar su ciclo biológico, de huevo hasta adulto, en promedio a los 30 días (Figura 4).

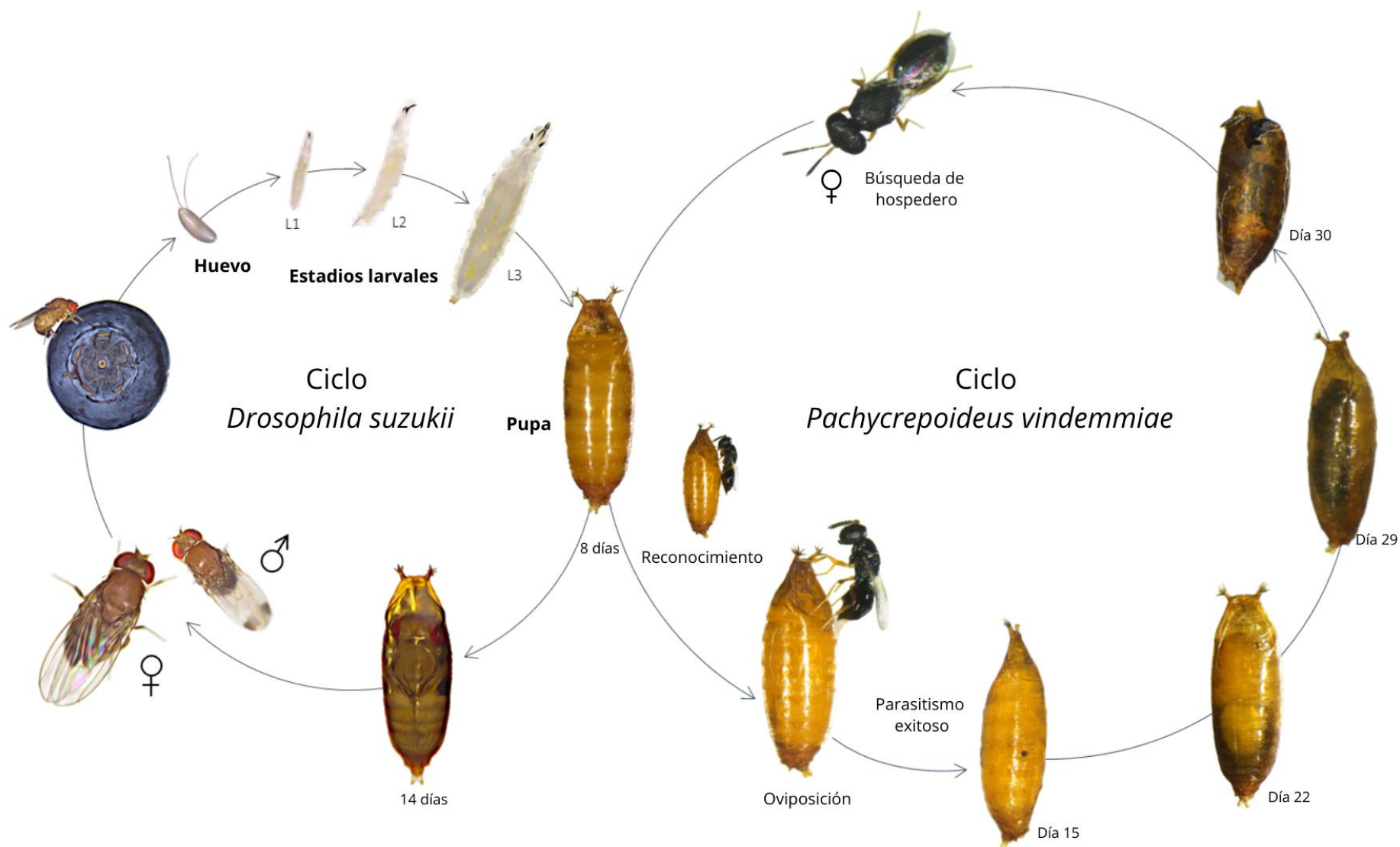


Figura 4. Ciclo de vida de *Drosophila suzukii* y de la avispa parasitoide *Pachycrepoideus vindemmiae*. Diagrama adaptado de Triñanes (2020). Ver [video ciclo de vida de P.vindemmiae](#).

5.2 Arena experimental y ensayo comportamental

La preferencia por hospedero y el comportamiento de oviposición de *P. vindemmiae* se estudió a partir de ensayos comportamentales de elección dual. Para ello se diseñó una arena experimental *ad-hoc* en impresora 3D (Figura 5), con forma de cilindro hueco con un ancho de 24 mm (diámetro interno 22 mm) y altura 7 mm. En la parte interna de la base del cilindro, se encuentran 2 pocillos donde se ubicaron las pupas de moscas utilizadas como estímulo en el ensayo. Estos pocillos son del tamaño de las pupas de *Drosophila* ($1 \times 4 \times 0,5$ mm, ancho $\times$ largo $\times$ profundidad) y están separados uno de otro a una distancia de 10 mm. En la pared opuesta, se diseñó una entrada para el parasitoide conformada por un tubo hueco de 4 mm de largo, 5 mm de diámetro externo y 3 mm diámetro interno, a la cual se le anexa una jaula de liberación donde los individuos se encuentran aislados antes del experimento (Figura 6 B).



Figura 5. Diagrama de arena experimental con sus correspondientes dimensiones.

Previo al comienzo de cada ensayo, se colocaron las pupas de los hospederos, se cubrió la arena con un porta-objetos (75 x 25 mm) y se dejaron aclimatar en la arena durante 20 minutos. Una vez finalizado este tiempo se colocó la jaula de liberación con la avispa en la entrada de la arena experimental y se filmó el comportamiento de la misma utilizando un microscopio estereoscópico (Nikon SMZ1270) durante 1 hora (Figura 6 A). Se tomó como comienzo del ensayo el momento en que la hembra ingresó de forma espontánea a la arena experimental. Finalizado el ensayo, se individualizaron las pupas

para posterior registro de emergencia y sexo del parasitoide resultante. *A posteriori*, las filmaciones se observaron y registrando los diferentes comportamientos.



Figura 6. Set experimental para filmación de ensayos de comportamiento **A.** Microscopio estereoscopio utilizado para filmar los comportamientos. Se puede observar difusor de luz para aislar el sistema de estudio del entorno. **B.** Arena experimental. En celeste se observa jaula de liberación de los individuos experimentales.

Para determinar si la arena experimental no generaba sesgo en la elección de los individuos experimentales se realizaron ensayos donde las pupas que se ofrecieron eran de la misma especie: *D. sukii* vs *D. sukii* y *D. melanogaster* vs *D. melanogaster*. Se registró la primera opción en la elección entre los pocillos donde se colocaban las pupas (izquierda o derecha).

5.3 Efecto del estado fisiológico sobre la preferencia y el comportamiento de oviposición

Se estudió el efecto de las variables estado-dependientes, estado reproductivo (cópula) y estado nutricional, sobre la preferencia y el comportamiento de oviposición de *P. vindemmiae*.

Para evaluar el efecto del estado reproductivo, se utilizaron hembras copuladas y no copuladas. Las hembras copuladas se obtuvieron mediante la exposición de éstas a machos por un mínimo de 24 horas previas al ensayo, mientras que las hembras no copuladas no tuvieron contacto con machos.

