

Tesis de Posgrado

Comportamiento de localización y patrones de explotación de hospedadores (Coleóptera: Scarabaeidae) por el moscardón cazador de abejas *Mallophora ruficauda* (Díptera: Asilidae)

Castelo, Marcela K.

2003

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Castelo, Marcela K.. (2003). Comportamiento de localización y patrones de explotación de hospedadores (Coleóptera: Scarabaeidae) por el moscardón cazador de abejas *Mallophora ruficauda* (Díptera: Asilidae). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3661_Castelo.pdf

Cita tipo Chicago:

Castelo, Marcela K.. "Comportamiento de localización y patrones de explotación de hospedadores (Coleóptera: Scarabaeidae) por el moscardón cazador de abejas *Mallophora ruficauda* (Díptera: Asilidae)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2003. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3661_Castelo.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

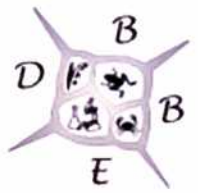


UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES



Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental
Laboratorio de Fisiología de Insectos

**Comportamiento de localización y patrones de explotación
de hospedadores (Coleoptera: Scarabaeidae) por el
moscardón cazador de abejas *Mallophora ruficauda*
(Diptera: Asilidae)**



3661

Marcela K. Castelo

DIRECTORES: Angel Capurro, Juan Carlos Corley y Claudio Lazzari

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas
2003

Comportamiento de localización y patrones de explotación de hospedadores (Coleoptera: Scarabaeidae) por el moscardón cazador de abejas *Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae)

Autor: Lic. Marcela K. Castelo

Directores: Dr. Angel Capurro, Dr. Juan Carlos Corley y Dr. Claudio Lazzari

Resumen

El moscardón cazador de abejas, *Mallophora ruficauda*, es la plaga de la apicultura más importante de la región pampeana argentina. Durante el estado adulto es depredador de insectos como las abejas melíferas y durante el estado larvario es parasitoide de larvas de Scarabaeidae, comúnmente denominadas gusanos blancos del suelo. El objetivo de esta Tesis es estudiar aspectos básicos de la biología y ecología de esta especie, con especial énfasis en los mecanismos de localización y explotación de sus hospedadores. Particularmente, se estudia cuál es la contribución relativa de las hembras y de las larvas en estos procesos y cómo son los patrones de parasitismo resultantes. *Mallophora ruficauda* deposita los huevos en ootecas, las cuales son puestas en vegetación herbácea elevada y alambrados. Las hembras regulan el número de huevos por ooteca en función de la altura de oviposición en el sustrato, depositando más cantidad de huevos a medida que se incrementa la altura. Además, seleccionan fuertemente la altura de oviposición en el sustrato, la cual es 1,25-1,50 m sobre la vegetación (principalmente sobre *Carduus acanthoides*) y 1,00-1,25 m sobre los alambrados. Las larvas son dispersadas por el viento y este proceso sería clave para el encuentro del hospedador. La altura mínima de oviposición, estimada mediante un modelo de simulación, que asegura la segregación de las larvas y maximiza el éxito reproductivo del parasitoide es 1,25 m, y es coincidente con la selectividad determinada a campo en ambos sustratos. La temporada de oviposición de *M. ruficauda* tiene una duración de 80 días. Las ootecas poseen 327,7 huevos en promedio y el período embrionario es de siete días. La fertilidad media es 96,2 % y no es afectada por fenómenos negativos de denso-dependencia. La larva de *M. ruficauda* es capaz de localizar activamente a su hospedador dentro del suelo usando información química, y la respuesta de orientación esta mediada por claves originadas en el intestino posterior del gusano blanco. Los

gusanos blancos son capaces de detectar a los coespecíficos a través de una señal química que sería la misma que la usada por las larvas de *M. ruficauda* para localizar a sus hospedadores. Las larvas parasitoides que se encuentran superparasitando a un hospedador no evitan a sus coespecíficos y no se movilizan a otro hospedador libre de larvas. *Mallophora ruficauda* parasita a siete de las nueve especies de gusanos blancos que habitan en su área de distribución, con marcada preferencia hacia *Cyclocephala signaticollis*. Entre las especies de gusano blanco, *C. signaticollis* tiene mayor probabilidad de ser parasitada, incluso cuando individuos de otras especies se encuentran accesibles al parasitoide. El porcentaje de parasitismo disminuye a medida que aumenta la densidad del hospedador, en las escalas espaciales más pequeñas que el radio de acción de los parasitoides adultos. La denso-dependencia inversa hallada en el parasitismo sería explicada por el comportamiento de localización simultáneo entre hembras y larvas. Se observó que a escalas mayores que el radio de acción de los parasitoides adultos, el patrón de denso-dependencia se diluye, y el parasitismo es independiente de la densidad del hospedador. Este fenómeno podría ser consecuencia de limitaciones de las hembras para detectar sitios de alta calidad de hospedadores. *Mallophora ruficauda* posee un limitado potencial como regulador de las poblaciones de gusanos blancos, sugiriendo que las acciones de control sobre sus poblaciones en los apiarios, traerían aparejadas limitadas consecuencias sobre la dinámica poblacional de sus hospedadores.

Palabras clave

Parasitoides, Asilidae, Scarabaeidae, escala espacial, selectividad, denso-dependencia, especificidad, plagas, moscas ladronas, gusanos blancos, planidium, superparasitismo, dispersión por viento.

Host location behavior and host exploitation patterns (Coleoptera: Scarabaeidae) by the bee robber fly *Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae)

Author: Lic. Marcela K. Castelo

Supervisors: Dr. Angel Capurro, Dr. Juan Carlos Corley y Dr. Claudio Lazzari

Summary

Mallophora ruficauda is the most important pest of apiculture in the Pampas region of Argentina. As an adult, it is a predator of insects like honey-bees and as a larva it behaves as a parasitoid of Scarabaeidae larvae, commonly known as white grubs. The aim of this Thesis was to study ecological and biological aspects of this species, setting the emphasis on both the host location and host exploitation mechanisms. Specifically it reports the results of studies on the relative contributions of females and larvae to these processes, and on the resulting patterns of parasitism. *Mallophora ruficauda* lays eggs in egg-clusters which are placed on tall grasses and wire fences. Females are able to regulate the number of eggs per egg-cluster according to oviposition height on substrates, laying a greater number of eggs when the height is increased. Furthermore, they select the oviposition height, which is 1.25-1.50 m on vegetation (mainly on *Carduus acanthoides*) and 1.00-1.25 m on wire fences. Larvae are dispersed by wind and this process would be key for host encounter. The minimum oviposition height, estimated by means of a simulation model, that secures maximal spread of larvae and hence maximizes the parasitoid fitness is 1.25 m, which is in agreement with the height selectivity measured in the field. The oviposition season of *M. ruficauda* has a duration of 80 days. Egg-clusters have 327.7 eggs in average and egg development takes seven days. Mean fertility is 96.2 % and is not affected by negative density dependence phenomena. *Mallophora ruficauda* larvae are able to actively locate its host underground, using chemical information and the orientation response is mediated by cues originated in the hindgut of the white grub. White grubs are able to detect conspecifics through chemical signals that would be the same that those used by the larvae of *M. ruficauda* to locate hosts. Parasitoid larvae superparasiting a host do not avoid conspecifics and do not move to another healthy host. *Mallophora ruficauda* parasites seven out of nine species of white grubs

present within its distribution area, with a remarkable preference towards *Cyclocephala signaticollis*. Among white grub species, *C. signaticollis* has the highest probability to be parasitized, even when individuals of other species are available to parasitoids. The percentage of parasitism decreases when the host density increases, at spatial scales lower than the home range of adults. Inverse density dependent patterns observed may be explained by the host location behavior performed simultaneously by females and larvae. It was observed that at spatial scales higher than the home range of adult parasitoids, the density dependence pattern is diluted, and parasitism is independent of the host density. This may be a consequence of the constraints of females to detect sites with high host quality. *Mallophora ruficauda* has a limited potential a regulating agent of white grub populations, suggesting that the control actions against *M. ruficauda* populations in apiaries bring minimal consequences on the host population dynamics.

Key words

Parasitoids, Asilidae, Scarabaeidae, spatial scale, selectivity, density dependence, specificity, plagues, robber flies, white grubs, host seeking larvae, planidium, superparasitism, wind dispersal.

Agradecimientos

Deseo expresar mi agradecimiento a las siguientes personas e instituciones que de un modo u otro participaron en la realización de este trabajo:

A mis tres directores de Tesis: Angel Capurro, Juan Carlos Corley y Claudio Lazzari, por el asesoramiento brindado permanentemente, por su interés y por su dedicación. Sin su valioso aporte la realización de esta Tesis no hubiese sido posible. Cada uno de ellos ha participado en forma crucial en el desarrollo de mi Doctorado, especialmente cuando las cosas se pusieron difíciles.

A la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA) y al CONICET, por el otorgamiento de las becas de iniciación y de postgrado que me permitieron realizar el Doctorado.

Al Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, y al Laboratorio de Ecología de la Universidad Nacional de Luján, por brindarme el lugar de trabajo para realizar la Tesis.

A las instituciones que brindaron su apoyo: Agencia de Extensión Rural INTA Pigüé, Cooperativa Apícola de Pigüé y La Abadía del Niño Dios, por los fondos otorgados y el apoyo logístico para realizar las campañas de muestreo.

Al Programa de Intercambio entre Francia y Argentina ECOS SUD-SECyT (N°A98B05 a Carlos Bernstein, Jorge Rabinovich y Angel Capurro) y al CONICET (Proyecto PIP N° 0529/98 a Angel Capurro) quienes hicieron posible los viajes de intercambio y la financiación parcial de este trabajo.

A Fernando Momo y a Rosa Quiroga de la Universidad Nacional de Luján, quienes me introdujeron a la temática de *M. ruficauda* y me alentaron en la realización del trabajo.

A Carlos Bernstein, por todo el apoyo profesional y personal brindado durante mis dos pasantías junto al Grupo de Ecología del Comportamiento y Dinámica de Poblaciones, en el Laboratoire de Biométrie, Génétique et Biologie Evolutive, Université Claude Bernard - Lyon 1, Lyon, Francia, y por sus aportes en la discusión de este trabajo. También agradezco a su esposa Estela toda la calidez que me brindó mientras estuve lejos de casa.

A Federico Hanssen, mi esposo, por su inmensa ayuda con las computadoras, equipo de fotografía, muestreos de campo, y especialmente por su participación en el desarrollo del programa de Visual Basic para simular la dispersión de larvas de *M. ruficauda*. Agradezco además su continuo aliento en los momentos de debilidad y la total libertad que me dió para poder realizar este trabajo.

A mis padres, Piti y José, por su impulso permanente para lograr mis objetivos y por la ayuda brindada en todo momento.

A mi hermana Inés y a Javier, por su ayuda durante las campañas de muestreo y por su compañía constante.

A mis compañeros del Laboratorio de Fisiología de Insectos, con quienes compartí el desarrollo de esta Tesis.

A “las narices”, quienes me acompañaron durante los momentos de estudio y descanso, dándome momentos de felicidad y cariño genuino.

A todas las personas que gentilmente colaboraron y se esforzaron para realizar los muestreos de campo: Mauricio Rabinovich, Oscar Rinaldi, Noemí Ferreyra, Federico Hanssen, Javier Guillem, Nélica Castelo y José Castelo. Agradezco especialmente a Jorge Couderc todo su apoyo en la realización de los relevamientos de desoves y de gusanos blancos, y la atención recibida durante mis estadias en Pigüé.

A todos los productores apícolas que cedieron sus colmenares para realizar los estudios: Al establecimiento apícola “La Abadía del Niño Dios” de Victoria, Entre Ríos y a los productores particulares de Mercedes y de Pigüé: Juan Carlos González, Javier Guillem, Alberto Sasone, Raúl Olleta y Juan Carlos Cori.

Hacia fines del año 2000, Angel Capurro falleció en un gravísimo accidente automovilístico. Fue muy duro continuar el trabajo sin él. Tuve que sobreponerme no sólo a la pérdida de mi Director, sino también a la de una excelente persona y un valioso investigador para mi formación. A partir de este punto, dos personas hicieron posible que yo pudiera concluir mi Tesis: Juan Corley y Claudio Lazzari. Juan, quien fue también mi Director desde el comienzo, me guió con sus ideas en los momentos más cruciales y me brindó su apoyo permanentemente en la discusión de los resultados. Por otra parte, Claudio, quien fue en primera instancia mi Tutor de Estudios en la Facultad, abrió las puertas de su laboratorio con total generosidad para que yo pudiera finalizar mi trabajo experimental, tomando además el papel de Director y orientándome en todo lo necesario para la realización de mi Doctorado. A ellos quiero expresarles todo mi cariño y agradecimiento.

A MIS PADRES

Por estar siempre y por alentarme a realizar todos mis proyectos.

A FEDERICO

Por su complicidad, por su absoluta incondicionalidad y por su continuo apoyo.

A ANGEL

Por transmitirme su pasión por la ecología, por su confianza y por sus enseñanzas.

“Cuenta la historia que el rey Salomón podía hablar con las bestias, las aves, los peces y los gusanos. También puedo hacerlo yo. Desde luego, no con tantos animales como se dice lo hacía el bíblico rey, por lo cual concedo que en este punto quedo por debajo de sus facultades. Aun así hablo con algunas especies, a las que conozco bien, y no necesito para ello ningún anillo encantado. En este punto me permito sentirme un poco por encima del sapientísimo monarca, el cual, sin su anillo, era incapaz de comprender el lenguaje de los animales que le eran más familiares... Esta acción de Salomón pudo ser muy prudente o muy estúpida; por lo que a mí respecta, no considero muy noble emplear anillos mágicos en el trato con los animales. Sin tales encantamientos, los seres vivos cuentan, al que sabe escucharlos, las historias más maravillosas, que son precisamente las verídicas. Y en la Naturaleza, la verdad supera en belleza a todo lo que puedan imaginar nuestros poetas, que son los únicos encantadores que existen...”

Konrad Lorenz (1949). Er redete mit dem Vieh, den Voegeln und den Fischen [El anillo del rey Salomón (Hablabá con las bestias, los peces y los pájaros)].

“...cuando consideremos que cada producción de la Naturaleza ha tenido una larga historia; cuando contemplemos cada estructura e instinto complejos como el resultado de muchos dispositivos, cada uno de ellos útil a su poseedor... ¡cuánto más interesante (hablo por propia experiencia) se hará el estudio de la historia natural!”

Charles Darwin (1859). The Origin of the Species (El Origen de las Especies).

Índice

Resumen	2
Summary	4
Agradecimientos	6
Índice	10
CAPÍTULO 1: Introducción General.....	12
Biología de los parasitoides.....	13
Clasificación de los parasitoides	14
Búsqueda y localización de hospedadores por los parasitoides.....	14
Patrones de parasitismo	17
Biología del sistema en estudio	19
Biología del moscardón cazador de abejas <i>Mallophora ruficauda</i>	19
Ciclo de vida.....	21
Importancia económica y perjuicios causados por <i>M. ruficauda</i>	24
Biología de los hospedadores	26
Objetivos e hipótesis de investigación	28
Objetivo general	28
Preguntas y predicciones	28
CAPÍTULO 2: Contribución de las hembras en la localización del hospedador: Selección de sitios de oviposición.....	30
Introducción	31
Área de estudio.....	33
Ubicación de los colmenares.....	33
Sitios de estudio	34
Años de estudio	35
Materiales y métodos	35
Resultados	41
Discusión.....	46
CAPÍTULO 3: Contribución de las larvas en la localización del hospedador: Claves involucradas en la orientación	52
Introducción	53
Materiales y métodos	56
Insectos.....	56
Experimentos.....	56
Localización del hospedador por el parasitoide	57
Experimento 1: Respuesta al hospedador vivo y su entorno de cría.....	57
Experimento 2: Respuesta al entorno del hospedador	57
Experimento 3: Respuesta a extractos cuticulares del hospedador.....	58
Experimento 4: Respuesta a extractos de fracciones del cuerpo del hospedador	60
Experimento 5: Respuesta a extractos de diferentes órganos de la parte posterior del hospedador	60
Localización de coespecíficos por <i>C. signaticollis</i>	61
Experimento 6: Respuesta a señales de coespecíficos.....	61
Evitación de coespecíficos por el parasitoide.....	62
Experimento 7: Respuesta a la presencia de coespecíficos en el mismo hospedador.....	62
Resultados	62
Localización del hospedador por el parasitoide	63
Experimento 1: Respuesta al hospedador vivo y su entorno de cría.....	63
Experimento 2: Respuesta al entorno del hospedador	63

Experimento 3: Respuesta a extractos cuticulares del hospedador.....	63
Experimento 4: Respuesta a extractos de fracciones del cuerpo del hospedador.....	63
Experimento 5: Respuesta a extractos de diferentes órganos de la parte posterior del hospedador.....	65
Localización de coespecíficos por <i>C. signaticollis</i>	66
Experimento 6: Respuesta a señales de coespecíficos.....	66
Evitación de coespecíficos por el parasitoide.....	67
Experimento 7: Respuesta a la presencia de coespecíficos en el mismo hospedador.....	67
Discusión.....	67
CAPÍTULO 4: Patrones de parasitismo.....	73
Introducción.....	74
Materiales y Métodos.....	76
Muestreo de abundancia de los hospedadores en el suelo.....	76
Análisis de especificidad.....	79
Análisis de denso-dependencia.....	80
Análisis de la distribución de hospedadores en el suelo.....	80
Resultados.....	81
Análisis de especificidad.....	82
Análisis de la denso-dependencia.....	84
Análisis de la distribución de hospedadores en el suelo.....	85
Discusión.....	85
CAPÍTULO 5: Localización mixta del hospedador, dispersión de larvas y el éxito reproductivo del parasitoide.....	91
Introducción.....	92
Modelo de dispersión de las larvas de <i>Mallophora ruficauda</i>	94
Desarrollo del modelo de simulación.....	95
Supuestos principales y condiciones del modelo.....	99
Estimación de parámetros biológicos.....	100
Materiales y Métodos.....	100
Resultados.....	101
Tasas de parasitismo y superparasitismo.....	102
Estimación del éxito reproductivo del parasitoide.....	103
Discusión.....	108
CAPÍTULO 6: Conclusiones.....	111
Conclusiones desde el contexto ecológico.....	112
Conclusiones desde el contexto aplicado.....	114
CAPÍTULO 7: Bibliografía general.....	117
CAPÍTULO 8: Apéndices.....	131
Apéndice I.....	132
Antecedentes sobre el control de <i>M. ruficauda</i> y algunas causas posibles de la aparición del <i>M. ruficauda</i> como plaga.....	132
Apéndice II.....	134
Metodología utilizada en el análisis de los datos del Capítulo 2 y tablas de resultados obtenidos.....	134
Apéndice III.....	138
Tablas de resultados obtenidos en los muestreos efectuados en los estudios del Capítulo 4.....	138
Apéndice IV.....	148
Programa del modelo desarrollado en Visual Basic para realizar las simulaciones del Capítulo 5.....	148

CAPÍTULO 1:

Introducción General



Biología de los parasitoides

Un parásito es por definición un organismo que obtiene sus nutrientes de individuos hospedadores de otras especies (Begon et al. 1995a). Los parásitos más especializados son aquellos cuya presencia es tolerada por el hospedador, lo cual implica la existencia de algún tipo de comportamiento por parte del parásito que le permita no ser reconocido. Entre estos parásitos se encuentran los parasitoides, que consiguen un control sobre el crecimiento del hospedador, el cual permanece con vida mientras sus recursos son utilizados por el parásito, pero muere una vez que las larvas han madurado (Begon et al. 1995a, Vet et al. 2002). Según Godfray (1994) un parasitoide es un insecto cuya larva se alimenta exclusivamente sobre el cuerpo de otro artrópodo, su hospedador, matándolo para poder completar su desarrollo. Por lo tanto un parasitoide es definido por el hábito alimentario de su larva. Si bien diversos autores prefieren basar la definición de parasitoide en el hecho de que terminan con la vida del hospedador e incluyen grupos tales como hongos o nematodos (Eggleton & Gaston 1990), Godfray (1994) propone restringir el uso del término a los insectos.

En muchas formas los parasitoides son organismos intermedios entre depredadores y parásitos: como depredadores matan al hospedador en su ataque, como parásitos necesitan de un hospedador para desarrollarse y madurar (Godfray 1994). El hábito parasítico ha evolucionado probablemente de modo repetido, a partir del hábito depredador de una especie ancestral que se alimentaba de insectos vivos o muertos. A partir de la íntima relación con sus hospedadores, la evolución ha llevado a una explosiva especiación y radiación adaptativa según la forma en que los parasitoides localizan, parasitan y se desarrollan en otros insectos (Vet et al. 2002). El término “parasitoide” fue introducido por primera vez por Reuter en 1913, pero recién fue universalmente aceptado hace aproximadamente 30 años. A partir de aquí, los insectos parásitos fueron comúnmente mencionados como parasitoides (Godfray 1994). Existen parasitoides en cinco órdenes de insectos holometábolos: Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera y Neuroptera (Eggleton & Belshaw 1992). Los hospedadores de los parasitoides son casi exclusivamente insectos, aunque arañas y ciempiés son ocasionalmente parasitados. En los insectos, los estadios juveniles son los más frecuentemente atacados (Godfray 1994).

Los parasitoides, además de ser modelos interesantes para realizar estudios en biología básica, son insectos muy importantes desde el punto de vista económico y ecológico. En los sistemas agrícolas juegan un papel fundamental en el control biológico de insectos plaga. En los

ecosistemas naturales también juegan un papel funcional central como reguladores de otras poblaciones, especialmente de insectos fitófagos. Además son muy abundantes, tanto en el número de especies como en el número de individuos que representan. Los taxónomos estiman que los parasitoides constituyen el 20-25 % del total de especies de insectos que probablemente existen (Hassell 2000, Vet et al. 2002).

Clasificación de los parasitoides

Diferentes criterios son tenidos en cuenta para clasificar a los parasitoides. Según el estadio del hospedador que parasitan, se denominan parasitoides de huevos, de larvas, de pupas o de adultos. Según el comportamiento alimentario de la larva, pueden ser endoparasitoides, cuando se desarrollan dentro del cuerpo del hospedador, o ectoparasitoides cuando viven externamente, anclados al cuerpo mediante sus piezas bucales. Los parasitoides que producen un solo adulto por hospedador parasitado se denominan parasitoides solitarios, en oposición a los parasitoides gregarios, donde se desarrollan de 2 a varios miles de individuos a partir de un solo hospedador. Cuando un parasitoide ataca a un hospedador ya parasitado por una hembra de la misma especie se denominan superparasitoides, cuando la hembra es de una especie diferente multiparasitoides, y cuando la hembra ataca a una larva parasitoide que se encuentra parasitando al hospedador se denominan hiperparasitoides. Los parasitoides que permiten que sus hospedadores continúen creciendo después del ataque se denominan koinobiontes, en oposición a los idiobiontes, donde la hembra parasitoide paraliza al hospedador y la larva lo consume rápidamente (Godfray 1994).

Búsqueda y localización de hospedadores por los parasitoides

La conexión directa entre una búsqueda exitosa y la producción de descendientes sugiere que el comportamiento de búsqueda de las hembras parasitoides esta fuertemente influenciado por el proceso de selección natural (van Alphen 1988, Vet et al. 2002). Uno de los mayores desafíos que enfrentan los parasitoides es entonces encontrar a su hospedador en un mundo estructuralmente complejo en el espacio y el tiempo. Buscar nuevos hospedadores no es una tarea fácil, puesto que los hospedadores en general son organismos pequeños que están a su vez bajo fuerte presión de selección para permanecer inconspicuos ante sus enemigos y evitar ser atacados (Vet et al. 2002). Durante su vida, cada hembra tiene que tomar repetidas decisiones

sobre si buscar hospedadores o alimento, que claves usar y como buscar, donde ir y cuanto tiempo permanecer en ese lugar (Vet et al. 2002). Entre las claves más comunes utilizadas por los parasitoides para la localización de los hospedadores se encuentran las visuales (Demas et al. 2002, Glas & Vet 1983, Morehead & Feener 2000, Oliai & King 2000, Sandlan 1980, Stireman 2002, Wäckers & Lewis 1994), las kairomonas del hospedador (Allison et al. 2001, Boo & Yang 2000, DeLury et al. 1999, Dicke et al. 1985, Klomp 1981, Lou & Cheng 2001, Vet & Dicke 1992), las heces del hospedador (Agelopoulos & Keller 1994, Auger et al. 1990, Rogers & Potter 2002, Schaffner & Müller 2001, Steinberg et al. 1993, Turlings et al. 1991b), y las vibraciones emitidas a través del sustrato (Duan & Messing 2000, Glas & Vet 1983, Meyhofer & Casas 1999).

La mayoría de los parasitoides pertenecen al orden Hymenoptera, con aproximadamente el 78 % de las especies descritas hasta el momento (Feener & Brown 1997). Las hembras de los parasitoides himenópteros a diferencia de las de otros órdenes poseen un ovipositor que les permite tener acceso directo a hospedadores ocultos para poder depositar sus huevos en ellos. Esta estructura fundamental, permite a estos parasitoides seleccionar, dominar y manipular al hospedador para poder dejar su progenie (Figura 1.1.).



Figura 1.1. Una hembra de parasitoide del Orden Hymenoptera (*Megarhyssa nortoni*), en donde se observa claramente el ovipositor muy desarrollado.

El proceso comportamental que conduce a hallar al hospedador puede ser dividido en una serie de etapas, tales como la localización del hábitat donde vive el hospedador, la localización del hospedador mismo dentro de ese hábitat, la aceptación de ese individuo y la adaptabilidad al

mismo (Nordlund et al. 1981, van Alphen & Vet 1986, Vinson 1976, 1984, 1985, Vinson & Iwantsch 1980, Wellings 1991). Los mecanismos que llevan a los parasitoides hasta sus hospedadores se basan en la detección de mezclas químicas complejas y señales ambientales indirectas, debido a que en parte, la detectabilidad de los hospedadores a partir de claves directas se encuentra bajo permanente presión de selección.

Existe un grupo reducido de parasitoides, cuyas hembras no establecen contacto directo con los hospedadores por no poseer, entre otras características, un ovipositor adaptado para inocular los huevos en el hospedador (Godfray 1994). En tales casos, las hembras colocan los huevos en la vecindad del hospedador y el encuentro puede producirse mediante tres mecanismos principales: (1) el hospedador puede comer los huevos del parasitoide (p.e. moscas Tachinidae y avispas Trigonalidae), (2) la larva del parasitoide puede buscar activamente hospedadores adecuados (p.e. avispas Perilampidae, Eucharitidae y Eucerotinae, muchos Dípteros y Coleópteros y unos pocos Lepidópteros y Neuropteros), o (3) la larva parasitoide puede ser transportada por el hospedador adulto hasta su larva (p.e. avispas Eucharitidae, escarabajos Meloidae y Rhipiphoridae) (Godfray 1994, Hagen 1964).

En aquellos parasitoides cuyas hembras no son las principales responsables de hallar al hospedador han evolucionado estrategias distintas de localización de sus víctimas, que a su vez se expresan en patrones de parasitismo diferentes. Un claro ejemplo son las estrategias desarrolladas por los parasitoides del orden Diptera, cuyos hospedadores son inaccesibles porque viven bajo o cerca de la superficie del suelo (Eggleton & Belshaw 1993). Entre las estrategias descritas para estos parasitoides, figura la explotación del sistema de comunicación intraespecífico del hospedador por parte de las hembras (Vinson 1984). Por ejemplo, algunas moscas Tachinidae son atraídas por los cantos de apareamiento producidos por los machos de los grillos, a través del mecanismo de fonotaxis (Adamo et al. 1995), mientras que otras detectan feromonas de agregación liberadas por los machos de una especie de chinche verde (Harris & Todd 1980). Las moscas Phoridae son capaces de detectar las feromonas de alarma de las hormigas que son sus hospedadores (Feener et al. 1996).

Una segunda estrategia general de localización del hospedador entre los parasitoides del orden Diptera es la partición de las tareas de búsqueda en dos fases que involucran diferentes estados (Feener & Brown 1997). En la primera fase, las hembras localizan el microhábitat de los hospedadores potenciales. Luego, en la vecindad del hospedador, la hembra coloca los huevos o

directamente las larvas en el sustrato, generalmente dispersándolos. El verdadero encuentro entre parasitoide y hospedador se produce en la segunda fase, y es llevado a cabo por las larvas. Un ejemplo son las larvas planidiformes y se han observado en especies de las familias Acroceridae, Nemestrinidae, Bombyliidae, Calliphoridae, Rhinophoridae y Tachinidae (Feener & Brown 1997). Estas larvas permiten que muchas de estas especies utilicen hospedadores que viven en lugares inaccesibles para los parasitoides adultos (suelo, madera caída, madera sana, etc.). El conocimiento acerca de las claves específicas que utilizan las larvas activamente buscadoras para detectar la presencia de un hospedador es escaso, y tampoco se sabe por cuánto tiempo los huevos y las larvas permanecen viables en el ambiente mientras esperan el contacto con el hospedador.

Los Asílidos cuentan con unas pocas especies que son ectoparasitoides koinobiontes. Existen grandes controversias acerca de la clasificación de las moscas de la familia Asilidae en cuanto al hábito de alimentación de sus larvas. Los primeros trabajos sobre las especies de este grupo argumentaron que se alimentan principalmente de materia orgánica en descomposición, proveniente de vegetales y árboles caídos (Dufour 1850, Hull 1962, Melin 1923). Luego otros trabajos confirmaron que una gran parte de las larvas son depredadoras que se alimentan consumiendo a las larvas de otros insectos (Knutson 1972, Musso 1978, 1983, Musso & Garcin 1975, Tsacas et al. 1970). Más recientemente, se ha establecido que las especies del género *Mallophora* son parásitas (Clements & Bennett 1969, Copello 1922, 1927, 1942), más precisamente verdaderos parasitoides (Musso 1978, 1983).

Patrones de parasitismo

Una consecuencia de la estrategia de búsqueda es el patrón de superparasitismo resultante. En muchos casos la progenie de la hembra que superparasita está en desventaja competitiva con respecto a la progenie de una hembra que hubiese parasitado previamente el mismo hospedador. En estos casos, la selección natural tenderá a favorecer a las hembras con capacidad de discriminar entre hospedadores no parasitados y ya parasitados por un coespecífico, resultando en patrones de parasitismo más desagregados. Esta habilidad de discriminación y los patrones de parasitismo resultantes han sido observados en varios himenópteros cuyas hembras oviponen directamente en el hospedador (Godfray 1994, van Lenteren 1981).

En contraste, entre los dípteros el superparasitismo parece estar ampliamente distribuido (Askew 1971, Clausen 1940, Gould et al. 1992, Mellini 1994). Esta amplia ocurrencia del superparasitismo en los dípteros parasitoides apoyaría la idea que la habilidad para discriminar entre hospedadores parasitados y no parasitados estaría severamente limitada o no existiría en este grupo (Askew 1971, van Alphen & Visser 1990). Al igual que en los himenópteros, el superparasitismo en los dípteros a menudo baja la probabilidad de emergencia de los adultos o reduce el tamaño, longevidad o fecundidad de aquellos que emergen (Gould et al. 1992).

Es posible que las larvas con capacidad de búsqueda hayan desarrollado la habilidad de discriminar entre hospedadores ya parasitados. Pero, se sospecha que es desventajoso porque la tasa de encuentro de los hospedadores con tales larvas es probablemente mucho más baja que la que se esperaría que posean los parasitoides en donde los ataques los realizan los adultos. La baja probabilidad de encontrar otro hospedador por larvas buscadoras, incrementa el superparasitismo (Feener & Brown 1997). También, las especies que practican una estrategia reproductiva mixta en la cual tanto las hembras como las larvas contactan al hospedador, carecerían de la habilidad para reconocer hospedadores ya parasitados (Adamo et al. 1995).

Una consecuencia de la estrategia de forrajeo de los parasitoides al buscar hospedadores, son los patrones espaciales de parasitismo, que pueden resultar denso-dependientes directos, o inversos, o denso-independientes (Hassell & Pacala 1990, Stiling 1987, Walde & Murdoch 1988). La distribución del parasitismo esta influenciada por la dispersión de los individuos, la dinámica poblacional, la escala espacial y la heterogeneidad ambiental (Godfray 1994). Los factores denso-dependientes en el parasitismo juegan un papel fundamental en la dinámica poblacional de los hospedadores, ya que producen una limitación del número de individuos, regulando de este modo a la población alrededor de un equilibrio. Actualmente es aceptado que la regulación poblacional no puede ocurrir en ausencia de denso-dependencia (Hanski 1990, Murdoch & Walde 1989). Los diferentes comportamientos de oviposición de los parasitoides producirán diferentes patrones de parasitismo, es decir diferentes tipos de denso-dependencia (Godfray 1994, Vet et al. 2002). Otro factor que es central en la formación del patrón de parasitismo es la heterogeneidad ambiental, la cual es entendida como la distribución desigual de hospedadores entre parches, dado que los parasitoides tienden a agregarse en las áreas con mayor densidad de hospedadores. Chesson & Murdoch (1986) han definido a la heterogeneidad en términos de distribución del riesgo de parasitismo entre individuos de una población de hospedadores. Cuando la distribución se vuelve agregada la heterogeneidad se incrementa. Un

hábitat es heterogéneo entonces cuando es capaz de producir agregación del riesgo de parasitismo entre los hospedadores. Un ejemplo son los hábitats con agregación de hospedadores, donde algunos miembros de la población se encuentran expuestos a un mayor número de parasitoides que otros que se encuentran en refugios (Hassell 2000).

Biología del sistema en estudio

Biología del moscardón cazador de abejas *Mallophora ruficauda*

Los individuos pertenecientes a la familia Asilidae (Diptera) son llamados comúnmente moscas ladronas (*robber flies*) por su gran voracidad y sus hábitos cazadores sobre otros insectos (Ruiz 1925). Poseen distribución mundial comprendiendo unos 400 géneros que incluyen cerca de 4000 especies (Artigas 1970, Artigas et al. 1991, De Santis 1989, De Santis & Cornejo 1990).

El género *Mallophora* es el más citado como depredador de abejas y es exclusivamente americano, abarcando las regiones neotropical y neártica, desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina, desde los 42° LN hasta los 43° LS excluyendo el territorio chileno (Artigas & Angulo 1980, Clements & Bennett 1969). Existe una barrera altitudinal que limita la distribución de este género y que está próxima a los 3.000 metros. Las especies de *Mallophora* viven preferentemente en lugares bajos, a menudo con abundante vegetación (Artigas & Angulo 1980; Figura 1.2.). Su actividad depredadora y la abundancia con que algunas especies se presentan en ciertas zonas, indican que la presión sobre las poblaciones de sus presas debe tener importante significación (Artigas & Angulo 1980, De Santis & Cornejo 1990, Rabinovich & Corley 1997). Este género está compuesto por más de un centenar de especies nominales (Clements & Bennett 1969), de las cuales 15 se encuentran en nuestro territorio (Gemignani 1930). Artigas & Angulo (1980) realizaron la revisión sistemática mundial del género llegando a 51 especies válidas.

El moscardón cazador de abejas, *Mallophora ruficauda* Wiedemann, 1828, es una especie endémica de la región pampeana que habita hasta los 38° LS (Rabinovich & Corley 1997). Hacia el norte se extiende abarcando Paraguay, Uruguay y el sur de Brasil y también se encuentra en el sur de México y Centroamérica, en una distribución disociada (Figura 1.3.B, tomada de Artigas & Angulo 1980). En estado adulto es depredador de insectos voladores, tales como abejas

melíferas, otros himenópteros y dípteros (Figura 1.3.A y 1.4.), y en estado larvario es parasitoide de los gusanos blancos del suelo (Coleoptera, Scarabaeidae) (Figura 1.5.).



Figura 1.2. Pastizal con predominancia de *Carduus acanthoides* donde típicamente se observan individuos de *M. ruficauda* oviponiendo y buscando presas.

(A)



(B)

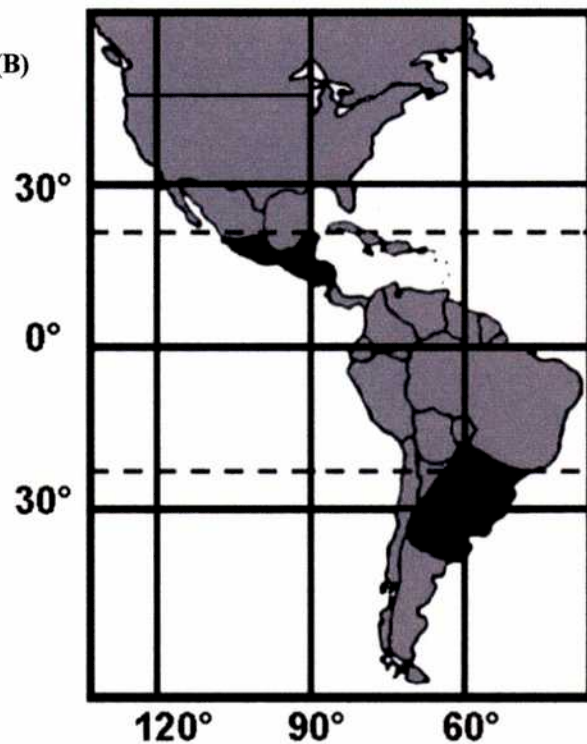


Figura 1.3. (A) Hembra de *M. ruficauda* consumiendo una abeja. (B) Área de distribución mundial de *M. ruficauda* (en negro) (tomado de Artigas y Angulo 1980).

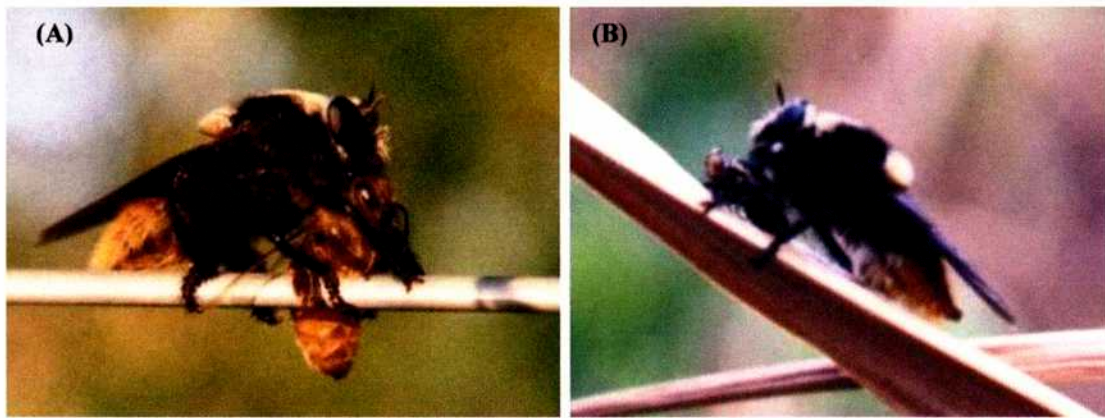


Figura 1.4. Hembra de *M. ruficauda* consumiendo una presa. (A) abeja obrera. (B) mosca doméstica.

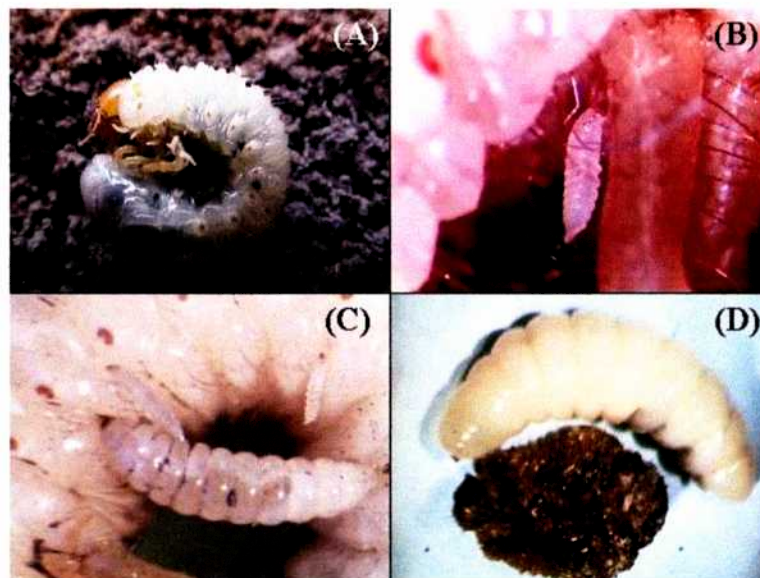


Figura 1.5. Desarrollo de la larva de *M. ruficauda*. (A) Gusano blanco de la especie *C. signaticollis* atacado por varias larvas de 2° estadio. (B) larva de 3° estadio anclada en una de las patas del 3° par. (C) Larva muy desarrollada de 4° estadio. (D) Larva de 5° estadio junto a la exuvia del gusano blanco.

Ciclo de vida

Copello (1922) estudió por primera vez la biología de *M. ruficauda*. Las hembras comienzan a desovar pocos días después de su emergencia a fines del mes de Diciembre y continúan hasta el mes de Febrero. Los huevos no son depositados directamente sobre el hospedador, sino que son puestos en sitios elevados tales como ramas sujetadoras de hortalizas, postes, alambrados, alambres telefónicos o cables eléctricos eligiendo para este fin los días soleados (Figura 1.6.). Los huevos son muy pequeños, miden aproximadamente 0,7 mm de largo

y son colocados en una o dos capas formando una placa u ooteca envuelta en albúmina batida. De los huevos incubados por el calor del verano emergen las larvas de 1 mm de largo que caen al suelo y se entierran, permaneciendo durante meses en el mismo estado hasta lograr dar con su hospedador, un gusano blanco del suelo. Luego la larva se fija en el tegumento externo del hospedador no desprendiéndose más del punto de fijación (Figura 1.5.). Durante el invierno la larva vive a expensas de las sustancias corporales del gusano blanco, pasando ambas larvas por un estado de letargo. A fines del invierno, tanto el hospedador como el parásito están activos y el gusano blanco comienza a alimentarse y a preparar una cavidad en la tierra donde se aletargará para luego sufrir su transformación en pupa. En ese momento la larva de *M. ruficauda* comienza a crecer con rapidez y en el lapso de un mes completa su desarrollo consumiendo totalmente al hospedador y transformándose en pupa. En verano la pupa se abre camino en la tierra y llega a la superficie del suelo, el adulto emerge y comienza a alimentarse de insectos voladores (Figuras 1.3., 1.4., 1.7. y 1.8.).

Copello (1922) realizó observaciones de la vida larvaria de las especies del género *Mallophora* estudiando la biología de *M. ruficauda*, y comprobó el modo de vida parasitario de esta especie en las larvas del Scarabaeidae *Phileurus vervex* Burmeister. Clements & Bennett (1969) han estudiado la biología de *M. media* y encontraron que las larvas de esta especie se alimentan sobre *Barybas insulanus* Moser, una de las más pequeñas especies de Scarabaeidae. El ciclo de vida y los hábitos alimentarios de ambas especies parecen ser muy similares. Existen varios registros de larvas de Asilidae atacando larvas de Scarabaeidae (Davies 1919, Kinoshita 1940, Malloch 1917, Ritcher 1940). Se ha observado que el hábito depredador parece ser bastante común entre los Asilidae, dado que las larvas son capaces de alimentarse sobre cualquier insecto de cuerpo blando que encuentren, pero parecen tener una marcada selección hacia los Scarabaeidae cuando toman una presa (Clausen 1940).

La unión sexual de los adultos de *M. ruficauda* es precedida de preliminares en forma de danza, con vuelo horizontal planeado, movimientos de remo y vuelos verticales, que se producen sobre algún sustrato y terminan en un vuelo nupcial con acoplamiento en el aire que luego se continúa sobre un apoyo aproximadamente durante una hora (Copello 1922). Tricca & Trujillo-Cenóz (1980) realizaron observaciones y experimentos de campo para estudiar el comportamiento sexual en esta especie. Estos autores observaron que los machos realizan una secuencia de acciones motoras durante el cortejo que puede ser dividida en tres etapas: (1) vuelo estacionario, (2) golpeteo rítmico del tercer par de patas y (3) intentos de cópula. La cópula se

produce sobre un sustrato a los 30-40 minutos luego de iniciado el cortejo, durante la cual la hembra permanece casi inmóvil. Estas observaciones difieren de las realizadas por Copello (1922). Además, Tricca & Trujillo-Cenóz (1980) sugirieron que el patrón de color principal de las hembras sería el responsable de dar inicio a las diferentes fases del cortejo en los machos. El tamaño de las hembras y su posición sobre el soporte también tienen influencia en el inicio del cortejo. Estos resultados sugieren que los estímulos visuales jugarían un papel fundamental en el comportamiento sexual de *M. ruficauda*.

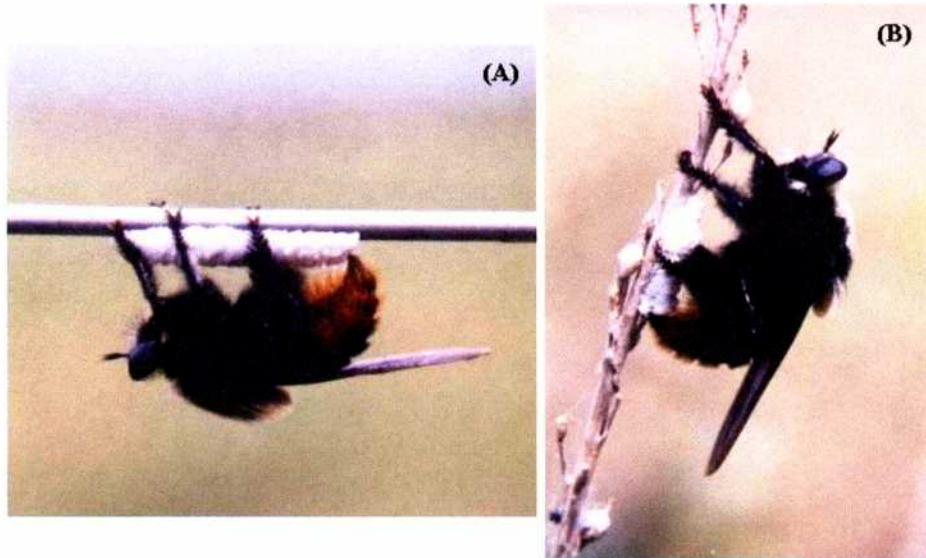


Figura 1.6. Hembra de *M. ruficauda* colocando una ooteca en el sustrato. (A) Alambrado, (B) Vegetación.



Figura 1.7. Pupa de *M. ruficauda*. (A) Asomando del suelo antes de la emergencia del adulto. (B) exuvia vacía.

Se han realizado algunos trabajos sobre la morfología de los adultos de *M. ruficauda*. Artigas & Angulo (1980) encontraron que poseen las siguientes dimensiones promedio: largo del cuerpo 20,2 mm, largo del ala 20,0 mm y ancho del ala 5,6 mm. Poseen aspecto de abejorro o

mangangá, el cual les confiere la apariencia de un individuo pacífico (De Santis 1989, De Santis & Cornejo 1990). Cazan al vuelo toda clase de insectos, aún los de su misma especie y con gran preferencia por abejas obreras (Castelo 2002) (Figura 1.3.). Posee un vuelo muy rápido que le permite capturar a sus presas en forma repentina tomándolas con sus primeros dos pares de patas y clavando sus piezas bucales en el dorso del tórax. Luego se posa sobre un sustrato y absorbe los jugos corporales de su víctima hasta dejarla seca (Copello 1922, 1927, 1942). Estos insectos atacan a las abejas en el verano en la temporada de su mayor actividad (Copello 1922, 1927, 1942, Rabinovich & Quiroga 1995, Werthein 1981).

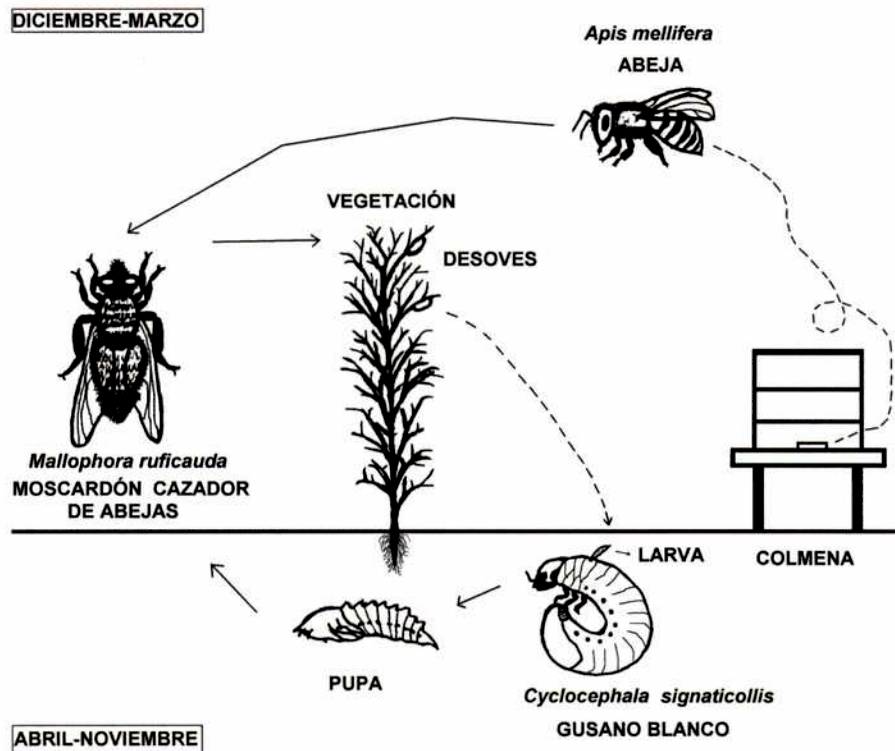


Figura 1.8. Ciclo biológico de *M. ruficauda*. Esta especie es parasitoide de los gusanos blancos del suelo y depredadora de las abejas melíferas obreras.

Importancia económica y perjuicios causados por *M. ruficauda*

Desde principios de este siglo, el moscardón cazador de abejas representa un problema serio para la apicultura en Argentina. Ya en la década del '20 este insecto era reconocido, por los grandes productores y por los apicultores aficionados, como una verdadera plaga de las abejas (Werthein 1981). Las poblaciones de este díptero se han incrementado en los últimos años, aumentando el daño en los colmenares, afectando seriamente a la explotación apícola en la

producción de miel (Rabinovich 1994). Los apicultores han observado que el moscardón, por su mera presencia en las inmediaciones de los apiarios, produce supresión de la actividad de pecoreo de las abejas obreras, cuando las densidades de moscardón son muy altas en los pastizales aledaños a los colmenares. Esto significa que el moscardón produce dos tipos de perjuicios, uno por depredación directa de las abejas y otro por inhibición de la actividad de recolección de insumos para la vida de la colmena.

