

BIOLOGÍA, FISIOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO

Influencia del hospedador sobre los parámetros biológicos del parasitoide de huevo *Anagrus flaveolus* (Hymenoptera: Mymaridae)

Hill, Jorge G.¹, Luft Albarracin, Erica¹, y Virla, Eduardo G.^{1,2}

1 CONICET - PROIMI Biotecnología, San Miguel de Tucumán, Argentina.

2 Fundación Miguel Lillo, Instituto de Entomología, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

evirla@gmail.com

RESUMEN. Los parasitoides de huevo se caracterizan por su acción preventiva sobre poblaciones de insectos plaga vectores de fitopatógenos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la incidencia de tres hospedadores, *Dalbulus maidis*, *Peregrinus maidis* y *Metadelphax propinqua*, sobre los parámetros biológicos del parasitoide de huevo *Anagrus flaveolus*. El parasitoidismo, la emergencia y el tiempo de desarrollo resultaron afectados por el hospedador. *A. flaveolus* tuvo un mejor desempeño cuando utilizó los huevos del delfácido *M. propinqua*. Los resultados aquí expuestos podrían ser de relevancia al considerar a esta especie para el control de Auchenorrhyncha vectores de enfermedades.

PALABRAS CLAVE: *Dalbulus maidis*; *Metadelphax propinqua*; parasitoidismo; parasitoide de huevo; *Peregrinus maidis*

ABSTRACT. “Host influence on biological traits of the egg parasitoid *Anagrus flaveolus* (Hymenoptera: Mymaridae)”

Egg parasitoids are characterized for their preventive action on populations of different insect vectors. In this study, we analysed the effect of three hosts (*Dalbulus maidis*, *Metadelphax propinqua* and *Peregrinus maidis*) on biological traits of the egg parasitoid *Anagrus flaveolus*. Parasitism, emergence and development time were influenced by host selection. The three hopper species were parasitised by *Anagrus flaveolus*; however, its

performance was significantly higher on *M. propinqua* eggs than on *D. maidis* and *P. maidis* eggs. These results could be relevant to evaluate this species as biocontrol agent against Auchenorrhyncha vectors of phytopathogens.

KEY WORDS: egg parasitoid; *Dalbulus maidis*; *Metadelphax propinqua*; parasitism; *Peregrinus maidis*

Los insectos de las familias Cicadellidae y Delphacidae, llamados vulgarmente “chicharritas”, son ampliamente reconocidos por los daños provocados a las plantas que les sirven de hospederos debido, principalmente, a sus comportamientos de alimentación y oviposición. Estas chicharritas pueden transmitir patógenos que afectan el rendimiento de los cultivos. *Dalbulus maidis* (DeLong) (Hemiptera: Cicadellidae) es el vector del corn stunt Spiroplasma (CSS), del maize bushy stunt phytoplasma (MBSP) y del maíz rayado fino virus (MRFV) en América, mientras que *Metadelphax propinqua* (Fieber) y *Peregrinus maidis* (Ashmead) (Hemiptera: Delphacidae) pueden ser transmisoras, entre otros patógenos, del virus del Mal de Río Cuarto (MRCV), agente causal de la enfermedad más importante del maíz en Argentina (Remes Lenicov & Paradell, 2012).

Los parasitoides de huevo prestan un servicio ecosistémico de relevancia, puesto que actúan como controladores biológicos de diferentes especies plagas regulando sus densidades poblacionales (Mills, 2010). El género *Anagrus* Haliday (Hymenoptera: Mymaridae) es uno de los más numerosos de la familia y gran parte de sus especies son parasitoides de huevos de insectos, fundamentalmente, de Cicadellidae y Delphacidae. En cuanto a los hospedadores de *Anagrus flaveolus* Waterhouse se mencionan tres cicadélidos (entre ellos *D. maidis*) y ocho delfácidos (entre los que se encuentran *M. propinqua* y *P. maidis*) (Triapitsyn, 2015).

Considerando que estos auquenorrhinos

coexisten en el agroecosistema maíz nuestro objetivo fue evaluar la influencia del hospedador (*D. maidis*, *P. maidis* y *M. propinqua*) sobre los parámetros biológicos del parasitoide *A. flaveolus*.

Para la obtención y posterior cría del mimárido se usó como hospedador al delfácido *M. propinqua*. Se expusieron durante 24 h estolones de *Cynodon dactylon* (L.) Pers para ser ovipuestos por hembras de *M. propinqua*. Estos huevos ("sentinel eggs") fueron posteriormente expuestos en condiciones de semicampo dentro de las instalaciones de la División de Control Biológico de PROIMI, y trasladados luego de 5 días a cámaras de cría bajo condiciones controladas ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $50 \pm 10\%$ HR, y 12:12 h L:O). Los adultos emergidos fueron sexados e identificados taxonómicamente.

En laboratorio se obtuvieron huevos de *D. maidis*, *M. propinqua* y *P. maidis* en plantas de maíz blanco dulce, cultivadas en macetas, de la variedad "maizón". Las hembras junto a las hojas fueron encerradas usando trampas circulares adheridas mediante clips metálicos. Las chicharritas fueron dejadas por un transcurso de 24 h y los huevos obtenidos fueron inmediatamente utilizados para los ensayos.

Cada masa de huevos fue expuesta a una hembra fecundada de *A. flaveolus* durante 24 h. A cada una de las hojas con huevos se las consideró como una réplica independiente para los análisis. Para cada hospedador, se comparó el número de huevos parasitoidizados, el porcentaje de avispas emergidas, la proporción de sexos y el tiempo de desarrollo desde huevo a adulto de acuerdo al sexo de los individuos.

