



Estudios genéticos y
comportamentales sobre la mosca
sudamericana de la fruta
(*Anastrepha fraterculus*)

**Tesis presentada para optar al título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires en el área biología.**

Paula Valeria Gómez Cendra
Director de Tesis: Dr. Juan César Vilardi
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
Universidad de Buenos Aires

Buenos Aires. 2007.

Estudios genéticos y
comportamentales sobre la mosca
sudamericana de la fruta
(*Anastrepha fraterculus*)

Dedicado a Papá y Mamá,
mis estrellas.

Agradecimientos:

Antes que nada, a Dios, por permitirme hacer una cosa así.

A las instituciones, que me permitieron formarme y que financiaron la realización de mi trabajo de tesis; La Universidad de Buenos Aires, mi querida universidad pública que me permitió cursar mi carrera; la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y el CONICET, que me otorgaron las becas que me permitieron trabajar en lo que me gusta.

Al Dr Juan César Vilardi, por la dirección de esta tesis, pero también por ser un excelente profesional, docente y por sobre todas las cosas, una fantástica persona que siempre estuvo dispuesto a repartir buenos consejos y tuvo lista una palabra amable.

A la Dra Beatriz Saidman, que me brindó un espacio en su laboratorio y me acogió con la mayor amabilidad y cariño, tanto en ese ámbito como en la materia que dicta.

Al Dr. Jorge Cladera y todo su grupo en el INTA (Teresa Vera, Diego Segura, Mariana Viscarret, Fabián Milla, y todos los que pasaron por ahí) por todo su invaluable apoyo en los trabajos efectuados en esta tesis, por cederme gentilmente el espacio y material que necesitaba y por generar un ambiente de cordialidad que hizo el trabajo allí enormemente grato. A Teresa un agradecimiento extra por el envío de pupas desde Tucumán y por el apoyo moral que me brindó más de una vez.

A Armando Allinghi por toda su buena onda, su enorme esfuerzo y ganas de trabajar y, por supuesto, por la irradiación de las pupas en la CNEA

A la Dra Graciela Calcagno, por ayudarme muchísimo en mi formación y por regalarme su amistad. Por sus mates y sus charlas.

A la licenciada Roberta Sciurano, por sus gentiles explicaciones y su apoyo en la parte de morfometría.

A Laura Belluscio, por su colaboración en el estudio del cortejo, por ser una persona encantadora, que hizo cada hora de trabajo más amena.

A las Dras. Viviana Confalonieri y Liliana Mola, que me apoyaron en la docencia en su materia, que siempre tuvieron un gesto amable y una palabra de aliento. A todos mis compañeros de Genética I, especialmente al Dr. Sergio Rodriguez Gil, que no me dejó distraerme de la elaboración de esta tesis.

A la Dra. María Isabel Remis, por su amabilidad, calidez y por repartir sabiduría sin jactarse de ello.

A Amalia, Vero, Sara y Paola, que enfilaron a otros rumbos, pero que aún dejaron su amistad y montones de excelentes momentos. A Pablo y Santiago, que enfrentan la realidad de la presencia femenina multitudinaria con buena onda e inteligencia, siempre con una conversación interesante en la punta de la lengua.

A las que todavía están trabajando conmigo. Andrea, Laura, Ceci, Caro, Noelia, Naty, Carla y las recién llegadas, Vicky, Laurita y Rosario, por compartir conmigo las dificultades y los buenos momentos de esta vida que elegimos. Por el esfuerzo cotidiano, por los cafecitos y almuerzos llenos de risas, por bancarme en mis malos ratos, por ser amigas.

A Marcela Rodríguez, por ser una de las personas que más me entiende.

A mi abuela y mi bisabuela, que deben estar enloqueciendo al cielo de lo orgullosas.

A Esteban, mi compañero en este viaje. Por aguantar todas mis lágrimas, por llenar mi soledad, por haber reído cada risa conmigo y por haberme sacudido cuando era necesario. Por ser al mismo tiempo mi pareja del trapecio, la red y el público que festeja.

A Ana...strephe, por ser tan interesante.

Estudios genéticos y comportamentales sobre la mosca sudamericana de la fruta (*Anastrepha fraterculus*)

Resumen

Anastrepha fraterculus (Wiedemann), la mosca sudamericana de los frutos, es un insecto fitófago que utiliza como sitio de oviposición y desarrollo de sus larvas los frutos de diversas especies, muchas de las cuáles tienen alto valor comercial. Por esta razón esta mosca constituye una plaga que produce pérdidas económicas considerables en nuestro país. Sin embargo, aún se conoce bastante poco sobre su biología. En el presente trabajo se intentó aumentar el conocimiento sobre factores que afectan la supervivencia de estas moscas y sobre las actitudes del cortejo que realiza el macho que resultan más beneficiosas para lograr la cópula. Entre las posibles aplicaciones de estos resultados, estaría el aumentar el conocimiento sobre la especie con miras a la implementación de la técnica de control de plagas conocida como Técnica del Insecto Estéril (TIE). Esta consiste en la liberación de grandes cantidades de machos esterilizados con radiación para que se apareen con las hembras de la naturaleza e impidan que estas dejen descendencia. En ese sentido es importante verificar la calidad de los machos criados en laboratorio y sus posibilidades de sobrevivir y aparearse en la naturaleza.

En este trabajo se evaluó, en primer lugar, la supervivencia relativa en jaulas de campo de individuos criados en laboratorio (algunos incluso irradiados) respecto a los

silvestres. Los resultados mostraron que los individuos de laboratorio sobrevivieron en promedio tanto como o incluso más que los silvestres, sin que se observaran efectos negativos de la cría artificial.

En segundo lugar se midieron ocho caracteres morfométricos comparando mediante estadística multivariada el fenotipo de las moscas de laboratorio con el de las salvajes. Además, se comparó el fenotipo entre los individuos sobrevivientes luego de ser liberados en jaulas de campo a la intemperie con el de individuos que no habían entrado a jaula, intentando hallar caracteres que pudieran ser blancos de la selección para longevidad. La comparación entre orígenes permitió identificar tres caracteres (ancho de cabeza, ancho de ala y largo del ojo que contribuirían en mayor grado a la diferenciación fenotípica entre las moscas salvajes y de laboratorio. Dichos caracteres presumiblemente habrían respondido al cambio ambiental asociado con la adaptación de las moscas a la cría artificial. Al analizar la relación entre los rasgos morfométricos y la supervivencia, en los animales de laboratorio los resultados indicaron que el largo de ojo sería seleccionado favorablemente. El efecto del tamaño general del cuerpo no resultó del todo concluyente, ya que hubo diferencias entre los grupos. Las hembras silvestres sobrevivientes tendían a poseer alas y ojos más largos y cara y alas más estrechas, indicando que estos caracteres serían seleccionados. Finalmente, se analizó el cortejo de los insectos de laboratorio, se caracterizaron las actitudes más típicas y se intentó establecer cuál sería la secuencia de actividades que asegurara el éxito copulatorio. El resultado indicó que no habría una secuencia única, sino una gran variación en los patrones de actividades durante el cortejo. Sin embargo, generalmente los machos, en los instantes previos a la cópula asumen una posición típica denominada "arrowhead". Además hubo diferencias en los tiempos dedicados a diferentes actividades entre individuos exitosos y no exitosos. Globalmente pudo concluirse que

los individuos que permanecían más estáticos lograban la cópula en menor proporción que los más activos y que más intentos hacían por lograrla.

Palabras claves: *Anastrepha fraterculus* – control genético – cortejo – morfometría.-
supervivencia - TIE

Genetic and behavioral studies about the South American fruit fly (*Anastrepha fraterculus*)

Abstract

Anastrepha fraterculus (Wiedemann), the South American fruit fly, is a phytophagous insect that uses as egg laying and larval development site the fruits of diverse species, many of them of high commercial value. For that reason, this fly is regarded as a pest that causes serious economical losses in our country. Nevertheless, its biology remains quite unknown. In the present study, we tried to enlarge the knowledge about factors concerning survival of these flies, and the male activities during sexual courtship that determine the ability to reach copulation. Enhancing knowledge about the biology of this species could help to implement a pest control technique named Sterile Insect Technique (SIT). It consists in releasing large numbers of males previously sterilised by using gamma radiation, in order to mate with wild females, preventing them to reproduce. On that way is very important to verify laboratory reared male quality and its ability to survive and mate in the field.

In first place, this study evaluated relative survival on field cages comparing laboratory reared flies (some of them previously irradiated) with wild ones. Results showed that laboratory individuals may survive as long as or even longer than wild ones, without any evidence of negative effects of artificial rearing.

In second instance, eight morfometric traits were measured and phenotype of flies from both origins were compared by using multivariate statistics. Besides, phenotype of non released individuals was compared with survivors after releasing into outdoors field cages, intending to find characters that could be target of selection for longevity. Between origin comparison allowed the indentification of three characters (width of head, width of wing and length of the eye) that contribute most to phenotypic differentiation between laboratory and wild flies. These traits could have responded selectively to environmental change throughout the adaptation to artificial rearing. When relationship between morfometric traits and survival was under analysis results showed that in laboratory flies eye lenght could be selected for. The effect of body size on survival was not conclussive, as differences were found among groups. Survivor wild females tend to have bigger wings and eyes and reduced wing and face width. Finally, courtship of laboratory insects were studied. Typical activities were identified trying to identify the sequence of activities that lead to copulatory success. Results did not show a single sequence but a wide variation in activity patterns during courtship was recorded. Nevertheless, successful males in most of the cases assume a typical position named “arrowhead” in the instants preceding copulation. Moreover, differences between succesful and unsuccessul individuals were detected for the time spent in each activity. In sum, it was established that less mobile individuals have lower chance to reach copulation than more active males that make more copulation attempts.