En Argentina, las provincias en donde se ha registrado un impacto verdaderamente importante sobre la apicultura son Buenos Aires, Entre Ríos, Santa Fe, Córdoba y La Pampa. El moscardón también se encuentra presente pero sin provocar un impacto importante en las provincias de Corrientes, Misiones, Formosa, Chaco, Santiago del Estero y Tucumán. Esta área corresponde al área de distribución de la abeja melífera africanizada (Rabinovich & Corley 1997).

Argentina produce entre 75.000 y 98.000 toneladas de miel por año y es el tercer productor mundial de miel después de China y Estados Unidos (Nimo 2003). La producción argentina está destinada casi en su totalidad al mercado internacional, con exportaciones del orden del 90 %. En el año 2002 generaron ganancias por 114 millones de dólares. Estos valores hacen que la Argentina sea el segundo exportador internacional de miel (Nimo 2003).

La región pampeana concentra aproximadamente el 90 % de la producción del país (Nimo 2003) y es la zona que más sufre el ataque del moscardón cazador de abejas. Buenos Aires genera el 52 % del volumen de miel nacional y se estima que las pérdidas ocasionadas solamente por el problema del moscardón rondan los 2 a 3 millones de dólares (Rabinovich & Corley 1997). Los partidos más afectados de la provincia de Buenos Aires son Chacabuco, Rojas, Salto, General Arenales, Pehuajó, Carlos Casares, Nueve de Julio, Coronel Suárez, Lincoln, General Villegas y Puán (De Santis 1989, De Santis & Cornejo 1990). No se ha cuantificado el daño que el moscardón produce en el resto de las provincias de la región pampeana, pero por comentarios de los apicultores se estima que en Entre Ríos, el impacto es similar (Productores del establecimiento La Abadía del Niño Dios, comunicación personal). La provincia de Entre Ríos es la cuarta productora de miel y aporta el 9 % de la producción nacional (Nimo 2003).

Mallophora ruficauda además de afectar directamente a la explotación apícola en la producción de miel, afecta indirectamente la producción de semillas oleaginosas como el girasol,

ya que el moscardón caza a las abejas en vuelo antes de que éstas lleguen al capítulo floral y contribuyan con el proceso de polinización. Se estima que la utilización de abejas para polinización de cultivos deja beneficios cercanos a los 1.000 millones de dólares por año (Mayoral 1999). Scheletto & Pereyras (1971) encontraron que en la provincia de Buenos Aires el rendimiento de la producción de semillas de girasol crece en promedio de 5 a 6 veces cuando se facilita la fecundación cruzada de las flores por medio de la utilización de abejas melíferas. También encontraron que la deposición de materia grasa en las semillas aumenta en promedio un 25%, representando un beneficio económico del 12% en los precios. Terán (1965) demostró que la abeja melífera es la mejor entre los insectos polinizadores, por permanecer mayor tiempo en las plantaciones de varias especies de *Cucurbita* en la provincia de Tucumán. Todo esto justifica ampliamente el uso extensivo de las abejas en la polinización de cultivos.

El moscardón cazador de abejas es una especie nativa de la región pampeana que se convirtió en un serio problema económico. En general las plagas severas son especies exóticas introducidas accidentalmente en una región, y que alcanzan niveles de plaga, debido a la ausencia de factores reguladores naturales. Las posibles causas del advenimiento de *M. ruficauda* como plaga apícola se detallan en el Apéndice I.

Biología de los hospedadores

Los gusanos blancos del suelo (Coleoptera: Scarabaeidae) son larvas de escarabajos de régimen fitófago que cumplen la mayor parte de su ciclo de vida en el suelo. Estas larvas producen grandes daños en las raíces de las plantas por la acción de sus mandíbulas, motivo por el cual son consideradas una importante plaga de los cultivos comerciales y áreas verdes de recreación en diferentes partes del mundo (Ali & Harivandi 1987, Cherry & Schueneman 1998, Cranshaw & Zimmerman 1998, Crutchfield & Potter 1995, Potter 1998, Salvadori 1997, Smitley 1996). En la República Argentina, los cultivos más perjudicados son los cereales, plantas forrajeras (pasturas) y hortalizas (Alvarado 1983, Remedi de Gavotto 1964). Estas larvas son especialmente perjudiciales en los cultivares de papa del sudeste de la provincia de Buenos Aires, siendo una de las especies más dañinas *Cyclocephala signaticollis* Burmeister (Álvarez Castillo et al. 1993, Carmona et al. 1994, López et al. 1994, Remedi de Gavotto 1964; Figura 1.9.). Estos gusanos son hospedadores de las larvas de *M. ruficauda* (Crouzel 1965), en especial

C. signaticollis (Dennis & Knutson 1988, Remedi de Gavotto 1964). Se han detectado nueve especies de gusanos blancos en la provincia de Buenos Aires (Alvarado 1980).

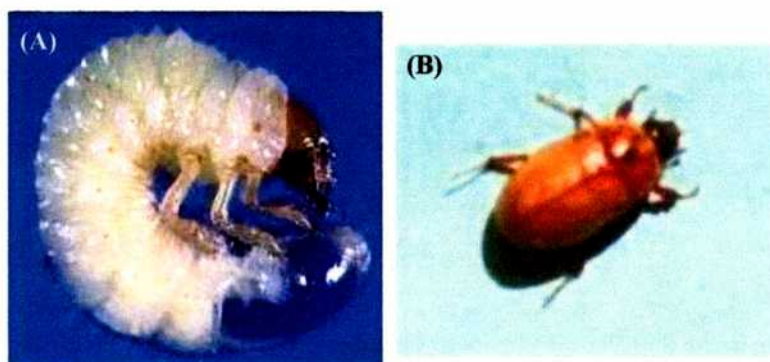


Figura 1.9. *Cyclocephala signaticollis*. (A) Larva de tercer estadio (gusano blanco). (B) Adulto.

Cyclocephala signaticollis posee un ciclo de vida de un año de duración con tres estadios larvarios. Los adultos emergen en los primeros días de Diciembre y prontamente colocan sus huevos en forma aislada y en pequeños terrones en el suelo entre 0 y 10 centímetros de profundidad. El porcentaje de nacimientos (fertilidad) es del 93% para las puestas tempranas. El período de oviposición dura en promedio 15,8 días y la fecundidad máxima es de 7,1 huevos/hembra. El promedio de la duración en días de cada uno de los estadios es: desarrollo embrionario 22,5; primer estadio larval 40; segundo estadio larval 32; tercer estadio larval 217; pupa 20 y adulto 31, siendo las hembras más longevas que los machos (López et al. 1994). Según Carmona et al. (1994) *C. signaticollis* prefiere suelos blandos y removidos para oviponer. Esto no concuerda con Alvarado (1979) quien observó un comportamiento indiferente al grado de compactación del suelo para la oviposición en esta especie y también en relación con diferencias en la pendiente del terreno. *C. signaticollis* es nativa de la Argentina y el Uruguay. Esta especie se encuentra en la República Argentina en la provincia de Buenos Aires, este de Córdoba, sur de Santa Fe, provincia de Entre Ríos y nordeste de La Pampa.

Las larvas del tercer estadio se hallan entre 5 y 15 centímetros de profundidad en el suelo y pasan el invierno en el interior de una celda en la tierra como larva invernante. Son del tipo escarabeiforme, en forma de "C", con la cabeza quitinizada y el cuerpo blando y color blanco cremoso alcanzando un tamaño máximo de 25-30 milímetros de longitud. Las larvas se alimentan de raíces de trigo, maíz, cebada, lino, alfalfa, girasol y productos hortícolas tales como

lechuga y zanahoria (Remedi de Gavotto 1964) y produce grandes daños en los cultivos de papa (hasta un 60% de pérdida) en el sudeste bonaerense (Álvarez Castillo et al. 1993, Carmona et al. 1994, López et al. 1994) y en semillas de *Agropyron sp.* (agropiro) y *Melilotus sp.* (melilotus) (Alvarado 1983). Los gusanos blancos se convierten en una plaga de la agricultura cuando su densidad alcanza el nivel de daño económico de 4/m² (Alvarado 1979). En general su presencia se asocia a un suelo franco arcilloso (argiudol típico) de alta fertilidad. Posee un período de prepupa donde la larva pierde su forma típica escarabeiforme y no se alimenta (López et al. 1994).

Entre las larvas de Scarabaeidae la mayoría de las especies se hallan en profundidades de entre 0 y 15 centímetros y la minoría llega hasta los 30 centímetros (Carmona et al. 1994). Alvarado (1983) describió el comportamiento alimentario de las principales especies de gusano blanco que afectan los cultivos.

Objetivos e hipótesis de investigación

En este trabajo se estudia la biología de una especie endémica de la región pampeana de Argentina, que aportará conocimiento en dos áreas diferentes de interés: (1) Desde el punto de vista teórico, ampliando el conocimiento del mecanismo de encuentro entre parasitoide y hospedador y sus consecuencias, reflejadas en el parasitismo resultante, y (2) desde el punto de vista aplicado, obteniendo conocimiento general de la biología reproductiva de *M. ruficauda*, un insecto plaga de la apicultura y la agricultura.

Objetivo general

Estudiar aspectos básicos de la biología y ecología de *M. ruficauda*, con especial énfasis en las estrategias de localización y explotación de sus hospedadores, los gusanos blancos del suelo (Figura 1.10.).

Preguntas y predicciones

(1) ¿Cuál es la contribución relativa de las hembras de *M. ruficauda* en la localización del hospedador?

Las hembras contribuirán a maximizar la tasa de encuentro con sus hospedadores mediante la selección de sitios de oviposición.

(2) ¿Cuál es la contribución relativa de las larvas en la localización del hospedador?

Las larvas contarán con mecanismos activos de búsqueda, asociados a estímulos químicos, que asegurarán el encuentro con los hospedadores bajo el suelo y maximizarán el parasitismo.

(3) ¿Cómo es el patrón de parasitismo de *M. ruficauda* sobre los gusanos blancos del suelo?

La combinación de las estrategias de búsqueda de hospedadores por las hembras y larvas, y la distribución espacial de los hospedadores resultará en un patrón de parasitismo denso-independiente.

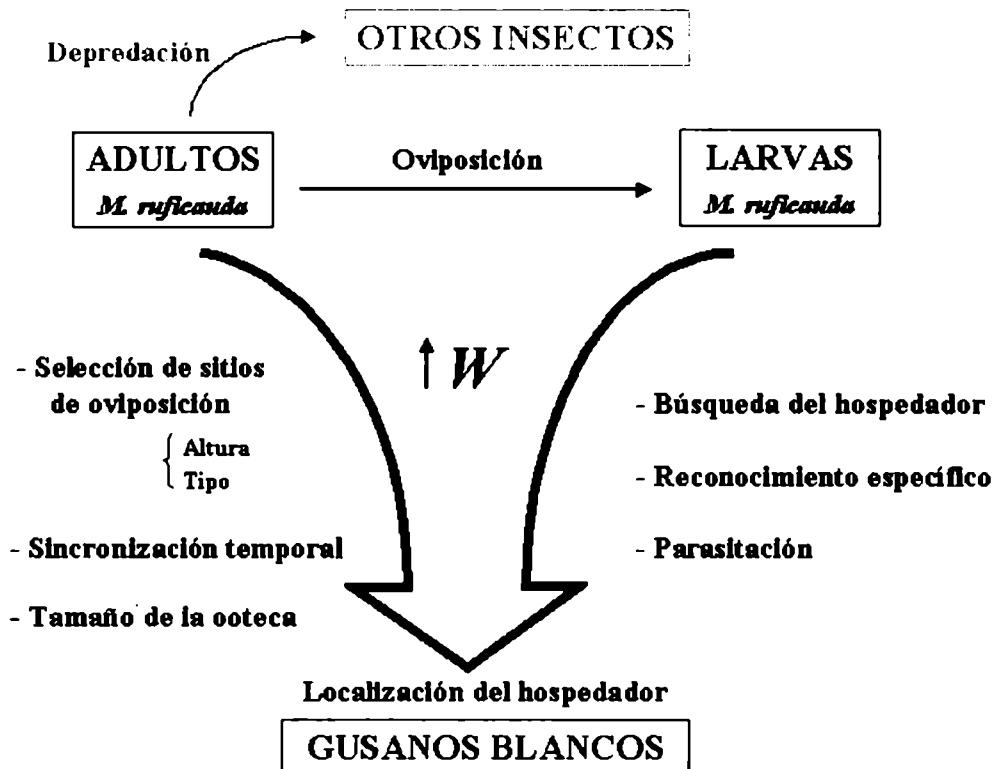


Figura 1.10. Resumen de los comportamientos y procesos biológicos relacionados con la localización y explotación del hospedador en *M. ruficauda* que determina el éxito reproductivo (W).

CAPÍTULO 2:

Contribución de las hembras en la localización del hospedador: Selección de sitios de oviposición



Introducción

Un tema que ha sido poco abordado sobre la biología de los Asílidos es el estudio de los hábitats que ellos ocupan, especialmente los vinculados con los sitios de oviposición. Estas moscas ponen sus huevos en medios muy variados, como ser el estrato arbustivo, bosque muerto, suelo o sustrato herbáceo (Musso 1978).

Las estrategias de oviposición en los Asílidos pueden ser inferidas a partir de la morfología del ovipositor (Londt 1994, Melin 1923). Las observaciones sugieren que existen tres estrategias principales dentro de la familia: (1) Caída de huevos al azar, (2) Oviposición en arena o suelo, y (3) Oviposición en o sobre la vegetación. Las hembras de la subfamilia Asilinae suelen poner sus huevos en el medio herbáceo, utilizando los tallos y espigas de gramíneas (Adamovic 1973).

Existen algunos trabajos generales sobre preferencia de hábitat de los Asílidos. Lehr (1979) propuso un sistema de clasificación ecológica en el cual ha identificado seis complejos tróficos basados en las estrategias de captura de presas por los adultos. Fisher & Hespeneide (1992), por su parte, propusieron una clasificación de hábitats relacionada al microhábitat y lugar de acecho de presas de los adultos. Londt (1994) ha propuesto una tercera clasificación teniendo en cuenta las áreas de captura de presas y los sitios de oviposición. Esta última está basada en el comportamiento de captura y se corresponde muy bien con las estrategias de oviposición propuestos por Melin (1923). Esto sucede porque, por ejemplo, una especie que normalmente caza desde la superficie del suelo siempre ovipone en el suelo y la que caza partiendo de la vegetación ovipone sobre las plantas o deja caer sus huevos al suelo (Londt 1994). Otra forma de inferir los sitios de oviposición es observando la forma de los huevos (Londt 1994). Los huevos de las especies que oviponen sobre la vegetación son ovoides y elongados, mientras que los esféricos son característicos de las hembras que los dejan caer al azar, y los intermedios a estas dos formas están vinculados a las especies que oviponen en el suelo.

Las observaciones y registros sobre oviposición para las especies del género *Mallophora* son escasos (Hubbard 1880). Copello (1922) ha realizado las primeras observaciones a campo del comportamiento de oviposición de *M. ruficauda*, en relación con la altura de postura de los desoves. *Mallophora ruficauda* ovipone sobre sustrato herbáceo, utilizando los tallos y espigas de las plantas para fijar sus huevos. Sin embargo, existe un número de soportes alternativos disponibles que las hembras son capaces de utilizar también (Copello 1922). Los sitios se

caracterizan por tener suelo húmedo y fértil, gran insolación, y por estar muy cerca de los colmenares donde los adultos se alimentan. *Mallophora ruficauda* no se aparta de la estrategia de oviposición observada en el resto de la subfamilia. A pesar que el género *Mallophora* se encuentra bien representado (Artigas y Angulo 1980) y que las observaciones permiten asegurar que las hembras colocan los desoves en lugares elevados en mayor proporción, no se han realizado hasta el momento estudios cuantitativos y comparativos sobre las preferencias de oviposición.

Las hembras de *M. ruficauda* depositan los huevos en ootecas, las cuales son estructuras elípticas blancas, envueltas en albúmina batida que a menudo incluyen dos capas superpuestas de numerosos huevos. Aunque no hay información disponible sobre cuantos huevos u ootecas puede colocar cada hembra, es sabido que las ootecas son colocadas en lugares elevados, típicamente plantas altas, y en áreas cercanas a las colmenas (Copello, 1922, 1927, 1942). Las larvas cuando emergen caen al suelo y durante su primer estadio parasitan a los gusanos blancos, en especial a la especie *Cyclocephala signaticollis* (Capítulo 4).

En muchas especies de dípteros parasitoides, la oviposición ocurre fuera del hospedador y este comportamiento es usualmente acompañado por la ocurrencia de grandes masas de huevos, las cuales son esparcidas en el ambiente del hospedador. La parasitación es entonces producida por azar o por una búsqueda activa efectuada por las larvas parasitoides. Las larvas de *M. ruficauda* pueden buscar activamente a su hospedador dentro del suelo (Capítulo 3). Sin embargo es probable que esta localización ocurra a una escala espacial limitada. No se sabe tampoco si las hembras adultas contribuyen o no al encuentro con el hospedador, por ejemplo, por selección de sitios de oviposición en la vecindad de los hospedadores o de los manchones en los cuales se agrupan.

El objetivo de este capítulo de la Tesis es definir y caracterizar el hábitat elegido para la oviposición por *M. ruficauda* y establecer los parámetros conductuales de oviposición de esta especie. Específicamente:

- (1) La caracterización del área de oviposición de *M. ruficauda* y de los sitios físicos que utilizan las hembras para poner sus huevos.
- (2) El comportamiento de oviposición, en particular, en relación con dos aspectos relacionadas al éxito reproductivo: (a) de qué tamaño y cuán exitosas son las ootecas, y

- (b) si las hembras exhiben preferencia, y en que medida, por los sitios potenciales de oviposición.
- (3) La distribución de los desoves y el efecto de la distancia al colmenar en la oviposición.
- (4) La distribución temporal de los desoves en el hábitat.

Área de estudio

Para la toma de datos, recolección de los animales y materiales para los experimentos del resto de los estudios de esta Tesis, se seleccionaron colmenares habitados por *M. ruficauda* y gusanos blancos del suelo. Dichos colmenares se encontraban en zonas apícolas de importancia, como son las localidades de Pigüé, Luján, Victoria y Mercedes (Figura 2.1.). En todos los casos los apiarios estaban ubicados en zonas de pastizales muy transformados por la actividad agrícola-ganadera y los campos de laboreo estaban limitados por pequeños ecotonos de pastizal natural.

Ubicación de los colmenares

La localidad de Pigüé se encuentra en la provincia de Buenos Aires (37°37'LS, 62°24' LW) en la región de mayor importancia agropecuaria y de producción de miel del país, y cuenta con gran cantidad de colmenares pertenecientes a establecimientos privados. Los colmenares utilizados para la toma de datos en esta localidad fueron cuatro. El primero de ellos se encuentra a 8,5 Km al este de la ciudad de Pigüé llamado Colmenar I (Productores: Juan Carlos Cori-Roux); el segundo en Huanguelén (Colmenar II) a 10,4 km al norte de la Ruta 60 en el límite entre los partidos de Guaminí y Coronel Suárez (Productor: Estancia Santa Ida); y los dos restantes en Espartillar (Colmenares III y IV) a 3,6 y 6 km al este del Km 170 de la Ruta 33 (Productor: Raúl Olleta), respectivamente. En el desarrollo de la Tesis, dado que dichos colmenares se encuentran muy próximos entre sí, serán referidos a la zona de Pigüé sin ser separados por localidad.

La localidad de Luján también se encuentra en la provincia de Buenos Aires (34°34'LS, 59°06' LW), donde se analizó un solo colmenar que pertenece a la Universidad Nacional de Luján y que es nombrado Colmenar V.

La localidad de Victoria se encuentra en la provincia de Entre Ríos (32°37'LS, 60°10'LV), donde se analizaron cuatro colmenares del establecimiento "La Abadía del Niño Dios" perteneciente a los Monjes Benedictinos de Victoria (Colmenares VI, VII, VIII y IX).

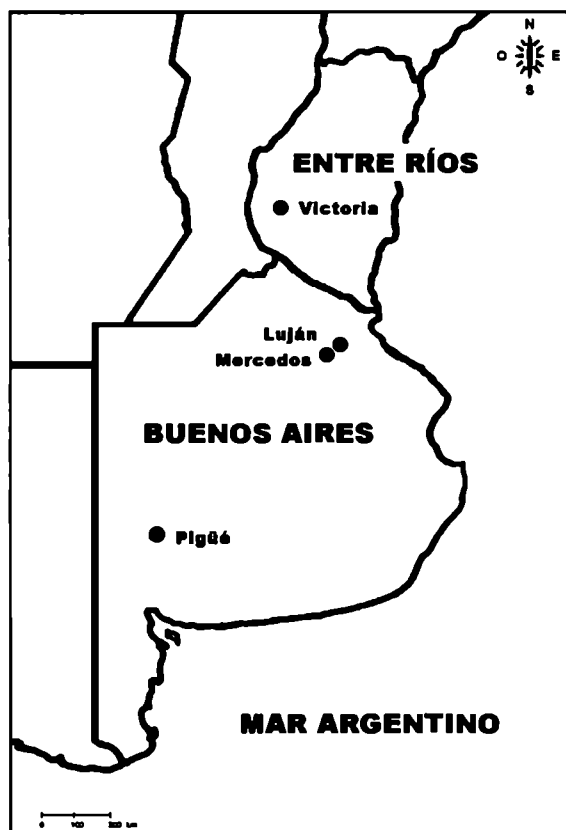


Figura 2.1. Área geográfica donde se realizaron los estudios sobre *M. ruficauda*. Se indican las localidades donde se hallaban los colmenares relevados.

La localidad de Mercedes se encuentra en la provincia de Buenos Aires (34°40'LS, 59°26'LV) donde se tomaron datos en cinco colmenares (Productores: Javier Guillem, Juan Carlos González y Alberto Sasone) y fueron llamados Colmenares X, XI, XII, XIII y XIV.

El uso de dichos apiarios para los muestreos responde a la necesidad de los productores en resolver en el futuro el problema del control de este depredador de abejas, quienes gentilmente colaboraron ofreciendo sus lotes para efectuar los estudios. En la Tabla 2.1. se detalla la información particular de cada uno de los 14 colmenares en donde se realizaron los estudios.

Sitios de estudio

Durante el desarrollo de los estudios se presentaron algunos problemas logísticos debido al carácter privado de los apiarios. Recordemos que la apicultura es una actividad productiva que

en muchos casos sostiene a la familia del apicultor, estando la producción muy ligada a las decisiones de ubicación del colmenar. En muchas ocasiones los productores decidieron cambiar las colmenas de lugar dentro de su campo, hacer fumigaciones en los cultivos aledaños, o incluso trasladar las abejas para realizar la polinización extensiva de otros cultivos. También, se perdieron algunos colmenares durante el estudio debido a causas ajenas a los productores tales como hurto o muerte de colmenas (por ejemplo, el Colmenar III), desmantelamiento del colmenar o cambio de lugar debido a problemas climáticos como inundaciones o sequías intensas (por ejemplo, el Colmenar VI). Estos problemas hicieron que se debieran incorporar nuevos sitios de muestreo en diferentes años.

Tabla 2.1. Colmenares estudiados durante el desarrollo de la Tesis. Se detalla el nombre y lugar de emplazamiento del colmenar, así como los años en que fueron utilizados para la recolección de datos.

Nº de Colmenar	Localidad	Años de estudio
I	Pigüé	1996-1997-1998-1999
II	Pigüé	1996-1997-1998-1999
III	Pigüé	1996-1997
IV	Pigüé	1996-1997-1998-1999
V	Luján	1997-1998-1999
VI	Victoria	1998-1999
VII	Victoria	1998-1999
VIII	Victoria	1998-1999
IX	Victoria	1998-1999
X	Mercedes	1999-2000-2001-2002
XI	Mercedes	1999-2000-2001
XII	Mercedes	1999-2000-2001
XIII	Mercedes	1999-2000
XIV	Mercedes	1999-2000-2001

Materiales y métodos

Los muestreos preliminares de desoves, destinados a realizar la caracterización del área de oviposición de *M. ruficauda*, fueron llevados a cabo en todos los establecimientos apícolas considerados en esta Tesis. Dichos colmenares habían sido muy atacados por *M. ruficauda* en los meses previos. Las observaciones se efectuaron luego de la desaparición de los moscardones adultos de modo tal de registrar la totalidad de desoves colocados en toda la temporada de vuelo. Este procedimiento fue factible gracias a que, luego de la emergencia de las larvas, el corión de los huevos permanece adherido al sustrato durante algunas semanas. De este modo, es posible

contabilizar la totalidad de las ootecas puestas durante el verano. Los relevamientos se realizaron en forma sistemática sobre la vegetación y sobre los alambrados que rodean a los colmenares. Sobre la vegetación se utilizaron cuadrículas de 100 x 100 metros y las unidades muestrales fueron áreas de 1 m² establecidas cada 5 metros. Sobre los alambrados se tomó como unidad muestral una sección vertical de alambrado de 1 metro de largo cada 5 metros. Para caracterizar el tipo de hábitat y las áreas de oviposición utilizadas por *M. ruficauda*, se realizó un registro de las características bióticas y abióticas de cada colmenar. Se evaluó, en cada sitio estudiado, el número de colmenas presentes, la superficie ocupada por el colmenar, la vegetación natural de las zonas de no laboreo, la presencia de soportes alternativos para la oviposición (alambrados), la situación de manejo de los lotes lindantes al colmenar (actividades agropecuarias) y la altura de la vegetación.

Para realizar los estudios sobre los parámetros biológicos de los desoves de *M. ruficauda* se colectaron 55 ootecas en el Colmenar V de la localidad de Luján en Enero de 1998. Las ootecas fueron trasladadas al laboratorio donde se contó el número de huevos por ooteca usando un microscopio estereoscópico. Además, se midieron las dimensiones de cada una de ellas. Para estimar la fertilidad y el tiempo de desarrollo de los huevos, se tomaron 22 ootecas adicionales recién depositadas por las hembras, las cuales fueron colectadas el mismo día en el campo, inmediatamente luego de la oviposición. Las ootecas fueron mantenidas en cajas individuales en el laboratorio bajo condiciones naturales de temperatura, humedad e iluminación. Las larvas emergidas fueron contadas diariamente durante 10 días sucesivos.

La selección en la altura de oviposición fue estimada contando todas las ootecas depositadas tanto en pequeñas parcelas de vegetación natural como también sobre alambrados, en otros dos colmenares ubicados en las localidades de Mercedes y Pigüé. Los muestreos sobre vegetación fueron llevados a cabo en Pigüé (1998) y Mercedes (2002), mientras que los muestreos de alambrados se efectuaron solamente en Pigüé (1996 y 1997). Se midió la altura total de todas las plantas y alambrados disponibles, en la proximidad de las colmenas, usando intervalos de clases de 25 cm (sitios potenciales de oviposición) y la localización en altura de todas las ootecas presentes en una franja de vegetación natural (45 x 2 metros, una por apiario; 5 en total) y sobre todos los alambres de cada alambrado (sitios de oviposición utilizados) dentro del área (aproximadamente 0,25 km²) (Figura 2.2. A y B, Figura 2.3.). Se utilizó la frecuencia de clases de intervalos, tanto de la altura de las plantas como de los alambrados como medida de la disponibilidad. En el caso de las plantas, cada clase de intervalo contiene un segmento de altura

presente en todas las plantas que superan el límite inferior del intervalo. Los alambrados fueron muestreados en forma sistemática, tomando como muestra un metro cada 5 (un total de 1.630 metros fueron muestreados) en 9 colmenares durante diferentes años, también cerca de las colmenas.

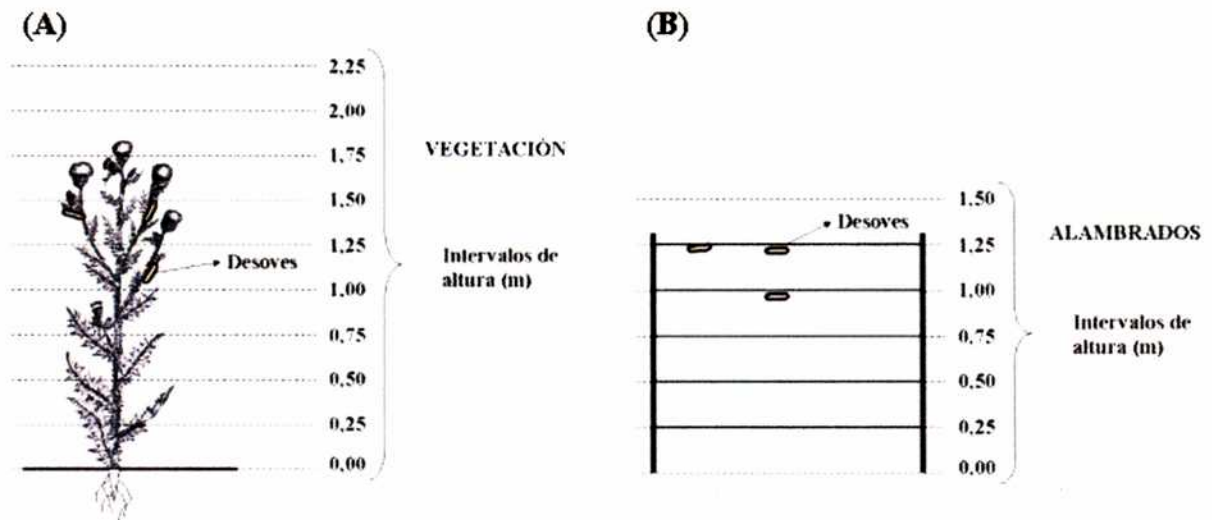


Figura 2.2. Diagrama que ilustra la metodología empleada para la toma de los datos de disponibilidad y uso de los sustratos de oviposición, mediante intervalos de altura. (A) en la vegetación, (B) en los sustratos artificiales (alambrados).



Figura 2.3. Metodología empleada para la toma de los datos de disponibilidad y uso de los sustratos de oviposición. Se registró la altura de todas las plantas y alambrados presentes en cada área de muestreo.

Las frecuencias de oviposición, de acuerdo con la altura de cada sustrato, fueron comparadas con el Índice de Homogeneidad de Czekanowski (Feinsinger et al. 1981). Este índice brinda una medida confiable de cómo una población utiliza los recursos en función de su disponibilidad, es decir, es una medida de la amplitud de nicho donde se analiza la relación entre la distribución de frecuencias de los recursos utilizados por los individuos de una población y la distribución de frecuencias de los recursos disponibles en el ambiente. La expresión del índice es la siguiente:

$$PS = 1 - 0,5 \sum | p_i - q_i | \quad (2.1.)$$

Donde p_i es la proporción del recurso de estado i entre todos los recursos usados por la población y q_i es la proporción del recurso i en el conjunto de recursos disponibles para la población. El rango de valores de PS va de 1,00 (la población usa los recursos en proporción a su disponibilidad, por lo tanto tiene una estrategia generalista) a q_i mínimo (la población es especializada exclusivamente sobre un estado del recurso, generalmente escaso, y en consecuencia saltea otros ítems).

Existe una variedad de índices para evaluar la amplitud de nicho de una especie en el uso de los recursos de acuerdo a su disponibilidad en el ambiente, siendo los de Levin, Hurlbert y Czekanowski los más usados. Sin embargo, según Feinsinger et al. (1981), el índice de Homogeneidad de Czekanowski es el más apropiado y es el de mejor interpretación para comparar distribuciones de frecuencias de ítems disponibles y utilizados. El índice de Levin solo es aplicable cuando los diferentes estados del recurso están igualmente disponibles y en la mayoría de las comunidades naturales los recursos no se encuentran distribuidos uniformemente. En los casos de poblaciones con cierta especialización, este índice subestima el valor de amplitud de nicho y no puede diferenciar entre dos poblaciones especializadas que utilizan recursos raros o recursos abundantes en el ambiente. El índice de Hurlbert evita este problema pero su significado biológico no es inmediatamente obvio; además, el valor de este índice es indefinido cuando algún estado del recurso disponible es cero y por este motivo es menos utilizado (Feinsinger et al. 1981).

La selección de la especie de planta efectuada por las hembras para la oviposición fue estimada aplicando el método propuesto por Neu et al. (1974). Este método compara la

ocurrencia observada y esperada para cada recurso o categoría de hábitat (en este caso todas las especies de plantas presentes en los pastizales estudiados) a través del método de bondad de ajuste de Chi-cuadrado y la aproximación de Z de Bonferroni (Allredge & Ratti 1992).

Para estudiar la relación entre el número de huevos por desove y altura de oviposición se colectaron 100 ootecas. Los huevos fueron tomados a diferentes alturas teniendo en cuenta todos los intervalos contenidos entre 0 y 4 metros, en forma de asegurarse un muestreo uniforme de las alturas de oviposición. Las ootecas fueron llevadas al laboratorio para realizar el conteo de huevos.

La distribución horizontal de las ootecas fue determinada registrando todas las ootecas presentes en 8 franjas de vegetación (15 x 5 metros) cerca de 4 apiarios en Mercedes, durante los veranos de los años 2000 y 2001 (una franja por cada verano, $n = 8$). Las franjas fueron ubicadas en los espacios con vegetación natural entre lotes de laboreo cerca de los alambrados que cercan el área donde se encontraban las colmenas y donde la vegetación no estaba disturbada. Se registró la posición de las ootecas dentro de cada franja de pastizal cada 15 días desde la emergencia de los adultos hasta que los adultos desaparecieron. Cada ooteca fue marcada con pintura luego de ser registrada en orden de evitar dobles registros. La distribución espacial fue analizada dividiendo cada franja en 10 áreas pequeñas (3 x 2,5 metros) y luego se calcularon los coeficientes de dispersión a partir de la media y la varianza ($DC = \text{var}^{(1/2)}/\text{media}$; Rabinovich 1980) de la abundancia de las ootecas en cada sitio. Entonces, asumiendo una distribución binomial negativa, se estimó el parámetro K para cada distribución para obtener una medida de la agregación. K es un índice que muestra el grado de agrupamiento, cuanto más chico es K , más agregada es la distribución. Finalmente, usando los valores estimados de K , se calcularon los valores esperados y se realizó una prueba de bondad de ajuste entre las frecuencias esperadas por el modelo y los datos de campo (Rabinovich 1980). Además se registró la disponibilidad de especies de plantas en cada franja.

Para determinar si existen efectos de denso-dependencia en la eclosión de los huevos, debidos a la disposición de los huevos en capas superpuestas dentro de la ooteca, se realizó una prueba utilizando un modelo de regresión lineal entre el logaritmo natural del porcentaje de larvas nacidas por ooteca y el logaritmo natural del número de huevos por ooteca. Para detectar denso-dependencia, Dennis & Taper (1994) sugirieron el método de "resampling", para evitar el excesivo error de Tipo I cometido por el método de regresión. En esta Tesis los análisis de

denso-dependencia se realizaron utilizando la metodología propuesta por Capurro et al. (1997). Primero, se realizó la regresión lineal entre las variables y luego se controló la significación de la regresión como sigue: (1) Se calcularon las estimaciones "Jackknife" para la pendiente de regresión y su varianza, (2) se construyó el intervalo de confianza usando la distribución Z (Caswell 1989, Efron 1982), (3) la regresión fue considerada estadísticamente significativa si la pendiente igual a cero no estaba incluida en el intervalo de confianza, confirmando de este modo la existencia de la denso-dependencia. En el Apéndice II (Tabla A) se presentan los valores obtenidos en los ensayos de eclosión efectuados en el laboratorio.

Para determinar si existe algún efecto de la distancia al colmenar sobre la distribución de los desoves en las áreas de oviposición se realizó un muestreo de desoves de *M. ruficauda* durante tres años sucesivos (1996, 1997 y 1998) en tres establecimientos apícolas privados situados en la localidad de Pigüé. Se realizó un relevamiento sistemático de las ootecas presentes en los alambrados utilizando transectas en la zona de colmenas. Se relevaron 50 metros lineales de alambrado por colmenar ($n = 11$ por transecta). Cada muestra consistió en una sección vertical de alambrado de 1 metro de ancho tomadas cada 5 metros (ver párrafos anteriores). Con los datos se desea determinar si existen diferencias significativas en el número de desoves colocados cerca o lejos de las colmenas (0 y 300 metros, respectivamente) y entre diferentes años de estudio. Para ello se realizó un análisis de varianza de dos factores en un diseño de medidas repetidas. No se realizaron comparaciones entre los colmenares. Para cumplir con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se realizó una transformación de los datos utilizando la expresión, seno ($x + 0,5$).

Para determinar el patrón temporal de oviposición de *M. ruficauda* se realizaron muestreos durante Enero y Febrero de 2001 en la localidad de Mercedes. Se eligió un área de 5 x 15 metros de pastizal en cada colmenar, en un total de tres colmenares. Se procedió a realizar un censo temporal de todas las ootecas presentes en dichas áreas. Los censos se realizaron a intervalos de 15 días desde la aparición de los moscardones adultos, de modo que en cada muestreo sucesivo se fueron registrando los desoves nuevos. Para cada desove se tomó la altura de oviposición y las coordenadas de ubicación dentro del área definida. Cada ooteca fue pintada en la base con pintura acrílica de modo tal de ser registrada sólo una vez. En total se realizaron cinco mediciones de abundancia, dado que los adultos aparecieron el 25 de Diciembre de 2000 y desaparecieron el 15 de Marzo de 2001.

Resultados

Las características de los hábitats ocupados por *M. ruficauda* y de los sitios físicos utilizados para la oviposición (tamaño de cada colmenar, vegetación natural, cultivos y plantaciones circundantes y altura de la vegetación) se detallan en el Apéndice II (Tabla B). En los pastizales naturales que se desarrollan en las zonas libres de laboreo se encontraron diferentes especies vegetales, tales como *Carduus acanthoides* L. (cardo común, Asteraceae), *Ammi majus* L. (apio cimarrón, Umbelliferae), *Cynara cardunculus* L. (cardo de castilla, Asteraceae), *Setaria argentina* Herrmann (cola de zorro, Gramineae), *Diplotaxis sp.* L. (Cruciferae), *Brassica campestris* L. (nabo, Cruciferae), *Agropyron sp.* Gaertner (agropiro, Gramineae), *Cichorium intybus* L. (achicoria, Compositae), *Sorghum halepense* L. (sorgo de alepo, Gramineae), *Festuca sp.* L. (festuca, Gramineae), *Sanguinaria canadensis* L. (sanguinaria, Papaveraceae), *Stipa sp.* L. (flechilla, Gramineae), *Bromus sp.* L. (cebadilla, Gramineae), *Phalaris sp.* L. (alpiste, Gramineae), *Centaurea sp.* L. (abrepuño, Compositae), *Chondrilla juncea* L. (achicoria dulce, Compositae), *Sonchus oleraceus* L. (cerraña, Compositae), *Solidago chilensis* Meyen (vara de oro, Asteraceae) y *Tagetes minuta* L. (chinchilla, Compositae). Los colmenares estaban compuestos por un número de colmenas que varió entre 15 y 80. Los lotes aledaños estaban ocupados con distintas actividades agropecuarias tales como cultivo de girasol, rastrojo de trigo, cultivo de maíz, pastura para ganado y campo arado, con zonas de pastizal natural que presentaban la vegetación antes mencionada.

Se hallaron ootecas de *M. ruficauda* sobre la vegetación más elevada de los pastizales y sobre sustratos artificiales, tales como alambrados y postes. No se hallaron desoves sobre troncos, madera caída, ni suelo.

El número promedio de huevos por ooteca depositados por *M. ruficauda* fue 327,7 ($ES = 22,0$, $n = 55$). Los valores máximos y mínimos fueron 56 y 729 huevos, respectivamente. El volumen medio de la ooteca fue 0,067 ml (mínimo 0,005 ml, máximo 0,160 ml); la longitud media fue 0,98 cm (mínimo 0,50 cm, máximo 2,00 cm), el ancho medio fue 0,33 cm (mínimo 0,10 cm, máximo 0,50 cm), y el espesor fue 0,21 cm (mínimo 0,10 cm, máximo 0,30 cm). La relación entre las variables volumen de la ooteca, estimado como el producto de las tres medidas, y número de huevos por ooteca fue significativa ($n = 55$, $r^2 = 0,66$; $P < 0,0001$; $b = 0,0002$).

El porcentaje medio de larvas emergidas por ooteca fue 96,2 % ($n = 22$, $ES = 0,008$, rango 87,2 - 100,0). La eclosión de los huevos comenzó entre el 5° y 6° día posterior a la oviposición, con un pico en el 7° día, con un 56,6 % de larvas nacidas, y se completó en el 8° día (98,8 %, $n = 22$). No se detectó una relación lineal significativa entre el logaritmo natural del porcentaje de larvas nacidas por ooteca y el logaritmo natural del número de huevos por ooteca ($P < 0,0952$; $r^2 = 0,133$; $n = 22$; $b = 0,03$; Figura 2.4.).

Se observó que en las plantas, el 34,8 % de las ootecas estaban ubicadas dentro del intervalo de altura de 1,25-1,50 m y el 81,6 % dentro del intervalo de altura de 1,00-1,75 m ($n = 250$). Sólo una ooteca fue encontrada debajo de 1,00 metro (Figura 2.5.A). El Índice de Czekanowski fue 0,36, lo cual indica que *M. ruficauda* utiliza menos de $\frac{1}{3}$ de los estratos de altura disponibles en las plantas e ignora al resto, revelando una alta selectividad por los intervalos de altura más altos ($G = 612,2$; $P < 0,05$; Apéndice II, Tabla C; Feinsinger et al. 1981). En cambio, para los alambrados, se observó que el 64,1 % de los huevos fueron ubicados en el intervalo de altura de 1,00-1,25 metros ($n = 2.555$ en 326 muestras) mientras que no se encontraron ootecas debajo de 0,50 metros (Figura 2.5.B). El índice de selectividad fue 0,43 y revela que esta especie utiliza menos de $\frac{1}{2}$ de los estratos de altura disponibles en los alambrados y excluye al resto, indicando alta selectividad por los hilos más altos ($G = 18.433,1$; $P < 0,05$; Feinsinger et al. 1981; Apéndice II, Tabla C). Se encontró además que las ootecas estaban agregadas, dado que los *CD* fueron mayores que uno en todas las franjas muestreadas y los valores de *K* fueron bajos ($0,39 < K < 2,03$; $n = 8$). No hubo diferencias significativas entre los valores esperados y observados de acuerdo el modelo de distribución binomial negativo en cada muestra ($n = 8$; $P > 0,05$).

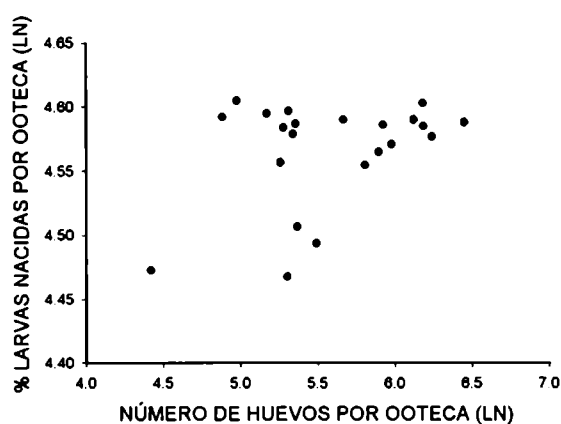


Figura 2.4. Relación entre el porcentaje de larvas emergidas por ooteca (ln) y el número de huevos por ooteca (ln). La relación lineal entre las variables es no significativa, lo cual indica que la proporción de larvas nacidas por ooteca es constante cuando el número de huevos por ooteca se incrementa (no existen efectos denso-dependientes negativos) ($P < 0,0952$; $r^2 = 0,133$; $n = 22$; $b = 0,03$).

Por otra parte, se registró el número de individuos que representaron a seis especies principales de plantas dentro de las cinco franjas: *C. acanthoides* (n = 555), *C. intybus* (n = 101), *A. majus* (n = 88), *T. minuta* (n = 17), “Plantas secas inespecíficas” (n = 13), y *S. chilensis* (n = 10). Las alturas medias de cada especie de planta fueron: 1,47; 1,39; 1,28; 0,99; 1,65 y 1,32, respectivamente. Se observó que las hembras de *M. ruficauda* no utilizaron para oviponer las especies de plantas de acuerdo a su disponibilidad en el ambiente ($\chi^2 = 102,97$; $P < 0,05$, n = 6). En cambio, eligieron con mayor frecuencia las especies de plantas más altas, sobre-explotando a *C. acanthoides* ($q = 0,709$; $ICp = 0,880$; $0,968$) y a las “plantas secas inespecíficas” ($q = 0,015$; $ICp = 0,018$; $0,094$). Las hembras sub-explotaron el resto de las especies [*C. intybus* ($q = 0,129$; $ICp = -0,003$; $0,043$), *A. majus* ($q = 0,112$; $ICp = 0,000$; $0,000$), *T. minuta* ($q = 0,024$; $ICp = 0,000$; $0,000$) y *S. chilensis* ($q = 0,010$; $ICp = 0,000$; $0,000$)] ($q =$ proporción disponible, $ICp =$ intervalo de confianza de uso) (Figura 2.6.).

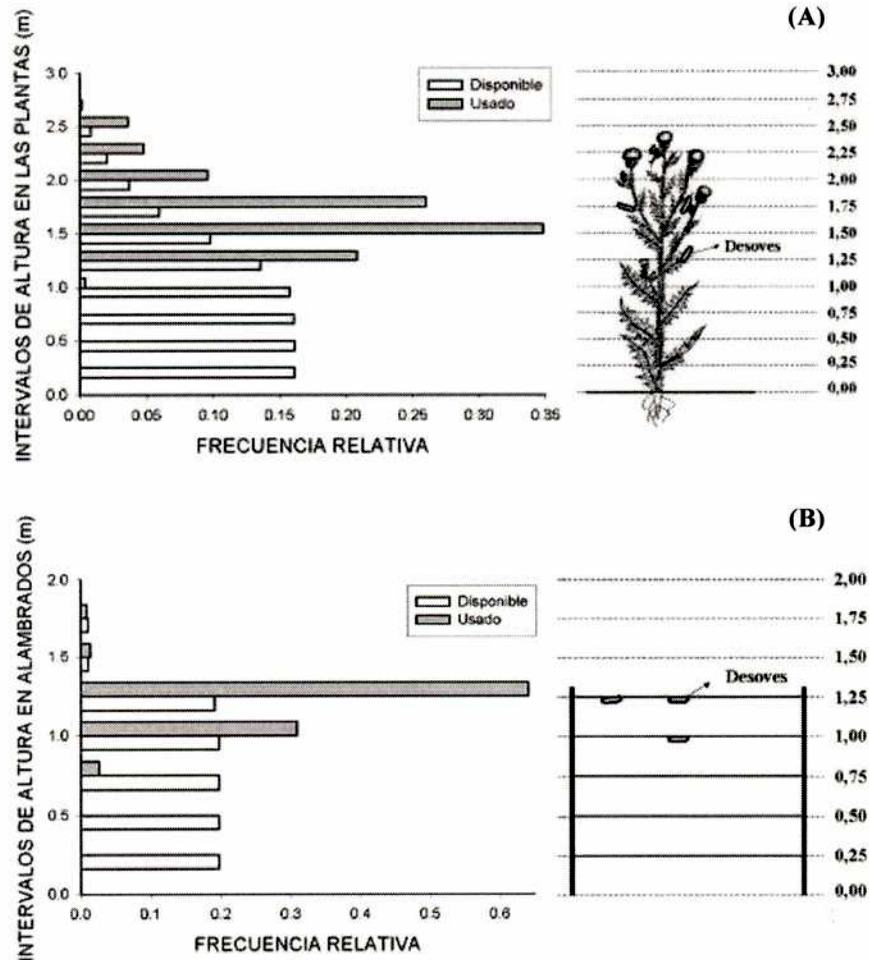


Figura 2.5. Frecuencia de las alturas disponibles de sustratos (barras blancas) y de ootecas según el intervalo de altura del sustrato donde fueron depositadas (barras grises). Las alturas se presentan en rangos de 0,25 m; solamente se indica el límite superior de cada intervalo. (A) Plantas, correspondiente a cinco muestras de una franja de vegetación de 45 m x 2 m. (B) Alambrados, correspondiente a 266 muestras (tomadas en 1.630 metros lineales de alambrado) en 9 sitios cerca de los apiarios (ver el texto para mayor detalle).

Se encontró una relación significativa entre las variables número de huevos por ooteca y altura de oviposición, indicando que el número de huevos puestos por las hembras varía con la altura del sustrato seleccionado, con un aumento del tamaño de la ooteca a medida que se incrementa la altura de oviposición ($r^2 = 0,125$; $P < 0,0003$; $n = 100$; $b = 73,34$) (Figura 2.7.).

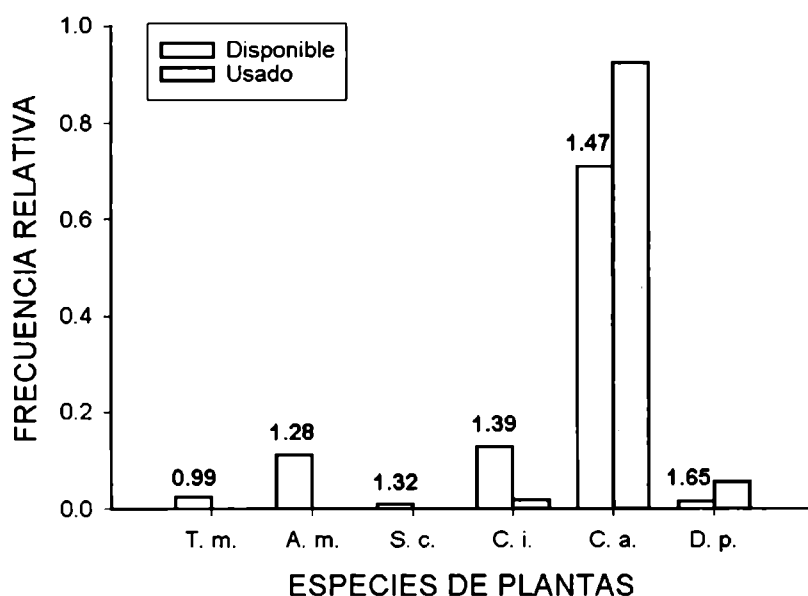


Figura 2.6. Especies de plantas usadas por las hembras de *M. ruficauda* durante la oviposición. Los valores sobre las barras indican la altura media de cada especie de planta. C.a.: *Carduus acanthoides*, C.i: *Cichorium intybus*, A.m.: *Ammi majus*, T.m.: *Tagetes minuta*, D.p.: Plantas secas inespecíficas, S.c.: *Solidago chilensis*.