Un total de 1134 huevos de *D. maidis* (n= 11), 746 huevos de *M. propinqua* (n= 10) y 970 huevos de *P. maidis* (n= 11) fueron usados en los ensayos. Las diferencias entre los parámetros biológicos registrados fueron comparadas utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia (α) de 0,05. Seguidamente, se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Dunn. La comparación entre tiempos de desarrollo para machos y hembras por hospedador fue analizada mediante la prueba de Wilcoxon Mann-Whitney. Todos los test fueron realizados en

RStudio (versión 1.1.463) usando el software estadístico R (versión 3.3.1).

El número promedio de huevos parasitoidizados por *A. flaveolus* sobre *D. maidis* fue de $0,09 \pm 0,09$ huevos (valores siguiendo a las medias indican error estándar). En el caso del delfácido *M. propinqua*, los huevos parasitoidizados fueron $33,10 \pm 4,35$; mientras que, en *P. maidis*, el parasitoidismo fue de $5,73 \pm 0,71$ huevos. Estos valores fueron significativamente diferentes, siendo *M. propinqua* el hospedador más atacado ($\chi^2 = 28,444$, $gl = 2$, $P < 0,001$). El mayor porcentaje de emergencia se contabilizó en *M. propinqua* ($86,61 \pm 4,07\%$), luego en *P. maidis* ($59,32 \pm 11,23\%$) y, en el caso de *D. maidis*, ninguna avispa emergió de sus huevos; estos porcentajes no variaron significativamente ($\chi^2 = 4,377$, $gl = 2$, $P = 0,11$). El tiempo de desarrollo fue mayor en *P. maidis* ($16,42 \pm 0,34$ días; $n = 36$) comparativamente con los adultos emergidos de *M. propinqua* ($12,79 \pm 0,09$ días, $n = 277$; prueba de Wilcoxon Mann-Whitney, $Z = -8,409$, $P < 0,001$). No hubo diferencias significativas en el tiempo de desarrollo entre machos y hembras en general ($Z = 1,323$, $P = 0,19$). En el caso de *P. maidis*, los machos se desarrollaron significativamente más rápido que las hembras ($15 \pm 0,90$ y $16,89 \pm 0,31$; $Z = 2,010$, $P < 0,05$), mientras que en *M. propinqua* no se encontraron diferencias ($12,81 \pm 0,23$ y $12,78 \pm 0,09$ días; $Z = 0,925$, $P = 0,36$). La proporción de sexos (hembras:machos) fue de 3:1 en *P. maidis* y de 3,07:1 en *M. propinqua*.

Los resultados aquí obtenidos demuestran que *A. flaveolus* presenta un mejor desempeño cuando utiliza al delfácido *M. propinqua* como hospedador. Si bien este mimárido tuvo la capacidad para parasitoidizar otros hospedadores, sus parámetros biológicos se vieron afectados negativamente cuando las hembras utilizaron como recurso los huevos de *D. maidis* (del total de huevos expuestos, solo uno resultó parasitoidizado); no obstante, en campo se pueden registrar niveles bajos de parasitoidismo de *A. flaveolus* sobre huevos centinela de *D. maidis*. Asimismo, *P. maidis* podría ser un potencial hospedador explotado por *A. flaveolus* en el agroecosistema, sin embargo, parasitismo

y tiempo de desarrollo resultarían afectados por dicha elección. Aunque las especies de *Anagrus* son tradicionalmente consideradas como generalistas (Hill et al., 2019), el hospedador puede influenciar fuertemente el desempeño de estos parasitoides como potenciales agentes de control biológico de chicharritas vectoras.

BIBLIOGRAFÍA

- Hill, J. G., Albarracín, E. L., Coll Araoz, M. V. & Virla, E. G. (2019). Effects of host species and host age on biological parameters of *Anagrus virlai* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae) and *Peregrinus maidis* (Hemiptera: Delphacidae). *Biological Control*, 131, 74-80.
- Mills, N. (2010). Egg parasitoids in biological control and integrated pest management. En F. L. Consoli, J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (Eds.). *Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma* (pp. 389-411). Dordrecht, Netherlands: Springer.
- Remes Lenicov, A. M. M. y Paradell, S. L. (2012). Morfología y biología de especies vectoras de virus y mollicutes al maíz en la Argentina (Insecta - Hemiptera Cicadomorpha - Fulgoromorpha). En M. P. Giménez Pecci, I. G. Laguna y S. Lenardón (Eds). *Enfermedades del maíz producidas por Virus y Mollicutes en Argentina* (pp. 119-150). Buenos Aires, Argentina: INTA.
- Triapitsyn S.V. (2015). Taxonomy of the genus *Anagrus haliday* (Hymenoptera: Mymaridae) of the world: an annotated key to the described species, discussion of the remaining problems, and a checklist. *Acta Zoologica Lilloana*, 59(1-2), 3-50.

Influencia de la temperatura en la orientación y aceptación en el sistema hospedador *Cyclocephala signaticollis* (Coleoptera: Scarabeidae) - parasitoide *Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae)

Martínez, Gustavo A., y Castelo, Marcela K.

CONICET-UBA, IEGEBA, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Laboratorio de Entomología Experimental, Grupo de Investigación en Ecofisiología de Parasitoides y otros Insectos (LEE-GIEP)

UBA, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Buenos Aires.
gmartinez@ege.fcen.uba.ar.

RESUMEN. Las temperaturas y sus fluctuaciones pueden afectar el proceso de parasitismo en los sistemas hospedador-parasitoide. *Mallophora ruficauda* es ectoparasitoide de *Cyclocephala signaticollis*. Las larvas del parasitoide buscan

activamente a las larvas del hospedador mediante claves químicas. Estudiamos la influencia de la temperatura ambiental (20°C y 25°C) sobre la orientación y aceptación del hospedador durante el parasitismo. Observamos orientación significativa al hospedador sólo a 25°C, pero mayor motivación de búsqueda a 20°C. Por otro lado, observamos que la proporción de aceptación del hospedador no difiere a diferentes temperaturas. Estos resultados sugieren que la temperatura podría modular el proceso de parasitismo.