El estado nutricional de las hembras es un aspecto importante a tener en cuenta al momento de estudiar la oviposición. La maduración de los huevos puede depender del *host-feeding* (alimentación sobre el hospedero). Por lo general, el comportamiento de *host-feeding* ocurre antes o después de oviponer, por lo que es difícil metodológicamente generar un protocolo no invasivo que permita obtener hembras que solo se alimenten del hospedero y no ponga huevos. Por esta razón se decidió estudiar el efecto de la alimentación sobre el hospedero en conjunto con la experiencia previa de oviposición. Para ello las hembras estuvieron en contacto con los hospederos de 24 a 48 horas para asegurarnos de que se alimenten y ovipongan. Debido a que puede haber condicionamiento según la especie donde se realizó la experiencia previa de oviposición (Phillips, 1993), se expusieron a la mitad de las hembras experimentales a pupas de *D. suzukii* y la otra mitad a pupas de *D. melanogaster*.

Teniendo en cuenta las dos variables a analizar, se plantearon cuatro tratamientos: 1) hembras expuestas a machos (AMC, n = 23), 2) hembras con acceso a pupas del hospedero (AMH, n = 23), 3) hembras expuestas a machos y pupas del hospedero (AMHC, n = 19) y 4) hembras solas (AM, n = 29). Todas las avispas utilizadas fueron individualizadas desde el día de su emergencia en viales de vidrio con su tratamiento correspondiente, donde se le proporciono agua miel (50:50) *ad libitum* (AM) como fuente de agua y carbohidratos hasta el día del ensayo. Para los ensayos se emplearon hembras “jóvenes” que tenían de 2 a 10 días luego de su emergencia.

En cada ensayo se les presentó pupas de *D. suzukii* y *D. melanogaster* y se les permitió elegir y oviponer. Debido a que en otras especies se observó una preferencia según la edad de la pupa (Zhao et al., 2013), los hospederos utilizados en cada ensayo pertenecían a la misma franja etaria.

Se registró la especie de hospedero que eligió primero, siendo la elección determinada como el acercamiento y contacto con la pupa en cuestión. En el caso de la oviposición, se registró la postura de huevos en el hospedero y la especie a la que pertenecía. A su

vez, se registró si existía más de un evento de oviposición y la ocurrencia de *host-feeding*, indicando la especie involucrada en cada caso.

5.4 Claves químicas de contacto sobre la pupa de *D. suzukii*

Para evaluar si existen claves químicas de contacto en la superficie de la pupa de *D. suzukii*, y su potencial relevancia en el reconocimiento del hospedero por parte de *P. vindemniae*, se realizaron experimentos de elección dual utilizando la arena anteriormente descrita. Se ofrecieron pupas de *D. suzukii* con (SWD+, control) y sin (SWD-, estímulo) compuestos cuticulares superficiales. Se registró el comportamiento en video durante 15 minutos, utilizando hembras de hasta 20 días de edad alimentadas con una solución de agua-miel (50:50).

Para eliminar los compuestos cuticulares, las pupas se lavaron con hexano (solvente) durante 2 minutos, obteniendo hospederos sin compuestos cuticulares (SWD-). Para mantener el mismo tratamiento químico, los hospederos control (SWD+) se lavaron y reaplicaron los compuestos cuticulares obtenidos del lavado. De esa manera, obtuvimos pupas con sus compuestos cuticulares restaurados. Por si había un efecto de la re-aplicación de los compuestos es que a las pupas SWD- se las trató de manera similar, pero haciendo una aplicación únicamente con el solvente hexano. Luego de estos tratamientos, las pupas se dejaron secar al aire durante 20 minutos para permitir la evaporación del solvente (Figura 7). De esta manera, se ofreció a las hembras de *P. vindemniae* pupas con y sin claves químicas que pasaron por el mismo protocolo de lavado con hexano.

En estos ensayos se evaluó la primera opción y oviposición, para determinar si había una preferencia definida por aquellas pupas con claves químicas superficiales.

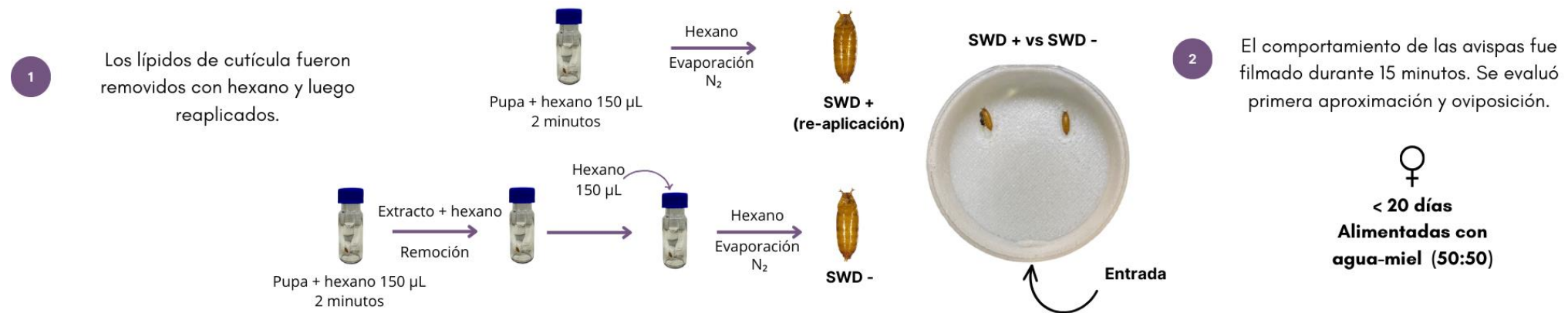


Figura 7. Diagrama del protocolo de extracción de compuestos cuticulares de la pupa de *Drosophila suzukii* y ensayo de comportamiento.

5.5 Análisis estadístico

Los ensayos donde se evaluó la preferencia por la especie de hospedero, ya sea en la primera opción (primer contacto) o en el parasitismo (oviposición), se analizaron a partir de una prueba de χ^2 (Quinn & Keough, 2002). En esta prueba los conteos registrados se compararon con lo esperado por el azar para la toma de decisiones entre dos opciones (50:50 probabilidades). En particular este análisis se llevó a cabo para comparar el efecto del estado fisiológico sobre la elección de la especie a parasitar, y con la elección de los hospederos con y sin claves químicas.

Para analizar el efecto del estado fisiológico sobre los eventos de parasitismo, eventos múltiples de parasitismo y alimentación sobre el hospedero, se utilizó un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución binomial (Quinn & Keough, 2002). Se analizaron las variables de respuesta dicotómicas parasitismo (si o no), parasitismo múltiple (si o no) y alimentación sobre hospedero (si o no) con la variable explicativa estado fisiológico (AM, AMC, AMH, AMHC). Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software R versión 4.3.2 (*R Core Team*, 2021).

6. Resultados

6.1 Evaluación de arena experimental

Para determinar que la arena experimental no tuviera sesgo en la elección de los individuos experimentales, se realizaron 23 réplicas con hembras alimentadas con aguamiel (AM). El sesgo se evaluó ofreciéndole a las hembras el mismo tipo de estímulo en ambos lados de la arena: a 10 hembras se les ofreció como estímulo dos pupas de *D. sukukii* y a 13 hembras pupas de *D. melanogaster*. Al evaluar la elección por la zona izquierda y derecha de la arena observamos que en el total de réplicas el 60 % se dirigió a la pupa que se encontraba ubicada a la izquierda y el 40 % hacia la pupa de la derecha (Figura 8). Estos resultados mostraron ser no estadísticamente significativos ($X^2_{0.025,1} = 0.146$, $p = 0.297$), por lo cual no habría sesgo en la arena experimental.