No se encontraron diferencias significativas en la abundancia de número de desoves en función de la cercanía al colmenar (en las inmediaciones de las colmenas y las zonas más alejadas de las mismas) ($P > 0,4800$). En cambio, se encontraron diferencias significativas en cuanto al año de muestreo ($P < 0,0002$). Los contrastes realizados *a posteriori* indicaron que existen diferencias significativas entre los años 1996 y 1997, y entre 1997 y 1998 en cuanto a la cantidad de desoves colocados, pero no en relación con 1996 y 1998. Puede verse que en 1997 se encontró un número significativamente menor de desoves en los colmenares de Pigüé, que se corresponde con una menor permanencia de los adultos en la temporada de verano. Los valores de las medias de abundancia de desoves por metro lineal de alambrado se presentan en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Media del número de desoves por metro lineal de alambrado en tres colmenares de la localidad de Pigüé, para tres años de estudio.

AÑO	DISTANCIA	Nº DESOVES
1996	Cerca	13,7
1997		2,6
1998		4,1
1996	Lejos	5,1
1997		1,9
1998		5,7

Se observó que la extensión de la temporada de actividad y oviposición de *M. ruficauda* es de aproximadamente 80 días y tiene lugar desde principios de Enero hasta mediados de Marzo inclusive. La máxima actividad de deposición de huevos ocurrió entre los 30 y 60 días luego de la aparición de los adultos y fue bastante variable entre los colmenares estudiados (Colmenares X, XI y XII; Figura 2.8.).

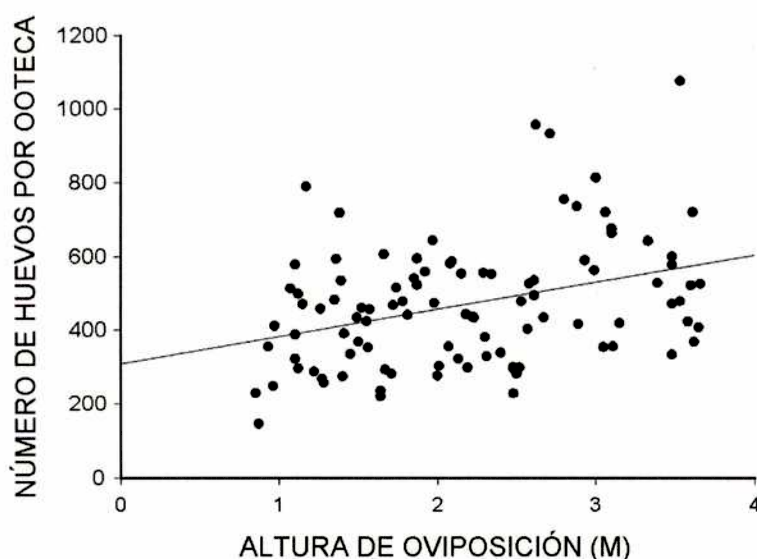


Figura 2.7. Variación del tamaño de las ootecas de *M. ruficauda* de acuerdo a la altura de oviposición seleccionada por las hembras ($r^2 = 0,125$; $P < 0,0003$; $n = 100$; $b = 73,34$). Las ootecas más grandes son más frecuentemente encontradas en los intervalos de altura más elevados de las plantas.

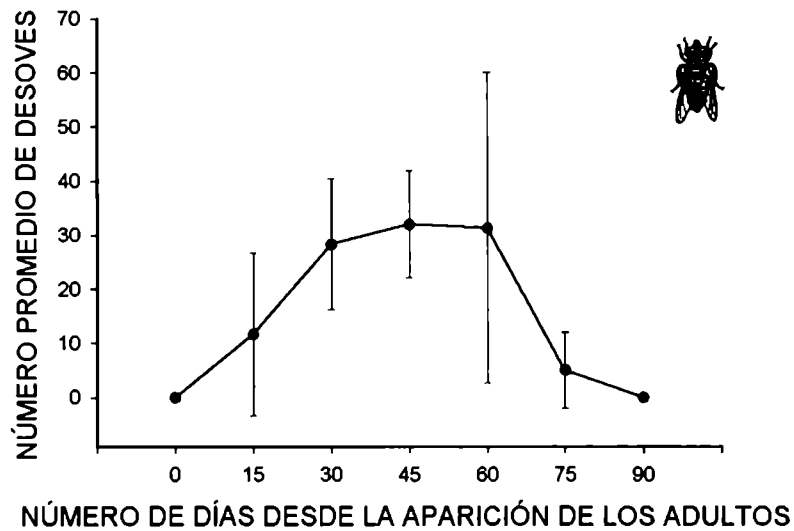


Figura 2.8. Variación temporal de la abundancia de deposición de desoves por *M. ruficauda* durante la temporada de actividad de los adultos.

Discusión

Los dípteros parasitoides que oviponen fuera del hospedador usualmente producen ootecas grandes y fértiles, y rara vez evitan el superparasitismo (Mellini 1994). Este comportamiento es usualmente acompañado por alguna habilidad en la búsqueda de los parches de hospedadores, la cual es desplegada por las hembras adultas y/o por una búsqueda activa llevada a cabo por las larvas, la cual debe estar relacionada con la distribución espacial del hospedador.

Mallophora ruficauda es capaz de producir grandes ootecas, las cuales son muy fértiles y no son afectadas por efectos denso-dependientes negativos, dado que cuanto más grandes son las ootecas se produce la misma proporción de larvas viables. Esta concordancia entre el volumen de la ooteca y el número de huevos por ooteca permitirá una rápida estimación del número de huevos mediante la examinación de las ootecas. Este tipo de práctica es de utilidad en los ensayos llevados a cabo en la evaluación de métodos de control de *M. ruficauda* en el ámbito de la apicultura. Otro resultado de interés para el control de *M. ruficauda* es que la mayoría de las larvas nacen dentro de los primeros siete días que siguen a la oviposición, con lo cual, los productos destinados a la eliminación de las larvas serán más efectivos de ser aplicados cada seis días.

El encuentro con el hospedador en *M. ruficauda* es principalmente efectuado por las larvas dentro del suelo y dentro de un área limitada (Capítulo 3). Además, como lo demuestran los resultados relatados precedentemente, las hembras adultas seleccionan fuertemente alturas particulares donde depositar los desoves. La selectividad hacia los sustratos más elevados ha sido registrada en las plantas y en soportes artificiales, tales como los alambrados. En este último caso, la selección del sitio de oviposición es independiente de la abundancia y claves de las plantas, incluyendo a aquellas que pueden ser derivadas del daño causado a las raíces por los gusanos blancos en el suelo.

Los resultados sugieren que las hembras de *M. ruficauda* encontrarían ventajas en oviponer sobre los sustratos artificiales, tales como una mayor estabilidad durante la oviposición, menor movimiento del sustrato cuando sopla viento, menor destrucción por parte de animales herbívoros o mayor superficie disponible con respecto a los pastos a una determinada altura. Se ha observado que las hembras de *M. ruficauda* colocan desoves entrecortados y desordenados cuando oviponen sobre vegetación muy agitada por el viento y la oviposición sobre los alambrados podría estar contribuyendo a reducir este efecto. En general las hembras oviponen en sustratos donde ya otras hembras colocaron sus desoves y es bastante común observar desoves superpuestos o contiguos en el sustrato.

Basado en las observaciones de campo sobre los sitios utilizados por los adultos para la oviposición, se podría ubicar a *M. ruficauda* dentro de la categoría “*Grass*” y subcategoría “*Tips*” de la clasificación ecológica propuesta por Londt (1994), la que está basada en el uso de los hábitats. La categoría “*Grass*” incluye a los Asílidos que oviponen en pastos usualmente de más de 50 centímetros de altura, asociados o no con arbustos. La subcategoría “*Tips*” hace referencia a los individuos que permanecen en la punta de los pastos esperando a sus presas y que cazan en el espacio aéreo que está inmediatamente por encima del pastizal. Además, estas especies colocan los huevos en la vegetación. Por otra parte, muchas se alimentan de larvas subterráneas durante el estadio larvario, y la caída de las larvas desde los huevos que fueron puestos en la vegetación hasta el suelo se presume que es una adaptación para la dispersión. Esta última estrategia coincide con las observaciones preliminares efectuadas para *M. ruficauda*.

Trabajos previos han demostrado que varias especies de moscas ladronas que viven en pastizales también oviponen a alturas particulares. Por ejemplo *Erax aestuans* Snow, deposita

sus desoves en la punta de las espigas secas de ciertas especies de plantas (Reinhard 1938). Linsley (1960) encontró que las masas de huevos de *Mallophora bromleyi* Curran son depositadas a alturas desde 1,32 a 1,98 metros sobre ramas secas de *Prosopis* L. (Leguminosae) y *Acacia* Adanson (Leguminosae), mientras que Alcock (1974) observó que las hembras de *Mallophora faustrix* Osten Sacken ponen huevos en la punta de los tallos secos de las malezas, especialmente sobre *Conyza coulteri* A. Gray (Compositae), a una altura de 1,00-2,00 metros sobre el suelo. Otras especies relacionadas, tales como *Megaphorus guildiana* Williston ponen los huevos sobre los tallos muertos de varias especies de plantas de pradera a alturas entre 0,26-1,00 metros sobre el suelo (Dennis & Lavigne 1975); *Mallophorina pulchra* Pritchard ovipone sobre tallos verticales muertos a alturas entre 0,41 y 0,46 metros; *Neoaratus abludo* Daniels pone los huevos a 0,45-0,76 metros dentro de las cabezas rotas con semillas de las espigas (Lawson & Lavigne 1984) y *Dysmachus hradskyi* Adamovic ovipone a una altura de 0,20-0,30 metros sobre los tallos de los pastos (Adamovic 1974).

La selección de la altura por los Asílidos para oviposición puede estar relacionada con el éxito de encuentro del hospedador. Óptimamente, los encuentros con el hospedador son maximizados si las hembras de *M. ruficauda* que buscan sitios de oviposición son capaces de detectar los manchones ricos de hospedadores y estimar de alguna forma su calidad. Entonces, una vez que la emergencia de las larvas ha ocurrido, estas serán dispersadas dentro de un área en la cual los hospedadores son encontrados con facilidad. Alternativamente, si las hembras carecen de la habilidad para percibir la presencia y calidad del hospedador, o las claves no son confiables debido a fluctuaciones ambientales, tasas altas de encuentro y reducido superparasitismo pueden ser producidos a través de una amplia dispersión de la progenie. En ese sentido, habrá un incremento en la distancia de dispersión de las larvas con el incremento en la altura de la ooteca, como ocurre durante el proceso de dispersión de semillas en muchas plantas (Greene & Johnson 1996, Nathan et al. 2001, Okubo & Levin 1989).

El primer estadio larvario de *M. ruficauda* es muy pequeño (2,8 miligramos, Capítulo 5). Entonces, cuanto mayor sea la altura de los desoves, más lejos de la ooteca (y probablemente menos agregadas) caerán las larvas. Las larvas que caen en la proximidad del mismo hospedador, dado la escasa movilidad del mismo, tenderán a superparasitarlo o, de lo contrario, morirán. Al incrementar la dispersión espacial, en teoría, aumentan las probabilidades de que al menos alguna larva caiga sobre un hospedador (que no es detectable) o en manchones ricos de hospedadores (Capítulo 4). La idea del aumento de la probabilidad de encuentro entre

parasitoide-hospedador con el incremento del área de dispersión es sostenida por los resultados obtenidos sobre la variación del tamaño de la ooteca con la altura de oviposición, donde las hembras de *M. ruficauda* parecen ajustar la cantidad de huevos que colocan en respuesta a la altura de los sitios de oviposición seleccionados, con ootecas grandes colocadas en los sustratos más elevados. Sin embargo, la gran variabilidad detectada en el conjunto de datos sugiere que otros factores pueden también afectar al tamaño de la ooteca.

La selectividad hacia los sitios de oviposición más elevados podría ser tema de hipótesis no relacionadas con el encuentro con el hospedador. Por ejemplo, *M. ruficauda* podría elegir sitios elevados en los cuales depositar los desoves para escapar a la depredación de huevos. Alternativamente, los sitios elevados podrían reducir la posibilidad de que los desoves sean alcanzados por inundaciones. Sin embargo, existe poca evidencia para sostener cualquiera de estas explicaciones. Primero, la tasa de depredación de huevos es baja, dado que las ootecas se han conservado intactas durante los seguimientos en el campo (observación personal). Segundo, las inundaciones, aunque son comunes en algunas partes del área de distribución de *M. ruficauda*, también tendrían efectos negativos sobre las poblaciones de gusanos blancos, y por consiguiente los hospedadores morirían antes de que los huevos sean afectados por el agua.

A través de este trabajo, se sugiere que varios aspectos del comportamiento reproductivo desplegado por los adultos de *M. ruficauda* podrían estar relacionados a las tasas de encuentro con los hospedadores en este estado parasítico, y por lo tanto, con su éxito reproductivo. El alto porcentaje de eclosión observado es esperado en un parasitoide cuyos adultos no buscan activamente a sus hospedadores y que parecen depender del encuentro por azar con especies de hospedadores ocultos, debido a que permite que mayor número de individuos encuentre al hospedador (Ikawa & Susuki 1982, Waage & Ng 1984). Por otro lado, las hembras de *M. ruficauda* muestran un notable grado de selectividad hacia sitios altos donde colocar sus desoves.

La selectividad en la altura mostrada por *M. ruficauda* puede implicar que las hembras pueden estar buscando sitios de oviposición que pueden incrementar el éxito de la progenie. Podría ocurrir que a las escalas espaciales más pequeñas que las agregaciones de hospedadores (menores de dos metros en diámetro), pero mayores que el área de búsqueda de la larva dentro del suelo (aproximadamente 20-30 centímetros de diámetro), la selectividad en la altura, que se muestra por primera vez en este estudio, sugiera que las hembras podrían estar usando una estrategia que es independiente de las claves originadas en las plantas, sino que apunta a

incrementar la dispersión de las larvas. El uso de claves vegetales u otra evidencia indirecta de los agrupamientos de hospedadores por *M. ruficauda* merece un estudio particular (Fournet et al. 2001). No obstante, la alta selectividad mostrada por *M. ruficauda* hacia las plantas de *C. acanthoides* sugiere que es posible que exista alguna relación entre la presencia de esta planta y la presencia del hospedador. En concordancia con esto, existe información sobre la asociación entre algunas especies de Scarabaeidae con plantas del género *Carduus* (Campobasso et al. 1999), sugiriendo que las plantas de *Carduus* podrían ser, a través de alguna clave indirecta, atractivas para los parasitoides motivados para oviponer. Sería interesante llevar a cabo estudios comparativos con otras especies de Asíidos que también muestren algún grado de selectividad en la altura y que parasiten hospedadores subterráneos. Tal información sería útil para el manejo de estos voraces depredadores de abejas, mediante la eliminación de sitios potenciales de oviposición relacionados con los hospedadores subterráneos.

Los resultados de distribución espacial de los desoves encontrados indican que no hay diferencia entre el número de huevos colocado por las hembras de *M. ruficauda* con respecto a la cercanía a las colmenas (no existe el efecto de distancia). Esto podría estar indicando que el área de acción de *M. ruficauda* sería mucho más amplia que la considerada en este estudio, en el cual las mediciones consideradas como “lejos del colmenar” se hicieron a una distancia de 200-300 metros. El radio de acción de forrajeo de las abejas melíferas para la recolección de polen y néctar es de aproximadamente 3 kilómetros en promedio desde la colmena (von Frisch 1969), por lo cual se estima que la abundancia de moscardones alrededor del colmenar es significativamente la misma dentro de un radio de 300 metros, área dentro de la cual se realizaron los estudios de esta Tesis. Las diferencias en el número de desoves colocados de año en año pueden deberse a diferentes factores. Durante 1997 las zonas estudiadas sufrieron las consecuencias de la Corriente del Niño, con precipitaciones abundantes que ocasionaron anegamientos momentáneos de algunos campos. Dado que en ese período *M. ruficauda* se encontraba en etapa de pupa en el suelo y próximo a emerger como adulto, es factible que muchos individuos hayan muerto por el exceso de agua y por consiguiente esto impactó negativamente en la cantidad de huevos colocados por las poblaciones locales. Por otro lado, se sabe por comentarios de los productores de la zona, que existen lo que ellos denominan “años de moscardones”, en los cuales se observa una alta densidad de adultos y grandes pérdidas en la cosecha de miel, mientras que en otros veranos la abundancia de este insecto es “aparentemente menor” (productores de Pigüé, comunicación personal). Este resultado podría estar indicando que la población de *M. ruficauda* sufre variaciones inherentes a su propia dinámica poblacional.

Las observaciones demostraron que las hembras seleccionan los sitios donde van a desovar sobre las plantas. La importancia de conocer que existe preferencia en la altura de oviposición es fundamental en dos aspectos. Desde el punto de vista biológico para conocer como se produce la dispersión de las larvas en el campo y relacionarla con los fenómenos de parasitismo, y desde el punto de vista del control de la plaga para conocer que tipo de soportes o protección para el ganado pueden dejarse alrededor del colmenar, que tipo de manejo de vegetación debe hacerse para impedir la postura de huevos y donde deben aplicarse los productos utilizados en el manejo o control de este insecto para evitar su proliferación.

CAPÍTULO 3:

Contribución de las larvas en la localización del hospedador: Claves involucradas en la orientación



Introducción

La localización de recursos por parte de los depredadores y parásitos ha sido un tema de gran interés en ecología, particularmente, debido a las consecuencias que trae aparejado para su supervivencia y éxito reproductivo. Los animales tienen que encontrar recursos para cubrir sus requerimientos diarios de energía y para la reproducción (Alcock 1998). Para los parasitoides, esos recursos son indispensables para las hembras en la producción de huevos, pero la búsqueda de recursos no está solamente dirigida a conseguir comida, sino también a encontrar hospedadores donde colocar sus huevos (Lewis et al. 1998).

En la mayoría de los parasitoides son las hembras las que localizan activamente a su hospedador y colocan sus huevos en o sobre el cuerpo de la víctima. Existen muchas estrategias entre las hembras parasitoides para localizar a su hospedador, que fundamentalmente se basan en la detección de sustancias químicas que provienen del mismo hospedador o que derivan de su actividad en el ambiente, las cuales actúan como semioquímicos (Lewis & Martin 1990, Steinberg et al. 1993, Tumlinson et al. 1993 a y b, Udayagiri & Jones 1992, Vet & Groenwold 1990, Vet et al. 1990, Vinson 1984). Estos semioquímicos son sustancias muy relacionadas a la vida del hospedador que permiten a los parasitoides la localización, reconocimiento y selección de hospedadores (Lewis & Martín 1990, Noldus 1989, Papaj & Vet 1990, Steinberg et al. 1993, Tumlinson et al. 1993b, Turlings et al. 1991 a y b, van Alphen et al. 1986, Vet et al. 1990, Vinson 1984, Whitman & Eller 1992).

En los últimos años, se han obtenido grandes adelantos en entender cuales son las señales y estímulos que intervienen en este proceso de localización (importantes revisiones en Jones 1981, Nordlund et al. 1988, Vet & Dicke 1992, Vinson 1976, 1981, 1985, Waage 1978, Weseloh 1981.). Entre ellos, los estímulos que juegan un papel fundamental son los estímulos químicos utilizados como señales para la orientación por los parasitoides que imparten información direccional hacia el hospedador. En general, los atrayentes químicos son usados por los insectos para localizar a su víctima (a través de quimiotaxis o anemotaxis) mientras que los arrestantes químicos no proveen información direccional, sino que revelan la potencial presencia del hospedador en el ambiente (Dethier et al. 1960). Los compuestos químicos que median el intercambio de información entre individuos se conocen con el nombre de *infoquímicos*. Cuando el emisor y el o los receptor/es de la información pertenecen a la misma especie estos compuestos se denominan *feromonas*. Por su parte, los *aleloquímicos* son responsables del

intercambio de información entre individuos de diferentes especies. Cuando en este tipo de interacción interespecífica el intercambio de información resulta beneficioso tanto el individuo emisor como el receptor se habla de *sinomonas* (e.g. los aromas florales y los polinizadores). En el caso en que solo el individuo emisor se beneficia se llaman *alomonas* (e.g. arañas boleadoras que atraen presas imitando sus feromonas sexuales). Cuando de la interacción resulta beneficiado sólo el individuo receptor se habla de *kairomonas* y el ejemplo típico lo constituyen los olores del hospedador para los insectos hematófagos (Dicke & Sabelis 1988, Nordlund & Lewis 1976, Vet & Dicke 1992).

De los infoquímicos existentes, los aleloquímicos y más precisamente las kairomonas, son los que poseen mayor importancia en el proceso de búsqueda de hospedadores (Lewis et al. 1990, Papaj & Vet 1990, Tumlinson et al. 1993b, Turlings et al. 1991b, Vet et al. 1990, Whitman & Eller 1992). Los parasitoides no solo responden a un tipo particular de aleloquímico, sino que tienen la capacidad de responder a diferentes mezclas de estos compuestos (Noldus 1989, Papaj & Vet 1990, Tumlinson et al. 1993b, Turlings et al. 1991b, Vet et al. 1990). En estos casos, los parasitoides pueden conocer la localización de sus hospedadores en el ambiente no solo a través de los aleloquímicos asociados al mismo hospedador, sino también por los provenientes de sus actividades, de la planta de la que se alimentan, o de microorganismos asociados con el hospedador o su hábitat (Lewis et al. 1990, Steinberg et al. 1993, Tumlinson et al. 1993b, Turlings et al. 1991a, Vet et al. 1990, Whitman & Eller 1992). Un cambio en la composición de dichas mezclas en el momento que los parasitoides están forrajeando puede ayudar al parasitoide a acercarse a su hospedador, dado que esa variación incrementa la tasa de localización del mismo (Lewis et al. 1990, Steinberg et al. 1993, Tumlinson et al. 1993b, Vet et al. 1990).

Aquellos parasitoides cuyas larvas deben encontrar al hospedador por sí mismas exhiben adaptaciones morfológicas específicas para la movilidad. Notablemente, estas larvas se encuentran presentes en las especies parásitas que experimentan hipermetamorfosis durante su desarrollo, y consisten en larvas primarias muy transformadas, con hábitos migratorios para la búsqueda del hospedador (Imms 1948, Richards & Davies 1984). Dos tipos principales de larvas activas han sido distinguidos: la *triungulina* y la *planidium*. La larva *triungulina* posee patas y es característica de los coleópteros parasitoides. La larva *planidium*, en cambio, carece de patas y se mueve flexionando las largas setas que están distribuidas en la superficie de su cuerpo. Este tipo de larva es frecuentemente encontrado entre los parasitoides himenópteros y dípteros (Askew 1971, Godfray 1994). La larva *planidium* es móvil y se caracteriza por tener un cuerpo aplanado,

especializado para girar y saltar. Además, estas larvas tienen cutículas que las protegen de la desecación y discos succionarios que facilitan el anclaje en el cuerpo del hospedador (Strand 2002), dos adaptaciones relevantes para la vida ectoparasítica. Los Asílidos, según Musso (1978, 1981), poseen la morfología del primer estadio larvario como *planidium* típico, pero no ha sido establecida la relación de esta morfología con el comportamiento de búsqueda del hospedador.

Mallophora ruficauda posee un desarrollo holometábolo típico, con larvas que son móviles desde su nacimiento. Luego de la eclosión de los huevos, depositados por la hembra sobre vegetación elevada, las larvas caen al suelo y deben encontrar un hospedador que se encuentra enterrado. Una vez en la superficie del suelo, las larvas comienzan inmediatamente a realizar movimientos con su cuerpo entero para enterrarse. En este momento, la supervivencia de la larva depende de que la distribución del hospedador y del parasitoide coincidan en el espacio y en el tiempo. Sin embargo, la marcada selectividad de *M. ruficauda* hacia *C. signaticollis* detectada en los sitios donde varias especies de gusanos blancos coexisten (Capítulo 4) sugiere que las larvas tendrían la habilidad de buscar activamente e identificar al hospedador bajo la tierra.

Una consecuencia de la estrategia de parasitismo es el superparasitismo. En los parasitoides solitarios, las larvas que no llegan en primer término al hospedador tienen a menudo menor probabilidad de sobrevivir, mientras que en los parasitoides gregarios sucede lo contrario (Godfray 1994). Sin embargo, el patrón de superparasitismo observado en muchas especies de parasitoides puede o no tener valor adaptativo independientemente del tipo de estrategia. Existen múltiples factores que pueden ejercer influencia, tales como las oportunidades para encontrar hospedadores, capacidad de las hembras para detectar hospedadores previamente parasitados, disponibilidad de huevos para la oviposición o cantidad de coespecíficos que buscan hospedadores al mismo tiempo (Godfray 1994).

Los objetivos de este capítulo son: (1) determinar si las larvas de *M. ruficauda* son capaces de buscar activamente y encontrar a su hospedador en el suelo; (2) analizar si el encuentro hospedador-parasitoide es mediado por claves químicas que surgen del hospedador; (3) encontrar el origen y la localización de la fuente de estímulo que promueve dicho comportamiento; (4) determinar si las larvas de *M. ruficauda* explotan claves que podrían mediar en la comunicación intraespecífica entre los hospedadores; y (5) determinar si las larvas son capaces de detectar a un coespecífico en el mismo hospedador y si son capaces de responder evitando la competencia.

Materiales y métodos

Insectos

Se utilizaron larvas de primer y segundo estadio de *M. ruficauda*, puesto que ambos estadios poseen la habilidad de buscar a los hospedadores (ver más abajo). Las larvas fueron mantenidas en el laboratorio y emergieron de desoves recolectados en el campo (Colmenar X, Mercedes). Las larvas de gusanos blancos *C. signaticollis* de tercer estadio fueron recolectadas directamente desde el suelo, en el mismo sitio.

Se realizaron dos tipos de experimentos en el laboratorio. La primera serie se realizó para poner a prueba si las larvas parasitoides son capaces de localizar activamente a sus hospedadores. Como primer paso, se extrajeron las sustancias químicas del hospedador que podrían ser potencialmente atractivas para las larvas parasitoides (por ejemplo, heces, glándulas, cutícula, etc.), en dos tratamientos diferentes. Luego, se realizó otra serie de experimentos en la cual se analizó si los gusanos blancos eran capaces de detectar a sus coespecíficos. En este caso, los animales experimentales fueron los hospedadores, los cuales fueron expuestos a estímulos provenientes de coespecíficos. La predicción general es que tanto las larvas parasitoides como los gusanos blancos serían atraídos por estímulos asociados a *C. signaticollis*.

Experimentos

Los ensayos con larvas parasitoides se llevaron a cabo utilizando arenas experimentales rectangulares de 4 x 7,5 cm, divididas en tres zonas de igual tamaño a lo largo del eje principal. En cada una de las zonas laterales, fue presentada una fuente de estímulo (un papel de filtro de 2 x 1 cm impregnado con la señal potencial) o su correspondiente control (un papel cargado con el solvente), mientras que en la zona central se colocó una larva experimental en forma individual. Los ensayos con gusanos blancos se realizaron bajo condiciones idénticas, con excepción de que las arenas experimentales y el papel de filtro fueron de mayor tamaño (8 x 13 cm y 2 x 3 cm, respectivamente), en correspondencia con el mayor tamaño de los individuos experimentales.

Ambas series de experimentos fueron realizadas en oscuridad total, a temperatura y humedad relativa ambientales (25 °C y 50 % HR, en promedio). Cada ensayo tuvo una duración

de 1,5 horas desde la liberación del insecto experimental, el cual podía moverse libremente dentro de su arena. Durante la primera serie de experimentos se utilizaron, para cada tratamiento, 96 larvas parasitoides. En el caso de los gusanos blancos, se usaron 54 insectos en cada ensayo. Al final de cada ensayo individual se registró la ubicación del animal experimental dentro de la arena (por ejemplo, la elección de una de las zonas laterales). Los individuos que no efectuaron decisiones, es decir que permanecieron en el centro de la arena, fueron descartados del análisis. Cada experimento realizado se detalla a continuación.

Se realizó una tercera serie de experimentos para determinar si las larvas de *M. ruficauda* evitan a sus coespecíficos en hospedadores superparasitados. Se utilizaron arenas experimentales rectangulares de 4 x 7,5 cm, divididas en su zona central por una malla plástica.

Localización del hospedador por el parasitoide

Experimento 1: Respuesta al hospedador vivo y su entorno de cría

En este experimento se utilizó un hospedador vivo junto con su tierra de cría como fuente de estímulo (es decir, suelo + heces del gusano blanco y otros productos de su actividad, tales como sustancias asociadas con su alimentación y con la manipulación de la tierra que el gusano hace para construir el refugio para realizar la futura muda a pupa) ensayado contra tierra limpia de la misma área, como control (Figura 3.1.).

Experimento 2: Respuesta al entorno del hospedador

En este experimento se separaron los componentes de la mezcla de estímulos ensayada en el Experimento 1, con el objeto de identificar cuales podrían producir una respuesta positiva en las larvas parasitoides. Para ello, se realizaron cuatro series de ensayos:

A) Hospedadores vivos: Se confinó un hospedador (sin sustrato) en una de las zonas laterales de la arena, mientras que la otra permaneció vacía (Figura 3.2. A).

- B) Sustrato de cría del hospedador: Utilizamos la tierra que estuvo asociada al hospedador pero en su ausencia, la cual fue ofrecida en una de las zonas laterales de la arena, mientras que en la remanente se colocó simultáneamente sustrato limpio (por ejemplo tierra que no estuvo en contacto con el gusano blanco) (Figura 3.2. B).
- C) Heces frescas del hospedador: Utilizamos las heces correspondientes a un solo hospedador, que fueron colectadas en piezas de papel de filtro de 1 x 2 cm y utilizadas inmediatamente, las que fueron ensayadas contra papel de filtro limpio (Figura 3.2. C).
- D) Extractos de heces del hospedador: Utilizamos las heces provenientes de las deposiciones de 10 gusanos blancos vivos disueltas en 3 mililitros de hexano. Se sembraron 10 microlitros de solución en una pieza de papel de filtro, la que fue ensayada contra una pieza de papel impregnada con el mismo volumen de solvente (Figura 3.2. D).

Experimento 3: Respuesta a extractos cuticulares del hospedador

En este experimento se puso a prueba la respuesta de las larvas de *M. ruficauda* a diferentes extractos en solventes de hospedadores completos. Se realizaron soluciones de hospedador lavando 10 gusanos blancos en 25 mililitros de solvente durante 15', para extraer sustancias que pudieran estar asociadas con la cutícula y con glándulas exócrinas. Se sembraron 10 microlitros de los diferentes extractos en piezas de papel de filtro de 2 x 1 cm, las cuales se ensayaron contra piezas de papel impregnadas con el mismo volumen del solvente correspondiente (Figura 3.2. D). Se realizaron tres series de experimentos utilizando tres solventes diferentes:

- A) Hexano.
- B) Etanol.
- C) Agua destilada.

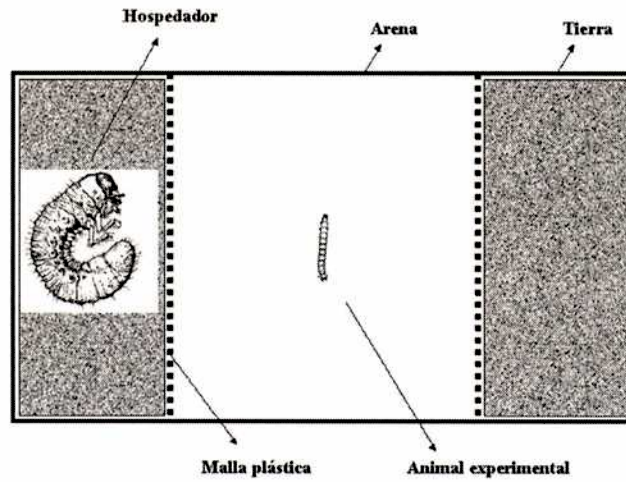


Figura 3.1. Dispositivo experimental utilizado en el Experimento 1 donde se evaluó la respuesta de *M. ruficauda* al hospedador vivo y su entorno de cría.

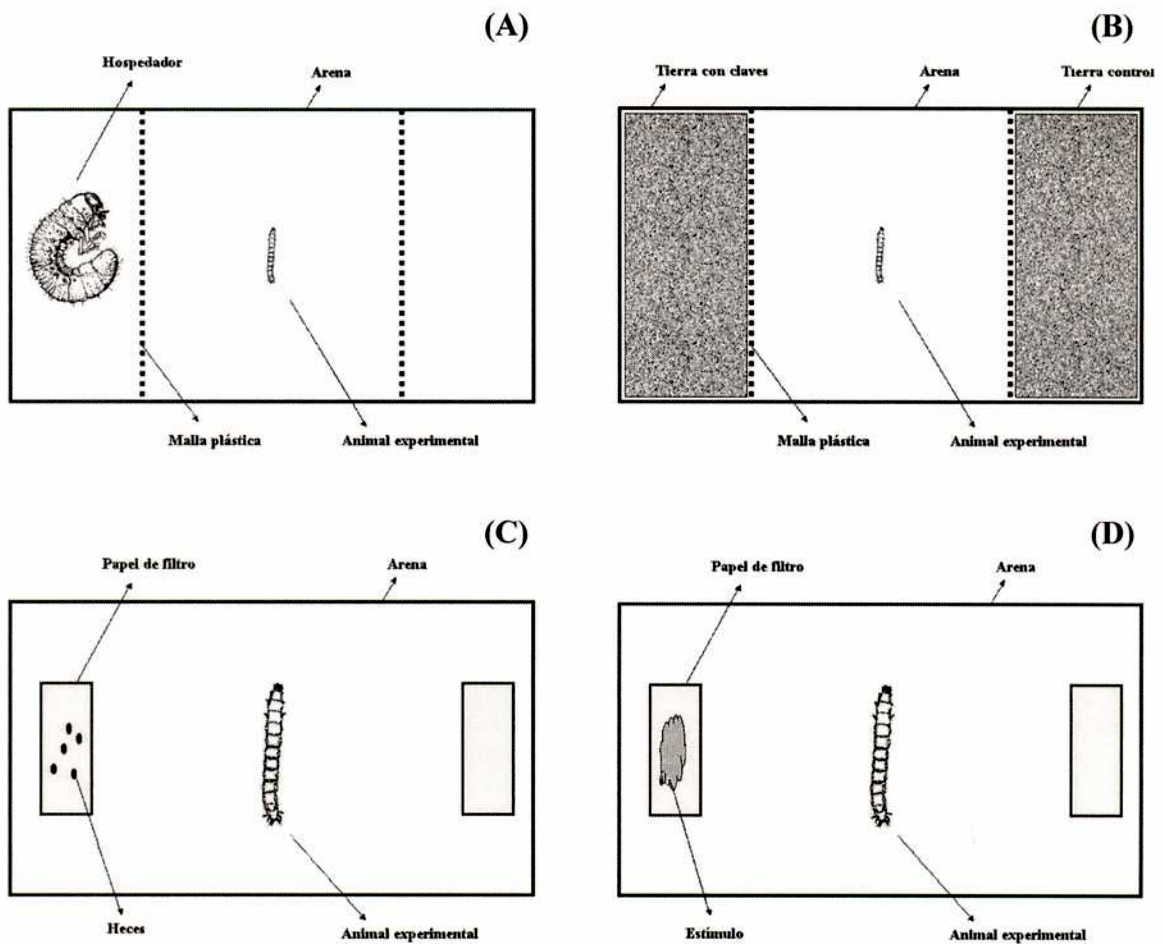


Figura 3.2. Dispositivo experimental utilizado en el Experimento 2 donde se evaluó la respuesta de *M. ruficauda* al entorno del hospedador. (A) Hospedadores vivos, (B) Sustrato de cría, (C) Heces frescas, y (D) Extractos de heces. El dispositivo D también fue utilizado en los Experimentos 3, 4 y 5. (A) y (B) Arena grande, (C) y (D) Arena pequeña.

Experimento 4: Respuesta a extractos de fracciones del cuerpo del hospedador

En este experimento se dividió al cuerpo del gusano blanco en mitades y se homogenizó cada parte usando diferentes solventes, en una relación de medio gusano blanco por mililitro de solvente. Se embebieron piezas de papel de filtro con 10 microlitros de la fracción líquida del homogenato, y se puso a prueba la respuesta de las larvas de *M. ruficauda* contra piezas de papel asociadas con la misma cantidad del solvente correspondiente como control (Figura 3.2. D). Se usaron los siguientes homogenatos para realizar los ensayos:

- A) Parte anterior del cuerpo en agua destilada.
- B) Parte anterior del cuerpo en hexano.
- C) Parte posterior del cuerpo en agua destilada.
- D) Parte posterior del cuerpo en hexano.

Experimento 5: Respuesta a extractos de diferentes órganos de la parte posterior del hospedador

Este experimento es similar al Experimento 4 pero se utilizó solamente la mitad posterior del cuerpo del gusano blanco y hexano como solvente. La razón de este ensayo fue poner a prueba qué parte de la zona posterior del cuerpo podría ser el origen de una señal atractiva. Las soluciones experimentales fueron realizadas utilizando un gusano blanco por mililitro de solvente en las primeras cuatro series (A-D) y dos hospedadores en la última (E), debido al tamaño pequeño de los órganos. Las piezas de papel de filtro fueron embebidas con 10 microlitros de solución y ensayadas contra piezas de papel embebidas en hexano (Figura 3.2. D). Se realizaron cinco series de experimentos usando:

- A) Intestino posterior.
- B) Cutícula posterior.
- C) Heces colectadas del interior del intestino posterior por disección.
- D) Pared del intestino posterior.
- E) Raster.

Localización de coespecíficos por *C. signaticollis*

Experimento 6: Respuesta a señales de coespecíficos

En este experimento se utilizaron extractos de *C. signaticollis* obtenidos a partir de diferentes partes del cuerpo usando hexano como solvente. Las soluciones experimentales fueron realizadas utilizando 15 gusanos blancos en 20 mililitros de hexano. Las piezas de papel de filtro fueron embebidas con 30 microlitros de solución y ensayadas contra piezas de papel impregnadas con la misma cantidad de solvente (Figura 3.3.). Se realizaron siete series de ensayos:

- A) Parte anterior del cuerpo.
- B) Parte posterior del cuerpo.
- C) Intestino posterior.
- D) Cutícula posterior.
- E) Pared del intestino posterior
- F) Heces colectadas del interior del intestino posterior por disección.
- G) Heces frescas colectadas de los gusanos vivos (deposiciones).

En ambos casos, tanto en los experimentos con larvas parasitoides como con gusanos blancos, los datos fueron analizados mediante la Prueba de Chi-cuadrado y contra una distribución al azar.

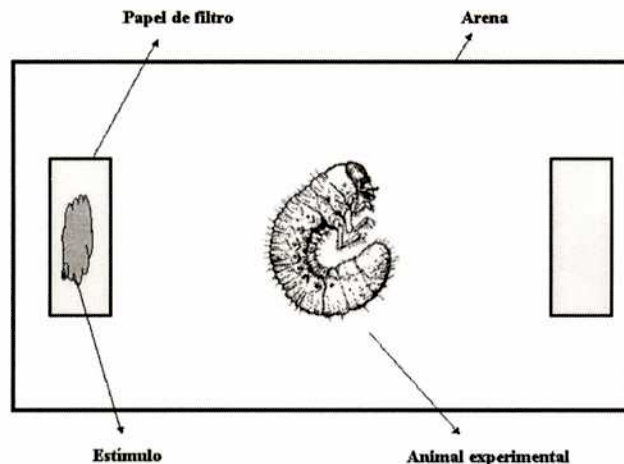


Figura 3.3. Dispositivo experimental utilizado en el Experimento 6 donde se evaluó la respuesta de *C. signaticollis* a las señales de coespecíficos.

Evitación de coespecíficos por el parasitoide

Experimento 7: Respuesta a la presencia de coespecíficos en el mismo hospedador

Para determinar si las larvas de *M. ruficauda* son capaces de abandonar hospedadores superparasitados en presencia de hospedadores libres de parásitos, se realizó una experiencia colocando un gusano blanco superparasitado de la especie *C. signaticollis* separado por una malla plástica de otro gusano no parasitado de la misma especie ($n = 13$; Figura 3.4.). Los gusanos superparasitados contenían entre 6 y 7 larvas parasitoides. Los insectos fueron mantenidos durante 15 días en oscuridad constante a 20 °C. La arena experimental fue tapada y se colocó un papel de filtro húmedo para conservar la humedad.

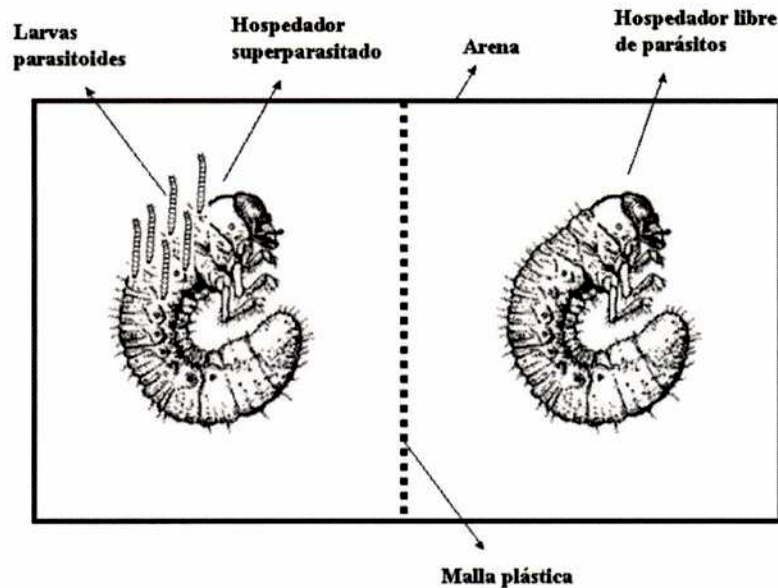


Figura 3.4. Dispositivo experimental del experimento evitación de coespecíficos y movilidad de larvas de *M. ruficauda* entre hospedadores superparasitados y no parasitados (Experimento 7).

Resultados

Los experimentos revelaron que, bajo nuestras condiciones experimentales, las larvas de primer y segundo estadio de *M. ruficauda* exhibieron respuestas similares cuando se enfrentaron con la tarea de localizar al hospedador. Este hecho revela que la búsqueda del hospedador no está limitada, en esta especie, a las larvas recientemente emergidas del huevo. Cabe destacar que si

no se ofrecen hospedadores, las larvas de segundo estadio mueren antes de mudar al tercer estadio.

Localización del hospedador por el parasitoide

Experimento 1: Respuesta al hospedador vivo y su entorno de cría

En este ensayo, al final del período experimental, las larvas parasitoides fueron más frecuentemente encontradas en el extremo de la arena donde estaba presente el hospedador vivo junto con su medio de cría ($\chi^2 = 7,23$; $n = 61$; $P < 0,05$; Figura 3.5.).

Experimento 2: Respuesta al entorno del hospedador

Las larvas de *M. ruficauda* se desplazaron significativamente hacia la zona de la arena experimental que contenía al hospedador vivo (Serie experimental A; $\chi^2 = 8,97$; $n = 59$; $P < 0,05$; Figura 3.5.). Las series experimentales B, C y D, resultaron en una distribución de las larvas que no difirió del azar en todos los casos ($\chi^2 = 2,68$; $n = 57$ (heces); ($\chi^2 = 2,68$; $n = 64$ (tierra + heces + otros) y ($\chi^2 = 0,06$; $n = 66$ (heces en hexano); Figura 3.5.).

Experimento 3: Respuesta a extractos cuticulares del hospedador

Se observó que en las tres series experimentales las larvas parasitoides se distribuyeron al azar dentro de la arena experimental, frente a los diferentes extractos cuticulares del cuerpo completo del hospedador ($\chi^2 = 1,80$; $n = 45$ (agua destilada); ($\chi^2 = 0,23$; $n = 39$ (etanol); ($\chi^2 = 0,08$; $n = 52$ (hexano); Figura 3.6.).

Experimento 4: Respuesta a extractos de fracciones del cuerpo del hospedador

Las larvas parasitoides se orientaron significativamente hacia los papeles impregnados con extractos de la parte posterior del cuerpo del hospedador en hexano ($\chi^2 = 8,14$; $n = 65$; $P < 0,05$)

pero no ocurrió lo mismo cuando se utilizaron otros extractos ($\chi^2 = 0,00$; $n = 62$ (parte anterior del cuerpo en agua); ($\chi^2 = 0,38$; $n = 65$ (parte anterior del cuerpo en hexano); y $\chi^2 = 1,86$; $n = 65$ (parte posterior del cuerpo en agua); Figura 3.7.).

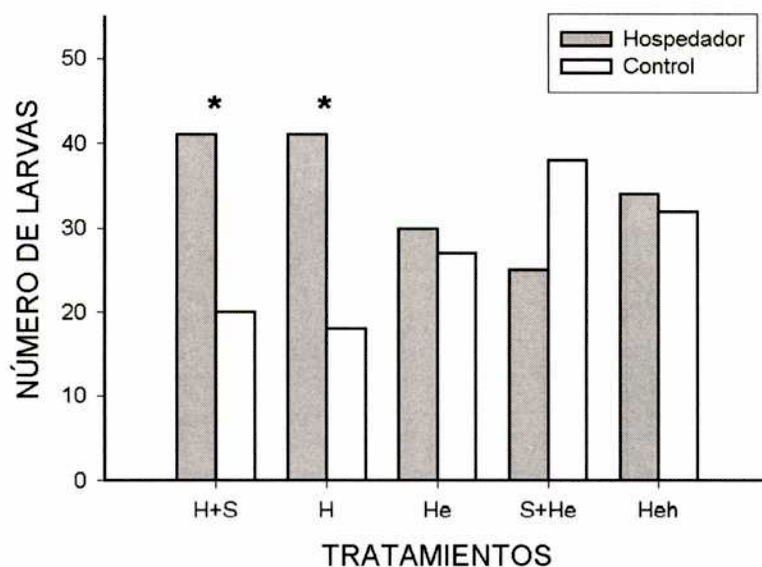


Figura 3.5. Respuesta de las larvas de *M. ruficauda* al hospedador *C. signaticollis* y a su entorno de cría (Experimentos 1 y 2). Las larvas del parasitoide fueron encontradas más frecuentemente cerca del hospedador vivo. H+S, hospedador más sustrato; H, hospedador solo; He, heces; S+He; sustrato más heces y otras sustancias; Heh, heces en hexano. Los asteriscos indican una respuesta estadísticamente significativa, Chi-cuadrado, $P < 0,05$.

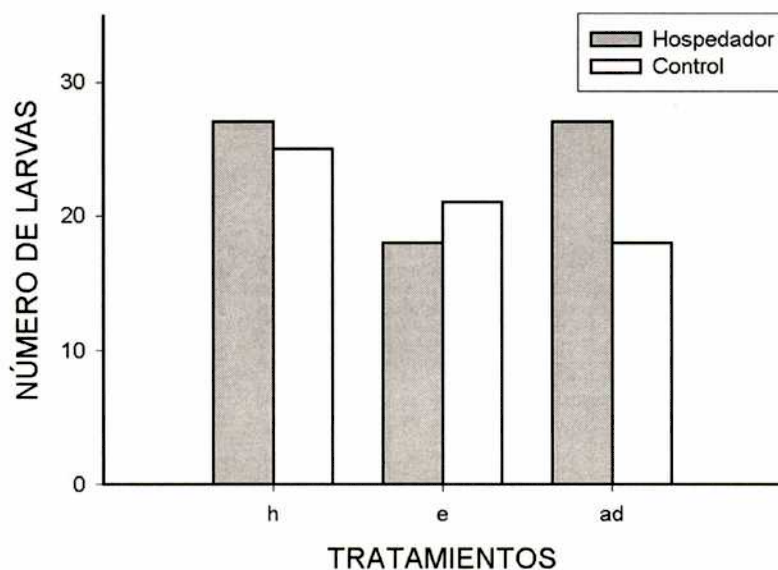


Figura 3.6. Respuesta de las larvas de *M. ruficauda* a los extractos obtenidos de la cutícula del hospedador *C. signaticollis* (Experimento 3). Las larvas parasitoides se distribuyeron siempre al azar. h, hexano; e, etanol; ad, agua destilada.

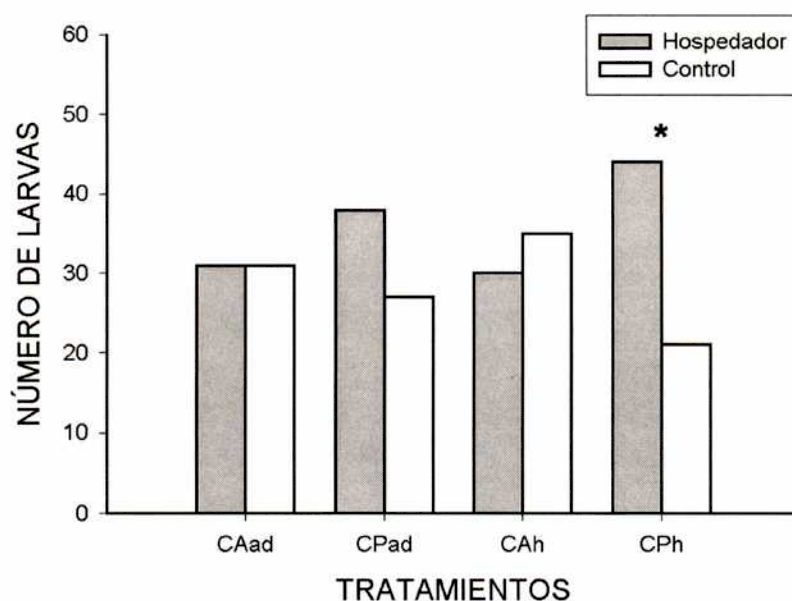


Figura 3.7. Respuesta de las larvas de *M. ruficauda* a extractos obtenidos de fracciones del cuerpo del hospedador (Experimento 4). Las larvas se orientaron significativamente hacia los extractos en hexano de la parte posterior del cuerpo del hospedador, pero no hacia los extractos de la parte anterior. CAad, mitad anterior del cuerpo en agua destilada; CPad, mitad posterior del cuerpo en agua destilada; CAh, mitad anterior del cuerpo en hexano; CPh, mitad posterior del cuerpo en hexano. Los asteriscos indican una respuesta estadísticamente significativa, Chi-cuadrado, $P < 0,05$.

Experimento 5: Respuesta a extractos de diferentes órganos de la parte posterior del hospedador

Las larvas parasitoides mostraron una orientación significativa hacia los papeles impregnados con extractos de intestino posterior del gusano blanco ($\chi^2 = 4,19$; $n = 69$; $P < 0,05$), pero no ocurrió lo mismo cuando se utilizaron otros extractos ($\chi^2 = 0,01$; $n = 69$ (cutícula posterior); $\chi^2 = 1,25$; $n = 66$ (heces colectadas por disección del intestino); $\chi^2 = 1,92$; $n = 52$ (pared intestinal); y $\chi^2 = 0,24$; $n = 66$ (raster); Figura 3.8.).