PALABRAS CLAVE: Comportamiento de búsqueda; orientación; aceptación; temperatura; parasitoides

ABSTRACT. "Influence of temperature on orientation and acceptance in the host *Cyclocephala signaticollis* (Coleoptera: Scarabeidae) – parasitoid *Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae) system."

Temperatures and their fluctuations can affect the process of parasitism in the host-parasitoid systems. *Mallophora ruficauda* is an ectoparasitoid of *Cyclocephala signaticollis*. The larvae of the parasitoid actively seek host larvae through chemical cues. We studied the influence of environmental temperature (20°C and 25°C) on the orientation and acceptance of the host during parasitism. We observed significant host orientation only at 25°C, but higher search motivation at 20°C. On the other hand, we observed that the host acceptance rate does not differ at different temperatures. These results suggest that the temperature could modulate the parasitism process.

KEY WORDS: Host-searching behaviour; host orientation; host acceptance; temperature; parasitoids

En los ecosistemas, los insectos herbívoros y sus enemigos naturales son el resultado de un largo proceso de coevolución en un ambiente particular y en condiciones climáticas relativamente estables. Estas interacciones se ven afectadas por el cambio climático de varias formas, los cambios en la temperatura ambiental pueden influir en la biología de cada especie involucrada de una manera diferente. La ocurrencia de condiciones fuera de los rangos normales constituye un reto para estos organismos. Dentro de los insectos, los parasitoides son organismos que ocupan niveles tróficos altos, y donde se cree que el

impacto del cambio climático es más importante. Por lo cual, se espera que estos artrópodos se vean más afectados en su biología, dado que su especialización es mayor y dependen de un hospedador para completar su desarrollo. Este grado de dependencia es aún mayor en parasitoides koinobiontes quienes dependen de que su hospedador permanezca vivo durante todo el desarrollo (Hance et al., 2007).

Los parasitoides dependen de su habilidad de utilizar volátiles con el fin de evaluar y localizar a sus hospedadores, así como de la capacidad de sobreponerse a la respuesta inmune y al ambiente de su hospedador. La temperatura ambiental puede causar cambios en las kairomonas, alterando la capacidad de los parasitoides de localizar a los hospedadores y sus hábitats (Hance et al., 2007).

Se trabajó con el sistema parasitoide-hospedador compuesto por *Mallophora ruficauda* Wiedemann (Diptera: Asilidae), un parasitoide cuyo adulto es depredador de insectos voladores y su larva ectoparasita a las larvas de tercer estadio de *Cyclocephala signaticollis* Burmeister (Coleoptera: Scarabaeidae, gusanos blancos del suelo). En este parasitoide la búsqueda del hospedador está compartida entre la hembra y la larva. El ciclo de vida es anual y durante el verano las hembras depositan los huevos en sustratos altos (Castelo et al., 2006). Tras nacer, las larvas se entierran y comienzan la búsqueda activa del hospedador mediante claves químicas que provienen del rumen del gusano blanco. El resto del año las larvas permanecen prendidas al hospedador, hasta matarlo, empupar y emerger como adultos en el verano siguiente.

Con el fin de evaluar la influencia de la temperatura ambiental sobre el éxito en la localización y la aceptación del hospedador en del proceso de parasitismo se realizaron experimentos de orientación de las larvas de *M. ruficauda* hacia *C. signaticollis* utilizando un olfactómetro de ambiente estacionario de elección dual (Barrantes & Castelo 2014) y experimentos de aceptación del hospedador mediante ensayos de no elección (Castelo & Crespo, 2012). Se utilizaron larvas de *M.*

ruficauda obtenidas de desoves recolectados en pastizales de Moreno (34° 37' 02,8" S; 58° 48' 24,3" W), Mercedes (34° 37' 08,1" S; 59° 27' 27,2" W) y General Rodríguez (34° 40' 05,9" S; 59° 01' 30,4" W) durante 2018 y 2019. Los desoves se mantuvieron individualmente en tubos hasta el nacimiento de las larvas. Una vez nacidas, se separaron en frascos con 100 ml de tierra y se mantuvieron a tres temperaturas de cría (20°C, 25°C y 32°C) hasta utilizarlas en los experimentos. Los hospedadores fueron colectados en el suelo de las mismas zonas, luego fueron determinados a nivel de especie, mantenidos a las mismas temperaturas que las larvas parasitoides y alimentados con zanahoria fresca. Cada ensayo de orientación consistió en liberar una larva en la zona central de la arena experimental y registrar al cabo de 60 min su posición. De esta manera se obtuvieron tres respuestas posibles: elección por alguna de las zonas laterales (estímulo: hospedador vivo o control: vacío) o no decisión si la larva permanecía en la zona central. Luego, se calculó el porcentaje de larvas que se orientaron al hospedador y el porcentaje de individuos que tomaron alguna decisión (motivación). Los ensayos se realizaron entre las 10:00 - 17:00 horas en oscuridad, a $24 \pm 2^\circ\text{C}$, en días de presión atmosférica superior a 1008 hPa. Se realizaron tres tratamientos con individuos de ambas especies del sistema criados a 20°C (n= 62), 25°C (n= 60) y 32°C (n= 0) durante 52 días. Además se realizaron las series control sin estímulos a 20°C (n= 62), 25°C (n= 63) y 32°C (n= 0) con el fin de validar el correcto funcionamiento de la arena experimental. Luego se realizaron los experimentos de aceptación del hospedador por parte de *M. ruficauda*, donde los gusanos blancos criados a cada temperatura fueron sometidos a parasitismo artificial durante 72 horas por larvas criadas a la misma temperatura. Posteriormente se observó bajo lupa si los parasitoides se prendieron al hospedador y se calculó el porcentaje de larvas aferradas (20°C: n= 97, 25°C: n= 64). Los experimentos del tratamiento a 32°C no se realizaron debido a que los individuos de ambas especies no sobrevivieron a la cría.