Keywords: *Anastrepha fraterculus* – genetic control -courtship – morfometry – survival- SIT

INTRODUCCIÓN



Anastrepha fraterculus (Wiedemann) (figura1), conocida vulgarmente como la mosca sudamericana de los frutos, es un insecto que utiliza como sitio de cría y alimentación varias especies frutales, muchas de las cuales presentan un importante valor comercial. Por esta razón y su capacidad colonizadora, esta mosca constituye una plaga que produce pérdidas económicas de importancia en gran parte de las regiones de producción de frutales de nuestro país. Sin embargo, a pesar del interés económico y de los avances efectuados en los últimos años, aún se conoce bastante poco sobre la biología de esta especie. El presente trabajo constituye un aporte al conocimiento de la misma, especialmente en lo que respecta a su comportamiento sexual y a la supervivencia individual y se integra a un trabajo interdisciplinario en el cual participan varias instituciones, como la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (FCEN), el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes (EEAOC) de la Provincia de Tucumán, y la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA). Estas investigaciones contribuyen al Programa de Control y Erradicación de Moscas de los Frutos (PROCEM) coordinado por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA).

INTRODUCCIÓN

Figura 1. *Anastrepha fraterculus*, la mosca sudamericana de la fruta. Detalle de un macho (izq.) y una hembra (der.) en los árboles utilizados en la experiencia.



Taxonomía

La clase Insecta comprende 28 órdenes, incluyendo Diptera, en el que se encuentra la familia Tephritidae. Uno de los representantes más importantes de esta familia en América es el género *Anastrepha* (Schiner). Dentro de este género existe un complejo de especies, denominado **grupo fraterculus**, al cual pertenece *A. fraterculus*.

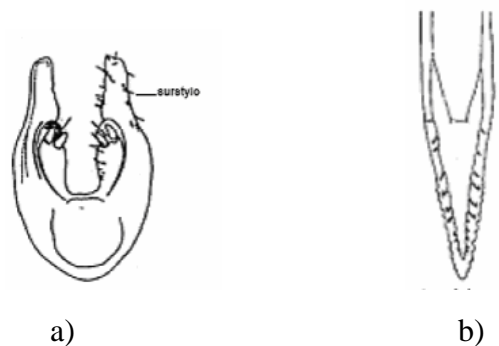
Existen aproximadamente ciento ochenta especies en este género, varias de las cuales revisten importancia económica ya que constituyen importantes plagas (Norrbon y Kim 1988, Steck 1991, Hernandez-Ortiz 1992, Aluja 1994). Dentro de este grupo se encuentra *A. fraterculus* que ocasiona importantes daños a los cultivos frutihortícolas en regiones templadas y tropicales de América. Esta especie fue originalmente ubicada en el género *Dacus* por Wiedemann (1830) y transferida posteriormente al género *Anastrepha*, creando así una discordancia en el género de las palabras *Anastrepha* (femenina) y

INTRODUCCIÓN

fraterculus (masculina), que resulta contraria a la normativa en nomenclatura taxonómica (Zucchi *et al.*, 1999).

La identificación específica de los adultos del grupo *fraterculus* se basa principalmente en el patrón alar y caracteres de la genitalia de la hembra (longitud del ápice del *aculeus* y la distancia entre el fin de la abertura genital y el inicio de la parte dentada). La identificación de los machos es dificultosa y en algunas especies no se ha completado aún la descripción de los caracteres diagnóstico, aunque en estudios recientes se han encontrado caracteres de su genitalia que serían útiles para la identificación y el análisis de las relaciones filogenéticas (Steck, 1999; Zucchi, 1999; Norrbom *et al.*, 2000; Weems, 2002). Un ejemplo extraído de las guías que muestran esos caracteres y otros como el aspecto de la la cabeza, tórax y abdomen, aparece en las figura 2 y 3 (Tejada Hurtado). Además, algunos de los caracteres que, según Caraballo (2001), son necesarios para la identificación de los adultos, y que tienen que ver con el diseño y color del tórax y las bandas de las alas se muestran en la figura 4.

Figura 2. a) genitalia masculina de *A. fraterculus*, mostrando la posición de los surstyli, que ayudan al macho a sostener a la hembra durante la cópula b) punta del aculeus (ovipositor). La longitud total del aculeus es de 1,4 a 1,9 mm. Su punta (entre 0,20 y 0,28mm.) lleva 7 a 14 denticillos en el extremo apical. (Extraído de Tejada Hurtado, Manual de Identificación Taxonómica: Especies de Anastrepha mas frecuentes en trampas McPhail.)



INTRODUCCIÓN

Figura 3. a) cabeza, b) noto y c) tergo de *A. fraterculus*, mostrando su diseño. El noto carece de las manchas negras que aparecen en otras especies y el tergo es de color uniforme, castaño anaranjado. (Extraído de Tejada Hurtado, Manual de Identificación Taxonómica: Especies de Anastrepha mas frecuentes en trampas McPhail.)

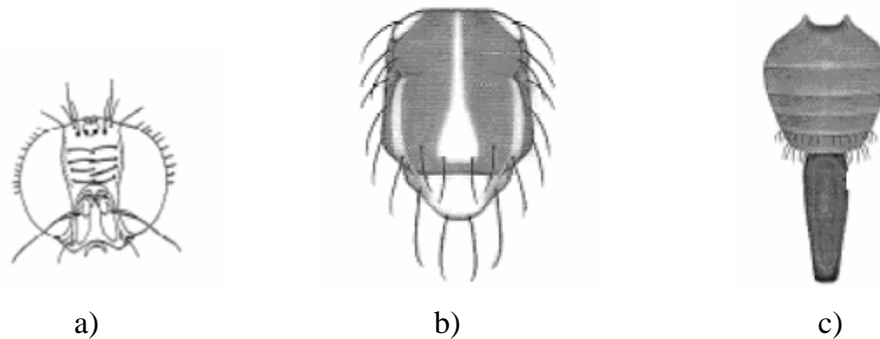
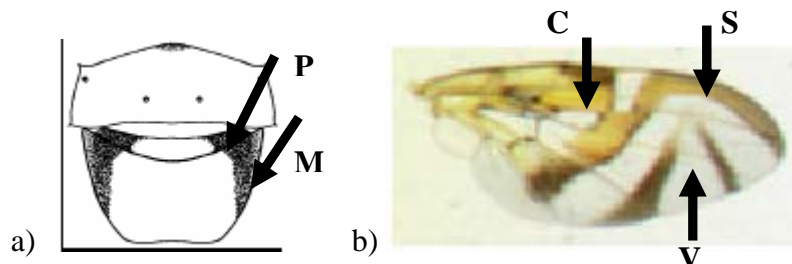


Figura 4. Adultos de *A. fraterculus*. a) Metanoto (M) y a veces el postescutelo (P) poco o fuertemente oscurecidos lateralmente. b) Diseño alar con la banda V completa y separada de la banda S, bandas C y S unidas. (Caraballo J. 2001. Diagnosis y clave pictórica para las especies del género Anastrepha Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae) de importancia económica en Venezuela.)



Los estudios taxonómicos de *A. fraterculus* mostraron una importante variación entre poblaciones, tanto a nivel de sus características morfológicas como en lo que respecta a su ecología. Al utilizar marcadores bioquímicos, genéticos y moleculares también se observaron diferencias entre regiones geográficas. De hecho, los estudios morfológicos sobre la especie resultan complicados ya que existe una notable variación en rasgos

INTRODUCCIÓN

esenciales como la coloración de las alas o la forma del ovipositor (Stone 1942, Baker 1945, Zucchi 1981, Hernandez-Ortiz et al. 1999). Varios autores (Stone 1942, Baker et al. 1944, Morgante et al. 1980, Solferini and Morgante 1987, Steck and Sheppard 1993, Selivon 1996, Selivon et al. 1997, 1999, 2001) propusieron que, en realidad, bajo el nombre *A. fraterculus* se engloban varias especies sinmórficas. En coincidencia con este punto de vista, se observaron diferencias en la forma de los huevos y el comportamiento de forrajeo entre dos formas del complejo *A. fraterculus* consideradas especies sinmórficas (denominadas *sp. 1* y *sp. 2*) (Selivon et al. 1997, Selivon and Perondini 1998). Además, la idea se ha visto reforzada por otros marcadores. Por ejemplo, Mendes (1958) halló polimorfismos en el cariotipo de poblaciones de Brasil y México y Solferini y Morgante (1987) encontraron también variaciones cariotípicas entre poblaciones brasileñas. También se han detectado diferencias a nivel isoenzimático entre poblaciones de Venezuela y Brasil (Morgante y Malavasi 1985, Steck 1991). La diferenciación genética entre estos grupos de poblaciones fue confirmada por medio de la técnica de polimorfismos para la longitud de fragmentos de restricción (RFLP) de ADN mitocondrial. Esto llevó a postular la inexistencia de flujo génico entre las regiones de Venezuela y Brasil (Steck y Sheppard 1993). Por último, la idea de que *A. fraterculus* constituye un complejo de especies sinmórficas es sustentada por los estudios morfológicos, citogenéticos y del comportamiento de oviposición realizados por Selivon (2001) y los estudios sobre ADN de Infante-Malachias et al. (2001) y Suesdek-Rocha y Selivon (2001).

En el caso de las especies sinmórficas, uno de los mecanismos que determinarían el asilamiento reproductivo se relaciona con el comportamiento de cortejo (aislamiento etológico) (Dobzhansky 1937). De hecho, un concepto alternativo de especie biológica se basa en los sistemas específicos de reconocimiento necesarios para el apareamiento.

INTRODUCCIÓN

(Paterson 1978, 1985). Por lo tanto, el comportamiento sexual es la llave para definir una especie, ya que sólo los miembros del mismo grupo podrán atraerse y aparearse en forma exitosa. En lo que respecta a las poblaciones identificadas como *A. fraterculus* en la Argentina y sur de Brasil, las evidencias indican que corresponderían a la misma especie biológica (Alberti et al. 2002, 2007). Sin embargo, estas poblaciones difieren de las que se encuentran en otras regiones. Estas conclusiones resultan, por ejemplo, de los trabajos sobre isoenzimas y ADN mitocondrial de Alberti et al. (2002, 2007). Asimismo, estudios sobre compatibilidad reproductiva entre poblaciones de distintas regiones de Argentina (Petit-Marty et al. 2004a, b), no mostraron evidencias de aislamiento reproductivo. Por el contrario, los estudios de competición por el apareamiento realizados por Vera et al (2006) indican que habría incompatibilidad entre poblaciones de diferentes países, más alejadas geográficamente. La confirmación de estos resultados resulta fundamental, ya que, más allá de la evidencia indirecta que aportan los estudios genéticos y morfológicos la respuesta final sobre la entidad biológica de las poblaciones yace en el concepto biológico de especie. De hecho, el aislamiento reproductivo es el paso crítico en el proceso de especiación en organismos de reproducción sexual (Mayr 1963).