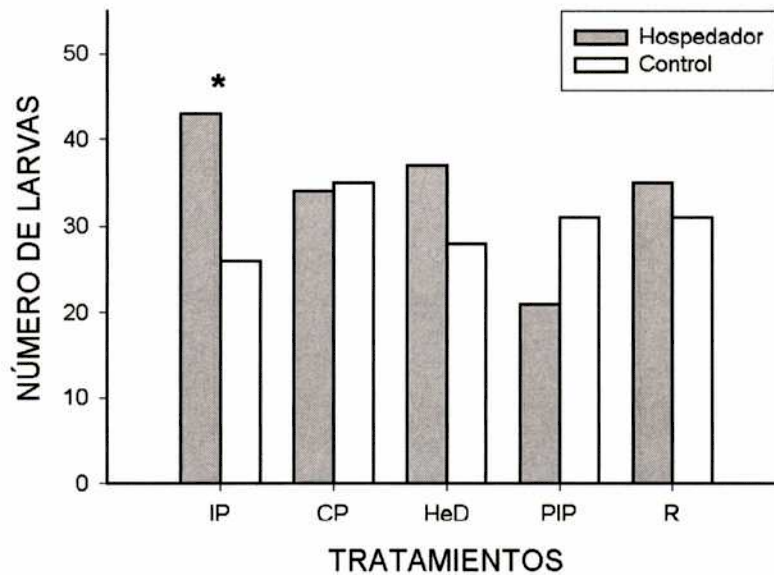


Figura 3.8. Respuesta de las larvas de *M. ruficauda* a extractos obtenidos a partir de diferentes órganos del cuerpo del hospedador (Experimento 5). Las larvas se orientaron hacia los extractos del intestino posterior del gusano en hexano. IP, intestino posterior; CP, cutícula posterior; HeD, heces obtenidas por disección; PIP, pared del intestino posterior; R, raster. Los asteriscos indican una respuesta estadísticamente significativa, Chi-cuadrado, $P < 0,05$.

Localización de coespecíficos por *C. signaticollis*

Experimento 6: Respuesta a señales de coespecíficos

Los gusanos blancos se orientaron significativamente hacia los papeles impregnados con extractos de la parte posterior del cuerpo de coespecíficos en hexano ($\chi^2 = 4,41$; $n = 51$; $P < 0,05$; Figura 3.9.). Cuando se analizó cada porción de la parte posterior del cuerpo en forma individual, los gusanos mostraron una orientación significativa hacia los papeles impregnados con extracto de intestino posterior de otros gusanos ($\chi^2 = 7,37$; $n = 49$; $P < 0,05$), no mostrando una orientación positiva hacia los otros extractos ensayados ($\chi^2 = 0,35$; $n = 46$ (parte anterior); $\chi^2 = 0,18$; $n = 51$ (pared posterior); $\chi^2 = 0,07$; $n = 54$ (pared del intestino posterior); $\chi^2 = 0,00$; $n = 48$ (heces colectadas por disección); y $\chi^2 = 0,19$; $n = 47$ (heces); Figura 3.9.).

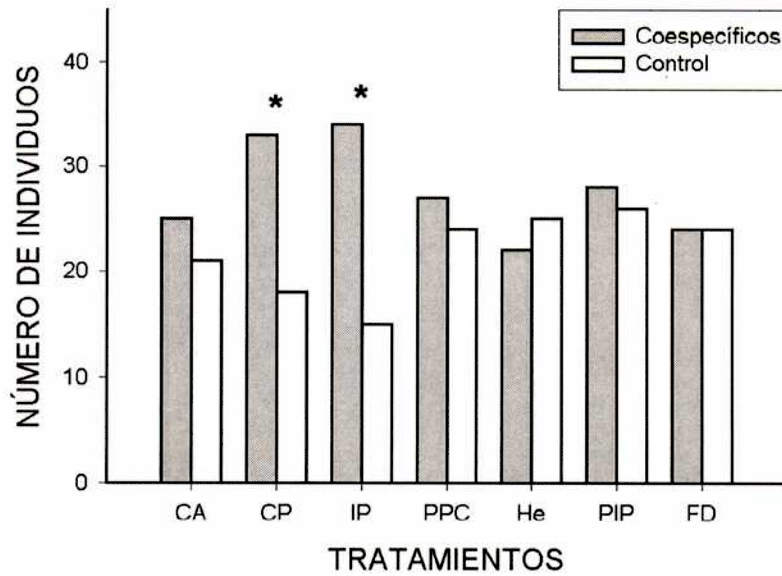


Figura 3.9. Respuesta de *C. signaticollis* a las señales de los coespecíficos (Experimento 6). Los gusanos blancos se orientaron significativamente hacia los extractos de la mitad posterior del cuerpo en hexano y a extractos del intestino posterior de los coespecíficos. CA, mitad anterior del cuerpo; CP, mitad posterior del cuerpo; IP, intestino posterior; PPC, pared posterior del cuerpo; He, heces; PIP, pared del intestino posterior; HeD, heces obtenidas por disección. Los asteriscos indican una respuesta estadísticamente significativa, Chi-cuadrado, $P < 0,05$.

Evitación de coespecíficos por el parasitoide

Experimento 7: Respuesta a la presencia de coespecíficos en el mismo hospedador

Las larvas de *M. ruficauda* no responden activamente para evitar a sus coespecíficos una vez que se han fijado en un hospedador ($n = 13$). Se observó que no hubo movilidad de las larvas parasitoides hacia los gusanos libres de parásitos mientras el gusano parasitado se encontraba vivo ($n = 11$). En cambio, ante la muerte del hospedador, se observó que las larvas parasitoides se movilizaban hacia el hospedador sano ($n = 2$).

Discusión

Los resultados relatados sugieren fuertemente que la larva de *M. ruficauda* sería capaz de localizar activamente a su hospedador dentro del suelo usando información química. Este

comportamiento de búsqueda no ha sido registrado previamente para los parasitoides de la familia Asilidae. Además, los ensayos revelaron que esta respuesta está mediada por claves químicas originadas en el cuerpo del gusano blanco. Los infoquímicos derivados del hospedador no parecen estar asociados ni a las heces ni a la cutícula del hospedador. La fuente de estímulo parece estar localizada en la mitad posterior del cuerpo del gusano blanco. Más precisamente, la señal podría ser producida o almacenada en el intestino posterior, quizás como resultado de la actividad de órganos exócrinos. Notablemente, la misma región del cuerpo del gusano blanco fue la fuente de las claves que indujeron la atracción coespecífica de hospedadores. No se observó evitación de coespecíficos en las larvas parasitoides tras la fijación al hospedador.

En relación con el mecanismo de orientación involucrado en el desplazamiento de los insectos, los experimentos fueron diseñados para evaluar la habilidad de las larvas parasitoides para orientarse siguiendo gradientes químicos. Dado que los procesos de búsqueda tienen lugar dentro del suelo, un diseño experimental basado en la respuesta a corrientes de aire cargada con olores (i.e., olfatómetro tradicional) carecería de sentido, ya que es altamente improbable que ocurra anemotaxis bajo la tierra. Por lo tanto, los resultados de los ensayos deben ser interpretados como que la atracción hacia el hospedador es mediada por quimiotaxis. Esto significa que las larvas de *M. ruficauda* son capaces de detectar la presencia y hallar a sus hospedadores, a través de gradientes de concentración de sustancias volátiles liberadas por los gusanos blancos.

Dado que este fenómeno tiene lugar en un medio (el suelo) con propiedades químicas particulares y capacidad absorbente, la naturaleza química de la señal debe ajustarse a tales características, para permitir su difusión a través del suelo y posibilitar la detección del hospedador por el parasitoide. Los estudios proporcionan datos preliminares al respecto. En primer lugar, la señal debe ser no polar, como es evidenciado por su extracción con hexano, pero no con agua. Por otro lado, debe ser relativamente volátil para permitir la difusión a través del suelo. El aislamiento de la fuente de la sustancia volátil permitirá, en el futuro, una mejor caracterización química de la clave.

En relación con la fuente de origen de la señal, se sabe que algunas larvas de coleópteros poseen estructuras secretoras asociadas al intestino posterior, varias de ellas de función desconocida. De acuerdo con los hábitos de alimentación, el intestino medio y posterior exhiben células epiteliales con apariencia diferente (Areekul 1957). Muchas de estas células y estructuras

asociadas liberan sus productos de secreción al lumen del intestino, los cuales se combinan con el contenido y pueden ser encontrados en las heces. Rogers & Potter (2002) han encontrado que las heces de gusanos blancos de dos especies de *Cyclocephala* y de *Popilia japonica* Newman atraen a las avispas parasitoides del género *Thipia*. Además, han observado que estas avispas son capaces de discriminar entre las diferentes especies de gusano blanco, sugiriendo que las heces poseen kairomonas específicas en las diferentes especies. Los experimentos sugieren que la sustancia con actividad de kairomona no sería volcada en el intestino, puesto que ni las heces ni el contenido del intestino posterior extraído por disección produjeron la atracción de las larvas parasitoides.

En algunos escarabajos adultos de la familia Scarabaeidae, hay evidencia que revela la producción de feromonas sexuales y de agregación en el abdomen de estos insectos. Además, las feromonas sexuales tendrían una función secundaria como atrayente de coespecíficos. El análisis de los volátiles transportados por el aire y el de los extractos del cuerpo completo tanto de escarabajos hembra como de las larvas mostraron la existencia de un componente común en los extractos de hembras y larvas que resultó electrofisiológicamente activo sobre las antenas de los machos de *Cyclocephala lurida* Bland (Haynes et al. 1992). La producción de feromonas sexuales de la hembra adulta por los estadios inmaduros de la misma especie permanece como una cuestión enigmática. Potencialmente, este componente puede jugar algún papel alternativo en las larvas. Por otra parte, ha sido sugerido que este fenómeno está restringido solamente a Dynastinae o incluso a especies del género *Cyclocephala* (Leal 1998). Estos estudios están en concordancia con los resultados de esta Tesis acerca de la atracción de coespecíficos evocada por los extractos de las partes abdominales del cuerpo de *C. signaticollis*, pero se requiere de un estudio adicional en los adultos.

Mallophora ruficauda no exhibe las características típicas atribuidas a los parasitoides. Como se mencionó antes (Introducción General), las hembras de esta especie no oviponen sobre sus hospedadores, sino que lo hacen sobre la vegetación. Por otro lado, las larvas de *M. ruficauda* muestran también particularidades. De acuerdo con Godfray (1994), las larvas planidium típicas se caracterizan por: (1) habilidad para la localización del hospedador, (2) especializaciones morfológicas para el desplazamiento, (3) una marcada divergencia entre un primer estadio móvil y un segundo sésil, y (4) búsqueda del hospedador limitada al primer estadio. Este estudio sugiere que la larva de *M. ruficauda* se comporta como un verdadero planidium, debido a su capacidad para encontrar al hospedador luego de ser dispersada por el

viento y por poseer las setas típicas encontradas en los dípteros ectoparásitos. Sin embargo, las larvas de primer estadio carecen de estructuras especiales relacionadas con una alta movilidad. Además, el primer y segundo estadio no difieren en su morfología, excepto por un pequeño incremento de tamaño. De acuerdo a los estudios, ambos estadios son capaces de localizar activamente al hospedador. Esta característica es compartida con otras familias de dípteros parasitoides con larvas planidium, tales como Acroceridae y Tachinidae (Allen 1995, Allen et al. 1999, Roth et al. 1978). Como ya se mencionó, las larvas de segundo estadio mueren antes de mudar al tercer estadio, si es que no han logrado asociarse exitosamente a un hospedador. Se ha registrado que las especies de Asilidae poseen diferentes estrategias para obtener y usar los nutrientes (Musso 1983). En el caso de *M. ruficauda*, de acuerdo con las observaciones efectuadas, el uso de las reservas o la absorción de nutrientes del suelo no sería suficiente para permitir que las larvas alcancen el tercer estadio.

El desarrollo de un estadio larval activo (planidium) ha permitido la explotación, por parte de algunos parasitoides, de especies de hospedadores ocultos y de otro modo inaccesibles para ellos (Price 1975). Las especies de parasitoides con larvas que buscan al hospedador, diferentes a *M. ruficauda*, desarrollan diferentes estrategias para encontrarlo. En general las hembras son responsables de tomar la decisión de poner los huevos en lugares apropiados. Por ejemplo, cuando una hembra de *Homotrixa alleni* Barraclough (Diptera: Tachinidae), *Ormia depleta* Wiedemann (Diptera: Tachinidae), o moscas *Blaesoxipha* (Diptera: Sarcophagidae) detectan la proximidad de un hospedador oculto, comienza la liberación de larvas, expulsándolas con fuerza a cierta distancia. De esta forma, se incrementa la probabilidad de que las larvas encuentren un hospedador y lograr el parasitismo (Allen & Pape 1996, Allen et al. 1999). En la mayoría de los casos, sin embargo, las larvas tienen un papel pasivo. Por ejemplo, no responden a claves químicas, visuales ni auditivas, sino que permanecen esperando a que un hospedador pase cerca de ellas, una estrategia que se presume que resulta en un parasitismo inespecífico y elevado superparasitismo (Allen 1995, Allen et al. 1999, Fowler & Martini 1993, Walker & Wineriter 1991). Por otro lado, en algunas especies de parasitoides, la mayoría Diptera y Coleoptera, las hembras realizan el primer paso en la búsqueda del hospedador y las larvas el último (Eggleton & Belshaw 1992). Por ejemplo, las hembras de *Aleochara bilineata* Gyllenhal (Coleoptera: Staphylinidae) oviponen sobre el suelo cerca de las plantas infestadas por el hospedador y las larvas que emergen buscan y discriminan a los hospedadores usando claves químicas (Royer et al. 1999). En *M. ruficauda*, tanto la hembra como la larva juegan un papel crucial en el hallazgo de los hospedadores, puesto que ambas contribuyen con el encuentro con el hospedador. Se sabe

las hembras de esta especie son muy selectivas al elegir la altura de las plantas donde realizarán las oviposiciones (Capítulo 2). Esta selectividad ha sido relacionada con una estrategia para optimizar la probabilidad de parasitismo en el campo, basada en mejorar la dispersión por viento (Capítulo 5).

No se ha observado que las larvas de *M. ruficauda* sean capaces de detectar a sus coespecíficos en hospedadores superparasitados. El traslado de un hospedador parasitado a otro no parasitado solo se ha observado en el caso de muerte del gusano blanco. Sin embargo, se ha observado que la mayoría de los hospedadores son parasitados por una sola larva, sugiriendo que la evitación de la competencia sucedería antes de colonizar a un hospedador. Este resultado está en concordancia con la idea de que la habilidad para discriminar entre hospedadores parasitados y no parasitados estaría severamente limitada o no existiría en los dípteros parasitoides (Askew 1971, van Alphen & Visser 1990). Además, se ha detectado en este trabajo que el superparasitismo en *M. ruficauda* produce una disminución del peso de las pupas que emergen (Capítulo 5). Este resultado concuerda con las observaciones de que el superparasitismo en los dípteros a menudo baja la probabilidad de emergencia de los adultos o reduce el tamaño, longevidad o fecundidad de aquellos que emergen (Gould et al. 1992).

Un aspecto interesante fue encontrar que los gusanos blancos fueron capaces de detectar a los coespecíficos a través de una señal química. Además, la fuente de esta señal parece ser la misma que la usada por las larvas de *M. ruficauda* para localizar a sus hospedadores. Esta sustancia podría participar en la comunicación intraespecífica entre los gusanos blancos en el campo, probablemente mediando la agregación. La misma señal podría ser explotada por las larvas parasitoides para rastrear a sus hospedadores, y tener un doble papel biológico de feromona (para el gusano blanco) y kairomona (para el parasitoide) al mismo tiempo (Dicke & Sabelis 1988). Si bien este fenómeno ha sido previamente registrado en otras especies de parasitoides (Hardie et al. 1991, Lewis et al. 1982, Noldus 1989, Wertheim 2001), es esta la primera vez que se lo describe en un sistema compuesto por especies de Scarabaeidae y Asilidae.

La atraktividad entre coespecíficos detectada en las larvas de *C. signaticollis* en este estudio de laboratorio, es consistente con su distribución agregada observada en el campo (Capítulo 4). Se podría especular acerca del valor adaptativo de la agregación para las larvas de *C. signaticollis*. Una consecuencia directa de una distribución agregada sería la reducción de la probabilidad individual de ser parasitado (Walde & Murdoch 1988). Esto es debido al hecho de

que la dispersión de las larvas de *M. ruficauda* por el viento resulta en una carga homogénea de parasitoides por unidad de hábitat. Para los gusanos blancos, la probabilidad individual de ser parasitado dependería entonces del número de gusanos en la unidad y una distribución agregada reduciría tal probabilidad, permitiendo que algunos de ellos escapen al parasitismo (Capítulo 4). Además de las claves químicas, la distribución agregada de los gusanos blancos en el campo sería también una consecuencia del comportamiento de oviposición desplegado por los escarabajos hembra, los cuales ponen sus huevos individualmente en el suelo, dispersándolos en un área relativamente pequeña (López et al. 1994).

Se han presentado aquí bioensayos simples para analizar preguntas relacionadas con el encuentro del hospedador mediado por claves químicas en insectos del suelo, particularmente las interacciones entre hospedadores y parasitoides. La evidencia muestra que tanto el parasitoide como el hospedador usan claves que tienen el mismo origen y que desencadenan la misma clase de respuesta en los receptores, esto es, la atracción. Aunque aun no se conoce ni la naturaleza química de los compuestos volátiles con actividad biológica ni su origen con precisión, es notable la exacta correspondencia entre la respuesta (o carencia de respuesta) del parasitoide y hospedador, a cada uno de los estímulos presentados a lo largo de los experimentos de este trabajo. La identificación del origen y naturaleza química de la sustancia responsable de las respuestas biológicas tanto de *M. ruficauda* como de *C. signaticollis* ayudarán a entender las particularidades de este sistema hospedador-parasitoide, y también contribuirán con el desarrollo de nuevas estrategias para controlar ambas plagas.

CAPÍTULO 4:

Patrones de parasitismo



Introducción

La detección de denso-dependencia en el patrón de parasitismo y la especificidad por el hospedador son dos temas centrales de las interacciones hospedador-parasitoide. La denso-dependencia vinculada a la heterogeneidad espacial ha sido estudiada profundamente, debido a que los patrones de parasitismo resultantes pueden variar considerablemente y en general son responsables de la estabilidad de las interacciones parasitoide-hospedador (Bernstein 1987, Bezemer & Mills 2001, Hassell & May 1988, Hawkins et al. 1997, Liljesthröm & Bernstein 1990, Mohd Norowi et al. 2000, Murdoch 1970, Murdoch & Briggs 1996, Murdoch et al. 1984, 1985, Rothman & Darling 1990, 1991, Stiling 1987, Teder et al. 2000, van Veen et al. 2002, Walde & Murdoch 1988). Los patrones de denso-dependencia surgen como consecuencia del comportamiento de búsqueda del hospedador y de la especificidad del parasitoide. Los parasitoides pueden ser monófagos (específicos), oligófagos, o polífagos (generalistas) y la capacidad de aprovechar diferentes especies de hospedadores está relacionada en general con la disponibilidad relativa de las mismas y con la capacidad del parasitoide en manipularlas (Hassell 1988).

Existen dos tipos de denso-dependencia, la inversa y la directa. En el caso del parasitismo, la denso-dependencia inversa se manifiesta cuando la tasa de parasitismo disminuye con el aumento de la abundancia de los hospedadores. Por otra parte, la denso-dependencia directa se manifiesta cuando los parasitoides responden a diferencias en la densidad de hospedadores entre parches, produciéndose una mayor agregación de parasitoides en parches más ricos (Heads & Lawton 1983, Walde & Murdoch 1988).

La detección de la denso-dependencia en sistemas reales puede resultar difícil (Heads & Lawton 1983, Langton et al. 2002). En sistemas hospedador-parasitoide, se ha observado que la selección de la escala espacial de estudio juega un papel fundamental para hallar denso-dependencia, y el análisis a diferentes escalas puede poner en evidencia diferentes tipos de denso-dependencia (Bernstein et al. 1991, De Roos et al. 1991, Hassell et al. 1991, Heads & Lawton 1983, Rothman & Darling 1990, Stiling 1987, Walde & Murdoch 1988). A escalas espaciales grandes, la denso-dependencia directa es más frecuentemente encontrada que la denso-dependencia inversa, debido a que los parasitoides son más sensibles a reconocer diferentes densidades de hospedadores a las escalas mayores (Walde & Murdoch 1988). En contraste, a escalas pequeñas, las decisiones individuales que toman los parasitoides al momento

de buscar a los hospedadores producen frecuentemente patrones de denso-dependencia inversa ligados a la estructura fragmentada del hábitat (Bernstein et al. 1991).

Los patrones de denso-dependencia están afectados por la estrategia de selección del hospedador por los parasitoides (Huffaker & Messenger 1976). El tipo de estrategia tiene influencia sobre la tasa de encuentro entre los individuos y en el parasitismo resultante. Se ha observado que la denso-dependencia directa es más común en parasitoides monófagos que polífagos (Stiling 1987). Los monófagos pueden responder rápidamente al cambio de densidad de su único hospedador, mientras que las especies polífagas responden mejor al cambio en la densidad general de muchos hospedadores (Huffaker et al. 1971, Stiling 1985). Los parasitoides polífagos pueden cambiar de especie de hospedador, aprovechando siempre la que es más abundante. Esto trae aparejado un cambio en su respuesta funcional, responsable de los distintos patrones de denso-dependencia (Hassell 1980). Una respuesta funcional de Tipo III, alcanzada mediante "switching", implica un incremento de la eficiencia de búsqueda del parasitoide o una disminución en el tiempo de manipulación, con el incremento de los hospedadores. Este fenómeno conduce a aumento de la tasa de parasitismo y a la formación de un patrón de parasitismo denso-dependiente directo (Begon et al. 1995a).

Se ha observado que la especificidad de los parasitoides es un atributo clave y necesario para la planificación de programas exitosos de control biológico de plagas, ya que determina el potencial regulador de un parasitoide sobre las poblaciones hospedadoras (Mills 1997). Un enemigo natural eficiente generalmente actúa de manera denso-dependiente directa sobre los factores de mortalidad del hospedador (Batra 1982, Huffaker et al. 1971, Messenger 1973, van der Bosch &). Los factores denso-dependientes tienden a ocurrir fuertemente a altas densidades, reduciendo el número de individuos y llevando a la población de hospedadores hacia el equilibrio (Stiling 1988).

Los estudios de la denso-dependencia en sistemas hospedador-parasitoide se han centrado básicamente en el grupo de los himenópteros, en donde las hembras colocan sus huevos directamente sobre sus hospedadores, utilizando una gran parte de su tiempo en buscar, encontrar y manipular a la víctima (Begon et al. 1995b, Godfray 1994). En las moscas de la familia Asilidae, en especial en *M. ruficauda*, la estrategia de búsqueda y localización del hospedador difiere de la observada en los parasitoides que atacan directamente al hospedador (Introducción General). Se sabe que la hembra ovipone fuera del hospedador, las larvas son dispersadas

mediante agentes físicos, las larvas son responsables de la localización del hospedador a través de claves químicas, la búsqueda ocurre bajo la superficie del suelo, los hospedadores se encuentran ocultos y son inalcanzables para la hembra parasitoide (Capítulos 2 y 3). A pesar de que *M. ruficauda* es el enemigo natural de los gusanos blancos en la región pampeana argentina, no se cuenta con información acerca de la estrategia de utilización de hospedadores ni de los patrones de parasitismo que se producen en la naturaleza, atributos necesarios para poder estimar el potencial de *M. ruficauda* como agente regulador de las poblaciones de gusanos blancos. Se espera que el parasitoide posea una estrategia generalista en cuanto a la selección de su hospedador debido al tipo particular de dispersión que poseen sus larvas, aunque existen observaciones de que *M. ruficauda* posee cierta preferencia sobre algunas especies de gusano blanco, en especial por *C. signaticollis* (Crouzel 1965, Dennis & Knutson 1988, Remedi de Gavotto 1964).

En este capítulo se estudian los patrones de parasitismo observados en el sistema *M. ruficauda*-gusanos blancos del suelo en relación con varias escalas espaciales. Las preguntas específicas son: (1)Cuál es el patrón de denso-dependencia en el parasitismo a diferentes escalas espaciales; y (2) Cómo se relaciona ese patrón con la estrategia de búsqueda del hospedador y la selectividad hacia el mismo.

Materiales y Métodos

Muestreo de abundancia de los hospedadores en el suelo

Los muestreos de gusanos blancos fueron realizados en 4 localidades de la Pampa argentina durante Junio-Julio de los años 1997-2000 (Capítulo 2). Las muestras fueron tomadas en las inmediaciones de colmenares con presencia de adultos de *M. ruficauda* en el verano anterior (Figura 4.1.). Se trabajó en un total de 14 colmenares. Algunos colmenares fueron muestreados más de una vez pero en diferentes años, con lo cual su número asciende a 24. En cada colmenar el muestreo se realizó en forma sistemática utilizando grillas (Figura 4.2.). Se tomaron un total de 150 muestras de suelo por cada sitio distribuidas en tres lotes de diferente manejo agropecuario, siguiendo la metodología utilizada por Guppy & Harcourt (1973). Las grillas fueron colocadas lindando con alambrados. Cada grilla consistió en 50 muestras tomadas cada 2,5 metros en sentido paralelo al alambrado y cada 5 metros en sentido perpendicular al

mismo (10 x 5 respectivamente). La unidad muestral tomada a campo consistió en un bloque de tierra de 0,35 m de lado y 0,30 m de profundidad (36 litros y 0,12 m² de superficie), de donde se extrajeron todos los gusanos blancos (Figura 4.3.). Los gusanos fueron determinados al nivel de especie en el laboratorio mediante la observación de la disposición de teges del extremo abdominal ventral (raster) utilizando la clave de Alvarado (1980). Se registraron también el número de larvas parasitoides de *M. ruficauda* por gusano blanco.



Figura 4.1. Dos de los colmenares de Mercedes (Buenos Aires) donde se realizaron los muestreos.

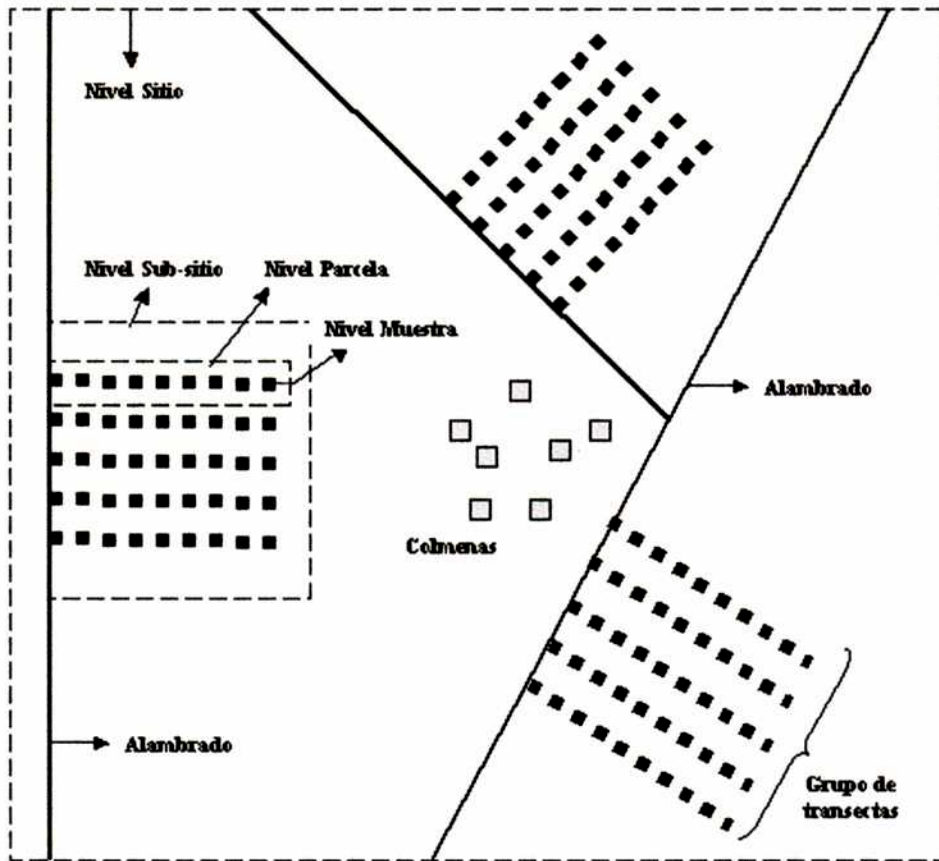


Figura 4.2. Diseño de muestreo realizado en cada colmenar para realizar el estudio de parasitismo de *M. ruficauda* sobre los gusanos blancos del suelo.



Figura 4.3. Metodología para tomar las muestras de suelo. Se observa el trazado de una transecta contigua a un colmenar en Mercedes (Buenos Aires) (nivel parcela). Cada pozo corresponde a una unidad muestral de 35 x 35 cm de lado (escala microespacial).

Análisis de especificidad

Para determinar el grado de especificidad general de *M. ruficauda* sobre las distintas especies de gusano blanco, se utilizó el índice de amplitud de nicho de Czekanowski (Capítulo 2). En este caso, el índice relaciona el porcentaje de parasitismo con la abundancia de gusanos blancos en el campo, reflejando cómo las larvas de *M. ruficauda* utilizan diferentes especies de hospedadores según su abundancia relativa en el ambiente.

Se realizó además un análisis de frecuencias utilizando una Prueba de Independencia, Prueba *G*, para probar si la distribución de frecuencias de *pi* (proporción de gusanos parasitados de cada especie) es igual a distribución de *qi* (proporción de gusanos de cada especie encontrados en el campo), y de esta manera detectar la especificidad. Las frecuencias esperadas fueron calculadas basándose en la hipótesis nula de independencia. No se tuvieron en cuenta en el análisis los individuos que no pudieron ser determinados a nivel específico.

Se estudió la especificidad a escala de muestra (micro-espacial) mediante un estudio de prevalencia del parasitismo en los mismos sitios. El objetivo fue analizar la relación existente entre exposición al riesgo y sus efectos (Rosner 1995). Para realizar el análisis, se seleccionaron las muestras con al menos un gusano blanco parasitado. Se puso especial énfasis sobre la especie *C. signaticollis* y “el resto de las especies en conjunto”, debido a las observaciones previas acerca de la supuesta preferencia de *M. ruficauda* por *C. signaticollis* (Crouzel 1965, Dennis & Knutson 1988, Remedi de Gavotto 1964). Por lo tanto se consideran dos opciones para este análisis de especificidad. Entonces, se tomó el parasitismo sobre “una especie hospedadora dada” como la variable efecto (especie *x*) y la presencia de individuos de “otra especie de hospedador” en la muestra como la variable exposición al riesgo (especie *y*). Los casos analizados fueron *C. signaticollis* (*x*) vs. “el resto de especies” (*y*) y viceversa. En ambos casos se compararon las frecuencias de parasitismo entre los individuos de una especie determinada (*x*) con la presencia de individuos de una especie diferente en las muestras (*y*). El procedimiento para realizar el análisis fue el siguiente: (1) Se construyó una tabla de contingencia con los datos provenientes de cada unidad muestral para ambos casos estudiados. (2) Se estimó el riesgo relativo de parasitismo (*RR*) para cada caso usando la expresión:

$$RR = (\text{Sp. } x \text{ parasitada} / \text{Sp. } y \text{ presente}) / (\text{Sp. } x \text{ parasitada} / \text{Sp. } y \text{ no presente}) \quad (4.1.)$$

(3) Se construyeron los correspondientes intervalos de confianza del 95 % (*IC*). (4) El *IC* fue considerado significativo si el valor uno no estaba incluido en el intervalo, y de este modo se confirmó la presencia de selectividad hacia el hospedador.

Cuando *RR* es igual a uno, la probabilidad de que una especie de hospedador sea parasitado es la misma independientemente si es o no expuesto al riesgo; en este caso, la presencia de otras especies de hospedador en la misma muestra de suelo. En cambio, cuando *RR* es menor o mayor que uno, la probabilidad de parasitismo disminuye o se incrementa respectivamente, con la exposición al riesgo.

Análisis de denso-dependencia

De los 24 colmenares muestreados solo se tuvieron en cuenta los que presentaron una abundancia de gusanos blancos parasitados mayor a cinco individuos, el resto fueron quitados del análisis. El estudio se realizó en cuatro escalas espaciales: (1) a nivel sitio (colmenar, apiario o escala mayor), (2) a nivel sub-sitio (lote o escala intermedia), (3) a nivel parcela (escala menor), y a nivel muestra (escala micro-espacial). La prevalencia de parasitismo por colmenar se calculó como el cociente entre el número de gusanos blancos parasitados y el número total de gusanos encontrados.

Para estudiar si el parasitismo es denso-dependiente, se usó un modelo de regresión lineal, utilizando el logaritmo natural de la abundancia de hospedadores en el hábitat y el logaritmo natural del porcentaje de hospedadores parasitados. Esta transformación garantiza homocedacia y normalidad. Para realizar el análisis se quitaron los lotes y parcelas con 0 % de parasitismo, asumiendo que las larvas parasitoides no llegaron al suelo. Para detectar denso-dependencia se realizó el método de “resampling” propuesto por Capurro et al. (1997) descrito en el Capítulo 2.

Análisis de la distribución de hospedadores en el suelo

Para conocer la distribución espacial de los gusanos blancos en el suelo a escala local, se calcularon los coeficientes de dispersión (*CD*) a partir de la media y la varianza de los datos de

abundancia de las 50 unidades muestrales de cada lote. No se incluyeron en el análisis los sub-sitios donde la abundancia de gusanos blancos fue menor que cinco individuos. Luego, suponiendo una distribución binomial negativa, se estimó, a partir de la media y la varianza, el parámetro K de dicha distribución, conocido como índice de apiñamiento. Posteriormente utilizando este valor de K , se calcularon los valores esperados y se realizó una evaluación de ajuste (Prueba G) entre las frecuencias esperadas que predice el modelo de disposición espacial binomial negativo y las frecuencias muestrales de los datos de campo (Rabinovich 1980, Sokal & Rohlf 1980).

Los problemas de la medición e interpretación de las distribuciones en poblaciones biológicas han sido estudiadas por Southwood (1978), Kershaw (1973) y Greig-Smith (1983), quienes emplean la distribución binomial negativa como medio para caracterizar las distribuciones de las mismas (Begon et al. 1995a). Se han desarrollado técnicas estadísticas para cuantificar las relaciones espaciales de los individuos de una población; una de estas técnicas usa el cociente de la varianza respecto a la media en el número de individuos por cuadrado. Cuando este cociente es la unidad, la distribución de organismos del cuadrado se ajusta a la distribución de Poisson y los organismos están distribuidos al azar respecto al cuadrado. Los cocientes inferiores a la unidad indican la existencia de homogeneidad (distribución espacial uniforme), mientras que los cocientes mayores que la unidad reflejan distribución en grupos o de contagio (Pianka 1982).

Resultados

Se observaron gusanos blancos parasitados en 19 de los 24 colmenares muestreados, dos en Luján (colmenar V), ocho en Mercedes (colmenares X, XI, XII, XII y XIV), seis en Pigüé (colmenares I, II y IV) y tres en Victoria (colmenar VI, VII y VIII). Los colmenares VII y VIII de Victoria tuvieron valores muy bajos de abundancia de gusanos blancos en 1997 (3 y 9 individuos en total) mientras que el colmenar III de Pigüé en 1997, el colmenar IX de Victoria en 1998 y el colmenar XIII de Mercedes en 2000 no presentaron parasitismo (Apéndice III, Tabla A). Se utilizó la suma de los gusanos hallados en las unidades muestrales como un indicador de la abundancia. Los datos obtenidos de abundancia de gusanos blancos y gusanos blancos parasitados por *M. ruficauda* para los 24 colmenares muestreados se resumen en el Apéndice III (Tabla B). En una gran cantidad de muestras de tierra no se hallaron gusanos blancos parasitados

(n = 1.008), por lo tanto, los tamaños muestrales se han reducido al efectuar los análisis de parasitismo a las escalas menores.

Análisis de especificidad

Se detectaron nueve especies de gusano blanco en los campos analizados: *Cyclocephala signaticollis* Burmeister (CS), *Cyclocephala modesta* Burmeister (CM), *Cyclocephala putrida* Burmeister (CP), *Diloboderus abderus* Sturm (DA), *Philochloenia bonariensis* Bruch (PB), *Heterogeniates bonariensis* Ohaus (HB), *Anomala testaceipennis* Blanchard (AT), *Bothynus striatellus* Fairmaire (BS) y *Archophileurus vervex* Burmeister (AV), de las cuales solo siete presentaron individuos parasitados por *M. ruficauda* (Figura 4.4.).

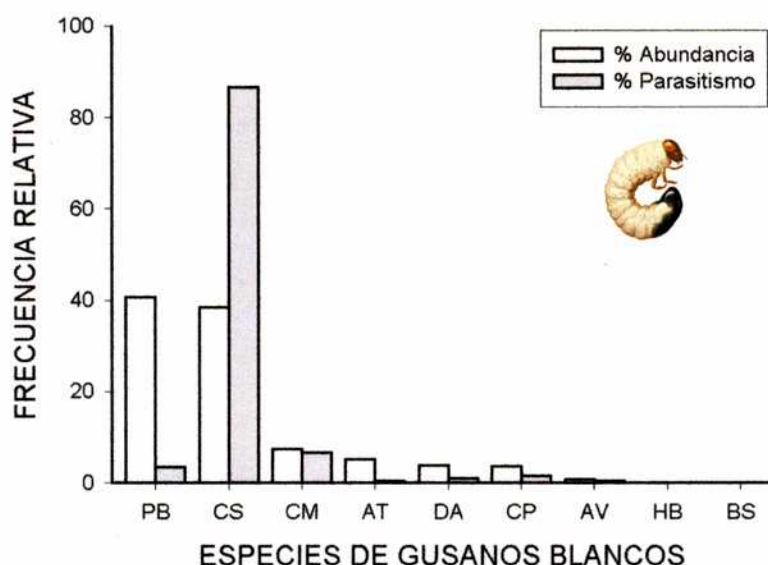


Figura 4.4. Especies de gusanos blancos detectadas en los colmenares analizados (barras oscuras) y especies con individuos parasitados por *M. ruficauda* (barras claras). CS, *C. signaticollis*; CM, *C. modesta*; CP, *C. putrida*; DA, *D. abderus*; PB, *P. bonariensis*; HB, *H. bonariensis*; AT, *A. testaceipennis*; BS, *B. striatellus*; AV, *A. vervex*.

El valor del índice de amplitud de nicho para las larvas de *M. ruficauda* fue de 0,50 en promedio. Un individuo exclusivamente generalista tendría un índice de valor próximo a uno, si fuera totalmente específico, es decir si seleccionara a la especie menos abundante debería tener un índice de valor cercano a 0,0014 (*qi* promedio de la especie BS). El valor 0,50 revela que *M. ruficauda* utiliza ½ de las especies de gusanos blancos disponibles e ignora al resto. Por lo tanto,

el índice estaría indicando que existe especificidad cuando el parasitoide elige a un hospedador. Esta interpretación del valor del índice es congruente con el resultado hallado mediante la Prueba G ($G_{(6; 0,05)} = 259,4$; $P < 0,05$; Figura 4.4.), donde es evidente la predilección de *M. ruficauda* por las larvas de *C. signaticollis*, ya que estas aparecen más frecuentemente parasitadas de lo que deberían estar si lo comparamos con la frecuencia de aparición en las muestras.

Al estudiar la especificidad a micro-escala espacial, se hallaron 2.468 hospedadores pertenecientes a nueve especies habitualmente encontradas en la provincia de Buenos Aires (Alvarado 1980). Doscientas nueve estaban parasitadas por *M. ruficauda* y fueron colectados en 19 de 24 sitios analizados. De las 2.850 muestras, solo 1.071 contenían gusanos blancos. Se detectó que un individuo de la especie *C. signaticollis* tiene una probabilidad de ser parasitado de 0,27 cuando en la misma muestra otra especie hospedadora se encuentra presente, y que esa probabilidad se incrementa a 0,31 cuando *C. signaticollis* se encuentra sola. El RR de parasitación fue 0,87 ($IC = [0,61; 1,24]$). Para el resto de las especies tomadas como conjunto, se detectó que dicha probabilidad es de 0,03 cuando la especie *C. signaticollis* se encuentra presente en la misma muestra, y es de 0,05 cuando *C. signaticollis* está ausente. El RR de ser parasitado en estas especies fue 0,62 ($IC = [0,40; 0,95]$) (Figura 4.5.). Los valores de parasitismo observado para cada especie analizada de acuerdo a la presencia de otras especies en la misma muestra se especifican en el Apéndice III (Tablas C y D).

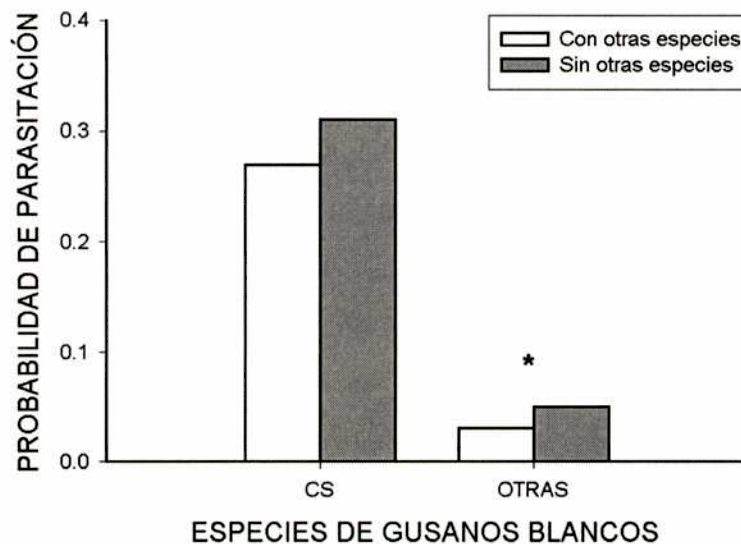


Figura 4.5. Probabilidades de los hospedadores de ser parasitados por las larvas de *M. ruficauda*, cuando en el suelo coexisten diferentes especies de hospedadores. Se observa que el riesgo es significativamente diferente para los hospedadores de "otras especies" cuando se encuentran con o sin *C. signaticollis* en la misma muestra, mientras que para *C. signaticollis* el riesgo no es significativamente diferente ante la presencia o ausencia de "otras especies". CS, *C. signaticollis*; OTRAS, cualquiera de las otras 8 especies de gusanos blancos.

Análisis de la denso-dependencia

Durante el estudio fueron recolectados 2.468 gusanos blancos de los cuales 209 estaba parasitados. Se descartaron arbitrariamente del análisis de detección de denso-dependencia los colmenares que presentaron una abundancia de gusanos blancos menor a seis, quedando para el análisis 12 colmenares. El parasitismo general encontrado para los sitios fue de 12,33 % (mínimo 4,65 % y máximo 17,21 %, $ES = 1,65$) considerando los cuatro años de estudio. No se detectó una relación lineal significativa entre la abundancia de gusanos blancos (ln) y el porcentaje de gusanos parasitados (ln) por sitio (colmenar o apiario) ($n = 12$; $r^2 = 0,01$; $P = 0,7407$; $b = -0,10$; Figura 4.6. A). A las tres escalas espaciales menores se observaron relaciones lineales negativas entre la abundancia de gusanos blancos (ln) y el porcentaje de parasitismo (ln) para los sub-sitios ($n = 31$; $r^2 = 0,13$; $P < 0,0460$; $b = -0,31$; Figura 4.6. B), para las parcelas ($n = 106$; $r^2 = 0,59$; $P < 0,0001$; $b = -0,74$; Figura 4.6. C), y para las muestras ($n = 148$; $r^2 = 0,71$; $P < 0,0001$; $b = -0,77$; Figura 4.6. D).

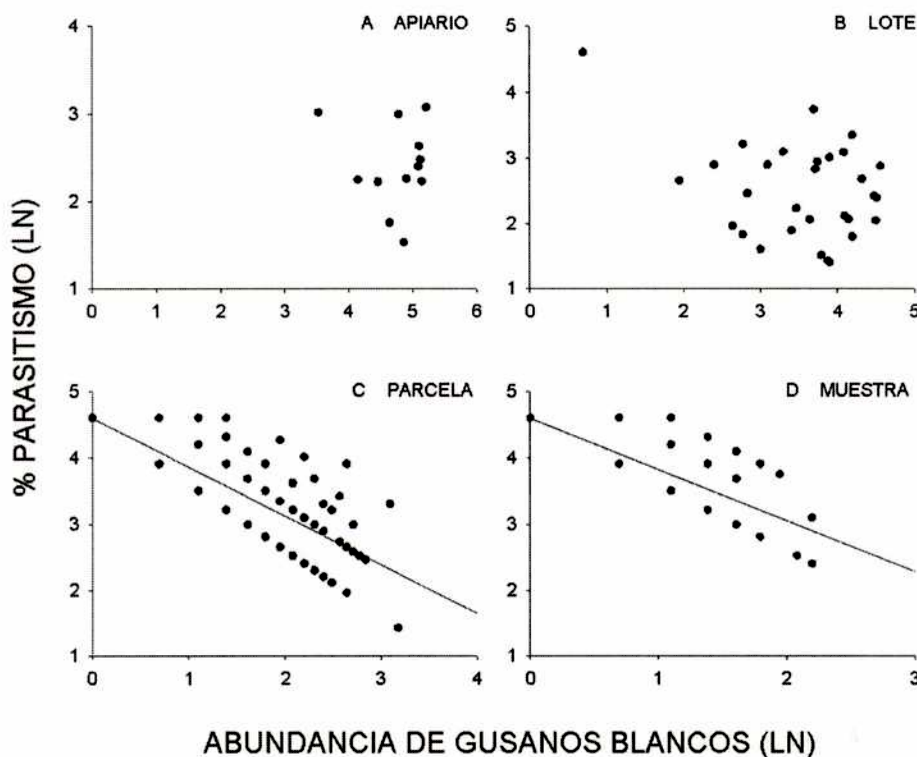


Figura 4.6. Relación entre la abundancia de los hospedadores en el suelo (ln) y el porcentaje de gusanos blancos parasitados por larvas de *M. ruficauda* (ln), durante 1997-2000 en las tres localidades. A) Nivel Sitio ($n = 12$; $r^2 = 0,01$; $P = 0,7407$; $b = -0,10$). B) Nivel Sub-sitio ($n = 31$; $r^2 = 0,13$; $P < 0,0460$; $b = -0,31$). C) Nivel Parcela ($n = 106$; $r^2 = 0,59$; $P < 0,0001$; $b = -0,74$). D) Nivel Muestra ($n = 148$; $r^2 = 0,71$; $P < 0,0001$; $b = -0,77$). Se detectó denso-independencia a nivel colmenar y lote (A y B, respectivamente) y efectos denso-dependientes inversos a nivel parcela y muestra (C y D, respectivamente) en el porcentaje de parasitismo a medida que aumenta la densidad de hospedadores.

Las regresiones lineales entre estas variables son significativas en los dos niveles espaciales menores de análisis. Los intervalos de confianza (95 %) para las estimaciones Jackknife calculadas para la pendiente de la regresión no incluyeron el cero, en el caso de las parcelas ($IC = [-0,83; -0,55]$) y de las muestras ($IC = [-0,86; -0,68]$). Esto significa que en parcelas y muestras con diferente abundancia de gusanos blancos se producen efectos de denso-dependencia inversa, en donde el parasitoide sufre una disminución en cuanto al porcentaje de parasitismo a medida que aumenta la abundancia de su hospedador. La regresión no fue significativa en el caso de los lotes ($IC = [-0,928; 0,138]$), por consiguiente no existiría denso-dependencia en el parasitismo a esta escala espacial (Apéndice III, Tabla E).

Análisis de la distribución de hospedadores en el suelo

Los gusanos blancos se distribuyeron en forma agregada o contagiosa en el suelo. Los CD de todas las especies fueron mayores que uno en todos los sub-sitios (lotes). Además, los valores de K fueron en 51 de 53 casos muy pequeños ($0,086 < K < 2,213$), indicando que los individuos están dispuestos en forma agrupada (Apéndice III, Tabla F). No hubo diferencias significativas (Prueba G , $P > 0,05$) entre el valor esperado en cada muestra de acuerdo al modelo binomial negativo de disposición espacial y los datos de campo ($0,100 < G_{(9, 0,05)} < 10,823$; $P > 0,05$).

Discusión

Los resultados muestran que *M. ruficauda* es un parasitoide específico que selecciona a *C. signaticollis* entre nueve especies de hospedadores. Este resultado fue confirmado tanto a escala global (nivel colmenar) como a escala micro-espacial (muestra de suelo), sugiriendo que tanto el adulto como la larva participan en la selección del hospedador. Los gusanos de la especie *C. signaticollis* son más propensos de ser atacados por el parasitoide, a la escala de acción de la larva, tal como lo sugiere la evaluación del riesgo de parasitación. El patrón de parasitismo observado fue denso-independiente a las dos escalas mayores estudiadas y denso-dependiente inverso a las dos escalas menores. Además, se detectó que los hospedadores se encuentran agregados en manchones en el hábitat, siguiendo una distribución binomial negativa.

En relación con la selectividad, las frecuencias de parasitismo observadas indican que *M. ruficauda* prefiere a *C. signaticollis* como hospedador, ya que la frecuencia de ataques sobre esta especie supera a la frecuencia de aparición de la misma en el ambiente. El valor del índice de amplitud de nicho encontrado indica un medio-alto grado de especialización en el uso de los recursos, donde las larvas hacen cierta discriminación sobre las especies de gusanos blancos que utilizan como hospedadores. *Mallophora ruficauda* parasita a las otras especies de gusano blanco, pero la frecuencia relativa de parasitismo es mucho más baja que la esperada por azar. Esto último sugiere que *M. ruficauda* tendría cierta flexibilidad para utilizar otros hospedadores y que su régimen sería oligófago. Como las larvas de *M. ruficauda* son dispersadas de forma anemófila y este fenómeno puede afectar la tasa de encuentro con el hospedador, la hipótesis más parsimoniosa sería que esta especie de parasitoide fuese generalista para asegurar la supervivencia de las larvas. Sin embargo, los resultados no permiten sostener esta hipótesis. Endler (1991) sugirió que el éxito reproductivo de un depredador conlleva una serie de etapas: encuentro, detección, identificación, aproximación, manipulación y consumo. La preferencia por un hospedador en particular podría ser generada por diferencias entre las especies de hospedadores en cualquiera de estas etapas (Sih 1993). Tales diferencias pueden ser una consecuencia de la morfología y comportamiento del hospedador/presa como también del parasitoide/depredador (Endler 1991, Sih 1985). Se observó en el laboratorio que algunas especies de gusanos blancos son muy agresivas cuando los individuos son disturbados. Es probable que esos individuos sean capaces de detectar la aproximación de la larva parasitoide por medio de las setas del cuerpo, y de alguna manera evitar la parasitación.