Se observó, en primer lugar, orientación

significativa de las larvas hacia los hospedadores a 20°C y a 25°C, observando diferencias significativas entre ambos tratamientos (20°C: 68%, 25°C: 83%). Además, se observó que las larvas de *M. ruficauda* criadas a 20°C presentaron significativamente mayor motivación de búsqueda de hospedadores que a 25°C, es decir que un mayor porcentaje de individuos realizó movimientos exploratorios por la arena (20°C: 76%, 25°C: 64%). Luego se observó que en los controles las larvas de *M. ruficauda* se orientaron al azar en la arena experimental, mostrando que el dispositivo no muestra problemas de simetría. En cuanto a la aceptación del hospedador se observó que en ambos tratamientos las larvas de *M. ruficauda* se aferraron, y no hubo diferencias significativas en el porcentaje de aferramiento entre las temperaturas (20°C: 76%, 25°C: 69%).

Esto podría significar que la temperatura ambiental es un modulador de diferentes aspectos del proceso de parasitismo de este sistema hospedador - parasitoide, ya que la temperatura estaría influenciando la orientación al hospedador pero no estaría afectando el proceso de aceptación. Estos resultados sugieren que la temperatura podría estar afectando las diferentes etapas del proceso de parasitismo en este sistema de manera diferencial, modulando las fases de detección y búsqueda. En este contexto, la temperatura ambiental podría estar modulando la actividad locomotora de las larvas, la capacidad de detección de claves del hospedador por parte del parasitoide y la liberación de las kairomonas en los hospedadores, afectando la adquisición de información durante el proceso de orientación.

BIBLIOGRAFÍA

- Barrantes, M. E. & Castelo, M. K. (2014). Host specificity of the larval parasitoid *Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae) and the influence of the age on this process. *Bulletin of Entomological Research*, 104, 295-306.
- Castelo, M. K. & Crespo, J. E. (2012). Incidence of non-immunological defenses of soil white grubs on parasitism success of *Mallophora ruficauda* larva (Diptera: Asilidae). *Insects*, 3, 692-708
- Castelo, M. K., Ney-Nifle, M., Corley, J. C. & Bernstein, C. (2006). Oviposition height increases parasitism success by the robber fly *Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae). *Behavioral Ecology*

and *Sociobiology*, 61(2), 231-243.

- Hance, T., van Baaren, J., Vernon, P. & Boivin, G. (2007). Impact of Extreme Temperatures on Parasitoids in a Climate Change Perspective. *Annual Review of Entomology*, 52, 107-126

Observaciones sobre el comportamiento de cópula de *Gonatopus chilensis* (Hymenoptera: Dryinidae) y primer registro de canibalismo sexual en Hymenoptera (*)

Virla, E. G. ^{1,2} y Espinosa, M.S. ^{3,4}

1 Fund. M. Lillo, Instituto de Entomología, San Miguel de Tucumán, Argentina

2 CONICET, PROIMI, Biotecnología, San Miguel de Tucumán, Argentina

3 Universidad Nacional de Chilecito (UNDEC), Chilecito, La Rioja, Argentina

4 CONICET Chilecito-La Rioja, Argentina

(*) Trabajo en prensa en *Acta Ethologica* (2019). DOI 10.1007 / s10211-019-00315-9

evirla@gmail.com

RESUMEN

El canibalismo sexual es un fenómeno registrado en una amplia variedad invertebrados. Los Dryinidae son parasitoides exclusivos de los subórdenes Cicadomorpha y Fulgoromorpha. Su ecología y biología son en general poco conocidas. En esta comunicación, estudiamos rasgos biológicos de *Gonatopus chilensis*, informando dos hechos novedosos para esta familia: ocasionalmente las hembras vírgenes fueron copuladas repetidas veces por el mismo macho, y luego del apareamiento, las hembras jóvenes ocasionalmente capturaron al macho y devoraron su gáster. Este es el primer registro de canibalismo sexual para Dryinidae y, por lo que sabemos, para el orden Hymenoptera.

PALABRAS CLAVE: Gonatopodinae; parasitoides; host-feeding; *Gonatopus chilensis*; *Metadelphax propinqua*

ABSTRACT. "Observations on the mating behaviour of *Gonatopus chilensis* (Hymenoptera: Dryinidae) and first record of sexual cannibalism in Hymenoptera"

Sexual cannibalism is a phenomenon registered in a wide variety of invertebrates. The Dryinidae are exclusive parasitoids of the suborders Cicadomorpha and Fulgoromorpha. Their ecology and biology are generally little known. In this communication, we studied biological traits of *Gonatopus chilensis*, reporting

two novel facts for dryinid species: occasionally the virgin females were re-mated by the same male, and after mating, occasionally young females captured the male and devoured their gaster. This is the first record of sexual cannibalism for the Dryinidae and, as far as we know, for the Order Hymenoptera.

KEY WORDS: Gonatopodinae; parasitoids; host-feeding; *Gonatopus chilensis*; *Metadelphax propinqua*

El canibalismo sexual implica la acción de devorar al sexo opuesto antes, durante o inmediatamente después de la cópula. Es un fenómeno raro, que se ha registrado en una amplia variedad de invertebrados depredadores, sobre el cual la mayor información refiere a arañas o mantis.