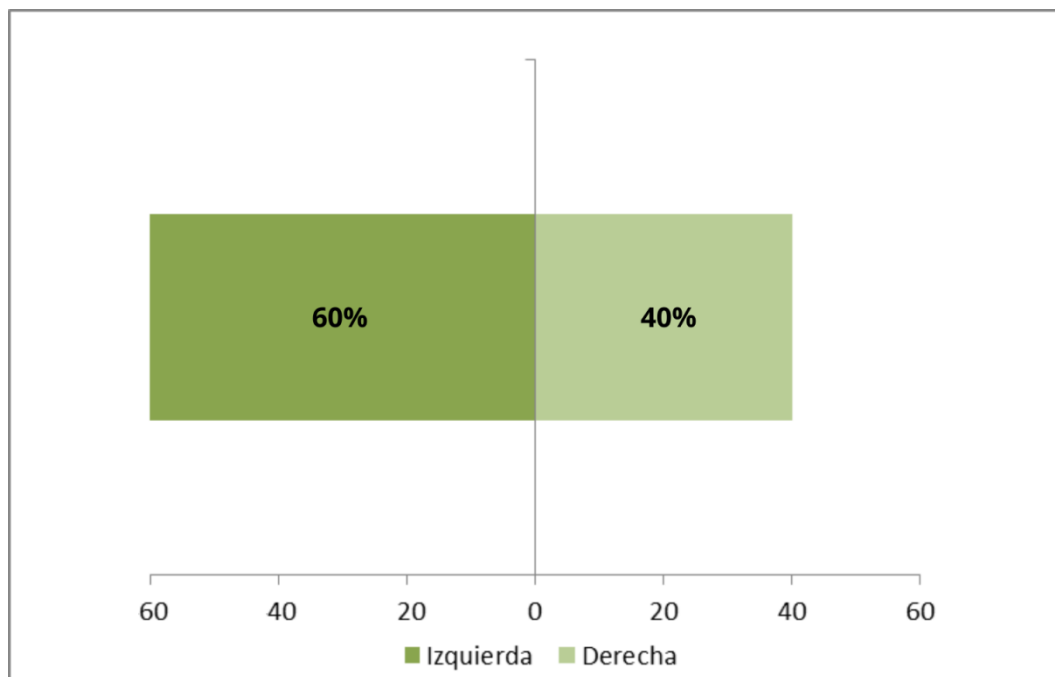


Figura 8. Porcentaje de individuos que eligieron un lado de la arena (izquierda o derecha).

6.2 Efecto del estado fisiológico sobre la elección de la hembra

Se evaluó si el estado fisiológico modificó el primer acercamiento (elección) de las hembras hacia el tipo de hospedador presente en la arena experimental. Además, se analizó si había una preferencia de las hembras de *P. vindemmiae* por la especie de hospedero más allá del estado fisiológico, para ello se sumaron todas las réplicas. Estos resultados mostraron no ser estadísticamente significativos (AM: $X^2_{0.025,1} = 1,69$, $p = 0,194$, $n = 29$; AMC: $X^2_{0.025,1} = 0,39$, $p = 0,532$, $n = 23$; AMH: $X^2_{0.025,1} = 0,04$, $p = 0,835$, $n = 23$; AMHC: $X^2_{0.025,1} = 0,05$, $p = 0,819$, $n = 19$, Total: $X^2_{0.025,1} = 1,06$, $p = 0,302$, $n = 94$).

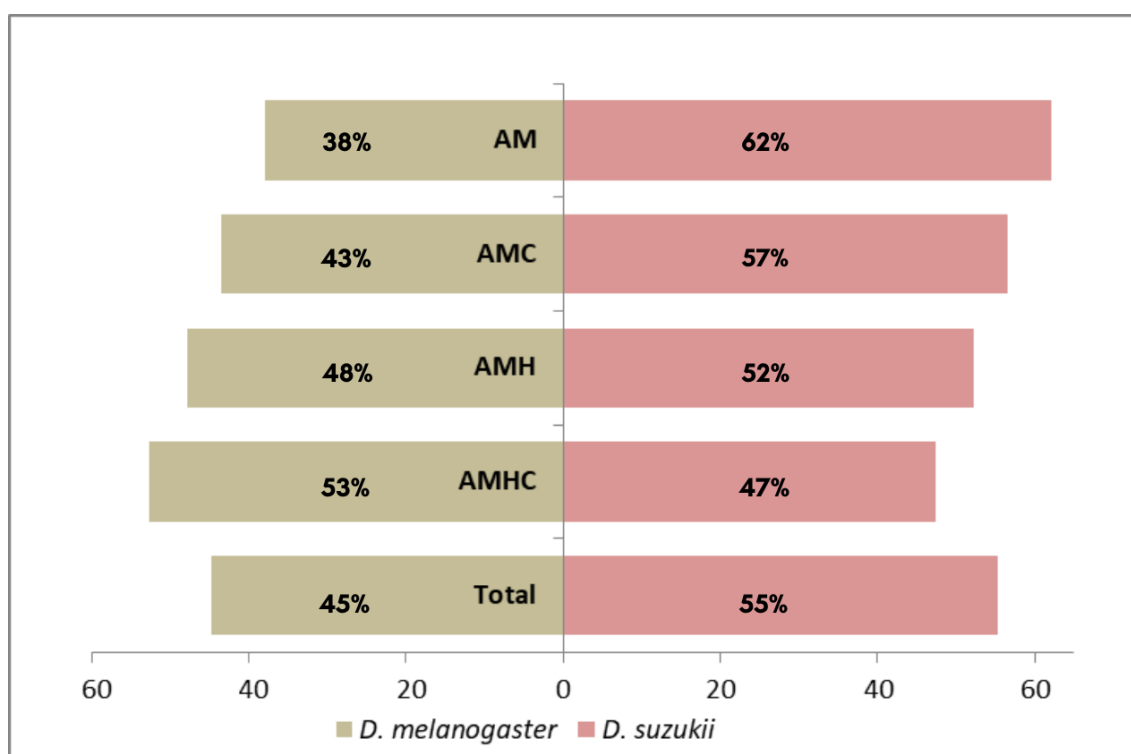


Figura 9. Porcentaje de hembras de *P. vindemmiae* que eligen como primera opción una de las especies de hospedero según el tratamiento: AM, agua miel; AMC, agua miel + copula; AMH, agua miel + *host-feeding*; AMHC, agua miel + *host-feeding* + copula. La barra *Total* indica la primera elección del hospedero por parte de las hembras independientemente del tratamiento.

6.3 Efecto del estado fisiológico sobre el parasitismo

Para el estudio del efecto del estado fisiológico sobre el parasitismo, se consideró que existía parasitismo si se observa la hembra depositar un huevo en el hospedero

(oviposición). Los resultados mostraron que para cada tratamiento hubo parasitismo por arriba del 80 % del total de ensayos. En particular, las hembras de los tratamientos de agua miel y *host-feeding* (AMH) y agua miel, *host-feeding* y cópula (AMHC) parasitaron el 100 % (Figura 10). Al analizar si la ocurrencia del parasitismo cambiaba en función del estado fisiológico de las hembras, no se observaron diferencias significativas ($GLM_{Binomial} F_{3; 90; 0,05} = 2,59$, $p = 0,06$).