La selectividad hacia el hospedador detectada en este trabajo a escala global y local, junto con la capacidad de localizar al hospedador que mostraron las larvas a través de pistas químicas dentro del suelo (Capítulo 3), apoyan la idea de que los parasitoides pueden detectar a sus hospedadores mediante diferentes mecanismos (Godfray 1994, Tumlinson et al. 1993a). La preferencia por el hospedador a escala grande podría estar reflejando lo que ocurre con la búsqueda conjunta de la hembra y la larva durante el proceso de encuentro del hospedador. La interpretación del riesgo de parasitismo reveló que *M. ruficauda* selecciona el hospedador a escala micro-espacial. Los resultados indican que *C. signaticollis*, el hospedador preferido a escala grande, tiene la misma probabilidad de ser parasitada en las muestras con o sin la presencia de otras especies de gusano blanco. Por otro lado, para el “resto de las especies de hospedador”, se encontró que la presencia de *C. signaticollis* disminuye la probabilidad de

parasitación. Ambos resultados enfatizan la marcada selectividad de la larva parasitoide hacia *C. signaticollis*. Los resultados permiten concluir que *M. ruficauda* prefiere a *C. signaticollis* tanto a nivel global como micro-espacial.

En relación con los patrones de parasitismo, los resultados indican que la escala utilizada determina el tipo de denso-dependencia detectada. A la escala de colmenar (sitio) y lote (sub-sitio) no se encontró una relación significativa entre la abundancia de los gusanos blancos en el suelo y el porcentaje de parasitismo. Esto sugiere que el parasitismo es denso-independiente. En cambio, al analizar las escalas parcela y muestra se observó una disminución del porcentaje de parasitismo a medida que aumentaba la abundancia de los hospedadores. Este último patrón sugiere la existencia de efectos dependientes de la densidad en forma inversa. Estos resultados resaltan la importancia de la escala de observación en la evaluación de la denso-dependencia, tal como lo evidencian otros estudios (De Roos et al. 1991, Hassell et al. 1991, Heads & Lawton 1983, Walde & Murdoch 1988). La ausencia de patrones de parasitismo denso-dependientes directos en todas las escalas indica que *M. ruficauda* no sería un potencial regulador de las poblaciones de gusanos blancos del suelo, un atributo necesario para que un insecto pueda desempeñarse como controlador de una especie plaga. Por consiguiente, el desarrollo de estrategias de control para bajar la densidad de *M. ruficauda* en los colmenares, con el objeto de evitar pérdidas en la cosecha de miel, no producirá incrementos de gran magnitud en las poblaciones de los gusanos blancos que representen un riesgo para los cultivos comerciales.

Las variaciones en los patrones de denso-dependencia con la escala espacial podrían ser el resultado de diferentes procesos comportamentales que ocurren a cada escala, debido a que el comportamiento de los parasitoides afecta su dinámica poblacional. A escala grande, un parasitoide que es generalista producirá un patrón de parasitismo denso-independiente en los hospedadores, debido a que los ciclos de abundancia del parasitoide y hospedador no están sincronizados y fluctúan fuera de fase. Pero también a gran escala, la denso-independencia es esperable debido a otras causas, donde las tasas de parasitismo pueden ser muy diferentes entre los sitios debido a factores abióticos locales (C. Bernstein, comunicación personal). Este patrón también puede producirse debido a que en las áreas grandes, la densidad de hospedadores se vuelve altamente variable, y los parasitoides no pueden distinguir las zonas con mayor densidad de hospedadores (Heads & Lawton 1983). En cambio en un parasitoide especialista puro, se producirá un patrón de parasitismo denso-dependiente directo muy marcado a gran escala,

debido a la coincidencia en las fluctuaciones de abundancia entre el parasitoide y el hospedador (ciclos sincronizados).

El comportamiento de localización del hospedador en *M. ruficauda* es efectuado mediante una estrategia compartida entre la hembra y la larva (Capítulos 2 y 3), que actúa a diferentes escalas espaciales. A gran escala la hembra busca sitios adecuados para la oviposición, los cuales brindan información acerca del hábitat en donde viven los hospedadores, posiblemente relacionados con el alimento de los gusanos blancos. Los resultados sobre el comportamiento de oviposición sugieren que las hembras seleccionan sitios que aseguren la dispersión de las larvas, pero se desconoce si estos sitios están asociados con la densidad de hospedadores (Capítulos 2 y 5). Hasta el momento no hay información acerca de cual podría ser el mecanismo utilizado por la hembra para calificar las plantas. Para otros Asílidos, se ha sugerido que la forma de reconocer ambientes para la oviposición podría ser visual a partir de características abióticas del hábitat (Musso 1983). Esta estrategia de oviposición podría ser la responsable del patrón denso-independiente de parasitismo observado en las dos escalas mayores. Además, los colmenares muestreados en este trabajo fueron muy variables entre sí en número de colmenas, vegetación, factores ambientales y manejo agropecuario entre otros (Tabla B, Apéndice I), los cuales pueden afectar el comportamiento de búsqueda de los parasitoides. Esta variabilidad en los factores naturales conduce a un patrón denso-independiente de parasitismo, esencialmente debido a la imposibilidad de detectar denso-dependencia bajo estas circunstancias (Stiling 1987).

A escalas menores, los parasitoides se concentran en el encuentro efectivo del hospedador, a través de señales implicadas en el encuentro directo de la víctima (Godfray 1994, Tumlinson et al. 1993b). Este comportamiento produce por lo general un patrón de parasitismo denso-dependiente inverso, debido a que los hospedadores son abundantes y cada parasitoide encontrará suficientes hospedadores en un área pequeña, con lo cual no llegan a parasitarlos a todos (Walde & Murdoch 1988). En este sentido, la denso-dependencia inversa puede asociarse con ineficiencias en la búsqueda de la hembra, tal como depositar los huevos en individuos ya parasitados matando al primer huevo colocado, la limitación en la cantidad de huevos maduros que pueden ser colocados por la hembra, limitaciones en el tiempo disponible para la búsqueda, o debido a que los costos de migración se hacen demasiado altos como para que las hembras parasitoides comiencen a buscar en otro parche (Bernstein et al. 1991, Heimpel & Rosenheim 1996, Murdoch 1994, Murdoch & Briggs 1996). El hecho de que *M. ruficauda* elija hospedadores superparasitados sugiere que existen limitaciones espaciales y temporales para la

búsqueda de individuos más apropiados (Capítulo 5). En *M. ruficauda*, la denso-dependencia inversa se observó en las dos escalas más pequeñas de análisis y podría ser consecuencia de la dispersión anemófila de las larvas, dado que las larvas caen al suelo desde los sitios de oviposición y entonces deben buscar los hospedadores que se encuentran más cerca del sitio de aterrizaje. El superparasitismo parece ser entonces frecuente, especialmente donde los hospedadores son muy escasos, conduciendo a la denso-dependencia inversa. Otra explicación sería que debido a que los hospedadores se distribuyen en el suelo en forma contagiosa y las larvas son dispersadas por el viento con una distribución espacial aleatoria, el encuentro hospedador-parasitoide resultará también aleatorio. En este caso cualquier unidad de hábitat tiene igual probabilidad de albergar una larva de parasitoide y, por lo tanto, la probabilidad de que las larvas parasitoides encuentren un hospedador en un parche dado, a medida que la cantidad de hospedadores aumenta, será menor debido al producto de la combinación de ambas distribuciones (Poisson y binomial negativa). Entonces las unidades de hábitat con elevada abundancia de gusanos blancos tendrán bajo porcentaje de parasitismo en comparación con las unidades de baja abundancia, ya que ambas unidades tendrían igual probabilidad de incluir x número de larvas parasitoides. De esta forma, los resultados indicarían que se genera un porcentaje de parasitismo con denso-dependencia inversa a pesar de que las hembras parasitoides poseen estrategias de parasitación pasiva sin atacar al hospedador.

La selectividad como causa de la formación del patrón de denso-dependencia inversa en el parasitismo de *M. ruficauda* a escala pequeña debe ser descartada porque la especificidad produce denso-dependencia directa fuerte.

Para concluir, se puede decir que la hembra de *M. ruficauda* no ataca a su hospedador, pero la larva al ser dispersada por el viento cae al suelo provocando a pequeña escala un patrón de encuentro denso-dependiente inverso, que es evidenciado por el porcentaje de parasitismo. Este patrón sería equivalente al ataque de las hembras parasitoides con comportamiento de búsqueda. La heterogeneidad del ambiente (distribución contagiosa del hospedador) jugaría un papel importantísimo para la larva en la localización del hospedador y en la regulación del sistema, dado que a gran escala en los colmenares, las hembras de *M. ruficauda* estarían moviéndose entre sitios produciendo un patrón de denso-independencia posiblemente originado en su estrategia de selección de sitios de oviposición. Se desconoce si la hembra posee algún mecanismo para detectar la densidad de hospedadores en los pastizales y cual es el mecanismo para detectar los sitios adecuados de oviposición, pero posiblemente diferentes mecanismos

estarían manifestándose a cada escala de acción del parasitoide para identificar al hospedador. La especificidad detectada a cada nivel no estaría participando en la formación de los patrones de denso-dependencia, sino que estos últimos podrían ser consecuencia de la estrategia mixta de búsqueda de los hospedadores desplegada por las hembras y las larvas, y a las limitaciones ecológicas que operan a cada escala espacial.

CAPÍTULO 5:

Localización mixta del hospedador, dispersión de larvas y el éxito reproductivo del parasitoide



Introducción

En los insectos, la selección de un sitio de oviposición por las hembras es un proceso comportamental que es crucial para el desarrollo de la progenie, especialmente en las especies donde los estadios inmaduros están limitados en su habilidad de moverse y forrajear. En muchos de estos casos, las hembras no disponen de información directa de los sitios que permiten un desarrollo exitoso de las larvas y deben basarse en las claves indirectas que derivan del ambiente (Fritzsche Hoballah et al. 2002, Guerrieri et al. 2002, Steinberg et al. 1993, Stireman 2002). Una situación típica se da cuando las larvas se alimentan sobre otros insectos inmaduros que están escondidos en el suelo, como es el caso de la mayoría de las especies de la familia Asilidae. En este grupo, se han realizado intentos de correlacionar el sitio de oviposición con el área de captura de presas (Londt 1994).

En los Asílidos, los sitios de oviposición se encuentran cerca del suelo, en sitios elevados, sobre rocas o sobre pastos, o sobre árboles y arbustos muy elevados (Londt 1994). Las especies que viven en los pastizales, cuyas hembras esperan a las presas en un punto elevado de la vegetación, oviponen utilizando tres estrategias: dejar caer al azar los huevos al suelo, desovar directamente en el suelo, o desovar sobre plantas (Londt 1994). Estas estrategias tienen en común que las larvas se esconden por sí mismas en el suelo y se alimentan sobre los estadios inmaduros de otros insectos, proceso del cual depende su desarrollo (Clements & Bennett 1969, Musso 1983). Varias de las especies que utilizan plantas como sitios de oviposición parecerían seleccionar plantas altas (Adamovic 1974, Alcock 1974, Dennis & Lavigne 1975, Lawson & Lavigne 1984, Linsley 1960, Reinhard 1938).

En *M. ruficauda*, el comportamiento de oviposición consiste en seleccionar sitios de oviposición en un rango específico de altura que está comprendido entre 1,00 y 1,25 m en los alambrados y entre 1,25 y 1,50 m en las plantas (Capítulo 2). La oviposición sería limitada en el tiempo, puesto que pone ootecas grandes, probablemente en gran número, y en un período corto de tiempo (Capítulo 2). Además, esta especie es muy sensible a las condiciones ambientales, especialmente a las bajas temperaturas y a la lluvia.

La búsqueda de sitios de oviposición por las hembras de *M. ruficauda* se cree que estaría influenciada por la distribución de los hospedadores. La hembra podría ejercer una influencia positiva sobre el encuentro entre su progenie y los hospedadores, a través de su comportamiento

de oviposición, mediante la selección de sitios adecuados para dejar sus larvas. No se conoce si las hembras son capaces de responder a señales que pueden estar asociadas a sitios con una mayor riqueza de hospedadores. La influencia positiva sobre el encuentro larva-hospedador sería entonces ejercida a través de la dispersión adecuada de las larvas en el hábitat de los gusanos blancos.

La dispersión, el movimiento de los organismos fuera de su fuente parental, es un proceso biológico fundamental que opera a múltiples escalas temporales y espaciales. En la dispersión pasiva la fuente de energía que acompaña al desplazamiento por el espacio proviene del ambiente. Por ende, la dispersión pasiva está determinada por los movimientos del medio, típicamente aire, agua u otro organismo. Los organismos pueden tomar ventaja de ciertas propiedades del fluido que los transporta, por ejemplo el transporte y propagación por medio del viento (Howe & Smallwood 1982, van der Pijl 1982). La tarea más importante al estudiar el proceso de dispersión de un organismo es describir los patrones que éste genera (Nathan 2001). Uno de los procesos que más ha sido estudiado es la dispersión de semillas, polen o esporas mediada por viento, debido a la importancia que tienen los patrones generados por los propágulos en determinar la dinámica espacio-temporal de las poblaciones de plantas (Augspurger 1986, Clark et al. 1998, Green 1980, Nathan & Muller-Landau 2000, Nathan et al. 1996).

Una forma de estudiar la dinámica poblacional incorporando realismo es a través de modelos de la dinámica de dispersión.

Los modelos proveen los medios para examinar y generar hipótesis sobre las causas y consecuencias de la dispersión. Típicamente se utilizan para describir la dispersión de propágulos calculando la tasa de caída de las partículas de diferente morfología, basándose en las fuerzas opuestas de gravedad y rozamiento experimentadas durante la caída vertical. Estas partículas alcanzan una velocidad de caída constante o terminal luego de la liberación (Guries & Nordheim 1984, Nathan et al. 1996). La distancia horizontal de una partícula transportada por el viento es una función de la velocidad terminal, la altura de liberación y la velocidad del viento durante el vuelo de la partícula (Andersen 1991, Greene & Johnson 1989, 1997, Johnson et al. 1981, Okubo & Levin 1989, Sharpe & Fields 1982). En general, los organismos biológicos que se dispersan por el aire son llevados a corta distancia desde donde son producidos, por ende el área de colonización está limitada a una escala muy local (Okubo & Levin 1989, Ribbens et al.

1994, Willson 1992). La integración de los modelos y los datos empíricos permite analizar los aspectos comportamentales de la dispersión de un animal en la escala y el contexto donde ocurren (Nathan 2001). Los modelos de dispersión mediada por viento han sido principalmente formulados en el contexto de la ecología vegetal, aunque pueden ser igualmente aplicados a la dispersión pasiva de cualquier otro organismo dispersado por corrientes de aire, incluyendo insectos diminutos y ácaros (Bullock & Clarke 2000, Greene & Johnson 1989, 1996, Nathan et al. 2001, Nurminiemi et al. 1998, Okubo & Levin 1989).

En la especie *M. ruficauda*, el viento jugaría un papel crucial en la dispersión de las larvas desde el sitio de oviposición. Durante el estado larvario, los individuos son transportados de forma pasiva por el aire, generando en la superficie del suelo un patrón inicial de distribución espacial de larvas. Ese patrón dará lugar a un subsiguiente patrón espacial de parasitismo, que estará determinado tanto por la presencia de los hospedadores en el suelo como de la capacidad de búsqueda de los parasitoides inmaduros (Capítulo 3 y 4).

El objetivo de este capítulo es determinar si en *M. ruficauda*, la dispersión anemófila de las larvas en el espacio es consecuencia de un comportamiento de las hembras que maximiza el éxito reproductivo del parasitoide. Este comportamiento consistiría en depositar los huevos a una altura tal que el área de dispersión de las larvas en el suelo y los porcentajes de parasitismo sean máximos, y que los porcentajes de superparasitismo sean mínimos.

Se construyó un modelo para poner a prueba la hipótesis de que las hembras seleccionan alturas en las plantas que aseguran una localización exitosa del hospedador por sus numerosas larvas, comparando las predicciones del modelo y los datos experimentales de selección de altura de oviposición. Se espera que cuanto más alto sea depositado el desove, mayor será el número de hospedadores parasitados y menor será el superparasitismo. Sin embargo, dado que las alturas más elevadas son menos frecuentes que las más bajas, se presume que existirá un umbral de altura a partir del cual la ganancia en términos de éxito reproductivo será máxima.

Modelo de dispersión de las larvas de *Mallophora ruficauda*

Mallophora ruficauda contaría con una estrategia mixta para localizar al hospedador. A escala grande, las hembras depositan sus desoves en sustratos elevados y son capaces de regular

el tamaño de la ooteca de acuerdo con la altura de oviposición (Capítulo 2). A escala pequeña, las larvas buscan a los hospedadores dentro del suelo guiadas por claves químicas originadas en el cuerpo del hospedador (Capítulo 3). El patrón de parasitismo resultante es denso-dependiente inverso a escala pequeña (Capítulo 4).

Se describe un modelo de simulación de la dispersión de las larvas de *M. ruficauda* por el viento, como instrumento para realizar una exploración numérica de los factores que intervienen en el proceso general de dispersión de los individuos y para predecir los patrones de parasitismo que son consecuencia de dicha dispersión. A partir de los resultados de las simulaciones, se estima el éxito reproductivo del parasitoide, mediante el desarrollo de una expresión indirecta que contempla los factores bióticos del hábitat.

Específicamente se evaluarán los movimientos que realizan las larvas parasitoides desde la planta donde la hembra depositó el desove hasta la superficie del suelo, haciendo foco en los componentes espaciales, y particularmente en la distancia de dispersión. Se trabajó sobre la idea general de que una mayor altura de oviposición ampliará el área cubierta por las larvas parasitoides que llegan al suelo, debido a un fenómeno físico asociado al viento y a la fuerza de gravedad.

Desarrollo del modelo de simulación

La dispersión de las larvas es simulada mediante un modelo espacialmente explícito, utilizando una grilla de 200 x 200 celdas, cada una de 400 cm² de superficie. La grilla representa el área de suelo donde ocurre la caída de las larvas y solo contiene una ooteca a altura variable que se encuentra ubicada en el centro de la misma (sitio de oviposición). El modelo considera la posibilidad de simular la caída de las larvas con dos tipos de distribución espacial del hospedador en el suelo, al azar o agregada. La grilla tiene forma de toro, de modo que el espacio de dispersión es continuo, evitando así los efectos de borde.

Las larvas son dispersadas desde el sitio de oviposición y pueden caer en cualquier celda dependiendo de la dirección de dispersión (*DD*) y de la distancia recorrida (*DR*). La dirección de dispersión es fija y se asume constante durante el vuelo de las larvas. Las larvas se mueven en el espacio y caen en el suelo dentro de un área con forma de cono (Figura 5.1.). La distancia

recorrida, definida como la distancia de dispersión horizontal de una larva que es transportada por el viento, puede ser calculada como:

$$DR = VV (h/VT) \quad (5.1.)$$

Donde h es la altura de liberación de las larvas (altura de la ooteca en la planta), VV es la velocidad del viento horizontal media durante la caída de las larvas, y VT es la velocidad terminal de una larva que cae sin viento. La velocidad terminal (también llamada de asentamiento o límite) depende del tamaño y peso de la partícula y del fluido en el cual se desplaza (Okubo 1980).

Se construyó un modelo de simulación de dispersión de las larvas en leguaje *Visual Basic 5.0*. El modelo simula la dinámica espacial de la dispersión de las larvas mediada por el viento incorporando estocasticidad en algunos de los factores considerados.

La distribución al azar de los hospedadores se logra mediante la asignación de una probabilidad de ocupación de las celdas teniendo en cuenta la grilla completa. En cambio, para determinar una distribución agregada de hospedadores en la grilla se deben definir las siguientes características:

- 1) Número de manchones: es el número de grupos de hospedadores en el suelo en cada grilla. Es un estimador de la densidad.
- 2) Tamaño de los manchones: los manchones son de área cuadrada y se definen por x número de celdas por lado.
- 3) Probabilidad de ocupación de cada celda del manchón: la ocupación de las celdas con hospedadores no es la misma en todos los manchones de la misma grilla. La densidad de cada manchón se asigna mediante una probabilidad de llenado de cada celda, que por defecto es del 50 %.

El diagrama de flujo del modelo es representado en la Figura 5.1. Los parámetros físicos y biológicos principales en relación con el movimiento de las larvas son definidos en la Tabla 5.1. Las variables consideradas en el modelo de simulación y los valores que toman las mismas durante las realizaciones son explicadas en detalle en la misma tabla.

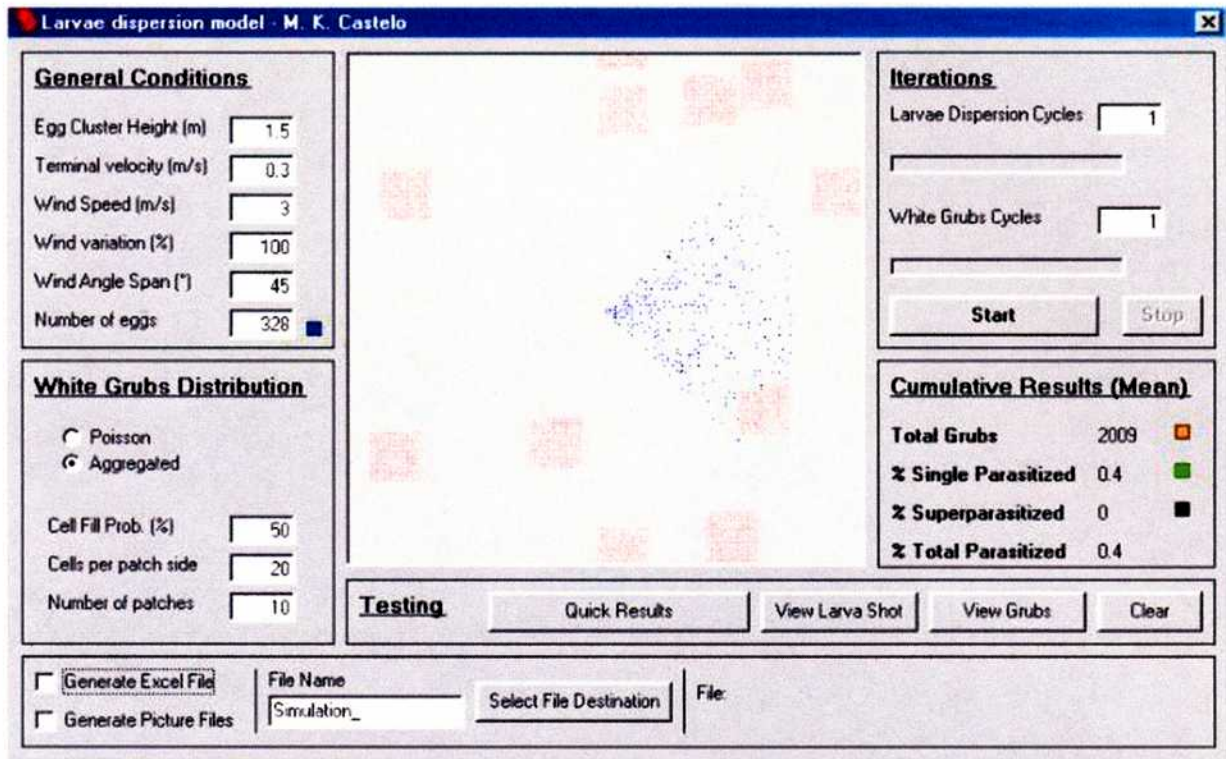


Figura 5.1. Interfase gráfica del modelo de dispersión de larvas construido en lenguaje Visual Basic. En el centro de la grilla se observa el punto de liberación de las larvas y la superficie de dispersión (cono de puntos). Los manchones de hospedadores se representan mediante cuadrados ocupados por gusanos blancos en 50% en promedio.

Tabla 5.1. Principales variables y parámetros usados en el modelo de simulación de la dispersión de larvas de *M. ruficauda*.

SÍMBOLO	PARÁMETRO (UNIDAD)	DEFINICIÓN	VALORES ESTÁNDAR MEDIA
h	Altura de la ooteca en el sustrato (m)	Altura de oviposición seleccionada por la hembra parasitoide.	0 - 4
VT	Velocidad terminal de la larva (m/s)	Velocidad constante alcanzada por las partículas biológicas muy pequeñas durante su caída en contra de la gravedad. (1)	0,3
VV	Velocidad del viento (m/s)	Velocidad promedio del viento medida a campo en el área de estudio. (2)	3,0 (\approx 15 km/h)
$VarV$	Variación del viento (%)	Grado de variación de la intensidad del viento (e.g., si sopla en forma homogénea o en ráfagas).	0 - 100
AV	Apertura del ángulo del viento ($^{\circ}$)	Ángulo que determina la superficie de dispersión de las larvas en el suelo.	45
Q	Número de huevos por ooteca	Determinado experimentalmente en el Capítulo 2.	328

(1) El valor de la velocidad terminal utilizado fue tomado de la semilla de mijo (*Panicum meliaceum* L.) que es de aproximadamente 0,3 m/s, cuyo peso y forma es similar a los de la larva parasitoide (Xie & Zhang 2001).

(2) Czajkowski & Rosenfeld (1992).

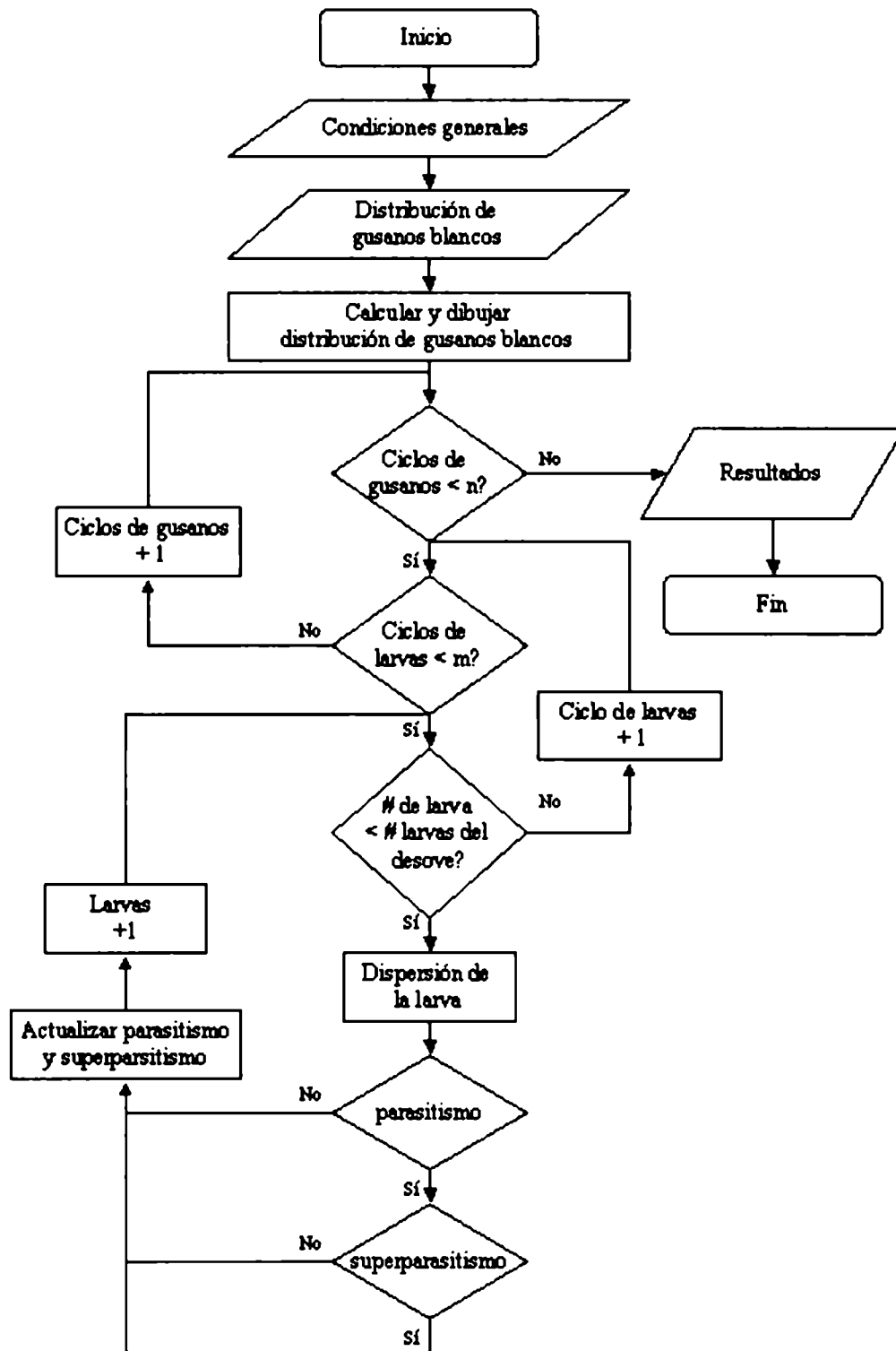


Figura 5.2. Diagrama de flujo del modelo de simulación construido en lenguaje Visual Basic.

Para realizar las simulaciones a cada altura de ooteca dada, se debe definir el número ciclos de dispersión de larvas de una ooteca por cada grilla con una distribución dada del hospedador, y además el número de grillas con diferentes distribuciones del hospedador. En las simulaciones realizadas en este trabajo se consideraron 100 ciclos de caída de larvas (100 ootecas) por cada grilla de distribución de los hospedadores, en un total de 30 grillas. Esto significa que se obtiene un total de 3.000 realizaciones para cada altura de oviposición. Se consideraron 16 valores de altura en total, de 0 a 4 metros a intervalos de 0,25 m.

Supuestos principales y condiciones del modelo

- 1) La caída de la larva es constante o uniforme debido a su velocidad terminal (la densidad de las partículas biológicas pequeñas es cercana a la densidad del agua y produce una desaceleración de la partícula durante la caída).
- 2) La larva alcanza rápidamente la velocidad terminal luego de la liberación desde la ooteca, por lo tanto la distancia vertical recorrida antes de alcanzar la velocidad terminal es despreciable.
- 3) Las interacciones que sufre la larva desde el principio de la caída hasta que llega al suelo no han sido consideradas, por ejemplo el contacto con la vegetación, animales o gotas de lluvia.
- 4) Cada celda está ocupada por un solo gusano blanco.
- 5) Una larva parasita a un hospedador cuando hay coincidencia espacial de ambos en la misma celda.
- 6) Un gusano blanco puede ser parasitado por una o varias larvas (gusanos blancos monoparositados y superparositados respectivamente).
- 7) Puesto que el área de una celda se corresponde con el área de acción de la larva, la caída de una larva dentro de una celda ocupada con un gusano blanco es considerada como un encuentro hospedador-parasitoide exitoso.
- 8) Los efectos de turbulencia del aire no fueron considerados.
- 9) Las larvas son dispersadas al azar en una única dirección, y dentro de un área de ángulo dado.
- 10) Se considera la dispersión de las larvas de una sola ooteca por simulación.

Estimación de parámetros biológicos

Un requisito para confeccionar los modelos de dispersión en *M. ruficauda* es contar con los parámetros biológicos básicos de las larvas parasitoides, tales como tamaño y peso corporal. Además, se determinará el número de adultos que emergen por cada hospedador superparasitado, cual es la frecuencia del superparasitismo y cual es la influencia del superparasitismo sobre el peso del insecto adulto que emerge.

Materiales y Métodos

Para determinar el número de parasitoides adultos que emerge por hospedador superparasitado se recolectaron gusanos blancos de los colmenares habitados por *M. ruficauda*. Los insectos fueron llevados al laboratorio para determinar la especie de cada gusano blanco y el número de larvas aferradas a los mismos. Luego se estimó la media y la moda del número de larvas de *M. ruficauda* presentes por hospedador. Los gusanos blancos superparasitados fueron mantenidos en el laboratorio a temperatura ambiente durante la fase inmadura y hasta la emergencia de los moscardones adultos. Cada gusano blanco parasitado fue colocado en forma individual en un recipiente negro tapado, que contenía tierra y alimento renovado cada semana.

Para determinar el peso y el tamaño de las larvas de *M. ruficauda* en la fase en que son dispersadas por el viento se colectaron desoves frescos en el campo durante la temporada de oviposición. Se tomaron larvas recién nacidas al azar provenientes de distintos desoves, formando grupos de 100 larvas. Luego, cada grupo fue pesado en una balanza de precisión ($n = 16$). Además, se determinó el tamaño promedio de las larvas mediante la medición del largo y ancho del cuerpo de las mismas ($n = 60$).

Se asume que el superparasitismo es negativo en términos del éxito reproductivo. Este supuesto se exploró evaluando si la parasitación simultánea por varias larvas afecta el desarrollo del parasitoide que emerge del hospedador. Para ello, se colectaron gusanos blancos parasitados de la especie *C. signaticollis*. En primer lugar se computó el número de larvas parasitoides por hospedador parasitado. Los insectos fueron mantenidos individualmente en el laboratorio durante cinco meses, en recipientes negros cerrados y a temperatura ambiente. Además, recibieron

alimento una vez por semana. Luego, las pupas del parasitoide fueron pesadas con una balanza de precisión en el momento de la emergencia.

Resultados

El número promedio de larvas de *M. ruficauda* halladas sobre 277 hospedadores fue de 3,14, con un mínimo de una larva y un máximo de 106 por hospedador. Se observó que la moda es igual a un gusano por hospedador, lo cual representa al 52 % de los gusanos estudiados (Figura 5.3.). Se observó que el 90,8 % de las larvas de *M. ruficauda* estaba parasitando a la especie *C. signaticollis*.

Las larvas de *M. ruficauda* pesan $2,8 \pm 0,4$ miligramos. El cuerpo tiene la forma de bastón y su tamaño es $1,35 \pm 0,11$ mm de largo y $0,32 \pm 0,27$ mm de ancho.

Se obtuvo una relación lineal negativa significativa entre el número de larvas parasitoides por hospedador y el peso de la pupa del parasitoide que emerge ($r^2 = 0,64$; $P < 0,0302$; $b = -0,028$; $n = 7$; Figura 5.4.).

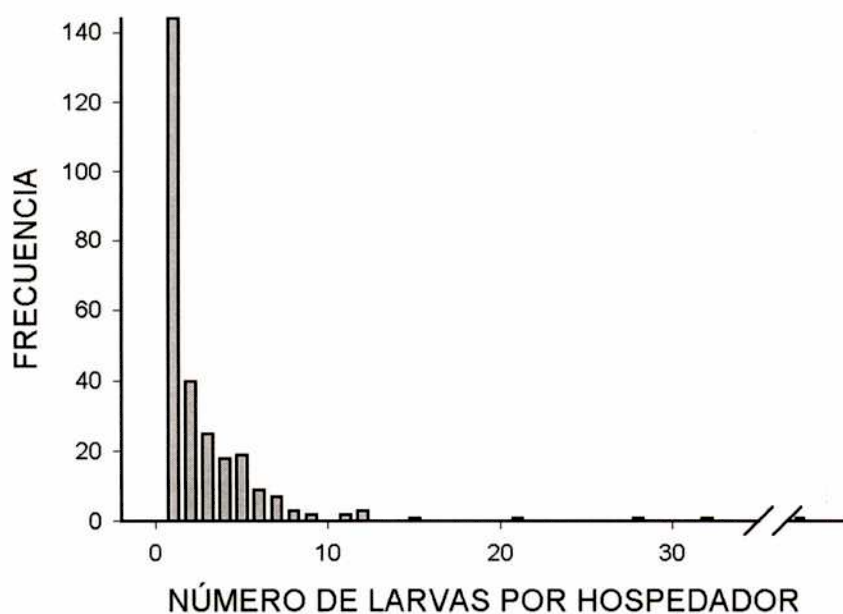


Figura 5.3. Distribución del número de larvas de *M. ruficauda* por hospedador. Se observa que la mayor parte de los gusanos blancos parasitados poseen solo una larva parasitoide (52%).

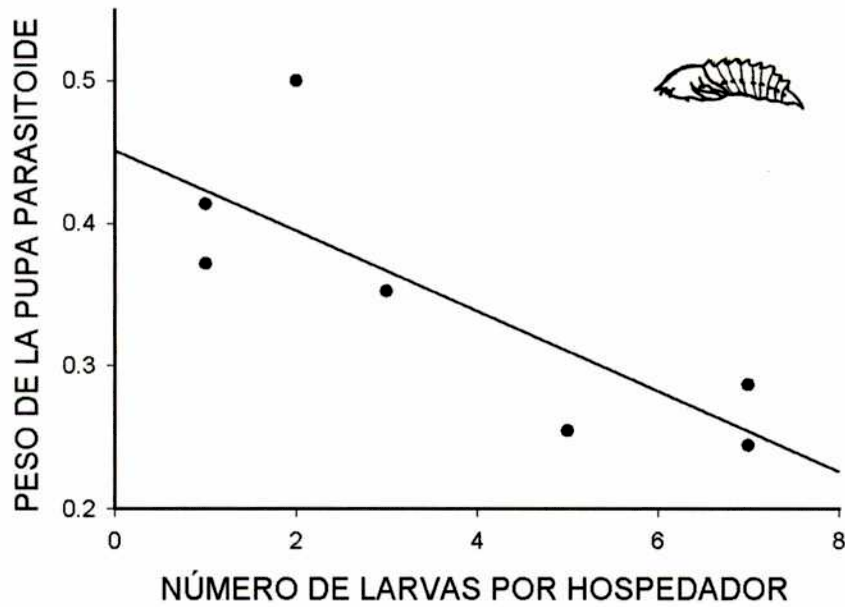


Figura 5.4. Relación entre el número de larvas de *M. ruficauda* por hospedador y el peso de la pupa de *M. ruficauda* (gr.) que emerge del hospedador superparasitado. Se observa que el peso del parasitoide disminuye a medida que aumenta el número de larvas sobre el hospedador ($r^2 = 0,64$; $P < 0,0302$; $b = - 0,028$; $n = 7$).

Tasas de parasitismo y superparasitismo

Los resultados de las simulaciones de dispersión de las larvas de *M. ruficauda* y los porcentajes de parasitismo y superparasitismo resultantes con distribuciones de hospedadores al azar y agregada pueden observarse en la Figura 5.5. El porcentaje de parasitismo resultante es una curva asintótica, en la cual a partir de una altura de oviposición de aproximadamente 1,50 m para ambas distribuciones de hospedadores, los incrementos en el porcentaje de parasitismo no tienen aparentemente diferencias (Figura 5.5. A y B). En cambio para el porcentaje de superparasitismo se observa que es máximo a 0,25 m y mínimo a partir de 1,70 m, en ambas distribuciones del hospedador (Figura 5.5. A y B).

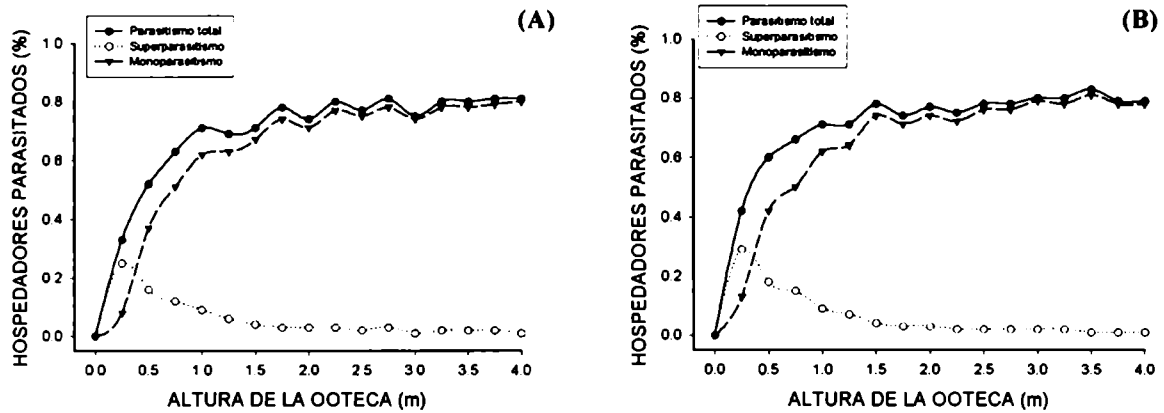


Figura 5.5. Porcentajes de parasitismo esperados en función de la altura de la ooteca de acuerdo con el modelo de simulación de la dispersión de larvas de *M. ruficauda*. (A) Distribución del hospedador al azar, (B) Distribución del hospedador agregada.

Estimación del éxito reproductivo del parasitoide

En la sección anterior se desarrolló un modelo para predecir las tasas de parasitismo y superparasitismo en función de la altura de oviposición y los parámetros físicos del hábitat. Sin embargo, el modelo no incluye las variables biológicas que pueden tener influencia por su parte en las tasas de parasitismo. Una de estas variables es la disponibilidad de sitios para la oviposición con que cuentan las hembras en el hábitat natural. Los resultados de la simulación sugieren que el éxito reproductivo del parasitoide debe estar relacionado al costo de encontrar los sustratos más altos, para lo cual las hembras deben invertir tiempo y energía para hallar las plantas, especialmente aquellas de alturas superiores a dos metros debido a que son muy escasas (Capítulo 2).

Para poder incorporar el costo de encontrar sustratos y realizar las predicciones de las tasas de parasitismo asociadas a la altura, se define una nueva variable que es una medida indirecta del éxito reproductivo del parasitoide. Los resultados indican que el éxito reproductivo debe ser una función de la altura de oviposición, y debe tener un máximo. Entonces, el éxito reproductivo puede ser expresado como una moneda de pago o “currency” (W), el cual es la nueva variable respuesta:

$$W = \text{ganancia} / \text{costo} \quad (5.2.)$$

$$W = \sum G_i P_{bi} / (1 / \sum P_{bi}) \quad (5.3.)$$

Donde G_i es la ganancia de oviponer a la altura i , es decir, el porcentaje de parasitismo obtenido al colocar los desoves a la altura i y P_{bi} es la probabilidad de encontrar plantas de altura i . El costo de encontrar una planta igual o superior a una determinada altura es inversamente proporcional a la abundancia de los sustratos iguales o superiores a esa altura.

$$W = \frac{\sum P_{bi}}{\sum G_i P_{bi}} \quad (5.4.)$$

Donde el éxito reproductivo es una función de la curva acumulada de la abundancia de los sustratos para una altura mínima y del promedio pesado del parasitismo resultante. La frecuencia relativa acumulada de los sustratos de oviposición, comenzando desde el mayor al menor valor de la variable, se muestra en la Figura 5.6. Los resultados de W para vegetación y alambrados se observan en la Figura 5.7.

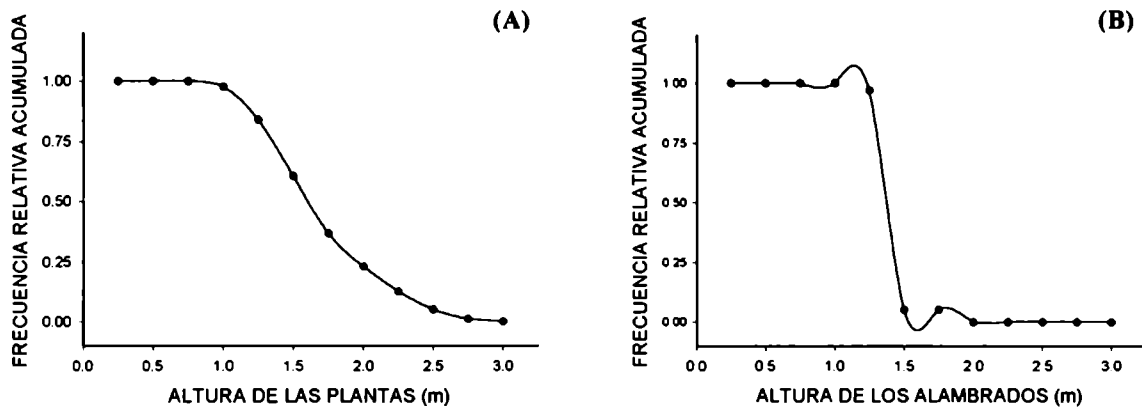


Figura 5.6. Distribución de la disponibilidad de alturas de los sustratos en los colmenares considerados en el estudio del comportamiento de oviposición de *M. ruficauda* (Capítulo 2). Se observa que los sustratos elevados son escasos. Las alturas son representadas como intervalos de clase, donde todos los sustratos están contenidos en el intervalo más pequeño. Solo se indica el límite superior del intervalo. (A) Vegetación, (B) Alambrados.

Si comparamos estos resultados con las alturas preferidas de oviposición en cada sustrato obtenidas experimentalmente en el Capítulo 2 (Figura 5.8.), se observa que en los alambrados el pico de uso del sustrato coincide con el pico de W (las hembras prefieren oviponer a una altura de 1,00-1,25 m) . Cuando el sustrato es la vegetación, se observó que el pico de W coincide con el límite inferior del intervalo de pico de uso del sustrato (1,25 m).

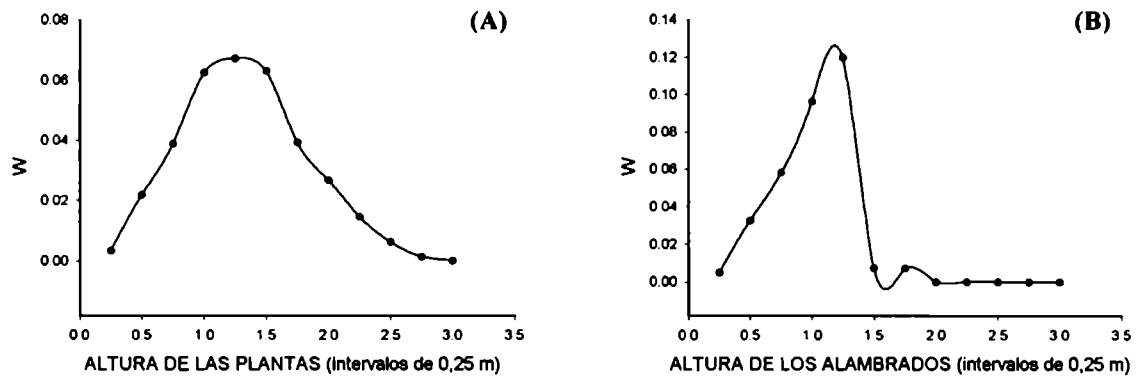


Figura 5.7. Estimación del éxito reproductivo de *M. ruficauda* (W) respecto a la disponibilidad y uso de la altura de los sustratos para la oviposición y a los porcentajes de parasitismo esperados según el modelo de simulación. Se observa que en ambos casos la ganancia máxima se obtiene cuando las ootecas se encuentran a una altura coincidente con el intervalo 1,00-1,25 m. Solo se representa el límite superior del intervalo. (A) Vegetación, (B) Alambrados.

Los resultados del modelo y los datos de campo sugieren que la altura umbral de oviposición de *M. ruficauda* que maximiza el éxito reproductivo (i^*) está en el orden de 1,25 m (Figura 5.8.).

Los datos de campo muestran que en los alambrados, la altura de oviposición seleccionada por las hembras se encuentra ligeramente desplazada hacia valores cercanos a 1,00 m. Este valor es ligeramente más bajo que la altura umbral de 1,25 m que predice el modelo. Se ha observado que el 33,6% de los desoves se encuentra en esta situación y que se corresponden con los desoves hallados en la localidad de Pigüé en el año 1996, durante el cual hubo una densidad extraordinariamente elevada de *M. ruficauda* en los campos de la zona (Tabla 2.2.). Este dato sugiere que los sitios elevados sobre los alambrados fueron sobre-explotados por las hembras y posiblemente esta situación podría haber ocasionado el desplazamiento del uso del sustrato hacia alturas más bajas y menos utilizadas. La utilización de sustratos menos adecuados podría deberse a una sobre-saturación del lugar físico con desoves o a un aumento en la interferencia entre las hembras durante la deposición de los huevos.

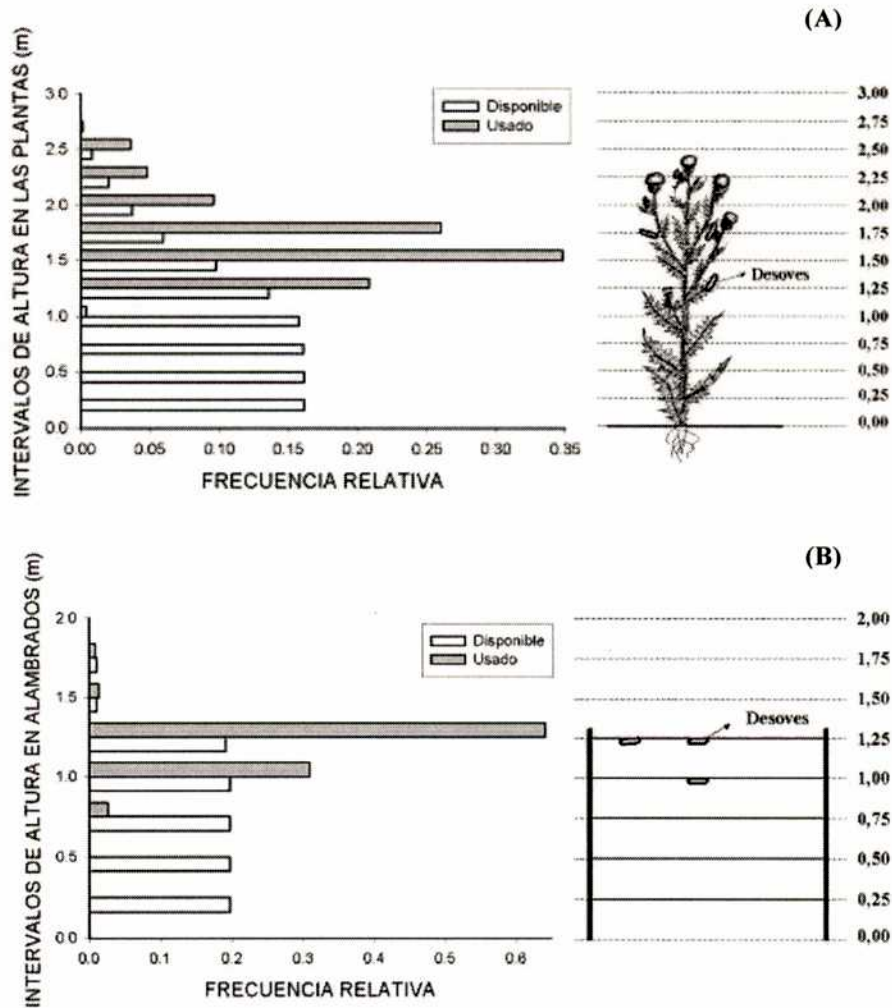


Figura 5.8. Frecuencia de las alturas disponibles de sustratos (barras blancas) y de ootecas según el intervalo de altura del sustrato en que fueron colocadas por las hembras (barras grises). Las alturas se presentan en rangos de 0,25 m; solamente se indica el límite superior de cada intervalo. (A) Plantas, correspondiente a cinco muestras de una franja de vegetación de 45 m x 2 m. (B) Alambrados, correspondiente a 266 muestras (tomadas en 1.630 metros lineales de alambrado) en 9 sitios cerca de los apiarios (ver el texto del Capítulo 2 para mayor detalle).