Por lo tanto, para dar una respuesta definitiva a la cuestión sobre el estatus taxonómico de *A. fraterculus* en el país es necesario evaluar directamente la compatibilidad reproductiva entre poblaciones diferentes. En particular resulta de sumo interés estudiar los distintos pasos del cortejo que el macho realiza para atraer a la hembra, a fin de poder identificar los comportamientos que llevan al éxito en el apareamiento y poder compararlos en las distintas poblaciones naturales y criadas en laboratorio.

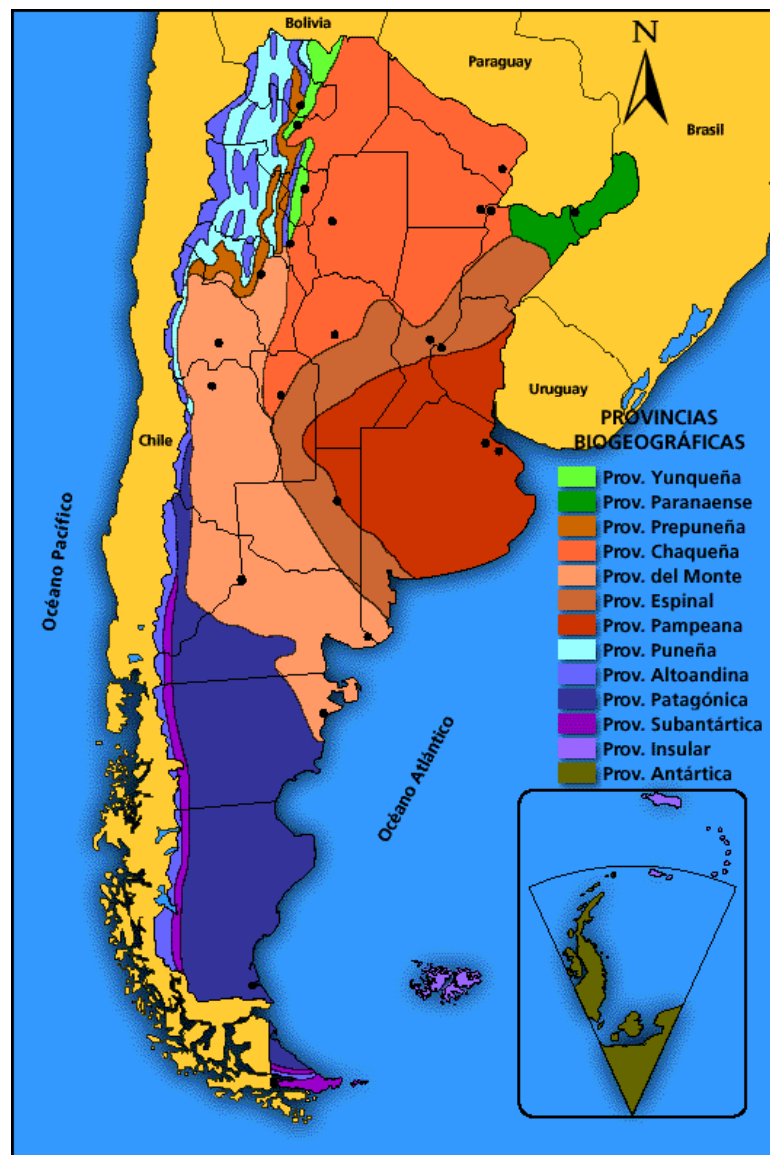
Distribución Geográfica

Anastrepha es un género de origen americano, que se encuentra ampliamente distribuido en las regiones cálidas del continente. En Sudamérica se encuentra en dos zonas: (1) Norte y Oeste, que incluye Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú, extendiéndose por el Norte hasta Guyana; (2) Este, que abarca parte de Brasil, Argentina, Uruguay y Paraguay (Steck, 1999; Manso & Basso, 1999). *A. fraterculus* se encuentra principalmente en las regiones tropicales y subtropicales, desde el sur de Estados Unidos hasta el centro de Argentina (Norrbom y Kim 1988, Steck 1991, Hernandez-Ortiz 1992, Aluja 1994, Vilardi et al. 1994).

Los fríos intensos y los accidentes geográficos como las montañas andinas, la cuenca amazónica y las tierras áridas del interior de Brasil constituyen barreras geográficas efectivas para el flujo génico en esta especie. En particular, en Argentina se la encuentra en abundancia en las regiones del Noreste (NEA) y Noroeste (NOA) (Vergani 1956), que poseen clima subtropical, cálido y húmedo (Cabrera and Willink 1980, figura 5). Aparentemente, esta distribución en el país sería el límite sur de las dos bandas separadas donde se distribuye este insecto en el continente (Salles 1995, Steck 1998). Entre estas bandas se extiende, en Argentina, la Provincia Biogeográfica del Chaco (Cabrera and Willink 1980), una zona extremadamente árida cuyas condiciones naturales no son aptas para el establecimiento de *A. fraterculus* y, por lo tanto, aparentemente su presencia se encuentra restringida a zonas reducidas, asociadas a la actividad antrópica (Alberti *et al.* 2002.)

INTRODUCCIÓN

Figura 5. Mapa de las provincias biogeográficas argentinas (Cabrera and Willink 1980).
(Extraído de <http://www.surdelsur.com/flora/biogeogr/promap.htm>)



En América, los géneros más perjudiciales para la economía agrícola son *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Rhagoletis* and *Toxotrypana*. (Landolt 1985, Enkerlin et al. 1989, Aluja 1994). En nuestro país, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), la mosca del Mediterráneo y *Anastrepha fraterculus* son las únicas dos moscas de la fruta de importancia económica, que las convierten en objeto de medidas cuarentenarias en Argentina. (Aruani et al. 1996).

INTRODUCCIÓN

Generan un importante perjuicio económico, estropeando partidas de frutales y limitando seriamente las exportaciones a países que tienen en vigencia políticas cuarentenarias, como Estados Unidos o Japón (SENASA 1998, Ovruski et al. 1999)

Aunque por sus requerimientos ecológicos y de utilización de recursos es frecuente la coexistencia entre la mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* y *A. fraterculus*, no es normal que moscas de las dos especies se encuentren en los mismos frutos, probablemente como consecuencia de la competencia interespecífica (Celedonio Hurtado et al. 1995, Duyck et al. 2004). De todas maneras, la permanencia de cada una de estas especies en determinado ambiente está relacionada no sólo con la temperatura sino también con la humedad y disponibilidad de hospederos (Segura et al. 2006). *A. fraterculus*, una especie nativa, se encuentra más frecuentemente en plantas nativas que en introducidas, donde resulta más común la presencia de *C. capitata*. Esta es una especie introducida, ya sea con las importaciones llegadas a Buenos Aires (Vergani, 1952) o en forma natural desde Brasil (González 1978). Por lo tanto no es sorprendente que esta mosca se encuentre frecuentemente en plantas cuyo origen ancestral coincide con el suyo propio, tales como el café (Harris and Lee 1989, Malavasi et al. 2000). Además, *A. fraterculus* es más abundante en los parches remanentes de vegetación silvestre, mientras que *C. capitata* parece tolerar mejor los ambientes sometidos a mayores disturbios y colonizados por especies introducidas. (Ovruski et al. 2003)

Importancia económica

El daño que produce *A. fraterculus* se debe principalmente a que los adultos utilizan los frutos como fuente de alimentación y también como sitio de cría. Aunque la alimentación de las larvas es la principal causante del perjuicio para el rendimiento de los

INTRODUCCIÓN

cultivos, también es importante el daño debido solamente a la perforación del fruto por parte de la hembra ya que los orificios provocados permiten el ingreso de organismos oportunistas nocivos (bacterias y virus), que pueden provocar un grave daño económico directo a las plantaciones. Esta especie es polífaga, y entre sus hospederos figuran cerca de 80 especies de plantas silvestres o cultivadas como café, mango, durazno, quinoto, varios cítricos y especies de la familia nativa Myrtaceae, como la guayaba (*Psidium guajaba* L.) y la *Eugenia* (Norrbom y Kim 1988, Hernandez-Ortiz y Aluja 1993). La importancia comercial de muchos de sus hospederos hace que esta mosca sea considerada una plaga muy destructiva y que lleva a la imposición de restricciones cuarentenarias en muchos países. (Steck 1998).

De todas maneras, es relevante mencionar que la determinación del estatus de hospedero de una planta no es una tarea sencilla. Por el contrario, requiere muestreos adecuados, determinaciones de especies hechas por expertos taxónomos, medición de grado de infestación expresado, por ejemplo, en número de larvas por fruta o kilo de fruta, etc. Además, debe tenerse en cuenta que los insectos modifican el uso de los recursos dependiendo de la disponibilidad de los mismos y, en muchos casos, también de las condiciones ambientales. Esto hace que algunas plantas pueden actuar en determinado momento como hospederos y en otros momentos no. Es por eso que Cowley et al (1992) propusieron un protocolo para verificar el estatus de una planta que no sólo toma en cuenta los muestreos sino también ensayos en laboratorio y jaulas de campo

Además, hay que tomar en cuenta que los hospederos pueden variar de un año a otro de acuerdo a las condiciones reinantes, por lo que los estudios tendientes a reconocerlos deberían basarse en datos de varios años (Aluja 1996, 1999)

INTRODUCCIÓN

En Argentina, los estudios de Ovruski et al. (2003) muestran una tendencia a utilizar como hospederos las plantas nativas, como el nogal criollo (*Juglans australis* Grisebach) o el arrayán (*Eugenia uniflora* L.), lo que probablemente se deba a la competencia por el recurso con *C. capitata* (Wiedemann), que parece preferir los hospederos introducidos. Sin embargo, las guayabas y varias especies del género *Prunus*, como ciruelas y duraznos, son utilizados ampliamente por *A. fraterculus*, pese a tratarse de plantas introducidas. En lo que respecta a los cítricos, existen muy pocos casos registrados de infestación de los mismos por *A. fraterculus* en Argentina. Normalmente el único que es afectado es el pomelo (*Citrus paradisi* Macfadyn) aunque, esporádicamente, también ataca a la naranja agria (*C. aurantium* L.) (Ogloblin 1937, Putruele 1996).