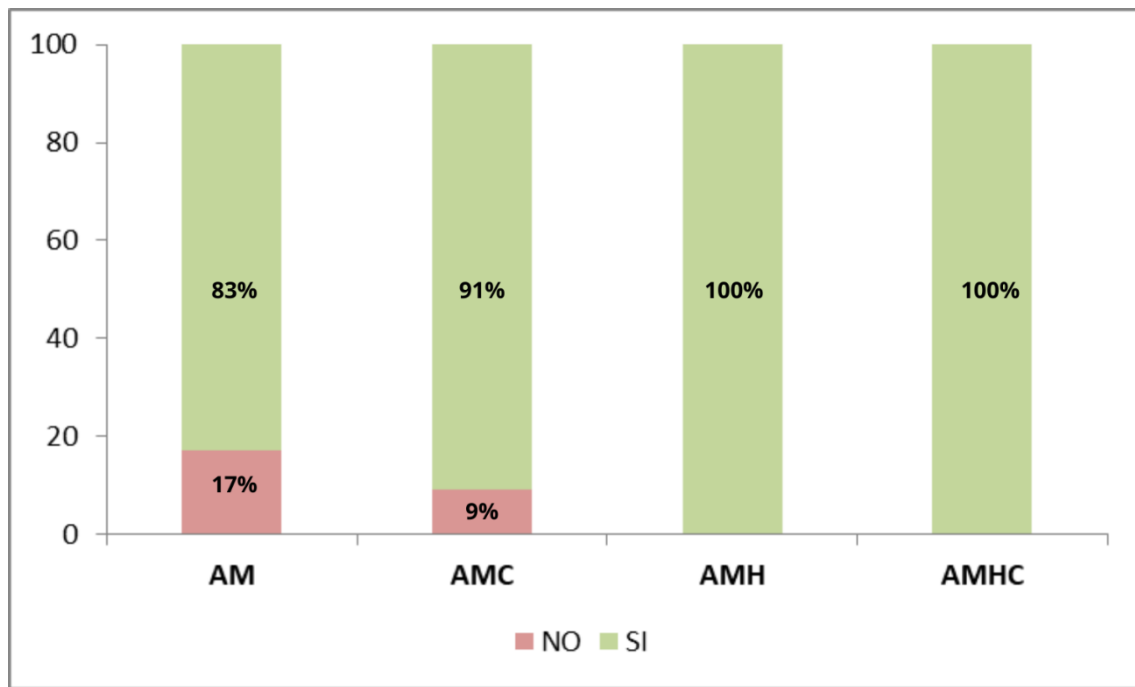


Figura 10. Porcentaje de ocurrencia de parasitismo sobre el hospedero sin importar la especie según el tratamiento: AM, agua miel; AMC, agua miel + cópula; AMH, agua miel + *host-feeding*; AMHC, agua miel + *host-feeding* + cópula. Si, refiere a la ocurrencia de parasitismo y No, no ocurre parasitismo.

Para determinar si el parasitismo cambia en función de la especie del hospedero atacado, se evaluó para cada tratamiento si existían diferencias en el número de hembras que ovipusieron en *D. sukuzii* o *D. melanogaster* (Figura 11). El análisis estadístico no mostró diferencias para cada tratamiento (AM: $X^2_{0.025,1} = 0,67$, $p = 0,414$, $n = 24$; AMC: $X^2_{0.025,1} = 0,05$, $p = 0,827$, $n = 21$; AMH: $X^2_{0.025,1} = 1,09$, $p = 0,297$, $n = 23$; AMHC: $X^2_{0.025,1} = 0,47$, $p = 0,491$, $n = 19$). Tampoco se encontró una preferencia de oviposición por parte del total de hembras experimentales ($X^2_{0.025,1} = 1,94$, $p = 0,163$, $n = 87$).

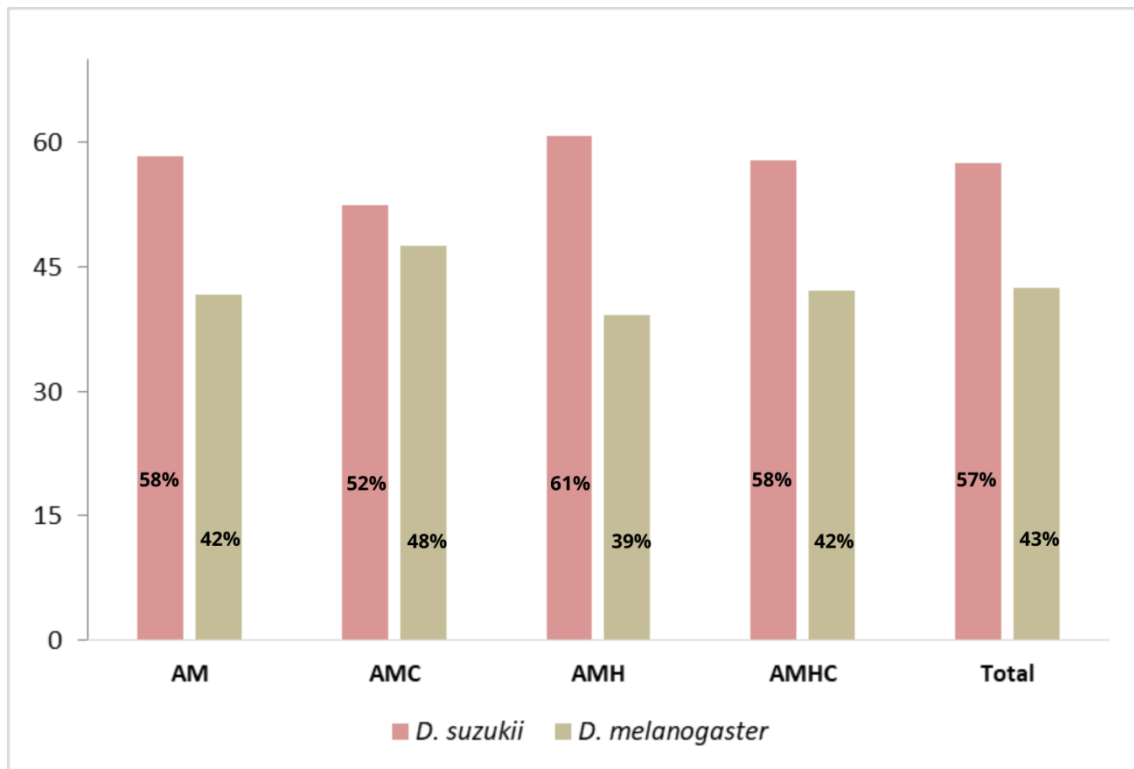


Figura11. Porcentaje de hembras de *P. vindemmiae* que parasitan primero a una de las especies de hospedero según el tratamiento: AM, agua miel; AMC, agua miel + copula; AMH, agua miel + *host-feeding*; AMHC, agua miel + *host-feeding* + copula. La barra *Total* indica la primera especie parasitada por parte de las hembras independientemente del tratamiento.

En los videos se observó que algunas hembras parasitaban más de una vez a los diferentes hospederos. Este comportamiento se definió como parasitismo múltiple y se analizó el estado fisiológico tenía un efecto sobre el mismo. Estas diferencias no mostraron ser estadísticamente significativas ($\text{GLM}_{\text{Binomial}} F_{3; 83; 0,05} = 1,65$, $p = 0,184$).