La selectividad en la altura de oviposición estimada a campo sugiere que la altura preferida contempla un intervalo reducido de alturas, más que un valor puntual. Este resultado podría ser consecuencia de errores cometidos por las hembras parasitoides al elegir la planta adecuada para depositar las ootecas.

Es probable que las hembras no siempre sean capaces de colocar los huevos en el extremo de la planta por una variedad de razones: días ventosos, presencia de otras ootecas, la punta de la planta puede ser muy débil como para sostener los desoves, o imposibilidad de la hembra para manipular el sustrato. Si la planta mínima aceptable se encuentra entre 1,25-1,50 m, entonces la altura utilizada coincidirá con la distribución observada de intervalos usadas (Figura 5.9.). Para explorar este supuesto, se realizó un gráfico para estimar a que distancia del extremo de la planta son depositadas las ootecas en función de la altura total de la planta. Los resultados permiten sostener la hipótesis planteada precedentemente, ya que se observó que la mayoría de las ootecas fueron colocadas dentro de los 20-25 cm del extremo de la planta (Figura 5.10.). Este error probablemente carezca de sentido para las hembras, especialmente dado que existen otras plantas remanentes, que son en promedio, más altas que la altura preferida por las hembras de 1,25 m (Capítulo 2). Por lo tanto, las hembras estarían eligiendo plantas con una altura superior a 1,25 m, y luego depositarían la ooteca en el sector de la planta que les permite una mejor manipulación del sustrato y una mayor estabilidad, en función de las condiciones del hábitat.

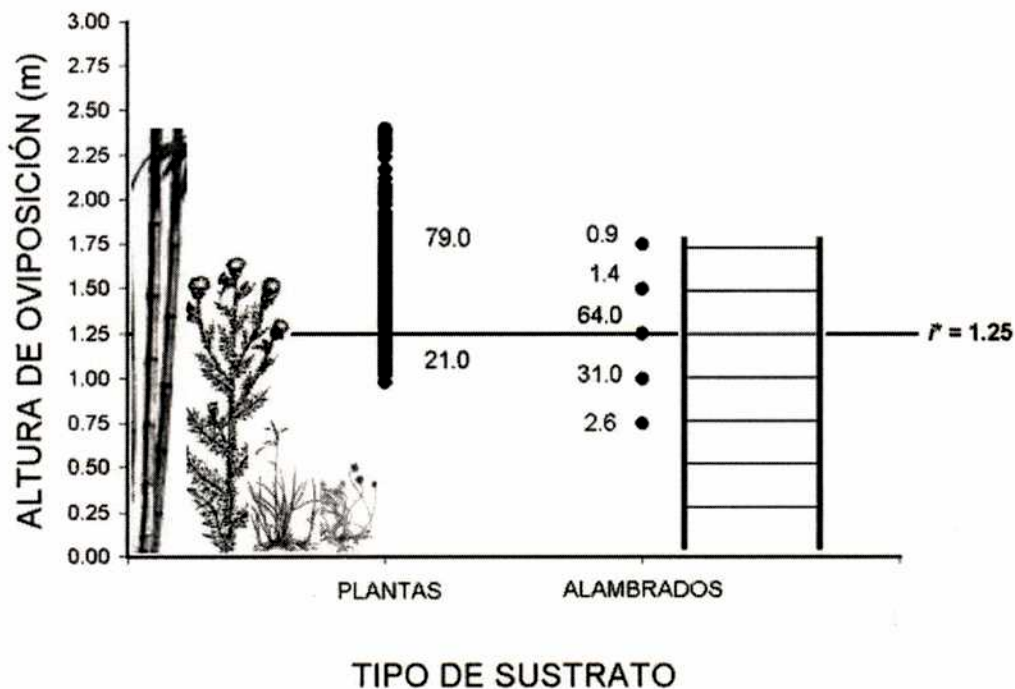


Figura 5.9. Alturas de oviposición seleccionadas en el hábitat por las hembras de *M. ruficauda* en las plantas y los alambrados. La línea horizontal indica la altura umbral de oviposición (i^*) que surge del modelo de dispersión de las larvas y los datos de campo. Los números indican el porcentaje de ootecas depositadas a cada altura sobre cada sustrato. Puede observarse que la mayoría de los desoves fue depositado por arriba del umbral que predice el modelo.

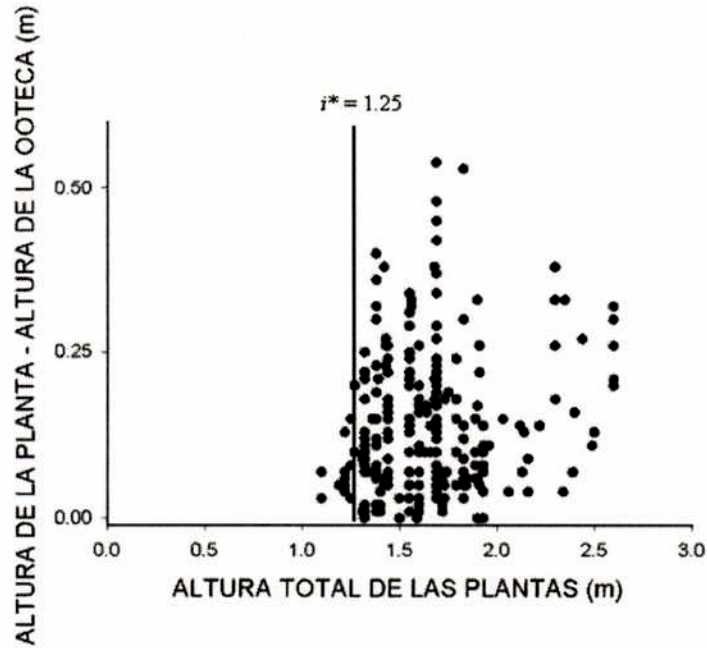


Figura 5.10. Posición de las ootecas respecto de la punta de la planta seleccionada para la oviposición. Las alturas se presentan en rangos de 0,25 m; solamente se indica el límite superior de cada intervalo. La línea vertical indica el umbral de altura de oviposición (i^*) que predice el modelo. Puede observarse que las hembras seleccionan las plantas más altas para depositar los desoves pero en muy pocos casos los colocan en el extremo. Los datos experimentales coinciden con las predicciones del modelo.

Discusión

Según la Teoría de Forrajeo Óptimo, el comportamiento de forrajeo más eficiente de un animal es seleccionado positivamente por la selección natural. Este comportamiento sería en teoría el que más contribuye a la maximización de su éxito reproductivo (Stephens & Krebs 1987). Los resultados precedentes muestran que *M. ruficauda* posee una estrategia de oviposición, basada en la selección de sitios, que maximiza su éxito reproductivo. La selección de sustratos por encima de una altura umbral de 1,25 m permite que las larvas localicen mejor al hospedador, dadas las condiciones ambientales de su hábitat. Las tasas de parasitismo resultantes son máximas cuando las hembras depositan los desoves a alturas intermedias, debido a que los sustratos muy elevados son muy escasos y el costo de encontrarlos es elevado. La dispersión será mayor cuanto más elevada sea la altura de oviposición, debido a que el viento arrastra a las larvas, que son de minúsculo tamaño, mucho más lejos del área de emergencia. Sin embargo, las alturas de los sustratos que se ven favorecidas no son las más elevadas sino las intermedias, debido a que el costo de encontrarlas es menor al de los sustratos muy elevados. Este

comportamiento de oviposición sugerido no ha sido registrado previamente para los parasitoides de la familia Asilidae, ni para otros parasitoides con similares estrategias de localización del hospedador.

Los resultados del Capítulo 2 mostraron que las hembras seleccionan un rango de alturas para oviponer y que pueden regular el tamaño de la ooteca según la altura del sustrato en donde depositan los desoves. Este hallazgo permitió sugerir que existiría un rango de alturas óptimo para oviponer con valor adaptativo, de modo tal que las larvas que se dispersan desde esa altura tendrían mayor probabilidad de encontrar un hospedador en el cual desarrollarse. Este resultado coincide con las predicciones del modelo. Además, se observó que la oviposición por encima de la altura umbral estaría llevando la probabilidad de superparasitismo a valores más bajos, lo que se traduce en mayores posibilidades de llegar a insecto adulto. La mayor dispersión de las larvas hace que un mayor número de ellas encuentre un hospedador aun no parasitado y que el riesgo de superparasitismo sea menor. Si bien el superparasitismo es una consecuencia surgida de una estrategia de oviposición inespecífica, los resultados mostraron que el superparasitismo tiene efectos negativos sobre el desarrollo de los adultos. Los hospedadores superparasitados producen pupas del parasitoide con menor peso a medida que aumenta el número de larvas que compiten por el mismo. No obstante, los resultados del Capítulo 3 mostraron que las larvas tienen la capacidad de localizar al hospedador mediante claves químicas, pero son incapaces de movilizarse hacia un hospedador libre de parásitos cuando se encuentran en situación de superparasitismo. Sin embargo, los resultados revelaron que la mayoría de los hospedadores parasitados poseen una sola larva aferrada a su cuerpo, sugiriendo que las larvas estarían evitando el superparasitismo antes de colonizar al hospedador. La competencia entre larvas sobre un mismo hospedador es un proceso complejo que aun no ha sido esclarecido y que requiere más estudio.

Los resultados de los modelos sugieren además que el patrón de denso-dependencia inversa observado a las escalas más pequeñas (parcela y muestra, Capítulo 4) podría estar producido por la estrategia mixta de localización del hospedador. La ineficiencia del encuentro parasitoide-hospedador es una de las causas de la aparición de los patrones de denso-dependencia inversa (Bernstein et al. 1991, Heimpel & Rosenheim 1996, Murdoch 1994, Murdoch & Briggs 1996). Esto se debe a que la caída aleatoria de las larvas en el suelo hace que cualquier unidad de hábitat tenga la misma probabilidad de contener una larva y, por lo tanto, la probabilidad de que las larvas parasitoides encuentren un hospedador en un manchón dado, a

medida que la cantidad de hospedadores aumenta, será menor debido al producto de la combinación de las distribuciones de ambas poblaciones interactuantes (Poisson y binomial negativa). Las unidades de hábitat con elevada abundancia de hospedadores tendrán menor parasitismo porcentual que las unidades de baja abundancia, ya que ambas unidades tendrían igual probabilidad de incluir x número de larvas parasitoides. De esta forma, se genera un parasitismo con denso-dependencia inversa similar al de los parasitoides himenópteros, a pesar de que las hembras de *M. ruficauda* no atacan al hospedador.

Varias especies de insectos de la familia Asilidae colocan sus huevos en sitios elevados (Adamovic 1974, Alcock 1974, Dennis & Lavigne 1975, Lawson & Lavigne 1984, Linsley 1960, Reinhard 1938). Esta conducta ha sido asociada con la preferencia de un tipo dado de plantas, y con la posible vinculación de las mismas a una mayor presencia de hospedadores, por tratarse de alimento de las larvas de Scarabaeidae. El modelo desarrollado para *M. ruficauda*, las observaciones de preferencias de oviposición, y la distribución espacial observada de las especies parasitadas sugieren que la selectividad por alturas para oviposición contribuye a incrementar los niveles de parasitismo y a la vez a reducir los de superparasitismo. Recordemos que esto último es una consecuencia de la estrategia indirecta de parasitismo usada por los Asílicos parasitoides y que, al menos para *M. ruficauda*, no se han registrado mecanismos para su evitación a nivel larvario. Entonces, una mayor altura en donde depositar las ootecas incrementará el éxito reproductivo del moscardón, factor que está limitado por el hallazgo de sitios elevados en ambientes de pastizal. Estos resultados confirmarían que las hembras contribuyen mediante estrategias de selección de sitios de oviposición al hallazgo de los hospedadores, finalmente ejercido por los estadios larvales en un área de acción reducida. Los resultados también sugieren, por primera vez, que la selección de estos sitios es independiente de las especies de plantas y que el éxito reproductivo es adquirido mediante la selección de sitios elevados de modo de incrementar la dispersión de su progenie, maximizando la probabilidad de encontrar hospedadores o manchones de los mismos y reduciendo el superparasitismo antes de que se produzca. Sería interesante avalar estos resultados con estudios específicos en otras especies de Asílicos, y mediante experimentos de campo que se independicen de la posible influencia de la presencia sitios de captura y de presas para los adultos.

CAPÍTULO 6:

Conclusiones



En este trabajo se estudiaron aspectos básicos de la biología y ecología de *M. ruficauda*, una especie endémica de la región pampeana de Argentina. El trabajo se centró en el estudio de las estrategias de localización y explotación de sus hospedadores, los gusanos blancos del suelo.

Los resultados obtenidos aportan conocimiento en dos áreas de interés: (1) en un contexto teórico ecológico, ampliando el conocimiento del mecanismo de encuentro entre parasitoide y hospedador y sus consecuencias, reflejadas en el parasitismo resultante, y (2) en un contexto aplicado, contribuyendo con el conocimiento general de la biología reproductiva de *M. ruficauda*, un insecto plaga de la apicultura y la agricultura.

Conclusiones desde el contexto ecológico

En los parasitoides que no atacan directamente al hospedador existen mecanismos tendientes a garantizar el encuentro parasitoide-hospedador, que tratan de sortear esas limitaciones biológicas y de igualar en eficiencia a aquellos parasitoides que poseen comportamiento de búsqueda en la localización del hospedador. Estos mecanismos incluyen comportamientos vinculados a la selección de sitios favorables para dejar la progenie, de modo tal de asegurar el encuentro entre las larvas y los hospedadores. En *M. ruficauda*, la hembra selecciona la altura del sitio de oviposición que asegura una óptima dispersión de las larvas. De este modo, cada larva tiene una incrementada probabilidad de encontrar un hospedador libre de parásitos. Esta estrategia incluye la participación de un agente físico como el viento para producir una segregación elevada de larvas en el espacio. Las hembras de *M. ruficauda* colocan los huevos en la vegetación y sustratos artificiales por arriba de una altura de oviposición umbral, que aseguraría su el éxito reproductivo. En este trabajo se sugiere que la estrategia de selección de sitios tiene valor adaptativo para la especie.

En *M. ruficauda*, observamos que la estrategia de localización del hospedador es mixta, es decir, que tanto la hembra como la larva participan en la búsqueda. La hembra, como se explicó anteriormente, contribuye al seleccionar lugares elevados para oviponer, mientras que la larva tiene la capacidad de encontrar al gusano blanco en el suelo a través de pistas químicas. Esta

estrategia compartida asegura el encuentro con el hospedador, donde las larvas pueden sortear la interfase aire-suelo que impide que las hembras contacten directamente al hospedador.

Otro modo de conseguir un óptimo uso de los recursos biológicos es la regulación del tamaño del desove en función de la altura de oviposición. Cuando la hembra encuentra un sustrato adecuado coloca una masa de huevos que es mayor a alturas más elevadas. Así, la hembra administra su carga de huevos y deja mayor cantidad de ellos en aquellos sustratos que asegurarán que las larvas lleguen más lejos y alcancen más manchones de hospedadores.

Mallophora ruficauda es específico pero oligófago, es decir, que posee un hospedador predilecto pero puede atacar a otras especies. La especificidad es un rasgo ampliamente distribuido entre los parasitoides, sin embargo, dado el tipo de dispersión que tienen las larvas de *M. ruficauda*, el régimen oligófago aparece como solución de compromiso entre la monofagia y la polifagia. Este régimen le brinda cierta flexibilidad para tomar a otra especie de hospedador cuando las larvas no encuentran disponible a *C. signaticollis* en la limitada área de suelo donde han aterrizado.

El moscardón cazador de abejas produce patrones de parasitismo en la población hospedadora que son denso-independientes a gran escala y denso-dependientes inversos a pequeña escala. El patrón a gran escala es esperado debido a la carencia de un comportamiento de búsqueda directo por las hembras, la dispersión en forma de lluvia de las larvas sobre el suelo habitado por los gusanos blancos y la variabilidad ambiental entre sitios. Sin embargo, a una escala más pequeña, se esperaba debido a su especificidad, un patrón de denso-dependencia directa. Este fenómeno se interpreta a la luz del comportamiento mixto de búsqueda que produce el encuentro parasitoide-hospedador, en donde el superparasitismo es inevitable.

En este contexto, esta Tesis aporta información novedosa a la teoría hospedador-parasitoide, específicamente en el marco de las interacciones mantenidas por especies que no oviponen directamente en el hospedador. Se han estudiado las estrategias para la localización del hospedador, explorando los eventos indirectos que tienen influencia sobre el éxito reproductivo del parasitoide. Los resultados obtenidos aportan además más evidencia a favor de que la escala espacial influye sobre la detección de denso-dependencia en el parasitismo, en sistemas hospedador-parasitoide. Se sugiere que la particularidad en los patrones de parasitismo

observados es consecuencia del comportamiento de forrajeo mixto de *M. ruficauda* y de los rasgos de historia de vida del insecto.

Conclusiones desde el contexto aplicado

En esta Tesis se pone en evidencia que la altura de oviposición preferida por *M. ruficauda* afecta su éxito reproductivo. Las prácticas de control más adecuadas para bajar la densidad de sus poblaciones serían aquellas dirigidas a reducir el éxito reproductivo, mediante el manejo de algunos parámetros de campo. Por ejemplo, la limitación de la disponibilidad de sustratos altos evitaría la deposición de desoves en lugares estratégicos de los colmenares. Una forma sencilla sería cortando alrededor de las colmenas la vegetación que supere la altura umbral de oviposición asociada con la dispersión exitosa de las larvas. Esta práctica debería hacerse solo durante 80 días, durante la temporada de vuelo y oviposición del adulto. Otra acción paralela sería el emplazamiento de los colmenares en sitios libres de alambrados. Estos lugares generalmente se corresponden con los sitios usados para ganadería, donde en general los animales son contenidos dentro de los lotes mediante la utilización de alambrados eléctricos. Estos alambrados poseen un solo hilo y a muy baja altura, de modo tal que si algún desove es colocado, la dispersión de las larvas será limitada. Además, en estos sitios la vegetación se encuentra al ras del suelo por acción del ganado, con lo cual no existirían sustratos alternativos para la oviposición. Asimismo, la actividad del ganado afecta la abundancia de gusanos blancos, debido a la compactación del suelo que ocasiona y a la competencia por alimento.

Se ha detectado una marcada preferencia de *M. ruficauda* hacia *C. signaticollis* y se ha observado que casi la totalidad de las larvas que han encontrado a un hospedador se encuentran asociadas a esta especie de gusano blanco. Esto sugiere que las acciones de control tomadas para reducir la población de *C. signaticollis* contribuirán paralelamente a reducir la población de *M. ruficauda*. Esta práctica puede resultar ventajosa porque se estarían controlando dos plagas al mismo tiempo. Además, el control simultáneo de ambas especies sería factible de realizar, dado que el período de contacto íntimo entre larva parasitoide y gusano blanco se prolonga hasta 8-9 meses en el suelo (de Enero a Septiembre). A partir de los resultados obtenidos en esta Tesis, se cree que el momento clave y más efectivo para controlar a *M. ruficauda* estaría vinculado a la etapa larvaria durante el invierno, cuando *M. ruficauda* se encuentra asociado a su hospedador. De esta manera, los trabajos de control serían previos al ataque del adulto de *M. ruficauda* y en

el momento en que las larvas sobrevivientes a la dispersión se encuentran aferradas a su hospedador. Por lo tanto, cualquier práctica que elimine a *C. signaticollis* también eliminará a *M. ruficauda*. En este sentido, se destaca la importancia de estudiar específicamente a *C. signaticollis* para establecer pautas para el manejo de las poblaciones de *M. ruficauda*.

Se observó también que *M. ruficauda* posee una limitada capacidad para regular las poblaciones de gusanos blancos que surge de las restricciones de su estrategia de búsqueda. La denso-dependencia inversa en el parasitismo detectada a las escalas más pequeñas demuestra que a medida que aumenta la abundancia de los gusanos blancos, un mayor número de individuos escapa del parasitismo. En este contexto, las acciones para limitar las poblaciones de *M. ruficauda*, por sus efectos negativos sobre la actividad apícola no implicarían necesariamente un incremento en el daño causado por los gusanos blancos en los cultivos. Los resultados resaltan además la importancia de la escala de observación en la evaluación de la denso-dependencia de otros insectos que son potenciales biocontroladores de plagas.

Entre las acciones a tomar contra *M. ruficauda* en verano se encuentran aquellas que tratan de evitar la depredación de abejas mientras los adultos se encuentran en actividad. Una práctica muy común observada entre los apicultores, cuando sus apiarios son fuertemente atacados por *M. ruficauda*, es cambiar de lugar las colmenas. Muchas veces, a pesar de los esfuerzos y en un lapso breve, el nuevo sitio de emplazamiento de las colmenas se ve también afectado por el ataque de este insecto. Esta práctica no resulta efectiva porque los apiarios son muy sensibles a ser colonizados por *M. ruficauda*, debido a la especificidad en su dieta y a que la plaga es extremadamente móvil y tiene la capacidad de trasladarse a otros sitios. Sin embargo, un factor clave para que *M. ruficauda* se encuentre presente en los apiarios es la disponibilidad de hospedadores para sus larvas. Se sugiere entonces que en los colmenares con muy baja densidad de *C. signaticollis*, la abundancia de *M. ruficauda* será menor, debido a que los adultos tienen alguna capacidad para “calificar” la calidad del ambiente en términos de disponibilidad de sitios de oviposición para dispersar sus larvas. Se presume que en la siguiente temporada la población de *M. ruficauda* tenderá a ser menos numerosa en aquellos colmenares con escasa presencia de *C. signaticollis*.

Algunas prácticas de manejo agropecuario en los lotes vecinos a los colmenares pueden llegar a favorecer la presencia de *C. signaticollis* en el suelo y por consiguiente favorecer la presencia de *M. ruficauda*. Por ejemplo, las prácticas de laboreo sin roturaciones de la tierra y el

sistema de arado nocturno ayudan a la proliferación de los gusanos blancos. Este tipo de labranza impide que las aves diurnas se alimenten de los gusanos y controlen su número de forma natural. Por otro lado, la mayoría de los apicultores colocan sus colmenas en los límites de los campos cultivados, de modo que las abejas puedan aprovechar la floración para recolectar néctar. Dependiendo del tipo de cultivo, estos sitios pueden proveer alimento a los gusanos blancos, dado que consumen las semillas y raíces de las plantas cultivadas. Además proporcionan en forma indirecta abundantes soportes que el moscardón utiliza para poner sus huevos.

El control de *M. ruficauda* en invierno traería aparejadas ventajas prácticas, como ser: 1) no hay producción continua de huevos y larvas como en verano, que obliga al apicultor a realizar prácticas de control continuas y en vano para eliminar los huevos, 2) la práctica de control se haría en un solo paso, dado que no hay reproducción del moscardón ni de los gusanos blancos en este momento, 3) en esta etapa los gusanos blancos son prácticamente inmóviles, con lo cual el control podría limitarse a un área más pequeña, 4) el tratamiento sería preventivo y se aplicaría al suelo, evitando el daño en el colmenar en el verano siguiente, 5) el control invernal de la larva evitaría la contaminación de la miel que produce la aplicación de productos químicos, dado que dichos productos deben ser distribuidos en el pastizal y en los alambrados, en la zona donde pecorean las abejas, y 6) además de controlar al moscardón se controlaría también al gusano blanco, eliminando simultáneamente a dos plagas de importancia en distintos ámbitos del agro.

Para finalizar, esta Tesis ha aportado importante información sobre la biología y ecología de *M. ruficauda*. Sin embargo, queda un enorme camino por recorrer en el conocimiento de otros factores que estarían afectando su éxito reproductivo. Entre los más importantes figuran la interacción con otras especies de gusanos blancos y las relaciones con los insectos voladores que son presa de los adultos. El conocimiento integral de las interacciones que mantiene con otros insectos permitirá elaborar, en el futuro cercano, estrategias fundamentadas de control de esta importante plaga de las abejas.



CAPÍTULO 7:

Bibliografía general



- Adamo SA, Robert P, Perez J & Hoy, RR.** 1995. The response of an insect parasitoid, *Ormia ochracea* (Tachinidae), to the uncertainty of larval success during infestation. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 36: 111-118.
- Adamovic ZR.** 1973. The mating-habits and egg-laying of some *Echthistus*, *Eutolmus* and *Dysmachus* species of the robber-flies (Diptera, Asilidae). *Bulletin du Muséum d'Histoire Naturelle de Beograd (B)*, 28: 111-133.
- Adamovic ZR.** 1974. Copulation and oviposition of *Dysmachus hradskyi* Adamovic (Diptera: Asilidae). *Bulletin du Muséum d'Histoire Naturelle de Beograd (B)*, 29: 45-49.
- Agelopoulos NG & Keller MA.** 1994. Plant-natural enemy association in the tritrophic system, *Cotesia rubecula*-*Pieris rapae*-Brassicaceae (Cruciferae): I. Sources of infochemicals. *Journal of Chemical Ecology*, 20: 1725-1734.
- Alcock J.** 1974. Observations on the behavior of *Mallophora faurix* Osten Sacken (Diptera: Asilidae). *Pan-Pacific Entomologist* 50: 68-72.
- Alcock J.** 1998. Adaptive Feeding Behavior. In: Sinauer Associates Inc. (Eds.). *Animal Behavior: An Evolutionary Approach*. Sixth edition, Chapter 10: 341-382.
- Ali AD & Harivandi MA.** 1987. White grubs in lawns. *Biology and Insect Management Series*. Cooperative Extension, University of California. Leaflet 21442, 1p.
- Allredge JR & Ratti JT.** 1992. Further comparison of some statistical techniques for analysis of resource selection. *Journal of the Wildlife Management* 56(1): 1-9.
- Allen GR.** 1995. The calling behavior and spatial distribution of male bushcrickets (*Sciarasaga quadrata*) and their relationship to parasitism by acoustically orienting tachinid flies. *Ecological Entomology*, 20: 303-310.
- Allen GR & Pape T.** 1996. Description of female and biology of *Blaesoxipha ragg* (Diptera: Sarcophagidae): A parasitoid of *Sciarasaga quadrata* Rentz (Orthoptera: Tettigoniidae) in Western Australia. *Australian Journal of Entomology*, 35: 147-151.
- Allen GR, Kamien D, Berry O, Byrne P & Hunt J.** 1999. Larviposition, host cues, and planidial behavior in the sound-locating parasitoid fly *Homotrixia alleni* (Diptera: Tachinidae). *Journal of Insect Behavior*, 12 (1): 67-79.
- Allison JD, Borden JH, McIntosh RL, De Groot P & Gries R.** 2001. Kairomonal response by four *Monochamus* species (Coleoptera: Cerambycidae) to bark beetle pheromones. *Journal of Chemical Ecology*, 27(4): 633-646.
- Alvarado L.** 1979. Comparación poblacional de "gusanos blancos" (larvas de Coleópteros Scarabaeidae) en tres situaciones de manejo. INTA, Generalidades, Carpeta de Producción Vegetal, tomo II, Inf. 16 : 5 pp.
- Alvarado L.** 1980. Sistemática y bionomía de los estados inmaduros de coleópteros Scarabaeidae que habitan en el suelo. Tesis Doctoral UNLP, Fac. Cs. Naturales y Museo. La Plata, Argentina: 199 pp.
- Alvarado L.** 1983. Daños de insectos del suelo en semillas de plantas cultivadas. INTA Estación Experimental Regional Agropecuaria Pergamino, Informe Técnico n° 180: 7 pp. Trabajo presentado al IX Seminario Panamericano de semilla, Bs. As., 1980.
- Alvarado L, Senigagliesi C & Marta L.** 1981. Composición poblacional de larvas de Scarabaeidae tras sucesivos cultivos de maíz. Informe de la Estación Experimental Regional Agropecuaria INTA Pergamino: 156-167.
- Alvarez Castillo HA, López AN, Vincini AM, Carmona D & Manetti PL.** 1993. Relevamiento de los insectos del suelo en cultivos de papa del sudeste bonaerense. SAGP-INTA, CERBAS, EEA Balcarce, Informe Técnico 118: 18 pp.
- Andersen M.** 1991. Mechanistic models for the seed shadows of wind-dispersed plants. *American Naturalist*, 137: 476-497.
- Areekul S.** 1957. The comparative internal larval anatomy of several genera of Scarabaeidae (Coleoptera). *Annals Entomological Society of America*, 50: 562-577.

- Artigas JN.** 1970. Los Asílidos de Chile (Diptera: Asilidae). *Gayana, Zoología* 17: 1-437.
- Artigas JN & Angulo AO.** 1980. Revisión del género *Mallophora* Maquart por sistemática alfa y taxonomía numérica (Diptera: Asilidae). *Gayana, Zoología* 43: 1-182.
- Artigas JN, Papavero N & Serra AL.** 1991. The american genera of Asilidae (Diptera): keys for identification with an atlas of Hermann (Lapriinae), with descriptions of two genera and three new species, and a catalogue of Neotropical species. *Gayana* 55(1): 53-85.
- Askew RR.** 1971. *Parasitic Insects*. Elsevier, New York, 316 pp.
- Auger J, Lecomte C & Thibout E.** 1990. Origin of kairomones in leek moth (*Acrolepiopsis assectella*, Lep.) frass. Possible pathway from methylthio to propylthio compounds. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 1743-1750.
- Augspurger CK & Franson SE.** 1988. Input of wind-dispersed seeds into light-gaps and forests sites in a neotropical forest. *Journal of Tropical Ecology*, 4: 239-252.
- Batra SWT.** 1982. Biological control in agroecosystems. *Science*, 215: 134-139.
- Begon M, Harper JL & Townsend CR.** 1995a. *Ecología. Individuos, poblaciones y comunidades*. Omega. Barcelona. 886 pp.
- Begon M, Sait SM & Thompson DJ.** 1995b. Persistence of a parasitoid-host system: refuges and generation cycles?. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 260: 131-137.
- Bernstein C.** 1987. On assessing the role of spatially-heterogeneous density-dependence host mortality on the stability of host-parasitoid systems. *Oikos*, 49: 236-239.
- Bernstein C, Kacelnik A & Krebs JR.** 1991. Individual decisions and the distribution of predators in a patchy environment. II. The influence of travel costs and structure of the environment. *Journal of Animal Ecology*, 60: 205-225.
- Bezemer TM & Mills NJ.** 2001. Host density responses of *Mastrus ridibundus*, a parasitoid of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Biological Control*, 22: 169-175.
- Boo KS & Yang JP.** 2000. Kairomones used by *Trichogramma chilonis* to find *Helicoverpa assulta* eggs. *Journal of Chemical Ecology*, 26(2): 359-375.
- Brethes J.** 1902. Notas biologiques sur trois Hymenopteres du Buenos Aires. *Revista del Museo de La Plata*, 10: 195-205.
- Brugnoni HC, Santa María HC & Cornejo LG.** 1968. Consideraciones sobre el problema del moscardón cazador de abejas, *Mallophora ruficauda* Wied.. *Producción Animal*, 1(3): 143-154.
- Bullock JM & Clarke RT.** 2000. Long distance seed dispersal by wind: measuring and modelling the tail of the curve. *Oecologia*, 124: 506-521.
- Campobasso GE, Colonnelli, E, Knutson L, Terragitti G & Cristofaro M (Eds.).** 1999. *Wild Plants and Their Associated Insects in the Palearctic Region, Primarily Europe and the Middle East*. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, ARS-147, 249 pp.
- Capurro AF, Gatto M & Tosi G.** 1997. Delayed and inverse density dependence in a chamois population of the Italian Alps. *Ecography*, 20: 37-47.
- Carmona DM, Vincini AM, López AN, Alvarez Castillo HA & Manetti PL.** 1994. Cambios estacionales en la comunidad de "insectos del suelo" en el cultivo de papa en el sudeste bonaerense. Centro Regional Buenos Aires Sur (CERBAS) INTA – Estación Experimental Agropecuaria, Balcarce. *Boletín Técnico*, 126: 15 pp.
- Castelo MK.** 2002. Moscardón cazador de abejas, *Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae). Algunas consideraciones sobre su presencia en los apiarios. *Ciencia Apícola*, 1(1): 10-18.

- Caswell H. 1989. Matrix population models. Sinauer, New York.
- Cherry RH & Schueneman TJ. 1998. Insect management in sugarcane. Department of Entomology, University of Florida, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences. ENY-406 Series.
- Chesson PL & Murdoch WW. 1986. Aggregation of risk: Relationships among host-parasitoid models. *American Naturalist*, 127: 696-715.
- Clark JS, Fastie C, Hurtt G, Jackson ST, Johnson C, King GA, Lewis M, Lynch J, Pacala S, Prentice C, Schupp EW, Webb T, III & Wyckoff P. 1998. Reid's paradox of rapid plant migration: dispersal theory and interpretation of paleoecological records. *BioScience*, 48: 13-24.
- Clausen CP. 1940. Entomophagous insects. McGraw-Hill, New York, Hafner, 688 pp.
- Clements AN & Bennett FD. 1969. The structure and biology of a new species of *Mallophora* Macq. (Diptera: Asilidae) from Trinidad, W.I.- *Bulletin of Entomological Research*, 58(3): 455-463.
- Copello A. 1922. Biología del moscardón cazador de abejas (*Mallophora ruficauda* Wied.). *Physis*, 6: 30-42.
- Copello A. 1927. Biología del moscardón cazador de abejas (*Mallophora ruficauda* Wied.). Publicación del Ministerio de Agricultura de la Nación, Sección Propagandas e Informes, Circular 699: 18 pp.
- Copello A. 1942. Moscardón cazador de abejas. *Revista de Apicultura*, 19(200): 13-14; (218): 4-5; (219): 10-11; 220: 13-14; (221): 14; (222): 12-13.
- Cranshaw WS & Zimmerman R. 1998. Billbugs and white grubs. Home & Garden, 5.516, Colorado State University, Insect Series.
- Crouzel IS de. 1965. Parasitismo en gusanos blancos en la República Argentina (Coleoptera, Scarabaeidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 27(1/4): 83-87.
- Crutchfield BA & Potter DA. 1995. Damage relationships of Japanese beetle and southern masked chafer (Coleoptera: Scarabaeidae) grubs in cool-season turfgrasses. *Journal of Economic Entomology*, 88: 1049-1056.
- Curvetto RO. 1996. Moscardón cazador de abejas. *Desafío* 21, 2(5): 17-18. INTA-EEA Bordenave.
- Czajkowski JD & Rosenfeld E. 1992. Regionalización bioclimática de la provincia de Buenos Aires. Actas 15a Reunión de Trabajo de ASADES (Asociación Argentina de Energía Solar). San Fernando del Valle de Catamarca, Catamarca, Argentina.
- Davis JJ. 1919. Contributions to a knowledge of the natural enemies of Phyllophaga. *Bull. Ill. St. Nat. Hist. Surv.* (13): 53-138.
- DeLury NC, Gries R, Gries G, Judd GJR & Khaskin G. 1999. Moth scale-derived kairomones used by egg-larval parasitoids *Ascogaster quadridentata* to locate eggs of his host, *Cydia pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, 25(11): 2419-2431.
- Demas FA, Mwangi EN, Hassanali A, Kunjeku EC & Mabveni AR. 2002. Visual evaluation and recognition of hosts by the tick parasitoid, *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Journal of Insect Behavior*, 15(4): 477-494.
- Dennis B & Taper ML. 1994. Density dependence in time series observations of natural populations: estimation and testing. *Ecological Monographs*, 64: 205-224.
- Dennis DS & Knutson L. 1988. Descriptions of pupae of South American robber flies (Diptera, Asilidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 81(6): 851-864.
- Dennis DS & Lavigne RJ. 1975. Comparative behavior of Wyoming robber flies II (Diptera: Asilidae). University of Wyoming Agricultural Experiment Station Science Monograph 30: 68 pp.

- De Roos A, McCauley E & Wilson WG.** 1991. Mobility versus density-limited predator-prey dynamics on different spatial scales. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 246: 117-122.
- De Santis LG.** 1989. El moscardón cazador de abejas. *Revista Industria Apícola*, 1(1): 16-24. Edit. por Coop. Apícola Ltda. del Oeste Mones Cazón. Prov. Bs. As.
- De Santis L & Cornejo, LG.** 1990. El moscardón cazador de abejas "*Mallophora ruficauda*". Conferencia de la Cooperativa apícola del oeste ltda. De Mones Cazón, 25 de Agosto de 1990: 17 pp.
- Dethier VG, Browne LB & Smith CN.** 1960. The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. *Journal of Economic Entomology*, 53: 134-136.
- Dicke M & Sabelis MW.** 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds?. *Functional Ecology*, 2: 131-139.
- Dicke M, van Lenteren JC, Boskamp GJF & van Voorst R.** 1985. Intensification and prolongation of host searching in *Leptopilina heterotoma* (Thomson) (Hymenoptera: Eucoilidae) through a kairomone produced by *Drosophila melanogaster*. *Journal of Chemical Ecology*, 11: 125-136.
- Duan JJ & Messing RH.** 2000. Effects of host substrate and vibration cues on ovipositor-probing behavior in two larval parasitoids of Tephritid fruit flies. *Journal of Insect Behavior*, 13(2): 175-186.
- Dufour L.** 1850. Recherche pour servir à l'histoire des métamorphoses des Asiliques. *Ann. Sci. Nat.*, 3(11): 141-158. Paris, France.
- Efron B.** 1982. The Jackknife, the bootstrap and other resampling plans. CBMS-NSF (38), Society for Industrial and Applied Mathematics (SIAM), Philadelphia, EE. UU. 92 pp.
- Eggleton P & Belshaw R.** 1992. Insect parasitoids: an evolutionary overview. *Philos. Trans. R. Soc. London, Series B*, 337: 1-20.
- Eggleton P & Belshaw R.** 1993. Comparisons of dipteran, hymenopteran and coleopteran parasitoids: provisional phylogenetic explanations. *Biological Journal of the Linnean Society*, 48: 213-226.
- Eggleton P & Gaston KJ.** 1990. "Parasitoid" species and assemblages: Convenient definitions or misleading compromises? *Oikos*, 59: 417-421.
- Endler JA.** 1991. Interactions between predators and prey. In: Krebs JR & Davies NB (eds.), *Behavioural Ecology: an evolutionary approach*, pp. 169-202. Blackwell Sci. Publ. Oxford, 3rd edition.
- Feener DH Jr & Brown BV.** 1997. Diptera as parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 42: 73-97.
- Feener DH Jr, Jacobs LF & Schmidt JO.** 1996. Specialized parasitoid attracted to a pheromone of ants. *Animal Behavior*, 51: 61-66.
- Feinsinger P, Spears EE & Poole RW.** 1981. A simple measure of niche breadth. *Ecology*, 62(1): 27-32.
- Fisher EM & Hespenheide HA.** 1992. Taxonomy and biology of central american robber flies with an illustrated key to genera. In: Quintero D & Aiello A (Eds.), *Insects of Panama and Mesoamerica: selected studies*. Oxford, Oxford University Press. Chapter 41, pp 611-632.
- Fitzgerald DV.** 1940. Notes on Bembicidae and allied wasps from Trinidad (Hym. Bembicidae and Stizidae). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London, Series A*, 15: 37-39.
- Fowler HG & Martini AMZ.** 1993. Larval dispersion of *Ormia depleta* (Townsend) (Diptera: Tachinidae). *Journal of Applied Entomology*, 115: 107-110.
- Fournet S, Poinot D, Brunel E, Nénon JP & Cortesero AM.** 2001. Do female coleopteran parasitoids enhance their reproductive success by selecting high-quality oviposition sites? *Journal of Animal Ecology* 70(6): 1046-1052.

- Fritzsche Hoballah ME, Tamò C & Turlings TCJ. 2002.** Differential attractiveness of induced odors emitted by eight maize varieties for the parasitoid *Cotesia martiniventris*: is quality or quantity important? *Journal of Chemical Ecology*, 28(5): 951-968.
- Gemignani EV. 1930.** Las especies argentinas del género *Mallophora* (Dipt.) y descripción de cuatro nuevas especies. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 13: 133-144.
- Guerrieri E, Poppy GM, Powell W, Rao R & Pennacchio F. 2002.** Plant-to-plant communication mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, 28(9): 1703-1715.
- Glas PCG & Vet LEM. 1983.** Host-habitat location and host location by *Diachasma alloeum* Muesebeck (Hym.; Braconidae), a parasitoid of *Rhagoletis pomonella* Walsh (Dipt.; Tephritidae). *Netherlands Journal of Zoology*, 33: 41-54.
- Godfray HCJ. 1994.** Parasitoids. Behavior and Evolutionary Ecology. Princeton University Press, Princeton, NJ: 473 pp.
- Gould JR, Elkinton JS & Odell TM. 1992.** Superparasitism of gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae), larvae by *Parasetigena silvestris* (Robineau Desvoidy) (Diptera: Tachinidae). *The Canadian Entomologist*, 124: 425-436.
- Green DS. 1980.** The terminal velocity and dispersal of spinning samaras. *American Journal of Botany*, 67: 1218-1224.
- Grenne DF & Johnson EA. 1989.** A model of wind dispersal of winged or plumed seeds. *Ecology*, 70: 339-347.
- Grenne DF & Johnson EA. 1996.** Wind dispersal of seeds from a forest into a clearing. *Ecology*, 77: 595-609.
- Grenne DF & Johnson EA. 1997.** Secondary dispersal of tree seeds on snow. *Journal of Ecology*, 85(3): 329-340.
- Greig-Smith P. 1983.** Quantitative plant ecology. 3^o ed. Blackwell Scientific publications. Oxford.
- Guppy JC & Harcourt DG. 1973.** A sampling plan for studies on the population dynamics of white grubs, *Phyllophaga* spp. (Coleoptera: Scarabaeidae). *The Canadian Entomologist*, 105: 479-483.
- Guries RP & Nordheim EV. 1984.** Flight characteristics and dispersal potential of maple samaras. *Forest Science*, 30: 434-440.
- Hagen KS. 1964.** Developmental stages of parasites. In *Biological Control of Insect Pests and Weeds*, P. DeBach (Ed.), pp. 168-246. New York: Reinhold.
- Hanski I. 1990.** Density dependence, regulation and variability in animal populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London, Series B*, 330: 141-150.
- Hardie J, Nottingham SF, Powell W & Wadhams LJ. 1991.** Synthetic aphid sex pheromone lures female parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 61: 97-99.
- Harris VE & Todd JW. 1980.** Male-mediated aggregation of male, female, and 5th-instar southern green stink bugs and concomitant attraction of a tachinid parasite, *Tricopoda pennipes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 27: 117-126.
- Hassell MP. 1980.** Foraging strategies, population models and biological control: a case study. *Journal of Animal Ecology*, 49: 603-628.
- Hassell MP. 1988.** Dinámica de la competencia y la depredación. *Oikos-Tau*, 102 pp.
- Hassell MP. 2000.** The spatial and temporal dynamics of host-parasitoid interactions. Oxford University Press. 199 pp.
- Hassell MP & May RM. 1988.** Spatial heterogeneity and the dynamics of parasitoid-host systems. *Annales Zoologici Fennici*, 25: 55-61.

- Hassell MP & Pacala SW.** 1990. Heterogeneity and the dynamics of host-parasitoid interactions. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London, Series B*, 330: 203-220.
- Hassell MP, Comins HN & May RM.** 1991. Spatial structure and chaos in insect population dynamics. *Nature*, 353: 255-258.
- Hawkins BA, Cornell HV & Hochberg ME.** 1997. Predators, parasitoids, and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. *Ecology*, 78 (7): 2145-2152.
- Haynes KF, Potter DA & Collins JT.** 1992. Attraction of male beetles to grubs: evidence for evolution of a sex pheromone from larval odor. *Journal of Chemical Ecology*, 18: 1117-1124.
- Heads PA & Lawton JH.** 1983. Studies on the natural enemy complex of the holly leaf-miner: the effects of scale on the detection of aggregative responses and the implications for biological control. *Oikos*, 40: 267-276.
- Heimpel GE & Rosenheim JA.** 1996. Egg limitation, host quality, and dynamic behavior by a parasitoid in the field. *Ecology*, 77 (8): 2410-2420
- Howe HF & Smallwood J.** 1982. Ecology of seed dispersal. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13: 201-228.
- Hubbard HG.** 1880. Egg-laying of *Mallophora orcina* Wied.. Report U. S. Ent. Comm. Rocky Mountain Locust, 262.
- Huffaker CB & Messenger PS (Editors).** 1976. Theory and practice of biological control. Academic Press, New York, USA.
- Huffaker CB, Messenger PS & DeBach P.** 1971. The natural enemy component in natural control and the theory of biological control. Pages 16-67. In: Huffaker CB (Ed.), *Biological Control*. Plenum, New York, New York, USA.
- Hull FM.** 1962. Robber flies of the world. The genera of the family Asilidae. United State Natural Museum Bulletin, 224 (1 y 2), U.S., Washington D.C., Govt. Printing Office, 907 pp.
- Ikawa T & Susuki Y.** 1982. Ovipositional experience of the gregarious parasitoid, *Apanteles glomeratus* (Hymenoptera, Braconidae), influencing her discrimination of the host larvae, *Pieris rapae crucivora*. *Applied Entomology and Zoology* 17: 119-126.
- Imms AD.** 1948. A general textbook of entomology. Methuen & Co. Ltd, London. 727 pp.
- Johnson WC, Sharpe DM, DeAngelis DL, Fields DE & Olson RJ.** 1981. Modeling seed dispersal and forest island landscapes. Pp: 215-239. In: Burgess L & Sharpe DM (Eds.). *Forest island dynamics in man-dominated landscapes*. Springer, New York, New York, USA.
- Jones RL.** 1981. Chemistry of semiochemicals involved in parasitoid-host and predator-prey relationships. In: Nordlung DA, Jones RL & Lewis WJ (Eds.), *Semiochemicals, Their Role in Pest Control*, pp 239-250. John Wiley, New York.
- Kinoshita E.** 1940. Untersuchungen über die Yesoraubfliege *Promachus yesonicus* Bigot unter Berücksichtigung des Forstschutzes. (Investigations on the yeso robber fly, *Promachus yesonicus* Bigot, with consideration of forest protection). *J. Faculty Agric., Hokkaido Imp. Univ.* 40 (4): 171-270.
- Kershaw KA.** 1973. Quantitative and dynamic plant ecology. 2° Edition. Edward Arnold. London.
- Klomp H.** 1981. Parasitic wasps as sleuthhounds. Response of an ichneumon wasp to the trail of its host. *Netherlands Journal of Zoology*, 31: 762-772.
- Knutson LV.** 1972. Pupa of *Neomochtherus angustipennis* (Hine), with notes on feeding habits of robber flies and a review of publications on morphology of immature stage (Diptera: Asilidae). *Proceedings of Biological Society of Washington*, 85(13): 163-178.

- Langton SD, Aebischer NJ & Robertson PA.** 2002. The estimation of density dependence using census data from several sites. *Oecologia*, 133: 466-473.
- Lawson FA & Lavigne RJ.** 1984. Oviposition and eggs of an Australian robber fly *Neoaratus abludo* (Diptera: Asilidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 86: 773-776.
- Leal WS.** 1998. Chemical ecology of phytophagous scarab beetles. *Annual Review of Entomology*, 43: 39-61.
- Lehr PA.** 1979. On the direction of evolution (exemplified by Diptera, Asilidae). In: *Studies in Evolution: parallelism and divergence*. Proceedings of the Academy of Sciences of the USSR Far Eastern Scientific Centre, Institute of Biology and Pedology. New Series, 52(155): 20-57. [texto en ruso].
- Lewis WJ & Martin WR Jr.** 1990. Semiochemicals for use with parasitoids: Status and future. *Journal of Chemical Ecology*, 16:3067-3089.
- Lewis WJ, Stapel JO, Cortesero, AM & Takasu K.** 1998. Understanding how parasitoids balance food and host needs: Importance to biological control. *Biological Control*, 11: 175-183.
- Lewis WJ, Nordlung DQ, Gueldner RC, Teel PD & Tumlinson JH.** 1982. Kairomones and their use for management of entomophagous insects. XIII. Kairomonal activity for *Trichogramma* spp. of abdominal tips, feces, and a synthetic sex pheromone blend of *Heliothis zea* (Boddie) moths. *Journal of Chemical Ecology*, 8: 1323-1332.
- Lewis WJ, Vet LEM, Tumlinson JH, van Lenteren JC & Papaj DR.** 1990. Variations in parasitoid foraging behavior: Essential element of a sound biological control theory. *Environmental Entomology*, 19: 1183-1193.
- Liljesthröm GG & Bernstein C.** 1990. Density dependence and regulation in the system *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae), host and *Trichopoda giacomellii* (Blanchard) (Diptera: Tachinidae). *Oecologia*, 84: 45-52.
- Linsley EG.** 1960. Ethology of some bee- and wasp-killing robber flies of southeastern Arizona and western New Mexico (Diptera: Asilidae). *University California Publ. Entomol.* 16: 357-392.
- Llano RJ.** 1959. Observaciones biológicas de insectos bonaerenses. Supl. Rev. Educ. Prov. Buenos Aires: 141 pp.
- Londt JGH.** 1994. Afrotropical Asilidae (Diptera) 26. Ethological observations, and a possible ecological classification based on habitats. *Annals of the Natal Museum*, 35: 97-122.
- López AN, Alvarez Castillo HA, Carmona D, Manetti PL & Vincini AM.** 1994. Aspectos morfológicos y biológicos de *Cyclocephala signaticollis* Burm. (Coleoptera: Scarabaeidae). Centro Regional Buenos Aires Sur (CERBAS) INTA-Estación Experimental Agropecuaria, Balcarce. *Boletín Técnico*, 123: 18 pp.
- Lou Y & Cheng J.** 2001. Host-recognition kairomone from *Sogatella furcifera* for the parasitoid *Anagrus nilaparvatae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101: 559-67.
- Malloch JR.** 1917. A preliminary classification of Diptera, exclusive of Pupipara, base upon larval and pupal characters, with keys to imagines in certain families. Part I. *Bull. Ill. St. Lab. Nat. Hist.* (12): 161-409.
- Mayoral L.** 1999. Negocios apícolas: Tendencias globales, capacidades y carencias en la empresarización del sector. Una perspectiva argentina. *Revista Electrónica de Administración*, Agosto, 5 (2), 19 pp.
- Melin D.** 1923. Contributions to the knowledge of the biology, metamorphosis and distribution of the Swedish Asilids. *Zoologiska Bidrag fran Uppsala*, (8): 1-317.
- Mellini E.** 1994. Elementi per un confronto tra il parassitoidismo degli Imenotteri e quello dei Ditteri. *Bollettino Istituto Entomologia Guido Grandi Bologna*, 49:41-100.
- Meyhofer R & Casas J.** 1999. Vibratory stimuli in host location by parasitic wasps. *Journal of Insect Physiology*, 45: 967-971.
- Mills N.** 1997. Techniques to evaluate the efficacy of natural enemies. In: Dent DR & Walton MP (Eds.), *Methods in ecological and agricultural entomology*. CAB International, Wallingford, UK, 387 pp.