Los Dryinidae (Hymenoptera) son parasitoides exclusivos de hemípteros en los subórdenes Cicadomorpha y Fulgoromorpha (Olmi & Virla, 2014). La biología es poco conocida, y la falta de información sobre diversos aspectos de la reproducción es notable (Espinosa & Virla, 2018). La mayoría de las hembras se caracterizan por sus patas delanteras queladas, con las que agarran y sostienen a sus huéspedes durante la oviposición y/o la alimentación (host - feeding). En algunas especies de drínidos, la mortalidad del hospedador causada por depredación es mayor que por parasitismo. El comportamiento de apareamiento de los drínidos es poco conocido, con solo un par de referencias a algunas especies como *Aphelopus malaleucus* (Dalman) (Aphelopinae) y dos especies de Gonatopodinae.

Gonatopus chilensis (Olmi) (Gonatopodinae) es un conocido parasitoides de Delphacidae (Hemiptera: Fulgoroidea) en América del Sur (Olmi & Virla, 2014). Es koinobionte y práctica host - feeding (Virla, 1995).

Para llevar a cabo estudios biológicos de *G. chilensis*, hemos mantenido una población de laboratorio durante más de diez meses. La colonia provino de ninfas y adultos de *Metadelphax propinqua* (Fieber) parasitoidizadas por *G. chilensis* recolectadas en pastizales de pasto Bermuda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers. (Poaceae). Las colectas se realizaron en San Miguel de Tucumán (26° 48' 36" S, 65° 14' 27"

W, 465 msnm, provincia de Tucumán. Las observaciones se realizaron en tubos de vidrio (25cm x 2cm); los hospedadores eran alimentados con *C. dactylon*. La colonia de *G. chilensis* se mantuvo en cámaras en condiciones controladas, 25 ± 2°C, 70-80% HR y 14: 10 (L: D). Se utilizaron ninfas de *M. propinqua* como hospedadores.

Durante los experimentos, registramos dos fenómenos nuevos para *G. chilensis* en particular y para Dryinidae en general: 1) a veces las hembras vírgenes fueron apareadas repetidas veces por el mismo macho; 2) ocasionalmente, las hembras jóvenes capturaron al macho y, después de aparearse, devoraron su gáster.

Las parejas recién emergidas de *G. chilensis* se aparearon entre dos minutos y casi dos horas después del encuentro inicial. Los machos persiguen a las hembras golpeando el sustrato con las antenas e intercalando algunos pasos para hacer vibraciones rápidas de las mismas. Durante la persecución, se observó frecuentemente que el macho agita vigorosamente sus alas a intervalos. El macho inserta sus genitales desde abajo con los de la hembra, apoyado en el sustrato en sus patas traseras y medianas, batiendo sus alas, y con las patas delanteras apoyadas en el gáster de la hembra. Durante la cópula, la hembra puede permanecer inmóvil o mover sus antenas a veces realizando movimientos de limpieza con sus mandíbulas. Es común observar que las hembras se mueven varios centímetros con el macho mientras continúa la cópula. Después de la cópula, las hembras descansan durante varios segundos y se limpian. En general los machos descansan más tiempo. La cópula dura entre 8 y 40 segundos. Como ya se señaló, las hembras vírgenes ocasionalmente se volvieron a aparearse en repetidas ocasiones con el mismo macho.

Con respecto al comportamiento de apareamiento en Gonatopodinae, solo hay estudios previos para *Gonatopus distinctus* Kieffer y *G. bicolor* (Haliday). No hay información sobre el sistema de apareamiento en drínidos, o sobre si son especies monandrias (un único apareamiento después de la emergencia) o poliandrias (apareamiento múltiple a lo largo de la vida). En

Gonatopodinae, las especies son solitarias, aunque se describió superparasitismo (más de un saco larvario por huésped). La falta de información sobre la frecuencia de apareamiento en los himenópteros es notoria.

Hemos observado en varias ocasiones que las hembras, después de la cópula, intentan atrapar a su pareja. El comportamiento de acecho es muy similar al que hacen para practicar host-feeding. Las hembras permanecen inmóviles durante uno o dos segundos con sus patas delanteras queladas hacia delante, pero en general se detienen en esa posición y no intentan atrapar al macho. En una ocasión pudimos registrar que, después de aparearse, una hembra joven (de menos de 1 día de alimentada) logró capturar al macho y devoró su gáster, mientras que el resto del cuerpo permaneció intacto.

Con respecto a la hembra que ataca y mata al macho después de la cópula, a nuestro entender, este es el primer registro de tal comportamiento en los himenópteros. Hemos observado docenas de cópulas a lo largo de los meses, pero relativamente pocos intentos de capturar al macho, por lo que el canibalismo sexual sería una acción ocasional en esta especie. La canibalización del macho puede permitir que una hembra evite la inanición o que produzca una mayor cantidad de huevos. Existen cuatro razones por las cuales las hembras se alimentan de los machos: (1) disponibilidad de alimentos; (2) calidad inferior de machos; (3) alta agresividad indiscriminada y hereditaria; (4) falta de reconocimiento específico del macho. Para los drínidos, sin embargo, entre los cuales los machos son escasos en la naturaleza, las posibles razones para el comportamiento observado podrían ser la limitación de comida o que la hembra confunde al macho con un potencial hospedador disponible para la alimentación.

Las decisiones de las hembras parasitoides para practicar host-feeding dependen de su estado fisiológico, de factores relacionados con reservas de energía, nutrición y reproducción. Durante nuestros estudios, se verificó que *G. chilensis* practica host-feeding durante toda su vida y que las hembras son muy voraces (Virla & Espinosa, en preparación). Este

comportamiento también se observó para *Gonatopus bonaerensis* Virla, donde el host-feeding durante toda la vida proporcionarían los nutrientes necesarios para sostener la producción de huevos a lo largo de toda la vida (Espinosa y Virla, 2018).