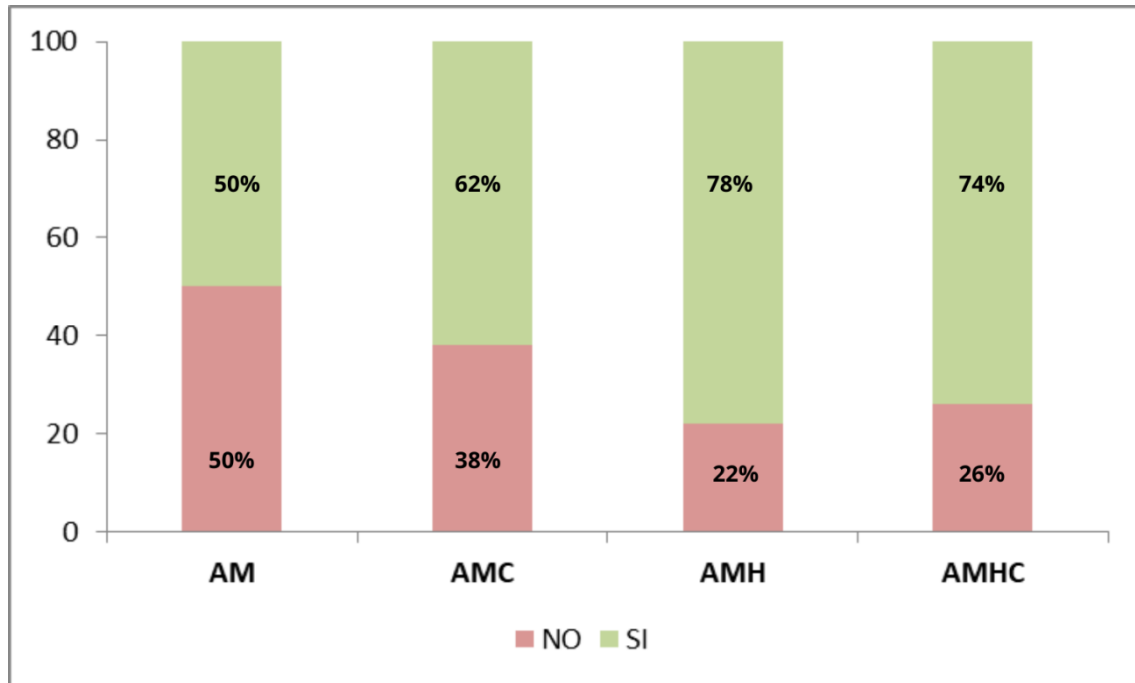


Figura 12. Porcentaje de ocurrencia de parasitismo múltiple sobre los hospederos sin importar la especie según el tratamiento: AM, agua miel; AMC, agua miel + cópula; AMH, agua miel + *host-feeding*; AMHC, agua miel + *host-feeding* + cópula. Si, refiere a la ocurrencia de parasitismo múltiple y No, no ocurre parasitismo múltiple.

6.4 Alimentación sobre el hospedero (*Host-feeding*)

En el análisis de los videos también se registró que las hembras de *P. vindemniae* se alimentaba del hospedero (*host-feeding*). Se determinó si la condición de las hembras modificaba dicho comportamiento. Al analizar la ocurrencia de *host-feeding* se observó que había una variación en la cantidad de hembras que realizaban este comportamiento, siendo el tratamiento agua miel, *host-feeding* y cópula (AMHC) el único en el cual no se registró (Figura 13). Aquellas hembras que estaban copuladas (AMC) mostraron significativamente mayores eventos de alimentación (43 %) que las alimentadas solo con agua miel (AM, 24 %) o las que previamente habían realizado *host-feeding* (AMH, 9 %) (Figura 13, $GLM_{Binomial} F_{3; 90; 0,05} = 5,56$, $p = 0,001$).

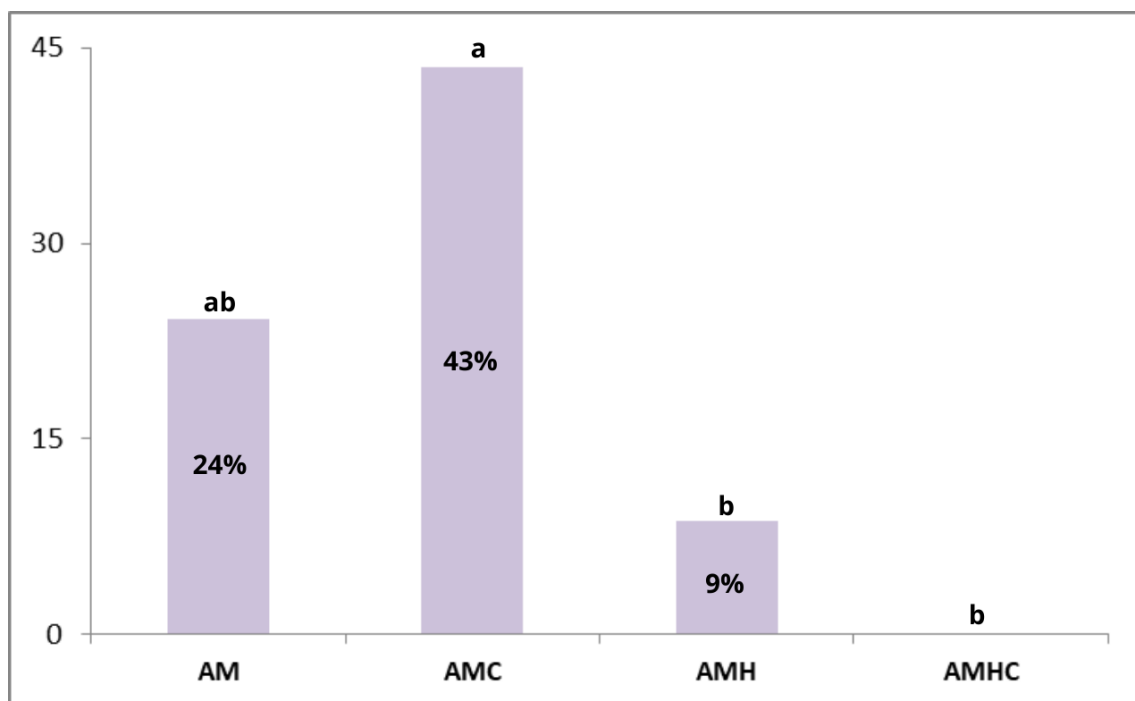


Figura 13. Porcentaje de ocurrencia de *host-feeding* sobre los hospederos sin importar la especie según el tratamiento: AM, agua miel; AMC, agua miel + cópula; AMH, agua miel + *host-feeding*; AMHC, agua miel + *host-feeding* + cópula. Letras indican diferencias significativas prueba de Tukey Post-Hoc $p < 0,05$.

Además, se analizó si había una especie preferida para realizar el comportamiento de *host-feeding*. Para ello se comparó que porcentaje de eventos de *host-feeding* ocurría en cada especie de hospedero para cada tratamiento. Se observó que las hembras copuladas y alimentadas con agua miel (AMC) tenían una preferencia marcada por alimentarse de pupas de *D. sukuzii* ($X^2_{0.025,1} = 6,40$, $p = 0,01$, $n = 10$) (Figura 14). Por su parte los tratamientos de agua miel (AM) y agua miel y *host-feeding* (AMH) no mostraron una preferencia por ninguna de las especies. En estos casos, no pudo ser constatado mediante análisis estadísticos dada la baja cantidad de réplicas (AM, $n = 7$; AMH, $n = 2$).