- Mohd Norowi H, Perry JE, Powell W & Rennolls K.** 2000. The effect of spatial scale on interactions between two weevils and their parasitoid. *Ecological Entomology*, 25: 188-196.
- Morehaed SA & Feener DH Jr.** 2000. Visual and chemical cues in host location and acceptance by a dipteran parasitoid. *Journal of Insect Behavior*, 13(4): 613-625.
- Murdoch WW.** 1970. Aggregation of parasitoids and the detection of density dependence in the field. *Oikos*, 50: 137-141.
- Murdoch WW.** 1994. Population regulation in theory and practice. *Ecology*, 75: 271-287.
- Murdoch WW & Briggs CJ.** 1996. Theory for biological control: recent developments. *Ecology*, 77 (7): 2001-2013
- Murdoch WW & Walde SJ.** 1989. Analysis of insect population dynamics. In: Grubb PJ & Whittaker JB (Eds.), *Towards a More Exact Ecology*, pp 113-140. Blackwell, Oxford.
- Murdoch WW, Chesson J & Chesson PL.** 1985. Biological control in theory and practice. *American Naturalist*, 125: 344-366.
- Murdoch WW, Reeve JD, Huffaker CB & Kennet CE.** 1984. Biological control of scale insects and ecological theory. *American Naturalist*, 123: 371-392.
- Musso JJ.** 1978. Recherches sur le développement, la nutrition et l'écologie des Asilidae (Diptera - Brachycera). These de Doctorat. Université de Droit, d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille, Faculté des Sciences et Technique de Saint-Jérôme. 312 pp.
- Musso JJ.** 1981. Morphology and development of the immature stages of some robber flies (Diptera: Brachycera: Asilidae). *Entomologia Generalis*, 7(1): 89-104.
- Musso JJ.** 1983. Nutritive and ecological requirements of robber flies (Diptera: Brachycera: Asilidae). *Entomologia Generalis*, 9(1/2): 35-50.
- Musso JJ & Garcin J.** 1975. Recherches préliminaires sur le régime alimentaire des larves d'asilides (Diptera: Brachycera). *Bull. Soc. Zoo. Fr.*, 100(3): 313-322. Paris, France.
- Nathan R.** 2001. The challenges of studying dispersal. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(9): 481-483.
- Nathan R & Muller-Landau HC.** 2000. Spatial patterns of seed dispersal, their determinants and consequences for recruitment. *Trends in Ecology and Evolution*, 15(7): 278-285.
- Nathan R, Horn HS, Chave J & Levin S.** 2001. Mechanistic models for tree seed dispersal by wind in dense forests and open landscapes. In: *Seed Dispersal and Frugivory: Ecology, Evolution and Conservation*. Levey DJ, Silva WR & Galetti M (Eds.). CAB International Press, Oxfordshire. UK.
- Nathan R, Safriel UN & Noy-Meir I.** 2001. Field validation and sensitivity analysis of a mechanistic model for tree seed dispersal by wind. *Ecology*, 82(2): 374-388.
- Nathan R, Safriel UN, Noy-Meir I & Schiller G.** 1996. Samara's aerodynamic properties in *Pinus halepensis* Mill., a colonizing tree species, remain constant despite considerable variation in morphology. In: Steinberger Y (Ed.). *Preservation of our world in the wake of change*. Israel Society for Ecology & Environmental Quality Sciences, Jerusalem, Israel. pp. 553-556.
- Neu CW, Byers CR & Peek JM.** 1974. A technique for analysis of utilization-availability data. *Journal of Wildlife Management*, 38: 541-545.
- Nimo M.** 2003. Cadena de la miel: Análisis del sector. Ministerio de la Producción, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Dirección Nacional de Alimentación. Enero 2003, 47 pp.

- Noldus LPJJ.** 1989. Semiochemicals, foraging behavior and quality of entomophagous insects for biological control. *Journal of Applied Entomology*, 108:425-451.
- Nordlung DA & Lewis WJ.** 1976. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 2: 211-220.
- Nordlung DA, Jones RL & Lewis WJ (Eds.).** 1981. *Semiochemicals, Their Role in Pest Control*. John Wiley, New York.
- Nordlung DA, Lewis WJ & Altieri MA.** 1988. Influences of plant produced allelochemicals on the host and prey selection of entomophagous insects. In: Barbosa P & Letourneau DK (Eds.), *Novel Aspects of Insect-Plant Interactions*, pp 51-78. John Wiley, New York.
- Nurminiemi M; Tufto J; Nilsson N & Rognli OA.** 1998. Spatial models of pollen dispersal in the forage grass meadow fescue. *Evolutionary Ecology*, 12: 487-502.
- Okubo A.** 1980. *Diffusion and ecological problems: Mathematical models*. Springer, Berlin, Germany.
- Okubo A & Levin SA.** 1989. A theoretical framework for data analysis of wind dispersal of seeds and pollen. *Ecology*, 70: 329-338.
- Oliai SE & King BH.** 2000. Associative learning in response to color in the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Insect Behavior*, 13: 55-69.
- Papaj DR & Vet LEM.** 1990. Odor learning and foraging success in the parasitoid, *Leptopilina heterotoma*. *Journal of Chemical Ecology*, 16:3137-3150.
- Pianka ER.** 1982. *Ecología evolutiva*. Omega. Barcelona. 365 pp.
- Potter DA.** 1998. *Destructive Turfgrass Insects: Biology, diagnosis and control*. Ann Arbor Press, Chelsea, MI, 336 pp.
- Price PW.** 1975. Reproductive strategies of parasitoids. In: Price, PW (Ed.), *Evolutionary Strategies of Parasitoids*, Plenum, New York, pp. 87-111.
- Rabinovich JE.** 1980. *Introducción a la Ecología de Poblaciones animales*. C.E.C.S.A., México, 313 pp.
- Rabinovich M.** 1994. Un importante predador de abejas: El moscardón cazador de abejas (*Mallophora ruficauda*). *Anales del IV Congreso Iberoamericano de Apicultura*. Córdoba. Argentina.
- Rabinovich M & Corley JC.** 1997. An important new predator of honey bees. The robber fly *Mallophora ruficauda* Wiedemann (Diptera-Asilidae) in Argentina. *American Bee Journal*, 137(4): 303-306.
- Rabinovich M & Quiroga RM.** 1995. Moscardón cazador de abejas. *Jornada de Sanidad Apícola*. Pigué. 5 pp.
- Reinhard EG.** 1938. The egg-laying and early stages of the robber fly *Erax aestuans* (Diptera: Asilidae). *Entomological News*, 49: 281-283.
- Remedi de Gavotto AL.** 1964. Ciclo biológico de *Cyclocephala signaticollis* Burm. (Coleoptera, Scarabaeidae) y caracteres específicos de su larva. *INTA. Revista de Investigaciones Agropecuarias, Serie 5*, 1(10): 151-161.
- Ribbens E, Silander JA & Pacala SW.** 1994. Seedling recruitment in forests: calibrating models to predict patterns of tree seedling dispersion. *Ecology*, 75:1794-1806.
- Richards OW & Davies RG.** 1984. *Tratado de Entomología IMMS. Volumen II. Clasificación y Biología*. Barcelona, Omega. 998 pp.
- Ritcher PO.** 1940. Kentucky white grubs. *Ky Agric. Exp. Sta. Bull.* (401): 71-157.

- Rogers ME & Potter DA. 2002. Kairomones from scarabaeid grubs and their frass as cues in below-ground host location by the parasitoids *Tiphia vernalis* and *Tiphia pygidialis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102: 307-314.
- Rosner B. 1995. *Fundamentals of Biostatistics*. Fourth edition. Duxbury Press, 682 pp.
- Roth JP, King EG & Thompson AC. 1978. Host location behavior by the tachinid, *Lixiopaga diatraeae*. *Environmental Entomology*, 7: 794-798.
- Rothman LD & Darling DC. 1990. Parasitoids of the goldenrod gall moth: effects of scale on spacial density dependence. *Oecologia*, 83: 1-6.
- Rothman LD & Darling DC. 1991. Spatial density dependence: effects of scale, host spatial pattern and parasitoid reproductive strategy. *Oikos*, 62, 221-230.
- Royer L, Fournet S, Brunel E & Boivin G. 1999. Intra- and interspecific host discrimination by host-seeking larvae of coleopteran parasitoids. *Oecologia*, 118: 59-68.
- Ruiz F. 1925. Voracidad de los Asílicos (Dípteros). *Revista Chilena de Historia Natural*, 29: 220-224.
- Salvadori JR. 1997. Manejo de corós em cereais de inverno. *EMBRAPA*, 3: 1-8.
- Sandlan K. 1980. Host location by *Coccygomimus turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 27: 233-245.
- Schaffner U & Müller C. 2001. Exploitation of the fecal shield of the lily leaf beetle, *Lilioceris lili* (Coleoptera: Crysomelidae), by the specialist parasitoid *Lemophagus pulcher* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Journal of Insect Behavior*, 14(6): 739-757.
- Schelotto B & Pereyras N. 1971. Evaluación del significado económico de la polinización con abejas en el girasol. *Ciencia y Abejas*, 1(2): 7-25.
- Sharpe DM & Fields DE. 1982. Integrating the effects of climate and seed fall velocities on seed dispersal by wind: a model and application. *Ecological Modelling*, 17: 297-310.
- Sih A. 1985. Evolution, predator avoidance and unsuccessful predation. *American Naturalist*, 125: 153-157.
- Sih A. 1993. Effects of ecological interactions on foragers diet: competition, predator risk, parasitism and prey behaviour. In: Hughes RN (Ed.). *Diet Selection*. Blackwell Scientific Publications, pp. 182-207.
- Smitley DR. 1996. Incidence of *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) and other scarab larvae in nursery fields. *Hortic. Entomol.*, 89: 1262-1266.
- Sokal RR & Rohlf FJ. 1980. *Introducción a la bioestadística*. Serie de Biología Fundamental. Editorial Reverté: 362 pp.
- Southwood TRE. 1966. *Ecological methods*. 2º de. Chapman and Hall. London. 391 pp.
- Stephens DW & Krebs JR. 1987. *Foraging Theory*. Princeton University Press. 262 pp.
- Steinberg S, Dicke M & Vet LEM. 1993. Relative importance of infochemicals from first and second trophic level in long-range host location by the larval parasitoid *Cotesia glomerata*. *Journal of Chemical Ecology*, 19: 47-59.
- Stiling PD. 1985. *An introduction to insect pests and their control*. Macmillan, London, England.
- Stiling PD. 1987. The frequency of density dependence in insect host-parasitoid systems. *Ecology*, 68 (4): 844-856.
- Stiling PD. 1988. Density-dependent processes and key factors in insect populations. *Journal of Animal Ecology*, 57: 581-593.

- Stireman III JO.** 2002. Host location and selection cues in a generalist tachinid parasitoid. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 103: 23-34.
- Strand MR.** 2002. The interactions between larval stage parasitoids and their hosts. In: Lewis EE, Campbell JF & Sukhdeo MVK (Eds.). *The Behavioural Ecology of Parasites*. CAB International, 7: 129-152.
- Teder T, Tanhuanpää M, Ruohomäki K, Kaitaniemi P & Henriksson J.** 2000. Temporal and spatial variation of larval parasitism in non-outbreaking populations of a folivorous moth. *Oecologia*, 123: 516-524.
- Terán AL.** 1965. Relaciones existentes entre insectos y flores de Cucurbitaceas de interés agrícola. *Revista de Agronomía del Noreste Argentino*, 4(2): 187-193.
- Tricca G & Trujillo-Cenóz O.** 1980. The sexual behavior of the robber-fly *Mallophora ruficauda* Wied. (Asilidae, Asilinae) in normal and experimental conditions. *Physiology & Behavior*, 25(5): 627-632.
- Tsacas L, Desmier de Chenon R & Coutin R.** 1970. Observations sur le parasitisme larvaire d'*Hyperechia bomboides* (Diptera: Asilidae). *Ann. Soc. Ent. Fr., (NS) 6(2): 493-512*. Paris, France.
- Tumlinson JH, Lewis WJ & Vet LEM.** 1993a. Identificación de sus patrones por las avispas parásitas. *Investigación y Ciencia*, 200: 46-53.
- Tumlinson JH, Turlings TCJ & Lewis WJ.** 1993b. Semiochemically mediated foraging behavior in beneficial parasitic insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 22: 385-391.
- Turlings TCJ & Tumlinson JH.** 1991. Do parasitoids use herbivore-induced plant chemical defenses to locate hosts? *Florida Entomologist*, 74:42-50.
- Turlings TCJ, Tumlinson JH, Eller FJ & Lewis WJ.** 1991a. Larval-damaged plants: Source of volatile synomones that guide the parasitoid *Cotesia marginiventris* to the micro-habitat of its hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 58: 75-82.
- Turlings TCJ, McCall PJ, Alborn HT & Tumlinson JH.** 1993. An elicitor in caterpillar oral secretions that induces corn seedlings to emit chemical signals attractive to parasitic wasps. *Journal of Chemical Ecology*, 19:411-425.
- Turlings TCJ, Tumlinson JH, Heath RR, Proveaux AT & Doolittle RE.** 1991b. Isolation and identification of allelochemicals that attract the larval parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Cresson), to the microhabitat of one of its hosts. *Journal of Chemical Ecology*, 17: 2235-2251.
- Udayagiri S & Jones RL.** 1992. Role of plant odor in parasitism of European corn borer by braconid specialist parasitoid *Macrocentrus grandii* Goidanich: Isolation and characterization of plant synomones eliciting parasitoid flight response. *Journal of Chemical Ecology*, 18:1841-1855.
- van Alphen JJM.** 1988. Patch time allocation by insect parasitoids: Superparasitism and aggregation. In: De Jong G (Ed.), *Population Genetics and Evolution*, pp 215-231.
- van Alphen JJM & Vet LEM.** 1986. An Evolutionary approach to host finding and selection, pp. 23-61. In: Waage J & Greathead D (Eds.). *Insect parasitoids*. 13th Symposium of Royal Entomological Society of London. Academic press, London.
- van Alphen JJM & Visser ME.** 1990. Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 35: 59-79.
- van der Bosch R & Messenger PS.** 1973. *Biological Control*. Intext Educational Publishers, New York, New York, USA.
- van der Pijl L.** 1982. *Principles of dispersal in higher plants*. 3rd edition, Springer, Berlin, 162 pp.
- van Lenteren JC.** 1981. Host discrimination by parasitoids. In: Norhland DA, Jones RL & Lewis WJ (Eds.). *Semiochemicals: Their Role in Pest Control*, 1: 153-180. New York: Wiley & Sons. 306 pp.

- van Veen FJF, Müller CB, Adriaanse CT & Godfray HCJ. 2002. Spatial heterogeneity in risk of secondary parasitism in a natural population of an aphid parasitoid. *Journal of Animal Ecology*, 71: 463-469.
- Vet LEM & Dicke M. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology*, 37: 142-172.
- Vet LEM & Groenewold AW. 1990. Semiochemicals and learning in parasitoids. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 3119-3135.
- Vet LEM, Dejong R, van Giessen WA & Visser JH. 1990. A learning-related variation in electroantennogram responses of a parasitic wasp. *Physiological Entomology*, 5: 243-247.
- Vet LEM, Hemerik L, Visser ME & Wäckers FE. 2002. Flexibility in host-search and patch-use strategies in insect parasitoids. In: Lewis EE, Campbell JF & Sukhdeo MVK (Eds.). *The Behavioural Ecology of Parasites*. CAB International, 3: 39-64.
- Vinson SB. 1976. Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 21:109-133.
- Vinson SB. 1981. Habitat location. In: Nordlung DA, Jones RL & Lewis WJ (Eds.), *Semiochemicals, Their role in Pest Control*, pp 51-78. John Wiley, New York.
- Vinson SB. 1984. How parasitoid locate their hosts: A case of insect espionage. In: Lewis T (Ed.). *Insect Communication*, 1: 325-348. 12th Symposium of Royal Entomological Society of London. Academic Press. London, 414 pp.
- Vinson SB. 1985. The behaviour of parasitoids. In: Kerkut GA & Gilbert LI (Eds.), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, pp 417-469. Pergamon Press, New York.
- Vinson SB & Iwantsch GF. 1980. Host suitability for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 25: 397-419.
- Visser ME, van Alphen JJM & Hemerick L. 1992. Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: An ESS model. *Journal of Animal Ecology* 61: 93-101.
- von Frisch K. 1984. *La vida de las abejas*. Editorial Labor, Barcelona: 237 pp.
- Waage JK. 1978. Arrestment responses of a parasitoid, *Nemeritis canescens*, to a contact chemical produced by its host, *Plodia interpunctella*. *Physiological Entomology*, 2: 135-146.
- Waage JK & Ng SM. 1984. The reproductive strategy of a parasitic wasp. I. Optimal progeny allocation in *Trichogramma evanescens*. *Journal of Animal Ecology*, 53: 401-415.
- Wäckers FL & Lewis WJ. 1994. Olfactory and visual learning and their combined influence on host site location by the parasitoid *Microplitis croceipes* (Cresson). *Biological Control*, 4: 105-112.
- Walde SJ & Murdoch WW. 1988. Spatial density dependence in parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 33: 441-466.
- Walker TJ & Wineriter SA. 1991. Hosts of a phonotactic parasitoid and levels of parasitism (Diptera: Tachinidae: *Ormia ochracea*). *Florida Entomologist*, 74: 554-559.
- Wellings PW. 1991. Host location and ovipositor on animals. In: Bailey WJ & Ridsdill-Smith J (Eds.), *Reproductive Behaviour of Insects*, pp. 75-107. Chapman and Hall, Melbourne.
- Wertheim B. 2001. Ecology of *Drosophila* aggregation pheromone. Ph.D. These. Laboratory of Entomology, Department of Plant Sciences, Wageningen University. Wageningen, The Netherlands.
- Wertheim I. 1981. 40 años en el mundo maravilloso de las abejas. Dist. G.D.A., Buenos Aires, 238 pp.
- Weseloh RM. 1981. Host location by parasitoids. In: Nordlung DA, Jones RL & Lewis WJ (Eds.), *Semiochemicals, Their Role in Pest Control*. Pp 79-96. John Wiley, New York.

- Whitman DW & Eller FJ.** 1992. Orientation of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) to green leaf volatiles: Dose-response curves. *Journal of Chemical Ecology*, 18:1743-1753.
- Willink A.** 1947. Las especies argentinas de "Bembicini" (Hymenoptera: Sphecidae: Nissoninae). *Acta Zoológica Lilloana*, 4: 509-561.
- Willson MF.** 1992. The ecology of seed dispersal. Pp 61-85. In: Fenner M (Ed.). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford, UK.
- Xie HY & Zhang DW.** 2001. Stokes shape factor and its application in the measurement of sphericity of non-spherical particles. *Powder Technology*, 114: 102-105

CAPÍTULO 8:

Apéndices



Apéndice I

Antecedentes sobre el control de *M. ruficauda* y algunas causas posibles de la aparición del *M. ruficauda* como plaga

Mallophora ruficauda se comporta durante su estado larval como un insecto útil porque elimina a los gusanos blancos del suelo, pero se hace necesaria la lucha contra este insecto por parte de los apicultores, que responde a una verdadera necesidad. Por ello De Santis (1989, 1990) sugiere que la mejor forma de combatir estas dos plagas es orientar la lucha a la destrucción de los gusanos blancos del suelo.

Un procedimiento para controlar las poblaciones de gusanos blancos es arar los campos en horas del día con arados que inviertan el pan de tierra para favorecer la actuación de las aves insectívoras que devoran las larvas que quedan al descubierto en el suelo. Las prácticas nocturnas han favorecido el aumento de la abundancia de estos gusanos (De Santis 1989, De Santis & Cornejo 1990). Estudios realizados por Alvarado et al. (1981) demostraron que labores de labranza realizadas durante 3 años sucesivos reducen a los gusanos blancos en número de especies en un 50% y en número de individuos en un 92 % comparados con pasturas sin laboreos. Se han empleado como control químico para combatir al moscardón tres insecticidas, endosulfán, cipermetrina y deltametrina (Crouzel 1965, Curvetto 1996), y para combatir a los gusanos blancos entomopatógenos tales como *Metarrhizium anisopliae* Metschnikow y *Cordiceps sp.* (Crouzel 1965), pero ambas prácticas no han tenido mucho éxito debido a que los insectos pasan enterrados en el suelo la mayor parte de su vida y además se ha comprobado un alto nivel de riesgo para los apicultores que los utilizan produciendo diversos grados de intoxicación (De Santis 1989, De Santis & Cornejo 1990).

En cuanto a los enemigos naturales autóctonos de los gusanos blancos, De Santis (1989, De Santis & Cornejo 1990) reunió las contribuciones de varios entomólogos entre las cuales cita a la familia Thynnidae del orden Hymenoptera como parasitoides de los gusanos blancos y a 21 especies de dípteros argentinos de las cuales 6 fueron halladas en la provincia de Buenos Aires. A pesar de todas las prácticas llevadas a cabo, los gusanos blancos del suelo siguen siendo una seria preocupación para los agricultores y en consecuencia el moscardón cazador de abejas otra mayor para los apicultores.

Copello (1922, 1928, 1942) sugiere que los esfuerzos realizados para disminuir los estragos ocasionados por el moscardón deben ser dirigidos hacia la destrucción de sus huevos. Rabinovich & Quiroga (1995) proponen como sistema de control de plagas el uso de "insecticidas de tercera generación" como ser reguladores de crecimiento y semioquímicos, que se caracterizan por ser compuestos que no dejan residuos contaminantes en la miel, presentan baja toxicidad para los homeotermos y no afectan a las abejas.

El enemigo natural del adulto de *M. ruficauda* es la avispa *Rubrica surinamensis* DeGeer que lo paraliza con su aguijón y lo transporta luego hasta su nido para ser utilizado como alimento de sus larvas. Brethes (1902), Brugnioni et al. (1968), Fitzgerald (1940), Llano (1959) y Willink (1947) expresan que esta avispa es un valioso complemento en el control del moscardón. Sin embargo, no se han detectado poblaciones significativas de este insecto en la Argentina.

La explosión demográfica del moscardón probablemente se ha producido debido a un aparente desequilibrio ecológico que podría haberse ocasionado por diversas causas:

1. **El marcado incremento de la actividad apícola a principios de este siglo.** El auge de la apicultura en la Argentina hizo que muchos apicultores establecieran sus colmenas en las zonas más favorables del país. Esto provocó un aumento significativo del número de abejas en los pastizales pampeanos con un subsiguiente aumento de la fuente de alimento disponible para *M. ruficauda*. Si bien los moscardones pueden alimentarse de varias especies de insectos voladores, el rápido desarrollo artificial de las colonias de abejas producida por los apicultores pudo haber producido un rápido incremento del número de moscardones. Entonces el crecimiento abrupto de una de las poblaciones de sus presas (abejas), trajo aparejado el incremento de la población del depredador (moscardón), sin intervención de restricciones ecológicas o ambientales que detenga su crecimiento poblacional (ausencia de enemigos naturales, competencia intraespecífica, enfermedades, factores ambientales extrínsecos, etc.).
2. ***Mallophora ruficauda* pudo haber tenido resistencia a los insecticidas utilizados para el control de plagas de los cultivos.** Una posibilidad es que durante el marcado incremento poblacional, el moscardón haya estado expuesto a agentes químicos sin afectar su supervivencia, ya sea: a) en su etapa de adulto, a través de sistemas altamente eficientes de detoxificación, o b) en su etapa larval, a través de protección mediante refugios espaciales que evitan su exposición a la acción de los productos químicos, ya que *M. ruficauda* pasa gran parte del año como larva enterrado en el suelo viviendo a expensas de su hospedador.
3. **Las prácticas de laboreo sin roturaciones de la tierra o con sistema de arado nocturno.** Estos sistemas de labranza favorecen la proliferación de los gusanos blancos debido a que las aves no pueden alimentarse de ellos y así controlar su número en el suelo. Entonces de esta manera se conserva en el suelo la fuente de alimento esencial para la larva de *M. ruficauda* durante todo el otoño e invierno, con la consiguiente aparición de los adultos en el verano siguiente.
4. **Mayor detectabilidad del moscardón por parte de los apicultores.** En los últimos tiempos, los apicultores han sido informados mediante cursos, congresos y revistas sobre la existencia de *M. ruficauda*. Ellos han aprendido a reconocerlo en sus apiarios y por ende ha aumentado su detección.

Cabe destacar que las causas que se mencionan son especulaciones surgidas del sentido común y que necesitan ser elucidadas mediante investigación científica. Probablemente otras causas hayan intervenido en este desmedido aumento de las poblaciones de *M. ruficauda* en la región pampeana, que pueden estar relacionadas con la biología poblacional del moscardón y sus relaciones ecológicas con sus presas y hospedadores.

Apéndice II

Tablas de datos y resultados obtenidos en los estudios del Capítulo 2

Tabla A. Datos obtenidos en la determinación del número de larvas nacidas por ooteca.

N	Nº HUEVOS	Nº LARVAS	% ECLOSIÓN
1	618	597	96,6
2	493	432	87,6
3	447	438	98,0
4	506	481	95,2
5	382	364	95,3
6	323	318	98,5
7	729	700	96,0
8	429	384	89,5
9	510	509	99,8
10	392	389	99,2
11	401	395	98,5
12	477	472	99,0
13	157	153	97,5
14	370	363	98,1
15	119	117	98,3
16	710	701	98,7
17	446	389	87,2
18	362	328	90,6
19	107	104	97,2
20	241	236	97,9
21	421	421	100,0
22	113	111	98,2
Promedio	327,7	381,9	96,2

Tabla B. Características de los colmenares, vegetación aledaña y situación de laboreo agropecuario de los lotes muestreados en los años 1996 a 2001.

COLMENAR Nº	Nº COLMENAS Y TAMAÑO	AÑO Y LUGAR	VEGETACIÓN CIRCUNDANTE A LAS COLMENAS	VEGETACIÓN Y LABOREO DE LOS LOTES CERCANOS
I	80 (45 x 10 m)	1996 Pigüé	<i>S. argentina</i> , <i>S. canadensis</i> , <i>Diptotaxis</i> , <i>B. campestris</i> y <i>T. minuta</i> (1,00-1,25 m).	Girasol, <i>Diptotaxis</i> , <i>S. argentina</i> , <i>S. canadensis</i> , <i>B. campestris</i> y <i>T. minuta</i> (0,50-0,75 m).
II	15 (15 x 2 m)	1996 Pigüé	Pastizal con <i>Festuca sp.</i> (0,50-0,75 m).	Girasol (1,25 m) y campo arado.
III	35 (20 x 5 m)	1996 Pigüé	Pastizal con <i>Agropyron sp.</i> y <i>C. acanthoides</i> (0,50-0,75 m).	Rastrojo de trigo (0,25 m), plantación de maíz (1,00 m) con <i>C. acanthoides</i> en los bordes (0,75 m) y pastura naturalizada de <i>Festuca sp.</i> , <i>C. cardunculus</i> , <i>Stipa sp.</i> y <i>Agropyron sp.</i> (0,50 m).
IV	40 (112 x 0.5 m)	1996 Pigüé	<i>C. acanthoides</i> y <i>C. cardunculus</i> (1,00-1,25 m).	Campo con pastura (0,25 m) y campo con pastizal (0,25 m).
I	63 (45 x 10 m)	1997 Pigüé	Pastizal con <i>C. acanthoides</i> (1,25-1,75 m).	Rastrojo de trigo con <i>T. minuta</i> (0,50 m) y plantación de girasol.
II	15 (15 x 2 m)	1997 Pigüé	Pastizal con <i>Festuca sp.</i> y <i>C. acanthoides</i> (0,50-0,75 m).	Verdeo de invierno de avena (0,25 m), pastura implantada de alfalfa y <i>Bromus sp.</i>
III	0 (Colmenas quitadas en 10/1996)	1997 Pigüé	Pastizal con <i>Agropyron sp.</i> y <i>C. acanthoides</i> (0,50-0,75 m).	Campo bruto sin laboreo (0,25 m), campo de pastoreo (0,25 m) y pastura naturalizada de <i>Festuca sp.</i> , <i>C. cardunculus</i> , <i>Stipa sp.</i> y <i>Agropyron sp.</i> (0,50 m).
IV	107 (120 x 0.5 m)	1997 Pigüé	Pastizal con <i>C. acanthoides</i> y <i>C. cardunculus</i> (1,00-1,25 m).	Rastrojo de trigo (0,25 m) y pastizal (0,25 m).
I	80	1998 Pigüé	<i>Bromus</i> , <i>Diptotaxis</i> , <i>C. acanthoides</i> , <i>S. argentina</i> , <i>S. canadensis</i> , <i>B. campestris</i> y <i>T. minuta</i> .	Campo con girasol. Campo con rastrojo de trigo. Zonas de pastizal con <i>T. minuta</i> , <i>Diptotaxis</i> , <i>S. argentina</i> , <i>S. canadensis</i> y <i>B. campestris</i> .
II	25	1998 Pigüé	Pastizal con <i>Festuca sp.</i> , <i>Stipa sp.</i> , <i>Bromus sp.</i> y <i>Phalaris sp.</i>	Pastura perenne artificial pastoreada con alfalfa, trébol blanco, <i>Stipa sp.</i> , <i>Bromus sp.</i> y <i>Phalaris sp.</i> Campo arado con rastrojo de girasol. Pastura natural con <i>Stipa sp.</i> , <i>C. acanthoides</i> , <i>Bromus sp.</i> y <i>Phalaris sp.</i>
IV	40	1998 Pigüé	<i>C. acanthoides</i> , <i>C. cardunculus</i> , <i>Agropyron sp.</i> , <i>Centaurea sp.</i> y <i>Bromus sp.</i>	Campo con rastrojo de trigo. Campo con rastrojo de girasol con <i>S. halepense</i> , <i>S. argentina</i> , <i>Chondrilla juncea</i> , <i>Centaurea sp.</i> , <i>Stipa sp.</i> y <i>C. acanthoides</i> .

Tabla B. Continuación.

COLMENAR Nº	Nº COLMENAS Y TAMAÑO	AÑO Y LUGAR	VEGETACIÓN CICUNDANTE A LAS COLMENAS	VEGETACIÓN Y LABOREO DE LOS LOTES CERCANOS
V	96	1998 Luján	Pastizal con <i>Agropyron sp.</i> , <i>C. acanthoides</i> , <i>Bromus sp.</i> y <i>C. intybus</i> .	Campo para pastoreo con <i>S. halepense</i> , avena y <i>Bromus sp.</i> Campo con renovales de álamo y pastura natural con <i>C. acanthoides</i> y <i>Bromus sp.</i>
VII	7	1998 Victoria		Campo con pradera implantada con trébol blanco, alfalfa y <i>Bromus sp.</i> Campo natural con gramón, sorgo y <i>S. halepense</i>
VIII	120	1998 Victoria	<i>S. halepense</i> , <i>T. minuta</i> y <i>Bromus sp.</i>	Campo pastoreado de soja sembrada al boleó. Campo con rastrojo de maíz. Campo con soja
I	80	1999 Pigüé	<i>Bromus sp.</i> , <i>Diplotaxis sp.</i> , <i>C. acanthoides</i> , <i>S. argentina</i> , <i>S. canadensis</i> , <i>B. campestris</i> y <i>T. minuta</i> .	Campo con girasol. Campo con rastrojo de trigo. Zonas de pastizal con <i>T. minuta</i> , <i>Diplotaxis</i> , <i>S. Argentina</i> , <i>Sanguinaria</i> y <i>B. Campestris</i> .
II	8	1999 Pigüé	Pastizal con <i>Festuca sp.</i> , <i>Stipa sp.</i> , <i>Bromus sp.</i> y <i>Phalaris sp.</i>	Pastura perenne artificial pastoreada con alfalfa, trébol blanco, <i>Stipa sp.</i> , <i>Bromus sp.</i> y <i>Phalaris sp.</i> Campo arado con rastrojo de girasol. Pastura natural con <i>Stipa sp.</i> , <i>C. acanthoides</i> , <i>Bromus sp.</i> y <i>Phalaris sp.</i>
IV	72	1999 Pigüé	<i>C. acanthoides</i> , <i>C. cardunculus</i> , <i>Agropyron sp.</i> , <i>Centaurea sp.</i> y <i>Bromus sp.</i>	Campo con rastrojo de trigo. Campo con rastrojo de girasol con <i>S. halepense</i> , <i>S. argentina</i> , <i>C. juncea</i> , <i>Centaurea sp.</i> , <i>Stipa sp.</i> y <i>C. acanthoides</i>
V	87	1999 Luján	Pastizal con <i>Agropyron sp.</i> , <i>C. acanthoides</i> , <i>Bromus sp.</i> y <i>C. intybus</i>	Campo para pastoreo con <i>S. halepense</i> , avena y <i>Bromus sp.</i> Campo con renovales de álamo y pastura natural con <i>C. acanthoides</i> y <i>Bromus s</i> .
X	30	1999 Mercedes	<i>C. acanthoides</i> , <i>C. intybus</i> y espinillos	Campo con soja.
X	23	2000 Mercedes	<i>C. acanthoides</i> , <i>C. intybus</i> , <i>S. oleraceus</i> y espinillos	Pastizal natural. Cultivo de soja (0,30 m).
XI	44	2000 Mercedes	<i>C. acanthoides</i>	Pastizal natural. Cultivo de soja (0,30 m).
XII	44	2000 Mercedes	<i>C. acanthoides</i>	Pastizal natural. Cultivo de soja (0,30 m).
XIV	5 (20 x 0.5 m)	2000 Mercedes	<i>C. acanthoides</i>	Pastizal natural. Cultivo de girasol (1,00 m).
X	63	2001 Mercedes	<i>C. acanthoides</i> , <i>C. intybus</i> , <i>S. oleraceus</i> y espinillos	Pastizal natural. Cultivo de soja (0,30 m).
XI	22	2001 Mercedes	<i>C. acanthoides</i>	Pastizal natural. Cultivo de soja (0,30 m).
XIV	1 (0.5 x 0.5 m)	2001 Mercedes	<i>C. acanthoides</i>	Cultivo de soja (0,30 m).

Tabla C. Disponibilidad de sustratos y utilización de los mismos (vegetación natural y alambrados) por las hembras de *M. ruficauda* para la oviposición. Los datos corresponden al total de sitios estudiados. Entre paréntesis se indica el porcentaje relativo. Dif: diferencia entre los porcentajes de uso y disponibilidad (los valores mayores indican mayor selección del ítem del recurso).

SUSTRATO	VEGETACIÓN NATURAL			ALAMBRADOS		
	Nº de intervalos			Nº de intervalos		
	Disponibles	Usado	Dif	Disponibles	Usado	Dif
Intervalos de altura						
0,00-0,25	784 (16,10)	0 (0,00)	-0,16	2555 (19,71)	0 (0,00)	-0,20
0,25-0,50	784 (16,10)	0 (0,00)	-0,16	2555 (19,71)	0 (0,00)	-0,20
0,50-0,75	783 (16,08)	0 (0,00)	-0,16	2555 (19,71)	67 (2,62)	-0,17
0,75-1,00	766 (15,73)	1 (0,40)	-0,15	2555 (19,71)	791 (30,96)	0,11
1,00-1,25	659 (13,53)	52 (20,80)	0,07	2480 (19,13)	1639 (64,15)	0,45
1,25-1,50	475 (9,75)	87 (34,80)	0,25	133 (1,03)	35 (1,37)	< 0,01
1,50-1,75	289 (5,93)	65 (26,00)	0,20	133 (1,03)	23 (0,90)	< -0,01
1,75-2,00	181 (3,72)	24 (9,60)	0,06	-	-	
2,00-2,25	99 (2,03)	12 (4,80)	0,03	-	-	
2,25-2,50	40 (0,82)	9 (3,60)	0,03	-	-	
2,50-2,75	9 (0,18)	0 (0,00)	< -0,01	-	-	
2,75-3,00	1 (0,02)	0 (0,00)	< -0,01	-	-	
TOTAL	4870	250		12966	2555	

Apéndice III

Tablas de resultados obtenidos en los muestreos efectuados en los estudios del Capítulo 4

Tabla A. Abundancia de gusanos blancos (AGB) y gusanos blancos parasitados (GBP) por colmenar, año y lugar de muestreo durante cuatro años de estudio. Se utilizaron en el análisis los apiarios con AGB > 5.

AGB	GBP	Colmenar	Año	Localidad
159	18	1	1997	Pigüé
23	2	2		Pigüé
102	0	3		Pigüé
126	6	4		Pigüé
119	24	5		Luján
167	20	6		Victoria
3	0	7		Victoria
9	0	8		Victoria
31	2	1	1998	Pigüé
33	5	2		Pigüé
115	5	4		Pigüé
131	13	5		Luján
2	1	7		Victoria
34	7	8		Victoria
20	0	9		Victoria
155	16	10	1999	Mercedes
77	8	11		Mercedes
95	6	12		Mercedes
202	4	13		Mercedes
206	3	10	2000	Mercedes
163	23	11		Mercedes
62	6	12		Mercedes
253	0	13		Mercedes
181	40	14		Mercedes
2468	209			

Tabla B. Especies de gusano blanco encontradas en cada año de muestreo. En cada celda se indica el valor de abundancia y entre paréntesis el número de individuos parasitados. CS, *C. signaticollis*; CM, *C. modesta*; CP, *C. putrida*; DA, *D. abderus*; PB, *P. bonariensis*; HB, *H. bonariensis*; AT, *A. testaceipennis*; BS, *B. striatellus*; AV, *A. vervex*.

Especies	2000	1999	1998	1997	Total
CS	218 (56)	136 (30)	157 (32)	436 (63)	947 (181)
CM	52 (9)	15 (1)	22 (1)	94 (3)	183 (14)
CP	36 (0)	19 (2)	16 (0)	20 (1)	91 (3)
DA	21 (1)	4 (0)	31 (0)	38 (1)	94 (2)
PB	467 (4)	301 (1)	126 (0)	111 (2)	1005 (7)
BS	0	0	2 (0)	0	2 (0)
AT	65 (1)	51 (0)	3 (0)	6 (0)	125 (1)
AV	6 (1)	3 (0)	9 (0)	0	18 (1)
HB	0	9 (0)	0	3 (0)	3 (0)
Total	865 (72)	529 (34)	366 (33)	708 (70)	2468 (209)

Tabla C. Parasitismo observado en *C. signaticollis* de acuerdo con la presencia o ausencia de otras especies de gusanos blancos en la misma muestra. Los valores expresan el número de muestras.

		OTRAS ESPECIES PRESENTES		
		SI	NO	TOTAL
<i>C. signaticollis</i> PARASITADA	SI	34	107	141
	NO	93	239	332
	TOTAL	127	348	473

Tabla D. Parasitismo observado en “otras especies de gusano blanco” según la presencia o ausencia de *C. signaticollis* en la misma muestra. Los valores expresan el número de muestras.

		<i>C. signaticollis</i> PRESENTE		
		SI	NO	TOTAL
OTRAS ESPECIES PARASITADAS	SI	4	22	26
	NO	127	422	549
	TOTAL	131	444	575

Tabla E. Fórmulas utilizadas y parámetros obtenidos de las estimaciones “Jackknife” para detectar la presencia de denso-dependencia mediante la evaluación de la significación de la pendiente de regresión entre las variables utilizadas (método de “resampling”). λ_{all} : pendiente de la regresión; λ_i : pendiente de la regresión sin el dato i ; λ_0 : promedio de los λ_i ; λ_{jack} : pendiente corregida por la estimación Jackknife; bias: sesgo; Var: varianza de la pendiente; σ : desvío estándar; Z : valor del 95% de confianza de la Tabla de distribución Normal; IC: intervalo de confianza.

E1. Fórmulas de la estimación Jackknife:

$$\lambda_0 = 1/n \sum \lambda_i$$

$$\text{Bias} = (n - 1) (\lambda_0 - \lambda_{all})$$

$$\lambda_{jack} = \lambda_{all} - \text{Bias} = n \lambda_{all} - (n - 1) \lambda_0$$

$$\text{Var } \lambda_{jack} = (n - 1)/n \sum (\lambda_i - \lambda_0)^2$$

$$\sigma (\lambda_{jack}) = \text{raíz} (\text{Var } \lambda_{jack})$$

$$\text{IC} = \lambda_{jack} \pm Z_{\alpha} \sigma (\lambda_{jack})$$

E2. Parámetros obtenidos para detectar denso-dependencia en el parasitismo de *M. ruficauda* en función de la abundancia del hospedador:

E2.1. Nivel sub-sitio (lotes):

sin el dato	λ_i	$\lambda_i - \lambda_0$	$(\lambda_i - \lambda_0)^2$
1	-0.317568	-0.0117390	0.0001378
2	-0.296652	0.0091770	0.0000842
3	-0.303499	0.0023300	0.0000054
4	-0.312212	-0.0063830	0.0000407
5	-0.291715	0.0141140	0.0001992
6	-0.319459	-0.0136300	0.0001858
7	-0.312286	-0.0064570	0.0000417
8	-0.049020	0.2568090	0.0659508
9	-0.300285	0.0055440	0.0000307
10	-0.324772	-0.0189430	0.0003588
11	-0.303499	0.0023300	0.0000054
12	-0.302317	0.0035120	0.0000123
13	-0.291723	0.0141060	0.0001990
14	-0.307084	-0.0012550	0.0000016
15	-0.292015	0.0138140	0.0001908
16	-0.338328	-0.0324990	0.0010562
17	-0.300731	0.0050980	0.0000260
18	-0.318354	-0.0125250	0.0001569
19	-0.335473	-0.0296440	0.0008788
20	-0.313971	-0.0081420	0.0000663
21	-0.342001	-0.0361720	0.0013084
22	-0.306190	-0.0003610	0.0000001
23	-0.290476	0.0153530	0.0002357
24	-0.319719	-0.0138900	0.0001929
25	-0.328893	-0.0230640	0.0005319
26	-0.317678	-0.0118490	0.0001404
27	-0.309380	-0.0035510	0.0000126
28	-0.344459	-0.0386300	0.0014923
29	-0.303815	0.0020140	0.0000041
30	-0.342995	-0.0371660	0.0013813
31	-0.344129	-0.0383000	0.0014669
Total	-9.480698		0.0763952
n	31		
λ_{all}	-0.3087		
λ_0	-0.3058		
Bias	0.0865		
λ_{Jack}	-0.3953		
Var	0.0739		
σ	0.2719		
Z	1.96		
IC	mínimo	-0.9282	máximo
			0.1377

E2.2. Nivel parcela (transecta):

sin el dato	λ_i	$\lambda_i - \lambda_0$	$(\lambda_i - \lambda_0)^2$
1	-0.764635	-0.0253594	0.0006431
2	-0.734921	0.0043546	0.0000190
3	-0.739759	-0.0004834	0.0000002
4	-0.739776	-0.0005004	0.0000003
5	-0.717459	0.0218166	0.0004760
6	-0.737408	0.0018676	0.0000035
7	-0.735786	0.0034896	0.0000122
8	-0.732331	0.0069446	0.0000482
9	-0.740182	-0.0009064	0.0000008
10	-0.737604	0.0016716	0.0000028
11	-0.739980	-0.0007044	0.0000005
12	-0.741175	-0.0018994	0.0000036
13	-0.741175	-0.0018994	0.0000036
14	-0.740182	-0.0009064	0.0000008
15	-0.736256	0.0030196	0.0000091
16	-0.744832	-0.0055564	0.0000309
17	-0.744430	-0.0051544	0.0000266
18	-0.738516	0.0007596	0.0000006
19	-0.741175	-0.0018994	0.0000036
20	-0.730689	0.0085866	0.0000737
21	-0.738516	0.0007596	0.0000006
22	-0.739388	-0.0001124	0.0000000
23	-0.733610	0.0056656	0.0000321
24	-0.731618	0.0076576	0.0000586
25	-0.731086	0.0081896	0.0000671
26	-0.738460	0.0008156	0.0000007
27	-0.738460	0.0008156	0.0000007
28	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
29	-0.742894	-0.0036184	0.0000131
30	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
31	-0.732331	0.0069446	0.0000482
32	-0.729873	0.0094026	0.0000884
33	-0.739033	0.0002426	0.0000001
34	-0.739907	-0.0006314	0.0000004
35	-0.738410	0.0008656	0.0000007
36	-0.747482	-0.0082064	0.0000673
37	-0.734921	0.0043546	0.0000190
38	-0.748401	-0.0091254	0.0000833
39	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
40	-0.747482	-0.0082064	0.0000673
41	-0.737604	0.0016716	0.0000028
42	-0.738460	0.0008156	0.0000007
43	-0.737604	0.0016716	0.0000028
44	-0.730689	0.0085866	0.0000737
45	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
46	-0.740182	-0.0009064	0.0000008
47	-0.738460	0.0008156	0.0000007
48	-0.738460	0.0008156	0.0000007

49	-0.738460	0.0008156	0.0000007
50	-0.738935	0.0003406	0.0000001
51	-0.738935	0.0003406	0.0000001
52	-0.731618	0.0076576	0.0000586
53	-0.738935	0.0003406	0.0000001
54	-0.739951	-0.0006754	0.0000005
55	-0.737408	0.0018676	0.0000035
56	-0.739759	-0.0004834	0.0000002
57	-0.739310	-0.0000344	0.0000000
58	-0.727545	0.0117306	0.0001376
59	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
60	-0.735145	0.0041306	0.0000171
61	-0.738074	0.0012016	0.0000014
62	-0.733610	0.0056656	0.0000321
63	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
64	-0.738460	0.0008156	0.0000007
65	-0.741175	-0.0018994	0.0000036
66	-0.738935	0.0003406	0.0000001
67	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
68	-0.737604	0.0016716	0.0000028
69	-0.734921	0.0043546	0.0000190
70	-0.738460	0.0008156	0.0000007
71	-0.734921	0.0043546	0.0000190
72	-0.738671	0.0006046	0.0000004
73	-0.738731	0.0005446	0.0000003
74	-0.739776	-0.0005004	0.0000003
75	-0.734921	0.0043546	0.0000190
76	-0.740182	-0.0009064	0.0000008
77	-0.739776	-0.0005004	0.0000003
78	-0.738671	0.0006046	0.0000004
79	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
80	-0.740432	-0.0011564	0.0000013
81	-0.749927	-0.0106514	0.0001135
82	-0.736256	0.0030196	0.0000091
83	-0.739388	-0.0001124	0.0000000
84	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
85	-0.738935	0.0003406	0.0000001
86	-0.739776	-0.0005004	0.0000003
87	-0.737604	0.0016716	0.0000028
88	-0.741175	-0.0018994	0.0000036
89	-0.735145	0.0041306	0.0000171
90	-0.741175	-0.0018994	0.0000036
91	-0.741398	-0.0021224	0.0000045
92	-0.741175	-0.0018994	0.0000036
93	-0.737408	0.0018676	0.0000035
94	-0.739388	-0.0001124	0.0000000
95	-0.742894	-0.0036184	0.0000131
96	-0.733610	0.0056656	0.0000321
97	-0.734921	0.0043546	0.0000190
98	-0.739388	-0.0001124	0.0000000
99	-0.782274	-0.0429984	0.0018489
100	-0.739776	-0.0005004	0.0000003

101	-0.741175	-0.0018994	0.0000036	
102	-0.763146	-0.0238704	0.0005698	
103	-0.745929	-0.0066534	0.0000443	
104	-0.727545	0.0117306	0.0001376	
105	-0.731086	0.0081896	0.0000671	
106	-0.745219	-0.0059434	0.0000353	
Total	-78.363218		0.0052823	
n	106			
λ_{all}	-0.7388			
λ_0	-0.7393			
Bias	-0.0521			
λ_{Jack}	-0.6866			
Var	0.0052			
σ	0.0723			
Z	1.96			
IC	mínimo	-0.8284	máximo	-0.5449

E2.3. Nivel muestra (pozo):

sin el dato	λ_i	$\lambda_i - \lambda_0$	$(\lambda_i - \lambda_0)^2$
1	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
2	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
3	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
4	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
5	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
6	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
7	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
8	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
9	-0.763631	0.00574336	3.29862E-05
10	-0.773973	-0.00459864	2.11475E-05
11	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
12	-0.769222	0.00015236	2.3213E-08
13	-0.755950	0.01342436	0.000180213
14	-0.772453	-0.00307864	9.47804E-06
15	-0.774691	-0.00531664	2.82667E-05
16	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
17	-0.761605	0.00776936	6.03629E-05
18	-0.778796	-0.00942164	8.87673E-05
19	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
20	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
21	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
22	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
23	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
24	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
25	-0.769222	0.00015236	2.3213E-08
26	-0.772453	-0.00307864	9.47804E-06
27	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
28	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
29	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06

30	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
31	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
32	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
33	-0.755950	0.01342436	0.000180213
34	-0.775212	-0.00583764	3.40781E-05
35	-0.769222	0.00015236	2.3213E-08
36	-0.761605	0.00776936	6.03629E-05
37	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
38	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
39	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
40	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
41	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
42	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
43	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
44	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
45	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
46	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
47	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
48	-0.765702	0.00367236	1.34862E-05
49	-0.765702	0.00367236	1.34862E-05
50	-0.772453	-0.00307864	9.47804E-06
51	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
52	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
53	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
54	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
55	-0.769222	0.00015236	2.3213E-08
56	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
57	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
58	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
59	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
60	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
61	-0.775212	-0.00583764	3.40781E-05
62	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
63	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
64	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
65	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
66	-0.784053	-0.01467864	0.000215463
67	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
68	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
69	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
70	-0.765702	0.00367236	1.34862E-05
71	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
72	-0.775212	-0.00583764	3.40781E-05
73	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
74	-0.765702	0.00367236	1.34862E-05
75	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
76	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
77	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
78	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
79	-0.765702	0.00367236	1.34862E-05
80	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
81	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06

82	-0.757764	0.01161036	0.0001348
83	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
84	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
85	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
86	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
87	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
88	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
89	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
90	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
91	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
92	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
93	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
94	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
95	-0.761605	0.00776936	6.03629E-05
96	-0.765702	0.00367236	1.34862E-05
97	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
98	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
99	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
100	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
101	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
102	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
103	-0.769222	0.00015236	2.3213E-08
104	-0.773963	-0.00458864	2.10556E-05
105	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
106	-0.772463	-0.00308864	9.53971E-06
107	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
108	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
109	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
110	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
111	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
112	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
113	-0.772453	-0.00307864	9.47804E-06
114	-0.768796	0.00057836	3.34498E-07
115	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
116	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
117	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
118	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
119	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
120	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
121	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
122	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
123	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
124	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
125	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
126	-0.773963	-0.00458864	2.10556E-05
127	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
128	-0.769222	0.00015236	2.3213E-08
129	-0.781160	-0.01178564	0.000138901
130	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09
131	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08
132	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06
133	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09

134	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09	
135	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08	
136	-0.781160	-0.01178564	0.000138901	
137	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08	
138	-0.774713	-0.00533864	2.85011E-05	
139	-0.782828	-0.01345364	0.000181	
140	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08	
141	-0.763631	0.00574336	3.29862E-05	
142	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06	
143	-0.773963	-0.00458864	2.10556E-05	
144	-0.765702	0.00367236	1.34862E-05	
145	-0.769439	-0.00006464	4.17857E-09	
146	-0.767737	0.00163736	2.68094E-06	
147	-0.782828	-0.01345364	0.000181	
148	-0.769265	0.00010936	1.19592E-08	
Total	-113.867405		0.002126342	
n	148			
λ_{all}	-0.7694			
λ_0	-0.7694			
Bias	0.0026			
λ_{Jack}	-0.7720			
Var	0.0021			
σ	0.0460			
Z	1.96			
IC	mínimo	-0.8620	máximo	-0.6819

Tabla F. Coeficientes de dispersión (*CD*) y factor de apiñamiento (*K*) obtenidos en el análisis de distribución espacial de los gusanos blancos en los lotes de los colmenares estudiados durante 1997-2000. El valor de la media y varianza (σ^2) corresponde al número de gusanos blancos por muestra en cada lote. Se indica para cada lote la situación de manejo del campo en el momento de efectuar los muestreos.