Todavía se desconoce cómo el canibalismo sexual puede aumentar la fecundidad de *G. chilensis*, ni se sabe si la cópula repetida influye en el éxito reproductivo de este parasitoides. Se llevarán adelante estudios sobre estos comportamientos, los cuales podrían establecer la frecuencia del canibalismo sexual, comprendiendo mejor sus consecuencias para la aptitud reproductiva de las hembras.

BIBLIOGRAFÍA

- Espinosa, M. S. & Virla, E. G. (2018). Egg maturation by *Gonatopus bonaerensis* (Hymenoptera: Dryinidae) when provided with two species of planthopper (Delphacidae) as hosts. *Biological control*, 117, 123-127.
- Olmí, M. & Virla, E. G. (2014). Dryinidae of the Neotropical region (Hymenoptera: Chrysidoidea). *Zootaxa*, 3792(1), 1-534.
- Virla, E. G. (1995). Biología de *Pseudogonatopus chilensis* Olmí 1989 (Hymenoptera: Dryinidae). *Acta Entomológica Chilena*, 19, 123-127.

Estudio del efecto materno en *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

Viscarret, Mariana M., Cagnotti, Cynthia L., Andorno, Andrea V., Hernández Carmen M., Cuello, Eliana M., y López Silvia

INTA EEA Castelar, Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola.
Laboratorio de Investigaciones para Lucha Biológica. Castelar, Buenos Aires, Argentina.
viscarret.mariana@inta.gov.ar

RESUMEN

El efecto materno en *Trichogramma* spp. está influenciado por el fotoperíodo experimentado por las hembras en estado pupal. Se evaluó el efecto materno en *T. pretiosum* como método de almacenaje. Huevos del huésped recién parasitados (generación materna) fueron expuestos a tres fotoperíodos: 3L:21O, 9L:15O y 16L:8O. Una vez emergidos los adultos se los dejó parasitar nuevos huevos que fueron colocados a 11 ± 2°C y oscuridad total hasta la

emergencia de la F1. La proporción de adultos emergidos aumentó al incrementar el período de luz recibido por la generación materna, mientras que el período de almacenaje (47-57 días) fue similar entre tratamientos.

PALABRAS CLAVE: *Trichogramma pretiosum*, efecto materno, almacenaje

ABSTRACT. "Study of the maternal effect in *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)"

The maternal effect on *Trichogramma* spp is determined by the photoperiod conditions on the pupal female development. In this study, the maternal effect on *T. pretiosum* was evaluated as a method to store the parasitoid. Newly parasitized eggs (maternal generation) were kept under different light / dark cycles: 3L:21D, 9L:15D and 16L:8D. Once the adults emerged, new eggs were exposed to parasitism. These parasitized eggs (offspring generation) were allocated under a moderated low temperature ($11 \pm 2^\circ\text{C}$) and complete darkness. The adult emergence (F1) increased as the light period increases while the storage period (47-57 days) was similar between treatments.

KEY WORDS: *Trichogramma pretiosum*, maternal effect, storage

La disponibilidad de herramientas de almacenaje de enemigos naturales es fundamental para mantener altos niveles de producción, proveer eficiencia y flexibilidad en la cría, sincronizar la liberación de enemigos naturales durante los períodos críticos de la plaga, etc. (van Lenteren y Tommasini, 2002; Colinet y Boivin, 2011). Habitualmente esto se realiza a través del almacenaje a bajas temperaturas. Sin embargo, también el fotoperíodo aplicado en la etapa preimaginal de la generación materna puede tener influencia en el almacenaje bajo condiciones moderadas de frío (cerca del umbral de temperatura inferior) de la descendencia. Este efecto, llamado "efecto materno", ha sido estudiado en varias especies de insectos como estrategia para mejorar su almacenaje (Denlinger 1998). En el presente trabajo se evaluó el efecto materno como estrategia de almacenaje para el parasitoide partenogenético telitóquico *Trichogramma pretiosum* (Riley). Huevos de *Sitotroga*

cerealella (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae), previamente tratados con luz ultravioleta, fueron expuestos a hembras recién emergidas de *T. pretiosum* durante 24 h. Estos huevos parasitados fueron mantenidos bajo tres diferentes fotoperíodos: 3L:21O, 9L:15O y 16L:8O, constituyendo la generación materna. Una vez emergidas las hembras de la generación materna, fueron expuestas a huevos de *S. cerealella* (tratados con luz ultravioleta) durante 24 h. Estos huevos parasitados (Filial 1) fueron colocados a $11 \pm 2^\circ\text{C}$ y oscuridad completa. Una vez que se produjo la emergencia de los adultos de la F1, para cada tratamiento (fotoperíodo), parte del material fue enviado al freezer para disecar aquellos huevos parasitados no emergidos y el resto fue colocado bajo condiciones de cría para registrar otra posible emergencia. Se registraron las siguientes variables para la F1: tiempo de emergencia, porcentaje de emergencia, adultos deformes y estado de desarrollo preimaginal en aquellos huevos donde no emergieron parasitoides luego del almacenaje. Las condiciones de cría fueron $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura y 50-70% de humedad relativa. El porcentaje de emergencia fue significativamente mayor para aquellos descendientes cuyas madres fueron sometidas a 16L:8O, no observándose diferencias entre los otros dos fotoperíodos ($F_{2,27}:15,57$; $p < 0,05$). El tiempo de emergencia fue similar entre tratamientos (entre 47 y 57 días de almacenaje). No se observaron adultos deformes. Luego del primer pico de emergencia masiva, para todos los tratamientos, se observó un segundo pico de emergencia entre 11 y 17 días posteriores al primer pico. La disección de los huevos parasitados no emergidos en el primer pico mostró que los individuos del parasitoide se encontraban en estado de larva, pupa o adulto. Los resultados obtenidos indican que usando un fotoperíodo de 16L:8O en la generación materna es posible almacenar la F1 alrededor de 50 días con un porcentaje de emergencia de adultos del 64,9%. De acuerdo a las disecciones y a la presencia de un segundo pico de emergencia, el material parasitado que no emergió inicialmente se encontraba en estado de quiescencia (como larva, pupa o adulto), de modo tal que al cambiar las condiciones ambientales de 11 a 25°C se

produjo la emergencia de estos parasitoides.