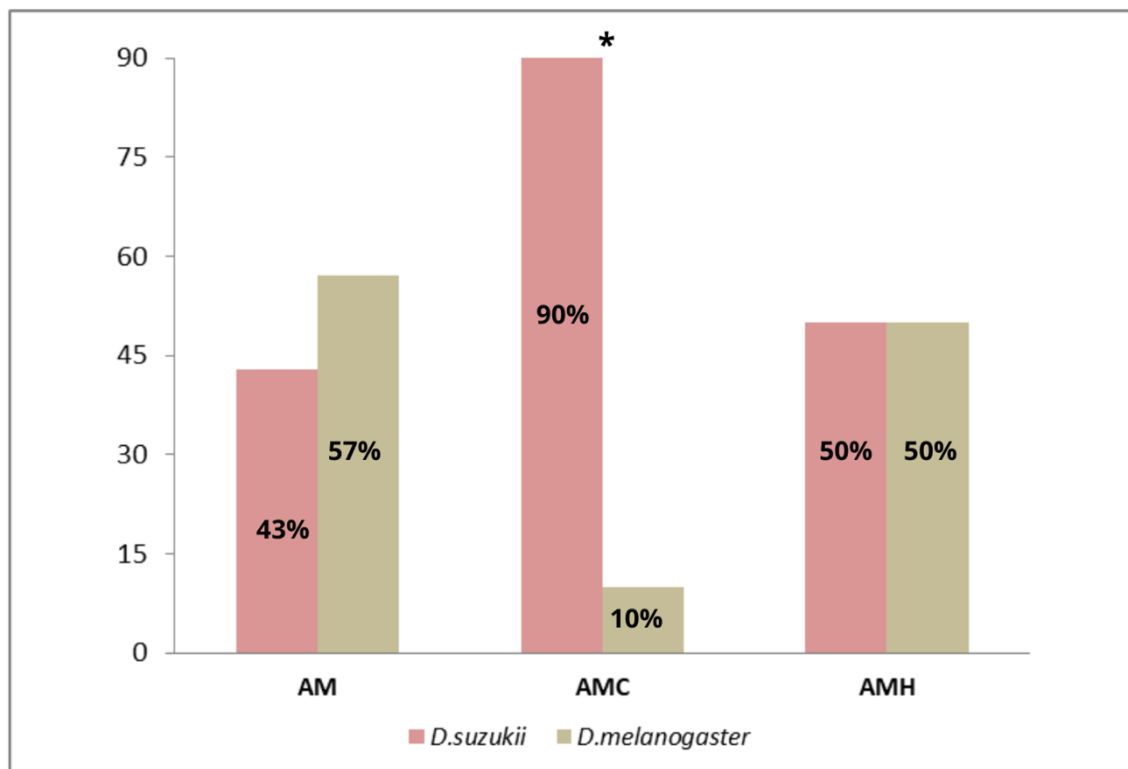


Figura 14. Porcentaje de hembras de *P. vindemmiae* que realizaron *host-feeding* considerando la especie de hospedero según el tratamiento: AM, agua miel; AMC, agua miel + cópula; AMH, agua miel + *host-feeding*; AMHC, agua miel + *host-feeding* + cópula. El asterisco (*) denota diferencias significativas (X^2 , $p < 0,05$).

6.5 Claves químicas

Se evaluó si existen claves químicas en la cutícula de la pupa de *D. sukii* que determinen la elección y aceptación del hospedero por parte de las hembras de *P. vindemmiae*. Se utilizaron hembras únicamente alimentadas con agua miel y se analizó la primera opción, acercamiento a uno de los hospederos, y la oviposición. Primero se determinó la motivación como el porcentaje de individuos que realizaron alguno de los comportamientos: de un total de 40 réplicas, el 85 % de las hembras eligió uno de los hospederos, y el 75 % de las hembras ovipuso.

Cuando se analizó el tratamiento que estas hembras eligieron y donde ovipusieron se observó que no hubo una preferencia por SWD+ o SWD-: el 53 % de las hembras estuvo en contacto con la pupa con claves químicas ($X^2_{0.025,1} = 0,73$, $p = 0,392$, $n = 34$) (Figura 15). Asimismo, para el comportamiento de oviposición no se encontró diferencias: las hembras que ovipusieron 50 % sobre SWD+ y el otro sobre SWD- (Figura 10, $X^2_{0.025,1} = 0$, $p = 1$, $n = 30$).

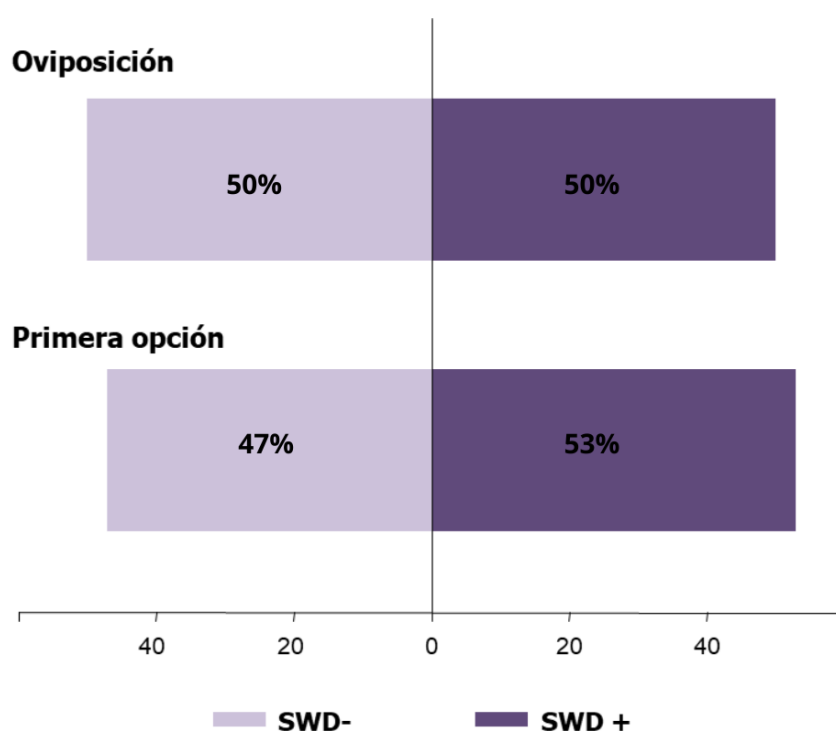


Figura 15. Proporción de hembras que se aproximaron y ovipusieron en el hospedero con claves químicas (SWD+) y sin claves químicas (SWD-).

7. Discusión

En este trabajo se estudió la preferencia por el hospedero y el comportamiento de oviposición de *P. vindemmiae* evaluando el efecto de su estado fisiológico y las claves químicas asociadas al hospedero. Para ello, se diseñó y evaluó una arena experimental *ad-hoc* para los ensayos comportamentales. Constatamos que el diseño fue funcional a los objetivos planteados y se validó mediante controles que éstas no mostraron sesgos. Es importante destacar, que este diseño puede ser utilizado y/o adaptado para el estudio de otros insectos, proporcionando así un nuevo recurso para futuros ensayos comportamentales.

A partir de esta arena experimental, se determinó si el estado fisiológico de la hembra influye en su primer acercamiento (elección) a los hospederos ofrecidos. Se observó que la elección del hospedero por parte del parasitoide no fue clara dado que no hubo preferencia por ninguna especie como se esperaba. Esto podría deberse a que en este ensayo solo se evaluaron claves de contacto o de corto alcance, las cuales podrían no ser suficientes para la elección por parte del parasitoide. Puede que la discriminación del hospedero se deba a claves internas de la pupa detectadas con el ovipositor (Goubault et al., 2011). Por esta razón, es posible que no se haya detectado una preferencia estadísticamente significativa debido a que no se registró ningún comportamiento de rechazo a partir del ovipositor como fue reportado en otros trabajos (Goubault et al., 2011). Asimismo, la pupa es un estado que reduce su actividad en el ambiente y, en consecuencia, la emisión de señales químicas como olores (Vet y Dicke, 1992), lo que podría explicar por qué no se observó un comportamiento de acercamiento diferenciado según la especie de hospedero.

El análisis del comportamiento de oviposición mostró una tendencia a que las hembras que realizaron *host-feeding*, parasitan más con respecto a las alimentadas solo con agua miel. Si bien la diferencia no fue significativa, los datos muestran cierta tendencia que sugiere que contar con mayores reservas nutricionales al momento de oviponer podría influir en el parasitismo dado que se observó que las hembras que se encuentran alimentadas con agua miel y no copuladas (AM) parasitan menos.