Oroño et al. (2005) reportaron dos nuevos hospederos silvestres. Se trata de dos especies de árboles autóctonos del NOA, *Chrysophyllum gonocarpum* (Mart. et Eich.) Engler (Sapotaceae) e *Inga marginata* Willd. (Fabaceae). El primero, que recibe el nombre vulgar de Aguay, fructifica en primavera, mientras que el segundo, que recibe los nombres de “pacay” o “Inga del cerro”, lo hace en verano (Legname, 1982), de esta manera ambos pueden funcionar como hospederos incluso de las mismas poblaciones de *A. fraterculus*.

La amplia variedad de hospederos destaca la importancia de desarrollar técnicas de control y erradicación de la plaga sin generar gran impacto ecológico. Las pérdidas que causan *A. fraterculus* y otras especies como *C. capitata* pueden dividirse en directas, es decir, las que afectan directamente a los vegetales en el campo reduciendo la cosecha útil, e indirectas, afectando la industria frutihortícola por las restricciones cuarentenarias que impiden la exportación a países libres de moscas de los frutos. Por lo tanto, la necesidad de controlar estas plagas resulta evidente.

INTRODUCCIÓN

Ciclo Biológico

Anastrepha fraterculus, como todos los dípteros, es una especie holometábola, es decir, que presenta metamorfosis completa. Su ciclo biológico incluye las etapas de huevo, tres estadios larvales, pupa y adulto. El ciclo puede describirse a partir del momento en que la hembra inseminada inserta su ovipositor en un fruto y deposita un conjunto de huevos. Aunque los tiempos de desarrollo pueden variar según las condiciones ambientales el desarrollo sigue el siguiente modelo: Unos 4 días después de la oviposición emergen las larvas, que se alimentan de la pulpa de los frutos. Los tres estadios larvales se completan dentro del fruto en aproximadamente 16 días. Después de unos 20 días desde la puesta las larvas salen del fruto y se entierran en el suelo donde se transforman en pupas. Entre los 33 a 43 días, emergen los adultos cuya madurez sexual se alcanza luego de 10 a 15 días (Manso 1999, Salles 1999.) (Fig. 6)

Al alcanzar la madurez sexual, las moscas se aparean después de un *cortejo sexual* que incluye un llamado del macho mediante feromonas para atraer a la hembra. En general, esta especie regula su actividad diaria de manera que utiliza las primeras horas de la mañana para aparearse (Salles 1999), las horas de la tarde para la locomoción y las de la noche para descansar. Un estudio realizado por Petit-Marty et al. (2004a) en cuatro poblaciones naturales de Argentina confirmó que la mayoría de los apareamientos ocurren entre las 7:30 y las 9:00 de la mañana.

Concluida la cópula, la hembra se dedica a buscar un sustrato de oviposición adecuado, generalmente frutos que estén próximos a madurar (SENASA [eds.] 2001). La oviposición ocurre a lo largo del día, incluso el atardecer (Salles 1999). (fig. 7)

Por lo general, los huevos son de color blanco cremoso, de forma alargada y ahusada en los extremos, en promedio, de 1,4 mm de largo y 0,2 mm de ancho en el punto

INTRODUCCIÓN

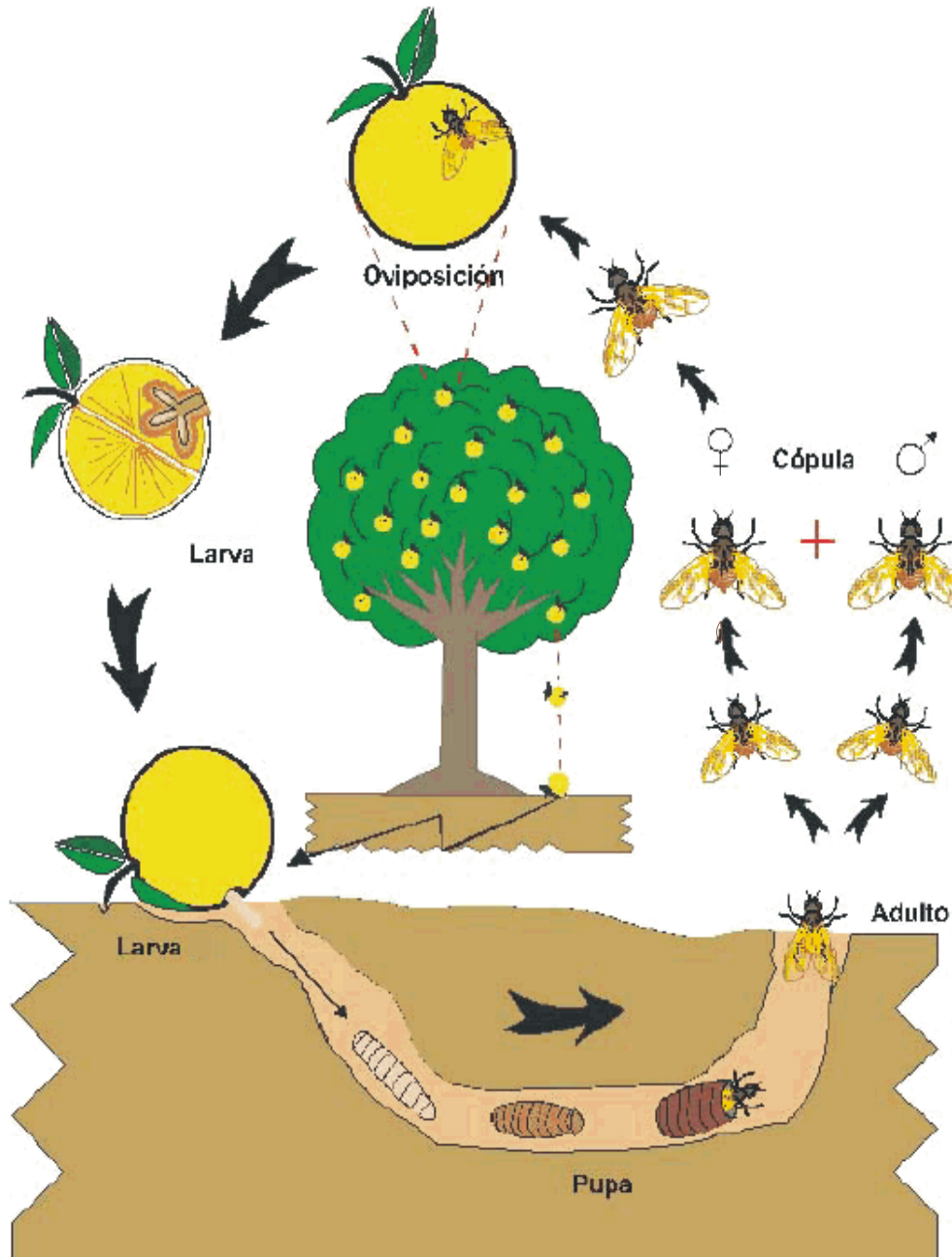
medio y se diferencian de los de otras especies de *Anastrepha* por su extremo micropilar retorcido y subapical (Fig. 8) (Weems 2002).

Los tres estadios larvales pueden diferenciarse por su tamaño. Son más anchos en la parte caudal que en la zona de la cabeza, color blanco o blanco amarillento y el cuerpo incluye once segmentos más la cabeza. Esta es pequeña, cónica y parcialmente retráctil (fig. 9a). Dependiendo del sustrato y de la competencia con otras larvas alcanzan un tamaño, en promedio, de 8 a 10 mm de largo y 1,5 mm de diámetro. Todo este proceso ocurre dentro o sobre el hospedero. Un cuarto estadio larval inmóvil dentro del pupario precede a la formación de la pupa., La pupación ocurre en el suelo una vez que la larva ha alcanzado un desarrollo completo (SENASA [eds.] 2001, Weems 2002). El tiempo que tarda la larva en llegar al suelo y empupar depende de la humedad y la compactación del mismo. Salles (1999) señala que en condiciones habituales de compactación del suelo (por ejemplo, debajo de un árbol de guayaba, *Psidium guajava* L.), todos los puparios se encuentran en los primeros 6 cm de profundidad. La pupa es cilíndrica de color amarillo rojizo a rojo oscuro, con 11 segmentos y un tamaño promedio de 4,5 a 6 mm de largo y 2 a 2,5 mm de diámetro (Weems 2002). (fig. 9b).

Para emerger, el adulto rompe el pupario con un órgano llamado *ptilinum*, localizado en su cabeza. Los machos emergen antes que las hembras; pero al final del día, se registra el mismo número de hembras y machos (Salles 1999).

INTRODUCCIÓN

Figura 6. Ciclo biológico, *Anastrepha fraterculus*. (Esquema extraído de SENASA [eds.] (2001) La mosca de la fruta, pp 11-20. En *Manual del Sistema Nacional de Moscas de la Fruta*. Programa Nacional de Moscas de la Fruta- Ministerio de Agricultura Servicio Nacional de Sanidad Agraria, Perú. www.senasa.gob.pe/Moscas/parte1)



INTRODUCCIÓN

Figura 7. macho de *Anastrepha fraterculus*. En segundo plano se observa una hembra oviponiendo. (Foto extraída de www.iaea.org.)