BIBLIOGRAFÍA

- Colinet, H. & Boivin, G. (2011). Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. *Biological Control*, 58, 83–95.
- Denlinger, D. L. (1998). Maternal control of fly diapause. In T. A. Mosseau and C. W. Fox (eds), *Maternal effects as adaptations*, (pp 275-287). New York, USA: Oxford University Press.
- van Lenteren, J. & Tommasini, M. (2002). Mass production, storage, shipment and quality control of natural enemies. In R. Albajes, M. L. Gullino, J. C. van Lenteren, and Y. Elad (eds). *Mass Production, Storage, Shipment and Quality Control of Natural Enemies, Integrated Pest 480 and Disease Management in Greenhouse Crops*. (pp. 276–294). Netherlands. Springer.

Expresión génica asociada a la quimiodetección en el parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae)

Wulff, Juan P.¹, Rivarola, Máximo²,
Devescovi, Francisco¹, Segura, Diego¹ y
Lanzavecchia, Silvia¹

1 Instituto de Genética "E.A. Favret", CICVYA (INTA) – IABIMO, CONICET. Buenos Aires, Argentina.

2 Instituto de Investigación Biotecnología, CICVYA (INTA) – IABIMO, CONICET. Buenos Aires, Argentina.

wulff.juan@inta.gov.ar

RESUMEN. *Diachasmimorpha longicaudata* es un endoparasitoide considerado el principal agente de control biológico de moscas de la fruta de importancia económica. Las hembras parasitan larvas de moscas como *Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). Existen numerosos estudios ecológicos y comportamentales sobre el comportamiento de forrajeo en *D. longicaudata*. Inversamente, ningún estudio se ha centrado en los mecanismos moleculares asociados a este comportamiento. Después de un análisis bioinformático, filogenético y un perfil de expresión tisular, se caracterizaron 14 OBP y siete CSP. Posteriormente, se realizaron análisis funcionales de comportamiento y moleculares. Los resultados preliminares evidenciaron genes asociados al comportamiento de forrajeo.

PALABRAS CLAVE: comportamiento de forrajeo; proteínas de unión a odorantes (OBP); proteínas quimiosensoriales (CSPs); tefritidos; control biológico

ABSTRACT. "Gene expression associated with chemodetection in the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae)"

Diachasmimorpha longicaudata is an endoparasitoid considered the main biological control agent of fruit flies of economic importance. Females parasitize larvae of fly such as *Ceratitis capitata* and *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). There are numerous ecological and behavioral studies about *D. longicaudata* foraging behavior. Conversely, no studies have focused on the molecular mechanisms associated with this behavior. After a bioinformatic and phylogenetic analysis and tissue expression profile, 14 OBPs and seven CSPs were characterized. Subsequently, functional analyses were performed through behavioral and molecular tests. Preliminary results showed genes linked to the foraging behavior.

KEY WORDS: foraging behavior; odorant binding-proteins (OBPs); chemosensory proteins (CSPs); tephritids; biological control

Diachasmimorpha longicaudata es un endoparasitoide que parasita larvas tardías de moscas tales como *C. capitata* y *A. fraterculus* las cuales actúan como su hospedador (Suarez et al., 2014). En nuestro país las mencionadas especies de moscas revisten importancia económica debido al daño directo que ocasionan sobre los frutos y a las medidas cuarentenarias impuestas por los países libres de la plaga (Ovruski et al., 2012). Actualmente para *C. capitata* existen métodos específicos de control, como la Técnica del Insecto Estéril (TIE), mientras que para *A. fraterculus* sólo se utilizan métodos químicos, incluidos en programas de manejo integrado de plagas (Aruani et al., 1996). Recientemente en Argentina se ha comenzado a evaluar a *D. longicaudata* como agente de control biológico de moscas tefritidas. Los beneficios de su uso frente a la utilización de insecticidas se sustentan en un mayor grado de especificidad sobre la plaga y menor impacto perjudicial sobre el entorno (Ovruski et al., 2012; Suarez et al., 2014). Se han realizado numerosos estudios ecológicos y comportamentales de *D. longicaudata* en relación con el proceso de parasitación abarcando tanto al parasitoide, al hospedador y distintos frutos infestados por la mosca (Ovruski et al., 2012). Sin embargo, no existen estudios sobre los mecanismos

moleculares asociados a este comportamiento. Por otro lado, los métodos actuales de monitoreo de la eficiencia de *D. longicaudata* como agente de control biológico se limitan al muestreo de fruta infestada para el registro de las tasas de parasitismo (Schliserman et al., 2016). En este sentido, nuestro grupo posee una línea de trabajo asociada a la identificación de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) potencialmente atrayentes para el parasitoide, extraídos a partir de frutos bajo diferentes condiciones. Tomando en conjunto la información sobre los genes asociados a la percepción de olores y VOCs, en ambos casos, potencialmente asociados a este comportamiento, consideramos estar sentando las bases que posibiliten un mejor entendimiento del proceso de quimiorrecepción relacionado al comportamiento de forrajeo con fines de oviposición. El objetivo del trabajo es caracterizar genes codificantes de quimiorreceptores (tanto a nivel de secuencia, filogenia y perfil de expresión y ensayos comportamentales asociados al silenciamiento transcripcional de los genes). Una segunda etapa, consiste en el estudio de la interacción entre los compuestos atrayentes del parasitoide que sean identificados y los receptores para los que se observe una asociación al comportamiento de forrajeo.