Año	Colmenar/Lote	Media	σ^2	<i>CD</i>	Valor <i>K</i>	Manejo
1997	I-1	1,82	4,395	2,415	1,286	Rastrojo trigo
1997	I-2	0,88	1,577	1,792	1,111	Rastrojo trigo
1997	I-3	0,54	1,641	3,039	0,265	Arado/pastizal
1997	II-1	0,08	0,116	1,450	0,178	Pastura trébol
1997	II-2	0,34	0,678	1,994	0,342	Pastura trébol
1997	II-3	0,14	0,368	2,628	0,086	Pastura avena
1997	IV-1	0,66	1,821	2,759	0,375	Pastizal
1997	IV-2	0,60	1,306	2,177	0,510	Arado
1997	IV-3	1,32	2,630	1,992	1,330	Rastrojo trigo
1997	V-1	0,80	1,633	2,041	0,769	Pastizal
1997	V-2	0,76	1,288	1,695	1,094	Pastura avena
1997	V-3	0,82	2,681	3,270	0,361	Pastizal
1997	VI-1	0,04	0,039	0,975	-	Pastizal
1997	VI-2	1,80	5,714	3,174	0,828	Rastrojo soja
1997	VI-3	1,50	5,071	3,380	0,630	Rastrojo soja
1997	III-1	0,64	0,806	1,259	3,913	Pastura
1997	III-2	1,00	1,265	1,265	6,039	Pastura
1997	III-3	0,42	0,575	1,369	2,133	Pastura

Tabla F. Continuación.

Año	Colmenar/Lote	Media	σ^2	CD	Valor K	Manejo
1998	I-1	0,20	0,327	1,633	0,316	Arado sembrado
1998	I-2	0,30	0,459	1,530	0,566	Arado sembrado
1998	I-3	0,16	0,382	2,388	0,115	Arado/rastrojo/pastizal
1998	II-1	0,26	0,360	1,383	0,679	Pastura
1998	II-2	0,34	0,474	1,394	0,863	Pastura
1998	II-3	0,06	0,058	0,960	-	Arado sembrado
1998	IV-1	0,34	0,392	1,154	2,215	Pastizal natural
1998	IV-2	1,18	3,620	3,068	0,571	Rastrojo trigo
1998	IV-3	0,86	1,266	1,472	1,823	Arado sembrado
1998	V-1	0,54	0,743	1,376	1,436	Pastizal natural
1998	V-2	1,20	1,959	1,633	1,897	Pastura avena y trébol
1998	V-3	0,96	3,590	3,740	0,350	Pastizal natural
1998	VII-1	0,00	0,000	-	-	Monte chilca
1998	VII-2	0,04	0,039	0,980	-	Pastura trébol
1998	VII-3	0,00	0,000	-	-	Pastura avena
1998	VIII-1	0,22	0,298	1,353	0,624	Rastrojo soja
1998	VIII-2	0,32	0,345	1,077	4,180	Rastrojo soja
1998	VIII-3	0,14	0,164	1,169	0,827	Rastrojo maíz
1998	IX-1	0,08	0,198	2,470	0,054	Pastizal natural
1998	IX-2	0,12	0,189	1,578	0,207	Pastizal natural
1998	IX-3	0,20	0,408	2,041	0,192	Pastizal natural
1999	X-1	1,26	6,349	5,039	0,312	Pastizal natural
1999	X-2	1,76	4,227	2,402	1,256	Rastrojo soja
1999	X-3	0,40	1,024	2,560	0,256	Rastrojo soja
1999	XI-1	0,84	4,219	5,022	0,209	Rastrojo coriandro
1999	XI-2	0,38	0,730	1,922	0,412	Pastizal natural
1999	XI-3	0,50	0,908	1,816	0,612	Rastrojo coriandro
1999	XII-1	0,32	0,345	1,077	4,180	Rastrojo soja y ortiga
1999	XII-2	0,76	1,737	2,286	0,591	Rastrojo soja
1999	XII-3	0,98	1,775	1,811	1,208	Rastrojo soja
1999	XIII-1	2,44	6,415	2,629	1,498	Pastizal natural pastoreo
1999	XIII-2	1,06	2,810	2,651	0,642	Pastizal natural pastoreo
1999	XIII-3	0,58	2,045	3,525	0,230	Pastizal natural pastoreo
2000	X-1	1,58	8,004	5,066	0,389	Pastizal natural
2000	X-2	1,02	1,693	1,660	1,545	Rastrojo soja
2000	X-3	1,52	3,765	2,477	1,029	Rastrojo soja
2000	XI-1	0,98	3,000	3,061	0,476	Rastrojo soja
2000	XI-2	1,18	2,600	2,203	0,981	Rastrojo soja
2000	XI-3	1,12	3,210	2,866	0,600	Pastizal natural
2000	XII-1	0,34	0,556	1,634	0,536	Rastrojo soja
2000	XII-2	0,64	0,929	1,452	1,417	Rastrojo soja
2000	XII-3	0,28	0,369	1,318	0,881	Rastrojo soja
2000	XIII-1	1,90	5,398	2,841	1,032	Pastizal natural pastoreo
2000	XIII-2	2,24	10,431	4,657	0,613	Pastizal natural pastoreo
2000	XIII-3	0,92	2,034	2,211	0,760	Pastizal natural pastoreo
2000	XIV-1	0,44	0,537	1,221	1,993	Rastrojo girasol
2000	XIV-2	1,32	1,569	1,189	6,998	Rastrojo girasol
2000	XIV-3	1,90	4,622	2,433	1,326	Rastrojo girasol

Apéndice IV

Programa del modelo desarrollado en Visual Basic para realizar las simulaciones del Capítulo 5

```

VERSION 5.00
Object = "{831FDD16-0C5C-11D2-A9FC-0000F8754DA1}#2.0#0"; "mscomctl.ocx"
Begin VB.Form Main
    BackColor = &H8000000A&
    BorderStyle = 1 'Fixed Single
    Caption = "Larvae dispersion model - M. K. Castelo"
    ClientHeight = 6720
    ClientLeft = 2175
    ClientTop = 1275
    ClientWidth = 11265
    BeginProperty Font
        Name = "MS Sans Serif"
        Size = 9.75
        Charset = 0
        Weight = 700
        Underline = 0 'False
        Italic = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Icon = "Main.frx":0000
    LinkTopic = "Form1"
    MaxButton = 0 'False
    MinButton = 0 'False
    ScaleHeight = 6720
    ScaleWidth = 11265
    Begin VB.CommandButton cmdAbort
        Caption = "Stop"
        Enabled = 0 'False
        BeginProperty Font
            Name = "MS Sans Serif"
            Size = 8.25
            Charset = 0
            Weight = 700
            Underline = 0 'False
            Italic = 0 'False
            Strikethrough = 0 'False
        EndProperty
        Height = 375
        Left = 10320
        TabIndex = 45
        Top = 2400
        Width = 735
    End
    Begin VB.CheckBox chkGraphWriteEnable
        Caption = "Generate Picture Files"
        BeginProperty Font
            Name = "MS Sans Serif"
            Size = 8.25
            Charset = 0
            Weight = 400
            Underline = 0 'False
            Italic = 0 'False
            Strikethrough = 0 'False
        EndProperty
        Height = 255
        Left = 240
        TabIndex = 44
        Top = 6240
        Width = 1935
    End
    Begin VB.TextBox txtFileName
        BeginProperty Font
            Name = "MS Sans Serif"
            Size = 8.25
            Charset = 0
            Weight = 400
            Underline = 0 'False

```

```

        Italic           = 0   'False
        Strikethrough    = 0   'False
    EndProperty
    Height              = 315
    Left                = 2400
    TabIndex            = 41
    Text                = "Simulation_"
    Top                 = 6120
    Width               = 1815
End
Begin VB.CommandButton cmdFileLocation
    Caption              = "Select File Destination"
    BeginProperty Font
        Name              = "MS Sans Serif"
        Size              = 8.25
        Charset           = 0
        Weight            = 400
        Underline         = 0   'False
        Italic            = 0   'False
        Strikethrough     = 0   'False
    EndProperty
    Height              = 375
    Left                = 4320
    TabIndex            = 39
    Top                 = 6000
    Width               = 1815
End
Begin VB.CheckBox chkEnableDataWrite
    Caption              = "Generate Excel File"
    CausesValidation     = 0   'False
    BeginProperty Font
        Name              = "MS Sans Serif"
        Size              = 8.25
        Charset           = 0
        Weight            = 400
        Underline         = 0   'False
        Italic            = 0   'False
        Strikethrough     = 0   'False
    EndProperty
    Height              = 255
    Left                = 240
    TabIndex            = 38
    Top                 = 5880
    Width               = 1815
End
Begin VB.CommandButton btnStartIteration
    Caption              = "Start"
    BeginProperty Font
        Name              = "MS Sans Serif"
        Size              = 8.25
        Charset           = 0
        Weight            = 700
        Underline         = 0   'False
        Italic            = 0   'False
        Strikethrough     = 0   'False
    EndProperty
    Height              = 375
    Left                = 8160
    TabIndex            = 36
    Top                 = 2400
    Width               = 1935
End
Begin MSComctlLib.ProgressBar pgbWormsCycles
    Height              = 180
    Left                = 8160
    TabIndex            = 35
    Top                 = 2040
    Width               = 2175
    _ExtentX            = 3836
    _ExtentY            = 318
    _Version            = 393216
    Appearance          = 1
End
Begin MSComctlLib.ProgressBar pgbEggsCycles
    Height              = 180
    Left                = 8160
    TabIndex            = 34
    Top                 = 1080

```

```

Width           = 2175
_ExtentX       = 3836
_ExtentY       = 318
_Version       = 393216
Appearance     = 1
End
Begin VB.TextBox txtWormsIterationNr
Alignment      = 1 'Right Justify
BeginProperty Font
    Name        = "MS Sans Serif"
    Size        = 8.25
    Charset     = 0
    Weight      = 400
    Underline   = 0 'False
    Italic      = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height        = 285
Left         = 10080
TabIndex     = 10
Text         = "1"
Top         = 1560
Width        = 615
End
Begin VB.TextBox txtEggsIterationNr
Alignment      = 1 'Right Justify
BeginProperty Font
    Name        = "MS Sans Serif"
    Size        = 8.25
    Charset     = 0
    Weight      = 400
    Underline   = 0 'False
    Italic      = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height        = 285
Left         = 10080
TabIndex     = 9
Text         = "1"
Top         = 600
Width        = 615
End
Begin VB.CommandButton btnResults
Caption        = "Quick Results"
BeginProperty Font
    Name        = "MS Sans Serif"
    Size        = 8.25
    Charset     = 0
    Weight      = 400
    Underline   = 0 'False
    Italic      = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height        = 375
Left         = 4440
TabIndex     = 30
Top         = 5160
Width        = 2415
End
Begin VB.CommandButton cmdTestShot
Caption        = "View Larva Shot"
BeginProperty Font
    Name        = "MS Sans Serif"
    Size        = 8.25
    Charset     = 0
    Weight      = 400
    Underline   = 0 'False
    Italic      = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height        = 375
Left         = 6960
TabIndex     = 23
Top         = 5160
Width        = 1455
End
Begin VB.TextBox txtFallSpeed
Alignment      = 1 'Right Justify

```

```

BeginProperty Font
  Name      = "MS Sans Serif"
  Size      = 8.25
  Charset   = 0
  Weight    = 400
  Underline = 0 'False
  Italic    = 0 'False
  Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height      = 285
Left       = 2040
TabIndex   = 1
Text       = "0.3"
Top        = 1080
Width      = 615
End
Begin VB.TextBox txtWindVar
  Alignment = 1 'Right Justify
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height     = 285
  Left      = 2040
  TabIndex  = 3
  Text      = "100"
  Top       = 1800
  Width     = 615
End
Begin VB.CommandButton btnClear
  Caption   = "Clear"
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height    = 375
  Left     = 10080
  TabIndex = 20
  Top      = 5160
  Width    = 975
End
Begin VB.CommandButton btnGenerate
  Caption   = "View Grubs"
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height    = 375
  Left     = 8520
  TabIndex = 19
  Top      = 5160
  Width    = 1455
End
Begin VB.TextBox txtWindAngle
  Alignment = 1 'Right Justify
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False

```

```

EndProperty
Height      = 285
Left       = 2040
TabIndex  = 4
Text      = "45"
Top       = 2160
Width     = 615
End
Begin VB.TextBox txtDistFactor
  Alignment = 1 'Right Justify
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size     = 8.25
    Charset  = 0
    Weight   = 400
    Underline = 0 'False
    Italic   = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height    = 285
  Left     = 2040
  TabIndex = 8
  Text     = "50"
  Top     = 4440
  Width   = 615
End
Begin VB.TextBox txtPatchesNumber
  Alignment = 1 'Right Justify
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size     = 8.25
    Charset  = 0
    Weight   = 400
    Underline = 0 'False
    Italic   = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height    = 285
  Left     = 2040
  TabIndex = 7
  Text     = "10"
  Top     = 5160
  Width   = 615
End
Begin VB.TextBox txtCellsPerPatch
  Alignment = 1 'Right Justify
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size     = 8.25
    Charset  = 0
    Weight   = 400
    Underline = 0 'False
    Italic   = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height    = 285
  Left     = 2040
  TabIndex = 6
  Text     = "20"
  Top     = 4800
  Width   = 615
End
Begin VB.PictureBox pctField
  AutoRedraw = -1 'True
  BackColor  = &H00E0E0E0&
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size     = 8.25
    Charset  = 0
    Weight   = 400
    Underline = 0 'False
    Italic   = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height    = 4800
  Left     = 3120
  ScaleHeight = 5933.625
  ScaleMode = 0 'User

```

```

ScaleWidth      = 4767.719
TabIndex       = 14
Top            = 120
Width          = 4800
End
Begin VB.TextBox txtEggsNumber
  Alignment     = 1 'Right Justify
  BeginProperty Font
    Name        = "MS Sans Serif"
    Size        = 8.25
    Charset     = 0
    Weight      = 400
    Underline   = 0 'False
    Italic      = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height       = 285
  Left        = 2040
  TabIndex    = 5
  Text        = "328"
  Top         = 2520
  Width       = 615
End
Begin VB.TextBox txtWindSpeed
  Alignment     = 1 'Right Justify
  BeginProperty Font
    Name        = "MS Sans Serif"
    Size        = 8.25
    Charset     = 0
    Weight      = 400
    Underline   = 0 'False
    Italic      = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height       = 285
  Left        = 2040
  TabIndex    = 2
  Text        = "3"
  Top         = 1440
  Width       = 615
End
Begin VB.TextBox txtPoleHeight
  Alignment     = 1 'Right Justify
  BeginProperty Font
    Name        = "MS Sans Serif"
    Size        = 8.25
    Charset     = 0
    Weight      = 400
    Underline   = 0 'False
    Italic      = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height       = 285
  Left        = 2040
  TabIndex    = 0
  Text        = "1.5"
  Top         = 720
  Width       = 615
End
Begin VB.Frame Frame1
  BorderStyle   = 0 'None
  Height       = 735
  Left        = 360
  TabIndex    = 46
  Top         = 3480
  Width       = 2535
  Begin VB.OptionButton optPoisson
    Caption     = "Poisson"
    BeginProperty Font
      Name      = "MS Sans Serif"
      Size      = 8.25
      Charset   = 0
      Weight    = 400
      Underline = 0 'False
      Italic    = 0 'False
      Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height     = 255
  End
End

```

```

    Left      = 120
    TabIndex  = 48
    Top       = 120
    Width     = 1815
End
Begin VB.OptionButton optAggr
    Caption   = "Aggregated"
    BeginProperty Font
        Name      = "MS Sans Serif"
        Size      = 8.25
        Charset   = 0
        Weight    = 400
        Underline = 0 'False
        Italic    = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height    = 255
    Left      = 120
    TabIndex  = 47
    Top       = 360
    Value     = -1 'True
    Width     = 2175
End
End
Begin VB.Line Line2
    X1        = 2280
    X2        = 2280
    Y1        = 5880
    Y2        = 6480
End
Begin VB.Line Line1
    X1        = 6240
    X2        = 6240
    Y1        = 5880
    Y2        = 6480
End
Begin VB.Shape Shape10
    Height    = 1935
    Left      = 8040
    Top       = 3000
    Width     = 3135
End
Begin VB.Label lblTotalParasitized
    Caption   = "0"
    BeginProperty Font
        Name      = "MS Sans Serif"
        Size      = 8.25
        Charset   = 0
        Weight    = 400
        Underline = 0 'False
        Italic    = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height    = 255
    Left      = 10080
    TabIndex  = 55
    Top       = 4680
    Width     = 615
End
Begin VB.Label Label17
    Caption   = "% Total Parasitized"
    BeginProperty Font
        Name      = "MS Sans Serif"
        Size      = 8.25
        Charset   = 0
        Weight    = 700
        Underline = 0 'False
        Italic    = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height    = 255
    Left      = 8160
    TabIndex  = 54
    Top       = 4680
    Width     = 1935
End
Begin VB.Label lblWormsProgress
    BeginProperty Font

```

```

        Name           = "MS Sans Serif"
        Size           = 8.25
        Charset        = 0
        Weight         = 400
        Underline      = 0 'False
        Italic         = 0 'False
        Strikethrough  = 0 'False
    EndProperty
    Height           = 255
    Left             = 10440
    TabIndex         = 53
    Top              = 2040
    Width           = 615
End
Begin VB.Label lblEggsProgress
    BeginProperty Font
        Name           = "MS Sans Serif"
        Size           = 8.25
        Charset        = 0
        Weight         = 400
        Underline      = 0 'False
        Italic         = 0 'False
        Strikethrough  = 0 'False
    EndProperty
    Height           = 255
    Left             = 10440
    TabIndex         = 52
    Top              = 1080
    Width           = 615
End
Begin VB.Label Label13
    Caption          = "Testing"
    BeginProperty Font
        Name           = "MS Sans Serif"
        Size           = 9.75
        Charset        = 0
        Weight         = 700
        Underline      = -1 'True
        Italic         = 0 'False
        Strikethrough  = 0 'False
    EndProperty
    Height           = 255
    Left             = 3240
    TabIndex         = 51
    Top              = 5160
    Width           = 1215
End
Begin VB.Label Label11
    Caption          = "Cumulative Results (Mean)"
    BeginProperty Font
        Name           = "MS Sans Serif"
        Size           = 9.75
        Charset        = 0
        Weight         = 700
        Underline      = -1 'True
        Italic         = 0 'False
        Strikethrough  = 0 'False
    EndProperty
    Height           = 255
    Left             = 8160
    TabIndex         = 50
    Top              = 3120
    Width           = 2895
End
Begin VB.Label Label10
    Caption          = "White Grubs Distribution"
    BeginProperty Font
        Name           = "MS Sans Serif"
        Size           = 9.75
        Charset        = 0
        Weight         = 700
        Underline      = -1 'True
        Italic         = 0 'False
        Strikethrough  = 0 'False
    EndProperty
    Height           = 255
    Left             = 240
    TabIndex         = 49

```



```

    Top           = 3120
    Width         = 2655
End
Begin VB.Shape Shape9
    Height        = 2655
    Left          = 120
    Top           = 3000
    Width         = 2895
End
Begin VB.Shape Shape1
    Height        = 855
    Left          = 120
    Top           = 5760
    Width         = 11055
End
Begin VB.Label lblFile
    Caption       = "File Name"
    BeginProperty Font
        Name       = "MS Sans Serif"
        Size       = 8.25
        Charset    = 0
        Weight     = 400
        Underline  = 0 'False
        Italic     = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height        = 255
    Left          = 2400
    TabIndex     = 43
    Top           = 5880
    Width         = 855
End
Begin VB.Label lblFilePath
    BeginProperty Font
        Name       = "MS Sans Serif"
        Size       = 8.25
        Charset    = 0
        Weight     = 400
        Underline  = 0 'False
        Italic     = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height        = 255
    Left          = 6840
    TabIndex     = 42
    Top           = 6000
    Width         = 4095
    WordWrap     = -1 'True
End
Begin VB.Label lblFileTitle
    Caption       = "File:"
    BeginProperty Font
        Name       = "MS Sans Serif"
        Size       = 8.25
        Charset    = 0
        Weight     = 400
        Underline  = 0 'False
        Italic     = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height        = 255
    Left          = 6360
    TabIndex     = 40
    Top           = 6000
    Width         = 495
End
Begin VB.Label Label4
    Caption       = "General Conditions"
    BeginProperty Font
        Name       = "MS Sans Serif"
        Size       = 9.75
        Charset    = 0
        Weight     = 700
        Underline  = -1 'True
        Italic     = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height        = 255

```

```

Left          = 240
TabIndex     = 37
Top          = 240
Width        = 2295
End
Begin VB.Label lblWormsIterationNr
Caption      = "White Grubs Cycles"
BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height      = 255
Left        = 8160
TabIndex    = 33
Top         = 1560
Width       = 1455
End
Begin VB.Label lblEggsIterationNr
Caption      = "Larvae Dispersion Cycles"
BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height      = 255
Left        = 8160
TabIndex    = 32
Top         = 600
Width       = 1815
End
Begin VB.Label lblIterations
Caption      = "Iterations"
BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 9.75
    Charset   = 0
    Weight    = 700
    Underline = -1 'True
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height      = 255
Left        = 8160
TabIndex    = 31
Top         = 240
Width       = 1815
End
Begin VB.Shape Shape8
FillColor    = &H00FF0000&
FillStyle    = 0 'Solid
Height       = 135
Left         = 2760
Top          = 2640
Width        = 135
End
Begin VB.Shape Shape7
FillColor    = &H000080FF&
FillStyle    = 0 'Solid
Height       = 135
Left         = 10800
Top          = 3600
Width        = 135
End
Begin VB.Shape Shape6
FillStyle    = 0 'Solid
Height       = 135
Left         = 10800
Top          = 4320
Width        = 135

```

```

End
Begin VB.Shape Shape5
    FillColor      = &H0000FF00&
    FillStyle     = 0 'Solid
    Height        = 135
    Left         = 10800
    Top          = 3960
    Width        = 135
End
Begin VB.Shape Shape4
    Height        = 615
    Left         = 3120
    Top          = 5040
    Width        = 8055
End
Begin VB.Label lblSuperparasitized
    Caption       = "0"
    BeginProperty Font
        Name       = "MS Sans Serif"
        Size      = 8.25
        Charset   = 0
        Weight    = 400
        Underline = 0 'False
        Italic    = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height       = 255
    Left        = 10080
    TabIndex    = 29
    Top         = 4320
    Width       = 615
End
Begin VB.Label lblParasitized
    Caption       = "0"
    BeginProperty Font
        Name       = "MS Sans Serif"
        Size      = 8.25
        Charset   = 0
        Weight    = 400
        Underline = 0 'False
        Italic    = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height       = 255
    Left        = 10080
    TabIndex    = 28
    Top         = 3960
    Width       = 615
End
Begin VB.Label lblTotalWorms
    Caption       = "0"
    BeginProperty Font
        Name       = "MS Sans Serif"
        Size      = 8.25
        Charset   = 0
        Weight    = 400
        Underline = 0 'False
        Italic    = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height       = 255
    Left        = 10080
    TabIndex    = 27
    Top         = 3600
    Width       = 615
End
Begin VB.Label Label16
    Caption       = "% Superparasitized"
    BeginProperty Font
        Name       = "MS Sans Serif"
        Size      = 8.25
        Charset   = 0
        Weight    = 700
        Underline = 0 'False
        Italic    = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height       = 255

```

```

Left          = 8160
TabIndex     = 26
Top          = 4320
Width       = 1695
End
Begin VB.Label Label15
Caption      = "% Single Parasitized"
BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 700
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height      = 255
Left        = 8160
TabIndex   = 25
Top        = 3960
Width      = 1935
End
Begin VB.Label Label12
Caption      = "Total Grubs"
BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 700
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height      = 255
Left        = 8160
TabIndex   = 24
Top        = 3600
Width      = 1215
End
Begin VB.Label Label8
Caption      = "Terminal velocity (m/s)"
BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height      = 255
Left        = 240
TabIndex   = 22
Top        = 1080
Width      = 1695
End
Begin VB.Shape Shape2
Height      = 2775
Left        = 120
Top        = 120
Width      = 2895
End
Begin VB.Label Label14
Caption      = "Wind variation (%)"
BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size      = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height      = 255
Left        = 240
TabIndex   = 21
Top        = 1800
Width      = 1455

```

```

End
Begin VB.Shape Shape3
  Height      = 2775
  Left       = 8040
  Top        = 120
  Width      = 3135
End
Begin VB.Label Label7
  Caption     = "Cell Fill Prob. (%)"
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size     = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height     = 255
  Left      = 360
  TabIndex  = 17
  Top       = 4440
  Width     = 1575
End
Begin VB.Label Label9
  Caption     = "Wind Angle Span (°)"
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size     = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height     = 255
  Left      = 240
  TabIndex  = 18
  Top       = 2160
  Width     = 1455
End
Begin VB.Label Label6
  Caption     = "Number of patches"
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size     = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height     = 255
  Left      = 360
  TabIndex  = 16
  Top       = 5160
  Width     = 1575
End
Begin VB.Label Label5
  Caption     = "Cells per patch side"
  BeginProperty Font
    Name      = "MS Sans Serif"
    Size     = 8.25
    Charset   = 0
    Weight    = 400
    Underline = 0 'False
    Italic    = 0 'False
    Strikethrough = 0 'False
  EndProperty
  Height     = 255
  Left      = 360
  TabIndex  = 15
  Top       = 4800
  Width     = 1575
End
Begin VB.Label Label3
  Caption     = "Number of eggs"
  BeginProperty Font

```

```

        Name           = "MS Sans Serif"
        Size            = 8.25
        Charset         = 0
        Weight          = 400
        Underline       = 0 'False
        Italic          = 0 'False
        Strikethrough   = 0 'False
    EndProperty
    Height             = 255
    Left               = 240
    TabIndex           = 13
    Top                = 2520
    Width              = 1335
End
Begin VB.Label Label2
    Caption             = "Wind Speed (m/s)"
    BeginProperty Font
        Name             = "MS Sans Serif"
        Size             = 8.25
        Charset          = 0
        Weight           = 400
        Underline        = 0 'False
        Italic           = 0 'False
        Strikethrough    = 0 'False
    EndProperty
    Height             = 255
    Left               = 240
    TabIndex           = 12
    Top                = 1440
    Width              = 1335
End
Begin VB.Label Label1
    Caption             = "Egg Cluster Height (m)"
    BeginProperty Font
        Name             = "MS Sans Serif"
        Size             = 8.25
        Charset          = 0
        Weight           = 400
        Underline        = 0 'False
        Italic           = 0 'False
        Strikethrough    = 0 'False
    EndProperty
    Height             = 255
    Left               = 240
    TabIndex           = 11
    Top                = 720
    Width              = 1695
End
End
Attribute VB_Name = "Main"
Attribute VB_GlobalNameSpace = False
Attribute VB_Creatable = False
Attribute VB_PredeclaredId = True
Attribute VB_Exposed = False
Option Explicit
Dim oExcel As Object
Dim oBook As Object
Dim oSheet As Object
Dim Xold As Single
Dim Yold As Single
Dim EggsGrid(-100 To 100, -100 To 100) As Single
Dim WormsGrid(-100 To 100, -100 To 100) As Single
Dim WormsNumber As Double
Dim Parasitized As Double
Dim Superparasitized As Double
Dim i_ghost As Single 'index to be used in the Old_Patches routine
Dim X_ghost(5) As Single 'coordinates to be used in the Old_Patches routine
Dim Y_ghost(5) As Single 'coordinates to be used in the Old_Patches routine
Dim DrawNow As Boolean
Dim halt As Boolean ' flag to abort simulation cycle

Private Sub Initialize_Excel_File()
    'Start a new workbook in Excel
    Set oExcel = CreateObject("Excel.Application")
    Set oBook = oExcel.Workbooks.Add
    'Add data to cells of the first worksheet in the new workbook
    Set oSheet = oBook.Worksheets(1)
    oSheet.range("A1").Value = "Eggs Cycle"

```

```

oSheet.range("B1").Value = "White Grubs Cycle"
oSheet.range("C1").Value = "Eggs Cluster Height"
oSheet.range("D1").Value = "Fall Speed"
oSheet.range("E1").Value = "Wind Speed"
oSheet.range("F1").Value = "Wind Variation"
oSheet.range("G1").Value = "Wind Angle Span"
oSheet.range("H1").Value = "Number of Eggs"
oSheet.range("I1").Value = "Cells per Patch"
oSheet.range("J1").Value = "Number of Patches"
oSheet.range("K1").Value = "White Grubs Distribution"
oSheet.range("L1").Value = "Total White Grubs"
oSheet.range("M1").Value = "Parasitized"
oSheet.range("N1").Value = "Superparasitized"
oSheet.range("O1").Value = "Total parasitized"
oSheet.range("A1:O1").Font.Bold = True

End Sub

Private Sub Write_Excel_File(ByVal i As Single, ByVal j_max As Single, ByVal j As Single)
Dim xlRow As Single
xlRow = (i - 1) * j_max + j + 1 'Calculate current excel row for iteration
oSheet.range("A" + CStr(xlRow)).Value = txtEggsIterationNr.Text
oSheet.range("B" + CStr(xlRow)).Value = txtWormsIterationNr.Text
oSheet.range("C" + CStr(xlRow)).Value = txtPoleHeight.Text
oSheet.range("D" + CStr(xlRow)).Value = txtFallSpeed.Text
oSheet.range("E" + CStr(xlRow)).Value = txtWindSpeed.Text
oSheet.range("F" + CStr(xlRow)).Value = txtWindVar.Text
oSheet.range("G" + CStr(xlRow)).Value = txtWindAngle.Text
oSheet.range("H" + CStr(xlRow)).Value = txtEggsNumber.Text
If optAggr.Value = True Then
    oSheet.range("I" + CStr(xlRow)).Value = txtCellsPerPatch.Text
    oSheet.range("J" + CStr(xlRow)).Value = txtPatchesNumber.Text
End If
oSheet.range("K" + CStr(xlRow)).Value = txtDistFactor.Text
oSheet.range("L" + CStr(xlRow)).Value = WormsNumber
oSheet.range("M" + CStr(xlRow)).Value = Parasitized
oSheet.range("N" + CStr(xlRow)).Value = Superparasitized
oSheet.range("O" + CStr(xlRow)).Value = Parasitized + Superparasitized

End Sub

Private Sub Save_Excel_File()
Dim totalfilename As String
totalfilename = filedestination + "\" + txtFileName.Text + ".xls"
oBook.SaveAs totalfilename 'Save the Workbook and Quit Excel
oExcel.Quit
End Sub

Private Sub btnAbort_Click()

End Sub

Private Sub btnClear_Click()
pctField.Cls
End Sub

Private Sub btnGenerate_Click()
create_all_patches
End Sub
Private Sub create_all_patches()
Dim i As Single
Dim j As Single
WormsNumber = 0 ' ensure worms grid is clear to start from scratch
For i = -100 To 100
    For j = -100 To 100
        WormsGrid(i, j) = 0
    Next j
Next i
If optAggr.Value = True Then
    generate_independent_patches
ElseIf optPoisson.Value = True Then
    random_worms
End If

End Sub

Private Sub btnResults_Click()
Parasitism_Calc
lblTotalWorms.Caption = WormsNumber

```

```

lblParasitized.Caption = Round(Parasitized / WormsNumber * 100, 2)
lblSuperparasitized.Caption = Round(Superparasitized / WormsNumber * 100, 2)
lblTotalParasitized.Caption = Round((Parasitized + Superparasitized) / WormsNumber * 100, 2)
End Sub

Private Sub btnStartIteration_Click()
Dim i As Single
Dim j As Single
Dim answer As Single
Dim AbsoluteWormsNumber As Long
Dim MeanParasitizedWorms As Double 'Used for cumulative mean
Dim MeanSuperparasitizedWorms As Double 'Used for cumulative mean
On Error Resume Next
btnStartIteration.Enabled = False
cmdAbort.Enabled = True
halt = False
AbsoluteWormsNumber = 0
MeanParasitizedWorms = 0
MeanSuperparasitizedWorms = 0
pgbEggsCycles.Min = 0
pgbEggsCycles.Max = Val(txtEggsIterationNr.Text)
pgbWormsCycles.Min = 0
pgbWormsCycles.Max = Val(txtWormsIterationNr.Text)
If chkEnableDataWrite.Value = 1 Then
    Initialize_Excel_File
End If
For i = 1 To Val(txtWormsIterationNr.Text) 'Patches Generation cycle
    pctField.Cls
    create_all_patches
    For j = 1 To Val(txtEggsIterationNr.Text) 'Eggs cluster shooting cycle
        DoEvents 'Allow for detection of STOP command request
        If halt = True Then 'if stop is pressed then halt
            Exit For
        End If
        redraw_all_patches
        shoot_cluster
        Parasitism_Calc
        MeanParasitizedWorms = MeanParasitizedWorms + Parasitized / WormsNumber * 100
        MeanSuperparasitizedWorms = MeanSuperparasitizedWorms + Superparasitized / WormsNumber
* 100
        pgbEggsCycles.Value = j 'update progress bar
        lblEggsProgress.Caption = CStr(j) + "/" + txtEggsIterationNr.Text 'update progress
label
        If chkEnableDataWrite.Value = 1 Then
            Write_Excel_File i, Val(txtEggsIterationNr.Text), j 'write to excel file
        End If
    Next j
    If halt = True Then
        Exit For
    End If
    AbsoluteWormsNumber = AbsoluteWormsNumber + WormsNumber
    'show results so far
    lblParasitized.Caption = Round(MeanParasitizedWorms / (Val(txtEggsIterationNr.Text) * i),
2)
    lblSuperparasitized.Caption = Round(MeanSuperparasitizedWorms /
(Val(txtEggsIterationNr.Text) * i), 2)
    lblTotalParasitized.Caption = Round((MeanParasitizedWorms + MeanSuperparasitizedWorms) /
(Val(txtEggsIterationNr.Text) * i), 2)
    lblTotalWorms.Caption = Int(AbsoluteWormsNumber / i)
    Main.Refresh
    pgbWormsCycles.Value = i 'update progress bar
    lblWormsProgress.Caption = CStr(i) + "/" + txtWormsIterationNr.Text 'update progress label

    If chkGraphWriteEnable.Value = 1 Then
        draw_image (i)
    End If
Next i
If chkEnableDataWrite.Value = 1 Then
    Save_Excel_File
End If
'show final results
lblParasitized.Caption = Round(MeanParasitizedWorms / (Val(txtEggsIterationNr.Text) *
Val(txtWormsIterationNr.Text)), 2)
lblSuperparasitized.Caption = Round(MeanSuperparasitizedWorms / (Val(txtEggsIterationNr.Text) *
Val(txtWormsIterationNr.Text)), 2)
lblTotalParasitized.Caption = Round((MeanParasitizedWorms + MeanSuperparasitizedWorms) /
(Val(txtEggsIterationNr.Text) * Val(txtWormsIterationNr.Text)), 2)

```



```

lblTotalWorms.Caption = Int(AbsoluteWormsNumber / Val(txtWormsIterationNr.Text))
'reset all progress indicators
pgbWormsCycles.Value = 0
pgbEggsCycles.Value = 0
lblWormsProgress.Caption = ""
lblEggsProgress.Caption = ""
btnStartIteration.Enabled = True
cmdAbort.Enabled = False
answer = MsgBox("    Simulation Complete", vbOKOnly, "Simulation Progress") 'Indicate that
process is over
End Sub

```

```

Private Sub redraw_all_patches()
Dim i As Single
Dim j As Single
For i = -100 To 100
    For j = -100 To 100
        If WormsGrid(i, j) = 1 Then
            pctField.PSet (i, j), &H8080FF
        End If
    Next j
Next i
End Sub

```

```

Private Sub cmdAbort_Click()
halt = True
pgbEggsCycles.Value = 0
pgbWormsCycles.Value = 0
End Sub

```

```

Private Sub cmdFileLocation_Click()
Form1.Show
End Sub

```

```

Private Sub shoot_cluster()
Dim i As Single
Dim answer As Single
Dim Range_check As Long
Range_Calc Range_check
If Range_check < 200 Then
Initialize_EggsGrid
Randomize
For i = 1 To Val(txtEggsNumber.Text)
    single_shot
Next i
Else
answer = MsgBox("Wind speed too high. Enter a smaller value", vbOKOnly, "Shoot simulation
sequence") 'Area too crowded, no spot available
End If
End Sub

```

```

Private Sub cmdTestShot_Click()
shoot_cluster
End Sub

```

```

Private Sub Form_Load()
CenterForm Main
filedestination = "C:\windows\escritorio"
pctField.Scale (-100, 100)-(100, -100)
End Sub

```

```

Private Sub optAggr_Click()
Label6.Enabled = True
Label5.Enabled = True
txtPatchesNumber.Enabled = True
txtCellsPerPatch.Enabled = True
End Sub

```

```

Private Sub optPoisson_Click()
Label6.Enabled = False
Label5.Enabled = False
txtPatchesNumber.Enabled = False
txtCellsPerPatch.Enabled = False
End Sub

Private Sub pctField_MouseDown(Button As Integer, Shift As Integer, X As Single, Y As Single)
DrawNow = True
End Sub

Private Sub pctField_MouseUp(Button As Integer, Shift As Integer, X As Single, Y As Single)
DrawNow = False
End Sub

Private Sub single_shot()
Dim Xegg As Single
Dim Yegg As Single
Dim Alpha As Double
Dim range As Long
Dim answer As Single
On Error Resume Next
Range_Calc range
Alpha = 0 - Val(txtWindAngle.Text) + 2 * Rnd * Val(txtWindAngle.Text)
Xegg = Int(range * Cos(Alpha * 3.1416 / 180))
Yegg = Int(range * Sin(Alpha * 3.1416 / 180))
If Xegg > 100 Then
Xegg = -100 + (Xegg - 100) 'Thorical space
End If
If Yegg > 100 Then
Yegg = -100 + (Yegg - 100) 'Thorical space
End If
If Yegg < -100 Then
Yegg = Yegg + 200 'Thorical space
End If
pctField.PSet (Xegg, Yegg), vbBlue
EggsGrid(Xegg, Yegg) = EggsGrid(Xegg, Yegg) + 1
If Err.Number = 9 Then
answer = MsgBox("Wind speed too high. Enter a smaller value", vbOKOnly, "Shoot
simulation sequence") 'Coordinates outside limit
End If
End Sub

Private Sub Range_Calc(range As Long)
Dim Vox As Double
Vox = Val(txtWindSpeed.Text) * (1 - Val(txtWindVar.Text) / 100 * Rnd)
range = 5 * Vox * Val(txtPoleHeight.Text) / Val(txtFallSpeed.Text) ' multiplied by 5 to
convert from meters to grid units
End Sub

Private Sub Parasitism_Calc()
Dim i As Single
Dim j As Single
Parasitized = 0
Superparasitized = 0
For i = -100 To 100
For j = -100 To 100
If WormsGrid(i, j) = 1 Then
If EggsGrid(i, j) = 1 Then
Parasitized = Parasitized + 1
pctField.PSet (i, j), &HFF00& ' Yellow
End If
If EggsGrid(i, j) > 1 Then
Superparasitized = Superparasitized + 1
pctField.PSet (i, j), vbBlack
End If
End If
Next j
Next i
End Sub

Private Sub Initialize_WormsGrid()

```

```

Dim i As Single
Dim j As Single
For i = -100 To 100
    For j = -100 To 100
        WormsGrid(i, j) = 0
    Next j
Next i

End Sub

Private Sub Initialize_EggsGrid()
Dim i As Single
Dim j As Single
For i = -100 To 100
    For j = -100 To 100
        EggsGrid(i, j) = 0
    Next j
Next i

End Sub

Private Sub generate_independent_patches()
Dim Xn As Single
Dim Yn As Single
Dim i As Single
Dim k As Single
Dim q As Single
Dim Delta As Single
Dim n As Single
Dim found_spot As Boolean
Dim generation_abort As Boolean
Dim Patches_count As Single
Dim index As Single
n = 200
and the rest, case B or C
ReDim X_old_patches(n) As Single
ReDim Y_old_patches(n) As Single
Dim no_spot As Single
Dim answer As Single
Randomize
Delta = Val(txtCellsPerPatch.Text) - 1
Xn = -100 + Int(Rnd * 200)
Yn = -100 + Int(Rnd * 200)
Create_Single_Patch Xn, Yn
index = 1
Old_Patches Xn, Yn, Delta
For k = index To index + i_ghost - 2
    X_old_patches(k) = X_ghost(k - index + 1)
    Y_old_patches(k) = Y_ghost(k - index + 1)
Next k
index = index + i_ghost - 1
Patches_count = 2
no_spot = 0
generation_abort = False
While (Patches_count <= Val(txtPatchesNumber.Text) And generation_abort = False)
    Do Until found_spot = True
        Xn = -100 + Int(Rnd * 200)
        Yn = -100 + Int(Rnd * 200)
        Old_Patches Xn, Yn, Delta
        found_spot = True
        For q = 1 To i_ghost - 1
            For i = 1 To index - 1
                If (X_ghost(q) <= X_old_patches(i) And X_old_patches(i) <= X_ghost(q) + Delta) And
                    (Y_ghost(q) <= Y_old_patches(i) And Y_old_patches(i) <= Y_ghost(q) + Delta) Then
                    found_spot = False
                End If
                If (X_ghost(q) <= X_old_patches(i) + Delta And X_old_patches(i) + Delta <= X_ghost(q) + Delta) And
                    (Y_ghost(q) <= Y_old_patches(i) + Delta And Y_old_patches(i) + Delta <= Y_ghost(q) + Delta)
                Then
                    found_spot = False
                End If
                If (X_ghost(q) <= X_old_patches(i) + Delta And X_old_patches(i) + Delta <=
                    X_ghost(q) + Delta) And (Y_ghost(q) <= Y_old_patches(i) + Delta And Y_old_patches(i) + Delta <=
                    Y_ghost(q) + Delta) Then
                    found_spot = False
                End If
            Next i
        Next q
    Loop
    Patches_count = Patches_count + 1
    generation_abort = True
End While

```

```

        End If ' checking superposition case 3
        If (X_ghost(q) <= X_old_patches(i) + Delta And X_old_patches(i) + Delta <=
X_ghost(q) + Delta) And (Y_ghost(q) <= Y_old_patches(i) And Y_old_patches(i) <= Y_ghost(q) +
Delta) Then
            found_spot = False ' checking superposition case 4
        End If
    Next i
    Next q
    no_spot = no_spot + 1
    If no_spot > 1000 Then
        answer = MsgBox("Can't find a spot! Aborting patches allocation process", vbOKOnly,
"Patch Allocation Error") 'Area too crowded, no spot available
        generation_abort = True
        Exit Do
    End If
Loop ' Get out of the loop only if one empty spot
has been found
    If generation_abort = False Then
        Create_Single_Patch Xn, Yn 'generate the patch once found
        For k = index To index + i_ghost - 1 'since patch location is valid, transfer all
ghosts to old_patches
            X_old_patches(k) = X_ghost(k - index + 1)
            Y_old_patches(k) = Y_ghost(k - index + 1)
        Next k
        index = index + i_ghost
        found_spot = False 'get everything ready for next cycle
    End If
    Patches_count = Patches_count + 1 'get everything ready for next cycle
Wend
End Sub
Private Sub Old_Patches(Xn As Single, Yn As Single, Delta As Single) 'returns number of ghost
patches in i_ghost-1
    i_ghost = 1
    X_ghost(i_ghost) = Xn
    Y_ghost(i_ghost) = Yn
    i_ghost = i_ghost + 1
    If (-100 < Xn + Delta And Xn + Delta < 100) And (Yn + Delta) > 100 Then ' Case A (patch falls
outside upper limit)
        X_ghost(i_ghost) = Xn
        Y_ghost(i_ghost) = Yn - 200
        i_ghost = i_ghost + 1
    End If
    If (Xn + Delta) > 100 And (Yn + Delta) > 100 Then ' Case B (patch falls outside upper AND
right limits)
        X_ghost(i_ghost) = Xn - 200
        Y_ghost(i_ghost) = Yn
        X_ghost(i_ghost + 1) = Xn - 200
        Y_ghost(i_ghost + 1) = Yn - 200
        X_ghost(i_ghost + 2) = Xn
        Y_ghost(i_ghost + 2) = Yn - 200
        i_ghost = i_ghost + 3
    End If
    If (Xn + Delta) > 100 And (-100 < (Yn + Delta) And (Yn + Delta) < 100) Then 'Case C (patch
falls outside right limit)
        X_ghost(i_ghost) = Xn - 200
        Y_ghost(i_ghost) = Yn
        i_ghost = i_ghost + 1
    End If
End Sub

Private Sub Create_Single_Patch(X1 As Single, Y1 As Single)
    Dim j As Single
    Dim k As Single
    Dim Xf As Single
    Dim Yf As Single
    For j = 1 To Val(txtCellsPerPatch.Text)
        For k = 1 To Val(txtCellsPerPatch.Text)
            If Int(Rnd * (100 / Val(txtDistFactor.Text))) = 1 Then
                Xf = X1 + j
                Yf = Y1 + k
                If Xf > 100 Then
                    Xf = -100 + (Xf - 100) 'thorical space
                End If
                If Yf > 100 Then
                    Yf = -100 + (Yf - 100) 'thorical space
                End If
                pctField.PSet (Xf, Yf), &H8080FF
            End If
        Next k
    Next j
End Sub

```

```

        WormsGrid(Xf, Yf) = 1
        WormsNumber = WormsNumber + 1
    End If
Next k
Next j

End Sub

Sub random_worms()
Dim j As Single
Dim k As Single
For j = -100 To 100
    For k = -100 To 100
        If Int(Rnd * (100 / Val(txtDistFactor.Text))) = 1 Then
            pctField.PSet (j, k), &H8080FF
            WormsGrid(j, k) = 1
            WormsNumber = WormsNumber + 1
        End If
    Next k
Next j
End Sub

Sub CenterForm(frm As Form)
    frm.Move (Screen.Width - frm.Width) \ 2, (Screen.Height - frm.Height) \ 2
End Sub

Sub draw_cone()
Dim X As Single
Dim Y As Single
Dim Alpha_max As Double
Dim Alpha_min As Double
Dim range As Long
Dim answer As Single
Dim r As Integer
On Error Resume Next
range = 5 * Val(txtWindSpeed.Text) * Val(txtPoleHeight.Text) / Val(txtFallSpeed.Text)
Alpha_max = -Val(txtWindAngle.Text)
Alpha_min = Val(txtWindAngle.Text)
For r = 1 To Int(range)
    'build sides of cone
    X = Int(r * Cos(Alpha_min * 3.1416 / 180))
    Y = Int(r * Sin(Alpha_min * 3.1416 / 180))
    If X > 100 Then
        X = -100 + (X - 100) 'Thorical space
    End If
    If Y > 100 Then
        Y = -100 + (Y - 100) 'Thorical space
    End If
    If Y < -100 Then
        Y = Y + 200 'Thorical space
    End If
    pctField.PSet (X, Y), vbBlue
    pctField.PSet (X, -Y), vbBlue
Next r
For r = -50 To 50
    'build chord of cone
    X = Int(range * Cos(Alpha_max * (r / 50) * 3.1416 / 180))
    Y = Int(range * Sin(Alpha_max * (r / 50) * 3.1416 / 180))
    If X > 100 Then
        X = -100 + (X - 100) 'Thorical space
    End If
    If Y > 100 Then
        Y = -100 + (Y - 100) 'Thorical space
    End If
    If Y < -100 Then
        Y = Y + 200 'Thorical space
    End If
    pctField.PSet (X, Y), vbBlue
Next r

    If Err.Number = 9 Then
        answer = MsgBox("Wind speed too high. Enter a smaller value", vbOKOnly, "Shoot simulation
sequence") 'Coordinates outside limit
    End If

End Sub

Function draw_image(index As Integer)
Dim myret As Long
pctField.Cls

```

```
create_all_patches
draw_cone
myret = BitBlt(pctField.hDC, 0, 0, pctField.ScaleWidth / Screen.TwipsPerPixelX,
pctField.ScaleHeight / Screen.TwipsPerPixelY, pctField.hDC, 0, 0, vbSrcCopy)
Debug.Print myret
pctField.Refresh
SavePicture pctField.Image, filedestination + "\" + txtFileName.Text + "_image" +
CStr(index) + ".bmp"
End Function
```