Figura 8. Huevo de *A. fraterculus*. **a)** comparación con huevos de otras especies de *Anastrepha*. **b)** extremo micropilar. (Dibujo extraído de: Division of Plant Industry, University of Florida. www.fsca-dpi.org/entomologists/weems.htm)

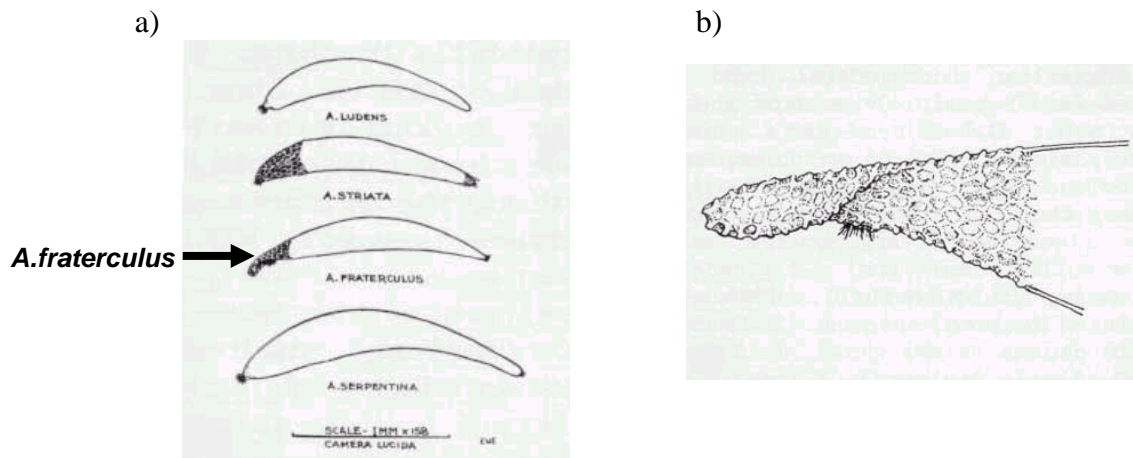
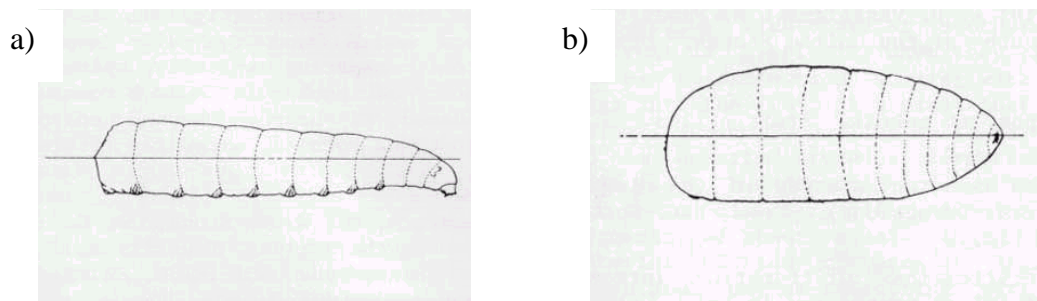


Figura 9. Larva y pupa de *A. fraterculus* **a)** Vista lateral de la larva. **b)** Vista lateral de la pupa. (Dibujo extraído de: Division of Plant Industry, University of Florida. www.fsca-dpi.org/entomologists/weems.htm.)



Comportamiento en el apareamiento:

En insectos de la familia Tephritidae, como los de los géneros *Ceratitis* y *Bactrocera* (Shelly & Wittier 1997, Shelly 2001), es frecuente encontrar un comportamiento conocido como formación de *lek*. Este consiste en agrupaciones de machos que liberan sus feromonas e intentan atraer a la hembra, que visita el lek con el único propósito de aparearse (Bradbury 1981, Shelly & Whittier, 1997). Es un comportamiento frecuente en grupos de animales tan variados como aves (Hoglund & Lundberg 1987) y mamíferos (Appolonio et al. 1989). En el caso de *Anastrepha fraterculus* la formación de leks ha sido analizada por Malavasi et al (1983) y estudiada en el país por Petit Marty et al. (2003) y Segura et al. (en prensa)

El cortejo que realiza el macho, entonces, no debería estar sólo destinado a atraer a una hembra sino también a mostrar la ventaja que el macho presenta respecto a los otros integrantes del mismo lek, de manera de favorecer la elección de la hembra. Es razonable pensar que es una parte importante de la vida de cada individuo y que está directamente relacionado con su valor adaptativo, ya que si el macho no consigue ser elegido por alguna hembra no podrá dejar descendencia. El cortejo en otras especies relacionadas, como *C. capitata*, resulta complejo y su importancia es notoria por la gran cantidad de tiempo y energía que el macho consume en el mismo (Calcagno et al. 1999, 2002).

Calcagno y Vilardi (2001), en un estudio preliminar, observaron diferentes fases del cortejo de *A. fraterculus* y los clasificaron en dos grandes grupos: 1) los que implican actividades a larga distancia y 2) los que involucran actividades a distancias muy cercanas.

Entre los primeros, que ocurren normalmente en la cara abaxial de las hojas, incluyeron

INTRODUCCIÓN

- a) *Calling* (llamado) : caracterizado por la presencia de una gota de feromona visible al final del abdomen y que puede acompañarse por la expansión la región pleuro-abdominal, donde se encuentran las glándulas pleuro-abdominales laterales. Es frecuente que el macho se mueva tocando la hoja como si estuviera realizando un marcaje con sus feromonas. Esta actividad ocurre casi exclusivamente por la mañana.
- b) *wing fanning* (apantallamiento con las alas) : el macho produce una vibración continua de las alas que, supuestamente, facilita el esparcimiento de las feromonas.

Al acercarse la hembra, se desarrollan las actividades a corta distancia, entre las cuales encontraron:

- a) el macho mueve las alas hacia abajo para cubrir su abdomen y a veces presiona sus ampollas pleurales con las alas. Además, extiende su proboscis tocando la hoja.
- b) la hembra desarrolla movimientos circulares lentos hacia la derecha y la izquierda.
- c) *wing signaling* (señales con las alas): el macho y la hembra se posicionan cara a cara y realizan lentos movimientos con las alas
- d) *copulation attempt* (intento de cópula): el macho salta sobre la hembra, intentando copular. Si ésta es receptiva, lleva su ovipositor hacia la parte dorsal mientras que el macho penetra su *aedeagus* en la genitalia femenina. Si no es receptiva, la hembra lleva su ovipositor hacia la hoja evitando la cópula.

INTRODUCCIÓN

- e) comportamiento durante la cópula: Mientras el macho está arriba de la hembra utiliza su primer par de patas rodeando el protórax femenino, su segundo par sosteniendo la región pleural del abdomen femenino y el tercero llevando el ovipositor hacia el dorso. A veces el macho toca la cabeza de la hembra con su proboscis.

Para comprender mejor el funcionamiento del cortejo y los procesos relacionados con la elección por parte de la hembra, es importante completar estos estudios preliminares, realizando observaciones detalladas y caracterizando completamente todas las actividades desplegadas por el macho durante el cortejo y estudiando la relación entre esas actividades y el logro de la cópula.

Técnica del Insecto Estéril

Tradicionalmente, la solución al problema económico planteado por el daño que estas moscas ocasionan a las cosechas presentó una de las siguientes variantes (Aluja 1994, SENASA [eds.] 2001):

1. Colocación de trampas Mc Phail. Estas consisten en recipientes de plástico con un atractivo alimenticio en su interior. Permite el trampeo de adultos para determinar la densidad poblacional de la plaga, su distribución y dispersión.
2. Aplicación de cebos envenenados para monitoreo y control
3. Tratamientos con fumigantes

Sin embargo, actualmente en el mundo y en particular en nuestro país se tiende al manejo integrado de plagas, que consiste en la aplicación simultánea de distintas técnicas para su control y erradicación. La experiencia ha demostrado además la conveniencia de

INTRODUCCIÓN

utilizar estrategias de control sobre áreas amplias (“area wide strategy”) en lugar de restringir el control a los huertos cultivados, evitando así las continuas reinfestaciones a partir de los refugios no cultivados (Hendrichs et al 2002).

En la Argentina se ha puesto en marcha desde 1994, el *Programa Nacional de Control y Erradicación de Moscas de los Frutos (PROCEM)* en el cual intervienen Organismos Oficiales Nacionales, Gobiernos Provinciales, Universidades y Asociaciones de Productores con el apoyo del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO). La estrategia del PROCEM es el manejo integrado de plagas. Las técnicas incluidas son; control cultural, químico, cuarentenario, biológico y genético. El primero se refiere a prácticas que reducen la disponibilidad de refugios para la plaga, tales como la cosecha y destrucción de todos los frutos, tanto de huertos comerciales como familiares. El control químico incluye venenos de rápida acción que previenen la oviposición por hembras adultas. Este método es nocivo para el ambiente e inespecífico (incluso puede afectar especies útiles como polinizadores). Además, estos productos van perdiendo eficacia ante la aparición de variantes genéticas más resistentes en la especie blanco. El tercero implica una serie de regulaciones cuarentenarias que limitan el traslado de frutas desde áreas infestadas a áreas consideradas libres de la plaga y tratamientos post-cosecha (tratamientos con frío o desinfectantes como el bromuro de metilo) que involucran un alto costo económico y administrativo. El cuarto método implica estudios complejos, pero es relativamente específico (se liberan parasitoides y predadores), no crea resistencia ni contamina, pero ha sido criticado por el riesgo de introducción de especies exóticas. Por último, el más específico, ambiental y ecológicamente amigable es el control genético.

INTRODUCCIÓN

En este caso, el método se denomina Técnica del Insecto Estéril (TIE) (Knipling 1959, 1968). Se basa en la producción y liberación masiva de insectos esterilizados por radiación gamma para que éstos compitan con los individuos salvajes por los apareamientos, de manera que no produzcan descendencia (Cunningham et al. 1980, Klassen et al. 1994). Es necesario liberar altos números de insectos estériles, de manera que la mayor proporción de las cópulas de los insectos salvajes ocurra con los estériles. Se considera normalmente que la saturación se alcanza cuando existen 100 machos estériles por cada hembra silvestre capturada con muestreo por trampas (García et al. 1999, Puche 2005)

La TIE presenta grandes ventajas. Es un método que sólo afecta la especie considerada, no libera tóxicos ni sustancias extrañas en el ambiente ni introduce nuevo material genético dentro de las poblaciones existentes debido a que los organismos liberados no pueden reproducirse. (Hendrichs et al., 2002). Además, el número de individuos liberados se ajusta en función de la respuesta de la población blanco (Benedict & Robinson 2003).