Respecto a la identificación de genes asociados a la quimiorrecepción en *D. longicaudata*, se realizó una búsqueda bioinformática (tBLASTn) sobre el assembly de novo de *D. longicaudata*, utilizando como query una base de secuencias proteínicas de genes relacionados con quimiorrecepción, seleccionadas a partir de los genomas de: *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae); *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) y cuatro himenópteros parasitoides: *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae), *F. arisanus*, *M. demolitor* y *Diachasma alloeum* (Hymenoptera: Braconidae). Por este medio se identificaron 17 genes codificantes de proteínas de unión a odorantea (OBPs) y 11 proteínas quimiosensoriales (CSPs). Respecto al análisis filogenético y caracterización de las secuencias, en forma previa, se obtuvieron las secuencias completas de todos los genes (a excepción de las CSPs 2, 3 y 8 completas en al menos un 70%). El modelo seleccionado para el análisis fue una

comparación por el método de inferencia bayesiana, utilizando secuencias proteínicas de genes ortólogos, obtenidas a partir de los genomas y transcriptomas de las siguientes especies: *A. mellifera*, *N. vitripennis* y *F. arisanus* o *D. alloeum*. Se seleccionó a *D. alloeum* en el caso de las OBPs y *F. arisanus* para CSPs, dada la mejor cantidad y calidad de secuencias en cada caso. Los alineamientos se realizaron por Clustal Ω y el análisis a nivel de dominio mediante InterPro. Se obtuvo un árbol para cada familia de proteínas a través de los cuales se pudo observar el agrupamiento de nuestros genes en estudio en relación con las secuencias de las especies evolutivamente emparentadas a *D. longicaudata*. Para el perfil de expresión de proteínas odorantes y quimiosensoriales en *D. longicaudata*, se validaron por RT-PCR las secuencias de los transcriptos seleccionados in silico del transcriptoma de *D. longicaudata*, en antena y ovipositor de hembras parasitoides sexualmente maduras.

Tomando en consideración el análisis bioinformático, los alineamientos de secuencias y dominios, los agrupamientos en los árboles y los perfiles de expresión logramos descartar o confirmar cada secuencia. Respecto a las OBPs, tres secuencias fueron descartadas por ser una contaminación proveniente del hospedador (*C. capitata*). Por otro lado, para CSPs, se descartaron dos secuencias, una por ser una contaminación proveniente de *C. capitata*, y la otra por ser un artefacto de la secuenciación. Además, tres de las secuencias de CSPs resultaron ser potenciales isoformas de un mismo gen, con diferencias menores a nivel de nucleótidos, pudiéndose tratar de mutaciones puntuales o un error de secuenciación, a confirmar con futuros ensayos. El número definitivo de genes para los ensayos funcionales fue de 14 OBPs y siete CSPs.

Posteriormente se realizó el silenciamiento transcripcional de genes candidatos a estar asociados a la percepción de larva hospedadora (CSPs y OBPs). Los genes fueron seleccionados de acuerdo a la información mencionada con anterioridad (análisis a nivel de secuencia, filogenético y expresión por tejidos). Dados perfiles de expresión similares para todos los genes, se dio prioridad a aquellos genes que

poseían alto grado de homología con secuencias de especies emparentadas (y se agrupan dentro de los mismos clados en el análisis filogenético) y/o hayan sido funcionalmente evaluados en esas especies. Se utilizó como técnica de silenciamiento transcripcional ARN interferente (dsRNA) que actúa a nivel del ARNm. El dsRNA fue aplicado vía oral, para lo cual fue suspendido en agua con colorante alimenticio azul a fin de identificar los insectos que consumieron el mismo. El grupo control recibió dsRNA específico para el gen eGFP (enhanced green fluorescent protein), previamente utilizado como dsRNA control.

Actualmente el trabajo se encuentra en la etapa de evaluación de los genes seleccionados (previamente silenciados), mediante ensayos de comportamiento de forrajeo. Al momento, los resultados preliminares mostraron que algunos de los genes están vinculados al comportamiento de forrajeo con fines de oviposición.

BIBLIOGRAFÍA

- Aruani, R., Ceresa, A., Granados, J. C., Taret, G., Peruzzotti, P., & Ortiz, G. (1996). Advances in the National Fruit Fly Control and Eradication Program in Argentina. In B. A. McPherson & G. J. Steck (Eds). *Fruit Fly Pests: A World Assessment of Their Biology and Management* (pp. 521-530). DelRay Beach, FL, USA: St. Lucie Press.
- Ovruski, S. M., & Schliserman, P. (2012). Biological Control of Tephritid Fruit Flies in Argentina: Historical Review, Current Status, and Future Trends for Developing a Parasitoid Mass-Release Program. *Insects*, 3(3), 870-888.
- Schliserman, P., Aluja, M., Schuneman Hofer, M. R., Rull, J., & Ovruski, S. M. (2016). Temporal Diversity and Abundance Patterns of Parasitoids of Fruit-Infesting Tephritidae (Diptera) in the Argentinean Yungas: Implications for Biological Control. *Environmental entomology*, 45(5), 1184-1198.
- Suarez, L., Murúa, F., Lara, N., Escobar, J., Taret, G., Rubio, J., Van Nieuwenhove, G., Bezdjian, L., Schliserman, P. & Ovruski, S. M. (2014). Biological Control of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Argentina: Releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in Fruit-Producing Semi-Arid Areas of San Juan. *Natural Science*, 06, 664-675.