Respecto a la especie de hospedero parasitado, se observó que el estado nutricional tampoco afecta significativamente la elección por parte de las hembras. Sin embargo,

para todos los tratamientos analizados el porcentaje de pupas parasitadas de *D. suzukii* fue mayor que el de *D. melanogaster*. Los resultados mostraron que más del 50 % de las hembras parasitó primero a *D. suzukii*, lo que coincide con el trabajo realizado por Wolf y colaboradores (2020), donde *P. vindemmiae*, prefiere como hospedero a *D. suzukii* frente a *D. melanogaster* y *D. suboscuro*. Estos autores plantean que *D. suzukii* es un hospedero de buena calidad, ya que en número de descendientes y la proporción de hembras emergidas es mayor en comparación con otros hospederos alternativos (Wolf et al., 2020). En este trabajo no se presentan los datos sobre el número de descendientes ni la proporción de sexos, debido a que el protocolo empleado no fue el adecuado para obtener dicha información de manera completa.

Por otra parte, se observó que la ocurrencia de más de un evento de parasitismo (multiparasitismo) fue mayor al 50 % en todos los casos, siendo el tratamiento agua miel y *host-feeding* donde hubo mayor grado de parasitismo múltiple (AMH 78 %). Existen varios factores que pueden influir en la toma de decisiones de un parasitoide, como la carga de huevos, la experiencia previa en la oviposición y la disponibilidad de hospederos presentes en el microhábitat. Al encontrarse con un hospedero, las hembras pueden optar por oviponer, invirtiendo en la reproducción actual, o alimentarse del hospedero, invirtiendo en la reproducción futura (Lebreton et al., 2009). En estos experimentos las hembras con reservas altas (*host-feeding*) y copuladas invierten en la reproducción actual lo que contradice lo esperado. Por otra parte, trabajos como el de Heimpel y Casas (2008) sugieren que el tamaño del parche puede influir: parches pequeños, donde el encuentro con el hospedero es directo, es más probable que la hembra oviponga en el primer hospedero que localiza. En nuestro caso, el parche experimental era pequeño (solo 2 hospederos) lo que posiblemente influyó en la capacidad de tomar la decisión de reproducción actual o futura. No obstante, son especulaciones dado que los resultados fueron no significativos y sería pertinente cuestionarnos si la duración del ensayo (1 hora) afectó el comportamiento observado.

En línea con estas limitaciones, variables comportamentales relevantes como el tiempo de permanencia de la avispa sobre el hospedero y patrones estereotipados de comportamiento asociados al estado fisiológico no fueron analizadas en esta instancia. No obstante, estos aspectos están siendo abordados para una futura publicación, dado que el comportamiento de oviposición de *P. vindemmiae* aún no ha sido descrito en detalle.

Por su parte, el comportamiento de *host-feeding* mostró que puede depender del estado fisiológico: las hembras que estuvieron en contacto con pupas horas previas al ensayo comportamental (AMH y AMHC) realizaron una proporción baja o nula de *host-feeding*, mientras que aquellas bajo el tratamiento agua miel y cópula (AMC) presentaron una proporción significativamente mayor de eventos (43 %), en comparación con las hembras alimentadas únicamente con agua miel (AM, 24 %).

Trabajos previos demostraron que *P. vindemmiae* es una especie sinovigénica que necesita adquirir los nutrientes necesarios para la ovogénesis como son las proteínas obtenidas del *host-feeding* (Giron et al., 2002; Bezerra da Silva et al., 2019). Estos resultados podrían sugerir que las hembras copuladas (AMC), que producen huevos más costosos (huevos diploides que dan hembras), realizan *host-feeding* significativamente para obtener estos nutrientes. De acuerdo con lo reportado por Lebreton y colaboradores (2009), las hembras tienden a realizar *host-feeding* cuando son jóvenes, presentan una baja carga de huevos y/o tienen reservas nutricionales limitadas, especialmente en contextos de alta disponibilidad de hospederos. En nuestro estudio se utilizaron hembras jóvenes (2-10 días) y los hospederos estuvieron disponibles por un largo periodo de tiempo (1 hora) lo que concuerda con estos autores. Sin embargo, la carga de huevos no fue cuantificada, por lo que se desconoce si este factor pudo haber influido directamente en lo observado. En lo que respecta a la especie en donde se realizó este comportamiento, se observó una preferencia por realizar este comportamiento sobre *D. sukii* en aquellas hembras copuladas y alimentadas con agua miel (AMC). No obstante, nuestros datos aún son preliminares ya que para los otros tratamientos el número de réplicas el número de replicas fue bajo para sacar conclusiones.

Por último, los resultados del experimento de remoción (SWD-) y re aplicación (SWD+) de los compuestos cuticulares de la pupa no se encontraron diferencias en la elección entre los dos tipos de tratamientos. Aunque los extractos cuticulares no se analizaron químicamente, se observó que el protocolo no afectó el comportamiento de acercamiento (elección), ni oviposición de los individuos. La oviposición sobre las pupas tratadas no se vio afectada, lo que sugiere que estos compuestos no están involucrados en el reconocimiento del hospedero. No obstante, el uso de hidrocarburos cuticulares como señales químicas para el reconocimiento del hospedero ha sido

documentado en varias especies de parasitoides (Chiu-Magaña et al., 2009) por lo que debemos seguir indagando en este tipo de claves.

Nuestros resultados indican que *P. vindemmiae* puede ser un buen controlador biológico, ya que, independientemente de su estado fisiológico, las hembras son capaces de lograr un parasitismo exitoso. Este conocimiento contribuye a la biología de *P. vindemmiae* y puede ser aplicado si se considera su liberación a campo. Nuestros resultados concuerdan con los estudios de Bezerra da Silva y colaboradores (2019), que indican que el estado nutricional de *P. vindemmiae* no afecta su capacidad de producir descendencia viable, a diferencia de lo observado en otras especies de parasitoides. Además, esta especie muestra una notable resistencia a condiciones adversas, como la escasez de agua, alimento y hospederos, tanto en el laboratorio como en el campo (Bezerra da Silva et al., 2019). Por lo que creemos relevante seguir indagando en la biología de esta especie con el objetivo de que sea utilizado como herramienta de control para *D. suzukii*.

8. Bibliografía

- Andersson, M. (1994). *Selección sexual*. University Press, New Jersey, 599 pp.
- Asplen, M. K., Anfora, G., Biondi, A., Choi, D.-S., Chu, D., Daane, K. M., Gibert, P., Gutierrez, A. P., Hoelmer, K. A., Hutchison, W. D., Isaacs, R., Jiang, Z.-L., Kárpáti, Z., Kimura, M. T., Pascual, M., Philips, C. R., Plantamp, C., Ponti, L., Véték, G., ... Desneux, N. (2015). Invasion biology of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*): A global perspective and future priorities. *Journal of Pest Science*, 88(3), 469-494. <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0681-z>
- Bakker, K., Alphen, J. J. M. van, Batenburg, F. H. D. van, Hoeven, N. van der, Nell, H. W., Liempt, W. T. F. H. van S., & Turlings, T. C. J. (1985). The Function of Host Discrimination and Superparasitization in Parasitoids. *Oecologia*, 67(4), 572-576.
- Bell, WJ., Kipp LR & Collins RD. (1995). The role of chemo-orientation in search behavior. In: R. Cardé & Bell (Eds.), *Chemical Ecology of Insects 2*. (pp.433) Chapman & Hall.
- Bezerra Da Silva, C. S., Price, B. E., Soohoo-Hui, A., & Walton, V. M. (2019). Factors affecting the biology of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of spotted-wing drosophila (*Drosophila suzukii*). *PLOS ONE*, 14(7), e0218301. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218301>
- Bezerra Da Silva, C. S., Price, B. E., & Walton, V. M. (2019). Water-Deprived Parasitic Wasps (*Pachycrepoideus vindemmiae*) Kill More Pupae of a Pest (*Drosophila suzukii*) as a Water-Intake Strategy. *Scientific Reports*, 9(1), 3592. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40256-8>
- Chapman R.F. 2013. *The insects: Structure and function*. (5th ed), Cambridge University Press.
- Crespo, J. E. (2011). *Ecología y fisiología del comportamiento de localización del hospedador en el parasitoide Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae). Tesis de

doctorado, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Dancau, T., Stemberger, T. L. M., Clarke, P., & Gillespie, D. R. (2017). Can competition be superior to parasitism for biological control? The case of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*), *Drosophila melanogaster* and *Pachycrepoideus vindemniae*. *Biocontrol Science and Technology*, 27(1), 3-16.