Los objetivos más importantes en su aplicación son producir y liberar adultos de óptima calidad, esterilizados por radiación gamma, en forma masiva para copular con los adultos salvajes con el fin de interrumpir el ciclo reproductivo causando una disminución irreversible en el tamaño de la población salvaje (Domínguez Gordillo, 1999; Robinson et al. 2002).

La técnica se implementó, por primera vez, a gran escala, en México para la erradicación de *C. capitata* y su éxito lo popularizó en otros países, donde ha logrado excelentes resultados atacando especies como el gusano barrenador *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera: Calliphoridae), controlado en el Norte de África.

INTRODUCCIÓN

(Lindquist et al. 1992), sur de Estados Unidos y América Central (Wyss 2000), la mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wiedemann) en Latinoamérica (Hendrichs et al. 1995) y la polilla *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) en Canadá (IAEA [Eds.] 2001).

Esta técnica es mucho más eficiente si sólo se liberan machos estériles, en vez de los dos sexos, por lo que resultan de gran interés los trabajos tendientes a desarrollar líneas de sexado genético (LSG) que permiten la separación automática de los sexos, economizando además gastos de producción y evitando los daños a las frutas que provocan las hembras, aún siendo estériles, (Rossler 2000, Wright et al., 2001).

En nuestro país, la especie perteneciente a la familia Tephritidae que más daños provoca a los frutales es *C. capitata*. Sobre ella se está aplicando exitosamente la TIE (Aruani et al. 1996, De Longo et al. 2000), con excelentes resultados en las regiones de Cuyo y Alto Valle de Río Negro. La eficiencia de los programas de control en estas áreas dependen del monitoreo continuo para evitar reinfestaciones desde otras regiones y de la utilización de líneas de cría masiva de alta calidad, capaces de competir eficientemente por el apareamiento con las hembras silvestres en condiciones de campo.

La posibilidad de aplicación de la TIE sobre *A. fraterculus* requiere criterios de evaluación basados en estudios sobre factibilidad, especificidad y fundamentalmente la seguridad de que los individuos estériles sean capaces de sobrevivir en el medio natural y aparearse con los silvestres y en ese sentido se espera que los datos obtenidos durante la realización de esta tesis resulten de utilidad. .

Relevancia de los estudios

Para poder aplicar la técnica del insecto estéril (TIE) es fundamental tener un conocimiento importante sobre la biología de la especie. Se requiere una buena información acerca de la estructura genética y el flujo génico entre poblaciones de distintas regiones. Asimismo, se debe profundizar en el comportamiento reproductivo y establecer los blancos de la selección sexual y de la selección para longevidad, así como los efectos de la esterilización por radiación gamma sobre estos componentes de selección.

Uno de los requerimientos principales de la TIE es que los insectos estériles sean capaces de sobrevivir en el campo y aparearse con los insectos silvestres. En este punto cobra suma importancia la capacidad de los machos esterilizados para interactuar con otros machos y conseguir ser elegido por la hembra (Partridge & Halliday 1984). Los modelos de la genética evolutiva y los avances en biología experimental proporcionan una visión amplia que contribuye a evaluar la factibilidad y eficiencia de la aplicación de esta metodología. Los experimentos de selección sexual en organismos modelos indican que los rasgos morfométricos parecen ser relevantes en la elección de la pareja durante el cortejo, como ocurre al menos en *C. capitata* (Norry et al. 1999, Kotiaho et al. 2001, Rodriguero et al. 2002a, b.). En nuestros trabajos previos (Petit-Marty et al. 2004a) verificamos que poblaciones de diferentes regiones de Argentina son totalmente compatibles entre sí. Sin embargo, como la cría masiva y el proceso de irradiación pueden reducir la capacidad de competir de los machos liberados (Shelly et al. 1994, Lance et al. 2000, Alphey 2002, Benedict & Robinson 2003) es necesario evaluar no sólo el comportamiento de cortejo sino también la supervivencia de estos insectos en la naturaleza.

La capacidad de aparearse fue estudiada en parte a través del análisis del cortejo. La

INTRODUCCIÓN

elección de pareja es un proceso evolutivo de gran importancia, ya que es un importante componente de selección. (Heisler et al. 1987). En una amplia variedad de especies, como ocurre en la mayoría de los tefrítidos, la hembra es la que elige uno entre varios machos. Esta forma de selección sexual (intersexual) conduce a la evolución de elaborados despliegues de los machos durante el cortejo, ya que las hembras pueden incluso resistirse al apareamiento y sólo aceptarlo tras ser “convencidas” por el comportamiento del macho (Holland & Rice 1998, Gavrilets et al. 2001; Kokko et al. 2003). Además, los criterios de elección de la hembra no son evidentes y pueden ocurrir antes o después de la cópula. Un ejemplo de elección precopulatoria es el de los primates: las hembras incitan la competición entre machos dando llamados copulatorios (Semple 1998). El caso de elección postcopulatoria corresponde a algunos animales cuyo cortejo continúa más allá de la cópula e influye en la hembra para retener o utilizar, preferentemente, el esperma del macho que está haciendo señales (Eberhard 1996, Belford & Jenkins 1998)

Se han propuesto varios modelos de evolución de la tendencia al apareamiento y que citan los beneficios directos (materiales) (ej. Heywood 1989, Hoelzer 1989, Kirkpatrick 1996, Iwasa & Pomiankowski 1999) en los que las hembras obtienen beneficios directos en un aumento de su fecundidad o una disminución de los costos energéticos, que favorecen dicha tendencia. Por lo tanto, para las hembras que eligen el apareamiento debe haber diferencias detectables entre machos en los beneficios que ellos ofrecen (ej. regalo nupcial, inversión parental) o en los costos que ellos reducen (ej. costos reproductivos de las hembras) (ej. Pitnick & García-González 2002, Heywood 1989). Aunque el mantenimiento de la variación entre machos en lo que afecta a los beneficios directos que ellos proveen es más fácil de entender, otros modelos se basan en el mantenimiento de la variación en la calidad genética (beneficios indirectos). Esta es la explicación más aceptada en aquellos

INTRODUCCIÓN

casos en que los beneficios directos parecen ausentes. Los machos más aptos y las hembras que se aparean preferencialmente con ellos tendrán una descendencia que heredará los genes asociados a ambas características: aptitud y preferencias en el apareamiento.

Además, la elección del apareamiento evolucionaría por un proceso conocido como conducción sensorial, explotación sensorial, tendencias preexistentes o trampas sensoriales (Endler & Basolo 1998). Las trampas sensoriales se refieren a las señales del macho que imitan el estímulo al cual la hembra responde en otros contextos y desata comportamientos en la hembra que estimulan una fertilización del macho exitosa (Christy 1995). Los intereses que emplean las trampas sensoriales son ventajosos para la hembra fuera del contexto de la elección del apareamiento. Existe la posibilidad de que la similitud entre el olor de las feromonas y la fruta (Light et al. 1992, Howse & Knapp 1996) se deba a que aquéllas constituyan trampas sensoriales que explotan las sensibilidades preexistentes de las hembras y la atracción hacia los sitios de oviposición (West-Eberhard 1984, Ryan 1990, Christy 1995). El proceso de explotación sensorial explicaría también, la gran variedad de regalos nupciales que se manifiestan en insectos (Thornhill 1976, Vahed 1998). Los regalos nupciales evolucionarían como una forma de trampa sensorial que explotan la motivación para alimentarse (Christy 1995).

La conducción sensorial proveería el empuje inicial necesario para iniciar la coevolución despliegue-elección (Arak & Enquist 1995, Payne & Pagel 2000). Dicho empuje inicial se provee cuando las hembras incidentalmente responden a un rasgo que está correlacionado con la aptitud. Esta hipótesis de coevolución de los rasgos de los machos y las preferencias en el apareamiento de las hembras permite explicar el surgimiento, en un sentido filogenético, de la preferencia en la hembra antes que el rasgo preferido en el macho (Basolo 1995).

INTRODUCCIÓN

Para entender los procesos de evolución adaptativa, es necesario identificar y cuantificar la selección sobre un fenotipo multivariado en poblaciones naturales (Janzen & Stern 1998). Los **modos de selección** están probablemente mejor definidos en términos de los cambios en la distribución fenotípica causada por selección (Lande & Arnold 1983, Endler, 1986, Phillips & Arnold 1989). La relación entre la aptitud y el rasgo fenotípico puede describirse a través del cambio en la media de dicho rasgo dentro de una generación, lo que constituye a su vez la mejor definición de selección direccional. En el caso multivariado, la relación está dada por la regresión lineal parcial de la aptitud sobre un conjunto de caracteres (Lande & Arnold 1983, Phillips & Arnold 1989). La selección direccional es un proceso fundamentalmente lineal (Simpson 1953, Spiess 1977). Los otros modos de selección se definen en términos de relaciones no lineales entre la aptitud y los rasgos que causan cambios en los momentos secundarios y mayores de la distribución fenotípica. Por lo tanto, existirían dos modos de selección fundamentales: direccional (lineal) y no lineal (Phillips & Arnold 1989).

La aptitud no se mide directamente sino que se estima mediante la cuantificación de rasgos relacionados que incluyen los componentes de aptitud, como la fertilidad y/o la fecundidad. La supervivencia o el éxito en la cópula o en el apareamiento son frecuentemente utilizados como estimas de la aptitud en el estudio de selección (Brodie III et al. 1995). En este trabajo se han considerado como indicios de éxito la supervivencia durante mayor cantidad de días en jaulas de campo y el éxito copulatorio y se evaluaron a través de la **regresión lineal múltiple** de la aptitud relativa (variable dependiente o respuesta) sobre caracteres morfológicos o comportamentales (variables independientes o predictoras). La representación gráfica de la selección está, generalmente, limitada a uno o dos rasgos por la dificultad de representar, visualmente, más de tres ejes simultáneamente,

por lo que se suele utilizar el método de **componentes principales**, pese a que no está comprobado que la selección actúe sobre los ejes principales de la variación fenotípica y es difícil trasladar los resultados de la selección sobre componentes principales a los de la selección sobre los rasgos originales (Brodie III et al. 1995).