<https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1241982>

Ehler, L. E. (2006). Integrated pest management (IPM): Definition, historical development and implementation, and the other IPM. *Pest Management Science*, 62(9), 787-789.

<https://doi.org/10.1002/ps.1247>

Funes, C. F., Kirschbaum, D. S., Escobar, L. I., & Heredia, A. M. (2018). La mosca de las alas manchadas, *Drosophila suzukii* (Matsamura). Nueva plaga de las frutas finas en Argentina. Tucumán, Argentina

Gabarra, R., Riudavets, J., Rodríguez, G. A., Pujade-Villar, J., & Arnó, J. (2015). Prospects for the biological control of *Drosophila suzukii*. *BioControl*, 60(3), 331-339.

<https://doi.org/10.1007/s10526-014-9646-z>

Giron, D., Rivero, A., Mandon, N., Darrouzet, E., & Casas, J. (2002). The physiology of host feeding in parasitic wasps: Implications for survival. *Functional Ecology*, 16(6), 750-

757. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2002.00679.x>

Godfray, H.C.J. (1994). Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology In: JR Krebs and T Clutton-Brock, editors. Monographs in behavior and ecology. Princeton, NJ: Princeton University Press. 473 p

Goñi, B. (2018). Guía de cultivo y experimentación en *Drosophila*. Facultad de Ciencias, Universidad de la República.

- Goubault, M., Cortesero, A. M., Paty, C., Fourrier, J., Dourlot, S., & Ralec, A. L. (2011). Abdominal sensory equipment involved in external host discrimination in a solitary parasitoid wasp. *Microscopy Research and Technique*, 74(12), 1145-1153. <https://doi.org/10.1002/jemt.21007>
- Gullan, P. J., & Cranston, P. S. (2005). *The insects: An outline of entomology* (3rd ed). Blackwell Pub.
- Hardy, I. C. W. (1994). Sex Ratio and Mating Structure in the Parasitoid Hymenoptera. *Oikos*, 69(1), 3. <https://doi.org/10.2307/3545278>
- Haye, T., Girod, P., Cuthbertson, A. G. S., Wang, X. G., Daane, K. M., Hoelmer, K. A., Baroffio, C., Zhang, J. P., & Desneux, N. (2016). Current SWD IPM tactics and their practical implementation in fruit crops across different regions around the world. *Journal of Pest Science*, 89(3), 643-651. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0737-8>
- Heimpel, G.E.; Casas, J. (2008). Parasitoid foraging and oviposition behavior in the field, pp 51-70, en *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids: From Theoretical Approaches to Field Applications*. Eds Wajnberg J., Bernstein C., van Alphen, J., Blackwell Publishing 457pp
- Heimpel, G.E., Rosenheim, J.A. (1995). Dynamic hostfeeding by the parasitoid *Aphytis melinus*: the balance between current and future reproduction. *Journal of Animal Ecology* 64, 153–167.
- Hu, H.-Y., Chen, Z.-Z., Duan, B.-S., Zheng, J.-T., & Zhang, T.-X. (2012). Effects of female diet and age on offspring sex ratio of the solitary parasitoid *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Hymenoptera, Pteromalidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 56(2), 259-262. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262012005000028>

- Jervis, M. A., Heimpel, G. E., Ferns, P. N., Harvey, J. A., & Kidd, N. A. C. (2001). Life-history strategies in parasitoid wasps: A comparative analysis of 'ovigeny'. *Journal of Animal Ecology*, 70(3), 442-458. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2001.00507.x>
- Kanzawa, T. (1939). Studies on *Drosophila suzukii* Mats. Kofu, Yamanshi Agricultural Experimental Station, Japan 49 p. Abstract in Review of Applied Entomology 29: 622.
- Phillips, D. S. (1993). Host-feeding and egg maturation by *Pachycrepoideus vindemiae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 69(1), 75-82. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1993.tb01730.x>
- Quinn, G. P., & Keough, M. J. (2002). Experimental Design and Data Analysis for Biologists. Cambridge: Cambridge University Press.
- R Core Team (2021) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://www.R-project.org>
- Ríos-Casanova, L. (2011). ¿Qué son los parasitoides? *Ciencia*, 62(2), 14–21.
- Shimbori, E. M., Costa, V. A., & Zucchi, R. A. (2020). Annotated checklist and illustrated key to parasitoids (Hymenoptera: Diapriidae, Eulophidae and Pteromalidae) of fruit flies (Diptera, Tephritidae) in Brazil. *Zootaxa*, 4858(1). <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4858.1.3>
- Triñanes, F. (2020). Caracterización comportamental del parasitoide *Trichopria anastrephae* (Hymenoptera: Diapriidae), potencial controlador de la mosca plaga *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) en Uruguay.
- van Alphen, J.J.M., & Bernstein, C., 2008. Information acquisition, information processing, and patch time allocation in insect parasitoids. In: Wajnberg, Bernstein, van Alphen, (Eds.), *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids*. Blackwell Publishing Maiden, MA, pp. 172–192.

- Van Timmeren, S., & Isaacs, R. (2013). Control of spotted wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii*, by specific insecticides and by conventional and organic crop protection programs. *Crop Protection*, 54, 126-133. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.08.003>
- Vet, L., & Dicke, M. (s. f.). Ecology of Infochemical Use by Natural Enemies in a Tritrophic Context.
- Wajnberg, E., 2006. Time allocation strategies in insect parasitoids: from ultimate predictions to proximate behavioral mechanisms. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60, 589–611.
- Wang, X., & Messing, R. H. (2004). The ectoparasitic pupal parasitoid, *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), attacks other primary tephritid fruit fly parasitoids: host expansion and potential non-target impact. *Biological Control*, 31(2), 227-236. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.04.019>
- Wang, Z., Liu, Y., Shi, M., Huang, J., & Chen, X. (2019). Parasitoid wasps as effective biological control agents. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(4), 705-715. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62078-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62078-7)
- Wolf, S., Barmettler, E., Eisenring, M., Romeis, J., & Collatz, J. (2021). Host searching and host preference of resident pupal parasitoids of *Drosophila suzukii* in the invaded regions. *Pest Management Science*, 77(1), 243-252. <https://doi.org/10.1002/ps.6013>
- Zhao, H.-Y., Zeng, L., Xu, Y.-J., Lu, Y.-Y., & Liang, G.-W. (2013). Effects of Host Age on the Parasitism of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae), an Ectoparasitic Pupal Parasitoid of *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 96(2), 451-457. <https://doi.org/10.1653/024.096.02>