En definitiva, tanto la discusión sobre el estatus taxonómico de *A. fraterculus* como la posibilidad de aplicación de la TIE requieren numerosos estudios. Entre ellos, los relacionados con la supervivencia de los insectos esterilizados, los rasgos relacionados con esa supervivencia y la capacidad de los mismos de cortejar exitosamente a las hembras.

Objetivos planteados e hipótesis de trabajo.

- Aumentar el conocimiento general sobre la biología de *A. fraterculus*.
- Diseñar un método para el estudio de la longevidad relativa de insectos coexistentes, que permita evaluar los efectos de la selección sobre longevidad y cuyos resultados puedan extrapolarse a las condiciones naturales
- Estudiar, a través de dicho método la supervivencia de *A. fraterculus* criadas en laboratorio respecto de moscas silvestres de la misma especie, analizando también la influencia de la irradiación esterilizante. .
- Medir caracteres morfométricos e identificar aquellos relacionados con la supervivencia.
- Caracterizar el cortejo que realiza el macho para atraer a la hembra, identificando sus comportamientos más frecuentes

INTRODUCCIÓN

- Medir el tiempo que el macho dedica a cada actividad del cortejo y verificar si existen actitudes relacionadas directamente con el éxito reproductivo.
- Aportar información relevante a los efectos de implementar la Técnica del Insecto Estéril para el control de *A. fraterculus*.

A fin de alcanzar estos objetivos se enuncian las siguientes hipótesis generales:

1. Los procesos de deriva genética y presión selectiva diferencial inherentes a la adaptación a las condiciones de cría artificial prolongada modifican la asociación entre el fenotipo multivariado y la eficacia biológica.

2. Los individuos, seleccionados para sobrevivir y reproducirse masivamente en el laboratorio podrían no estar bien adaptados para la competencia en condiciones naturales, tanto por el efecto directo de los factores ambientales como por la competencia con los individuos silvestres adaptados al medio natural.

3. La irradiación para inducir la esterilidad de moscas de las líneas de cría en laboratorio, con miras a su aplicación en la Técnica del Insecto Estéril, puede afectar negativamente la competitividad de las mismas en condiciones naturales

4. El éxito en alcanzar el apareamiento depende del patrón de actividades exhibidas por el macho durante el cortejo.

Y a partir de esas hipótesis generales se plantean las siguientes hipótesis nulas particulares a contrastar:

INTRODUCCIÓN

- 1.No existen diferencias significativas en la supervivencia en jaulas de campo de individuos silvestres o criados en laboratorio, independientemente de si estos se encuentran o no irradiados.
- 2.No existen diferencias significativas entre los caracteres morfométricos medidos en conjuntos de individuos recuperados tras distintos días en jaulas de campo.
3. Los machos que, en las condiciones de la experiencia, logran copular y los que no lo logran, no dedican tiempos significativamente diferentes a cada actividad del cortejo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Longevidad:

En este ensayo se comparó la supervivencia relativa de moscas de distinto origen, y algunas de ellas irradiadas, en jaulas de campo.

Material biológico:

Se evaluaron dos poblaciones. La primera, de origen natural y la segunda, una línea de laboratorio, mantenida desde 1997 en condiciones de cría semimasiva (Jaldo et al. 2001) en la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres de la Provincia de Tucumán. Para esa cría se utilizan jaulas como la que aparece en la figura 10.

Esta población de laboratorio se mantiene en condiciones estables (Temperatura: 25 ± 1 °C, Humedad relativa: 80 ± 10 % y fotoperíodo 12 horas luz:12 horas de oscuridad) (Vera et al, en prensa).

La población silvestre utilizada se formó a partir de larvas recolectadas en guayabas, *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). Se trataba de frutas de un bosquecito que crece naturalmente en Horco Molle, ($26^{\circ} 48' S$, $65^{\circ}20' W$), también en la provincia de Tucumán. La colección se realizó en la época del pico de fructificación de las guayabas de este sitio, que ocurre de mediados a fines de febrero. Las frutas se colocaron en bandejas con arena seca, a fin de permitir la formación de pupas. Periódicamente la arena se tamizó y las pupas se transfirieron a frascos de vidrio.

Las pupas obtenidas de ambas poblaciones se enviaron al Laboratorio de Insectos del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Castelar, Buenos Aires, $58^{\circ}40' W$, $34^{\circ}40' S$), donde se mantuvieron en frascos de vidrio de 3 litros de capacidad, con tapa de poliuretano, y en cámara de cría en condiciones controladas de

MATERIALES Y MÉTODOS

temperatura ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) y humedad relativa ($70 \pm 5\%$) con el mismo fotoperíodo (12:12). La mitad de las pupas de la población de laboratorio se irradiaron 48 horas antes de la emergencia en el Laboratorio de Insectos del Centro Atómico Ezeiza (Comisión Nacional de Energía Atómica, Argentina). La dosis media utilizada fue de 70 Gy, aplicada a una tasa que iba desde 1.0904 a 1.0785 Gy/min. El irradiador utilizado fue un Gammacell 220 ^{60}Co y el proceso esterilizante se llevó a cabo a temperatura ambiente y presión normal. La irradiación bajo estas condiciones causa esterilidad total (Allinghi et al 2006, en prensa)

Figura 10. jaula de marco de acero (0.96 ´ 0.60 ´ 0.30 m), con paneles cubiertos de tela. El diseño de los mismos es similar al usado en *A. obliqua* (Dominguez 1998) Uno o dos días antes de la emergencia se colocan 8500 pupas por jaula. 10-14 días después los adultos, que se mantienen allí por 400 días, empiezan a oviponer. (Jaldo et al. 2001)



Sexado

Diariamente, los adultos que emergían eran separados y transferidos a nuevos frascos de 3 litros. Al día siguiente de la emergencia se los separaba por sexo y se les proveía agua y comida para adultos, a base de azúcar morena y proteína de maíz hidrolizada (Manso 1998). Esta dieta ha mostrado promover el normal desarrollo sexual en líneas de laboratorio (Manso 1998). El agua se colocó en recipientes de plástico transparente de 50cm³ de capacidad tapados para evitar su volcado y que permitían a las moscas beber el agua a través de una ranura practicada en la tapa plástica y por la que se pasó una mecha de gasa, que tenía la parte inferior sumergida en el agua y el otro extremo fuera del frasco. Por capilaridad las moscas lograban acceder al agua, al mojarse toda la gasa. Los frascos se mantuvieron en el laboratorio en condiciones controladas de temperatura (20-27 °C), humedad relativa (60 ± 20%) y fotoperíodo (12:12) hasta la liberación en jaulas de campo.

Marcación de las moscas

A fin de poder identificar el origen de las moscas al liberarlas en las jaulas, se las marcó con una gota de pintura al agua (Témpera Alba). Para eso, dos días después de la emergencia, las moscas se colocaron en bolsas de tul (de 1mm de tamaño de poro), se las inmovilizó cuidadosamente y se las marcó en el mesonotum utilizando un pincel fino. Se usaron cinco colores (azul, rojo, blanco, verde y Amarillo) que se cambiaban cada día de pintado, de manera que no siempre el mismo color correspondiera a la misma población. Las moscas ya marcadas se colocaron en frascos plásticos de 1 litro de capacidad, cubiertos con una tapa de tul y provisionados con agua y la misma

MATERIALES Y MÉTODOS

comida para adultos. En cada frasco se colocaron 25 moscas del mismo sexo, origen y edad. Estos recipientes plásticos fueron mantenidos en las mismas condiciones de laboratorio mencionadas para los frascos de vidrio.

Las moscas se liberaron en las jaulas dos días después del marcado con témpera.

Prueba de jaula de campo

La experiencia se llevó a cabo en el campo experimental del INTA Castelar, entre el 25 de marzo y el 8 de abril de 2004. La fecha para la realización del ensayo estuvo determinada por la posibilidad de obtener suficiente número de moscas salvajes. Se utilizaron 8 jaulas cilíndricas de malla de nylon (de 3 m de diámetro y 2,5 m de altura.). Cada jaula se colocó rodeando un árbol joven de mandarina, de una altura aproximada de 1,5 m. (figura 11) Todos los árboles presentaban un follaje similar y habían sido desprovistos de las frutas.

Durante la experiencia se registraron los datos meteorológicos (temperatura, humedad, velocidad del viento y heliofanía) cada hora en el Instituto de Clima y Agua, localizado a 2 km del sitio experimental, en el mismo INTA.

En cada jaula se colocaron dos frascos de 50 cm³ de capacidad provistos de gasas para permitir el acceso al agua, como se describió previamente. Como fuente de comida, se colocaron dos rodajas de durazno deshidratado, ensartadas en un alambre que colgaba del techo de la jaula cerca de la copa del árbol. (Ensayos previos en laboratorio habían indicado que esta fuente de alimento era adecuada a las necesidades de estos insectos.)

El primer día, que llamamos **día 0**, al amanecer, se liberaron en cada jaula 18 machos y 25 hembras salvajes. En cuatro de estas jaulas (#1, #2, #3 y #4) se colocó el

MATERIALES Y MÉTODOS

mismo número de machos y de hembras irradiados (estériles), de la población de laboratorio. En las restantes jaulas (#1', #2', #3' y #4') se liberó la misma cantidad de moscas de laboratorio pero no irradiadas. De esta manera, todas las jaulas tenían la misma cantidad de moscas, la mitad salvajes y la mitad de laboratorio.

Dos días después (**día 2**), al amanecer, se retiraron las moscas sobrevivientes de las jaulas #1 y #1'.) Se registró el número de moscas de cada sexo y origen recuperadas en cada jaula. El mismo día, las jaulas se volvieron a llenar con moscas de la misma edad que en día 0, manteniendo las mismas condiciones descriptas.

El mismo procedimiento se siguió el **día 4** con las jaulas #2 y #2', el **día 6** con las #3 y #3' y el **día 8** con las jaulas #4 y #4'.

De esta forma, todas las moscas recuperadas los **días 2 a 8** habían sido liberadas el **día 0** y constituyen, por lo tanto, sobrevivientes luego de 2, 4, 6 y 8 días respectivamente en las jaulas.

El **día 10** se vaciaron todas las jaulas, obteniéndose así de las jaulas #1, #2, #3, y #4 las moscas sobrevivientes después de 8, 6, 4 y 2 días respectivamente. Lo mismo sucedió en las jaulas #1', #2', #3', y #4'

En resumen, este protocolo permitió obtener, para cada grupo de moscas criadas en laboratorio (es decir, el grupo de las irradiadas y el de las no irradiadas) 2 réplicas para supervivencia relativa al grupo salvaje en 2, 4, 6 y 8 días respectivamente.

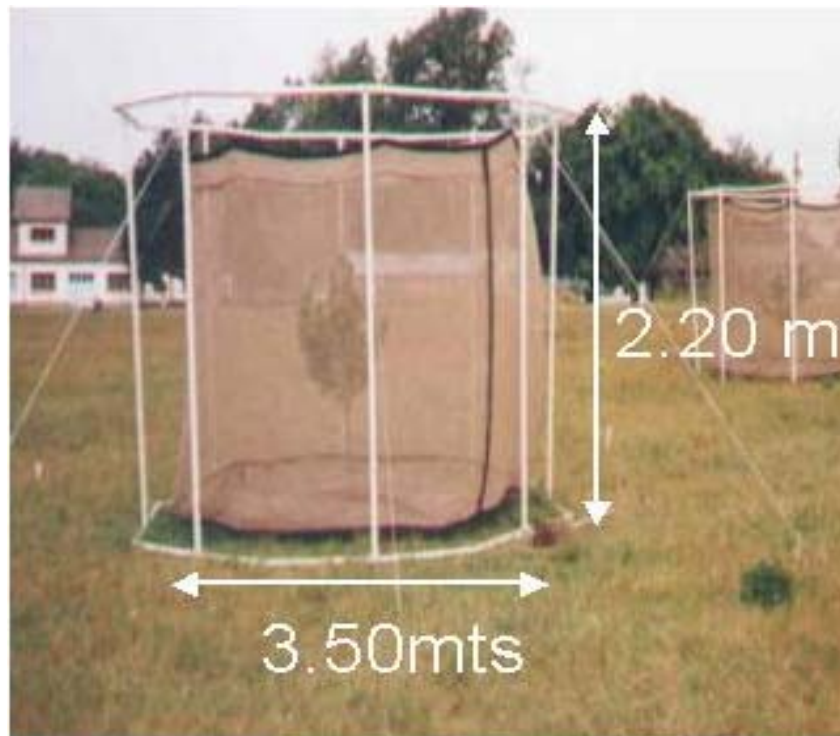
Se hizo una liberación adicional en el **día 11** en dos jaulas, una con insectos estériles y otra con insectos no irradiados, siempre en proporción 1:1 con los silvestres. Estas dos jaulas se vaciaron en el **día 13**, constituyendo una réplica extra para 2 días en jaula. Esta réplica permitió compensar el hecho de que, por falta de insectos emergidos, una de las réplicas previas para 2 días tenía insectos silvestres 3 o 4 días mayores que los de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

La falta de material biológico es responsable también de que en una de las replicas, correspondiente a 4 días en la jaula, se liberaran solo 22 hembras de la población de laboratorio y no irradiadas, en lugar de 25. También en la misma replica se liberaron 16 machos, en vez de 18. Estas modificaciones en los totales en jaula se tomaron en cuenta en el momento de estimar los valores esperados para el análisis estadístico.

No hubo posibilidad de repetir la experiencia para tener más réplicas debido a la falta de disponibilidad de moscas salvajes y a la disminución de la temperatura a medida que avanza el otoño, que reduce la posible supervivencia y la confiabilidad de los resultados.

Figura 11. jaulas de campo utilizadas en la experiencia de longevidad en el INTA Castelar (en total se utilizaron 8 jaulas)



Análisis de datos

Se realizó un test de χ^2 de homogeneidad entre las réplicas y una prueba χ^2 de bondad de ajuste para verificar si alguna población se apartaba significativamente de la hipótesis nula de igualdad de la capacidad de supervivencia de las moscas de distinto origen. Es decir, se evaluó si la proporción de supervivientes era igual a la proporción de moscas liberadas de cada población en la jaula correspondiente.

Como método alternativo de analizar la supervivencia relativa en el tiempo, se evaluó la regresión entre la proporción de moscas de laboratorio recuperadas (respecto del total) y el número de días pasados en la jaula.

Para comparar el desempeño de las distintas poblaciones se definió una variable nueva, la proporción entre moscas de laboratorio y total de moscas recuperadas. Se calculó la media aritmética de las réplicas para cada período (2, 4, 6 y 8 días) y con esas medias se realizó la regresión.

Finalmente, la proporción promedio de moscas de laboratorio irradiadas y no irradiadas recuperadas en cada período (2, 4, 6 y 8 días) fue comparada a través de un test de Wilcoxon de muestras pareadas.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica (5.1) para Windows (Stat Soft Inc. 2000).

Morfometría

Obtención de datos

El mismo material biológico utilizado para el ensayo de longevidad se utilizó para realizar mediciones morfométricas. Las moscas recuperadas en cada ocasión en las jaulas se congelaron en freezer a -20°C . También se congelaron moscas del mismo grupo del que se habían sacado las liberadas en jaula, pero que no habían pasado por las mismas. De esta manera se contó con un grupo que podía ser comparado con las recuperadas en jaula.

Todo el material congelado se trasladó en frío a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales donde cada ejemplar fue medido en un microscopio estereoscópico (Leitz Wetzlar), bajo una magnificación de ocular 12,5 X provisto con una reglilla micrométrica. Para eso, previamente los individuos fueron disecados sobre cajas de Petri con parafina, separando el tórax, la cabeza, las alas y el tercer par de patas.

Se escogió medir ocho caracteres morfométricos, relacionados con el tamaño corporal, la movilidad (patas y alas) y la visión. Esos mismos caracteres habían sido previamente estudiados por Sciurano (2004) como posibles de ser modificados por la selección sexual. Se midió el largo del tórax (LT), ancho máximo de la cabeza (ACB), ancho máximo de la cara (ACR), largo del ojo (LO) (se tomó el ojo izquierdo, salvo que el mismo se encontrara dañado), largo y ancho de ala (LA y AA respectivamente) y largo de tibia (LTI) y fémur (LF). En todos los casos se midió la pieza anatómica izquierda, salvo que se hallase dañada. Los puntos precisos elegidos como marcadores a medir se encuentran identificados en la figura 12.

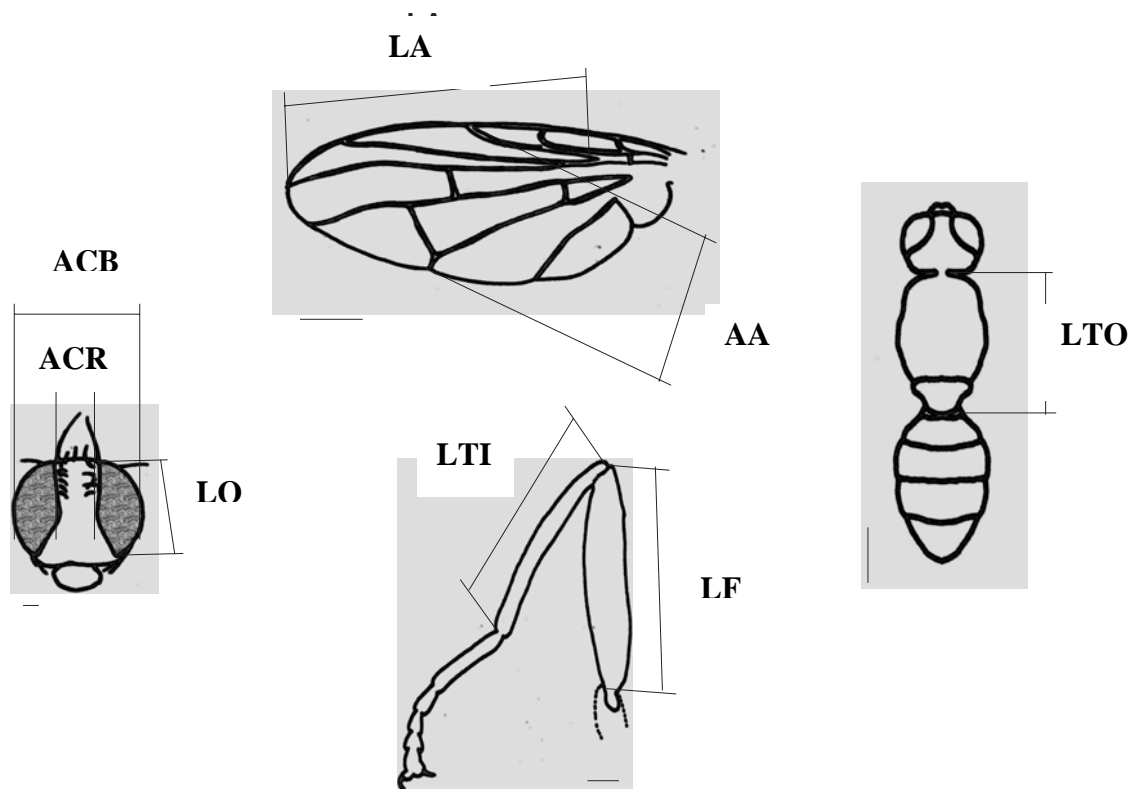
Todas las mediciones de cabeza y tórax se efectuaron colocando las piezas en una caja de Petri con Bacto-agar (DIFCO Laboratories, USA) 1% en agua destilada. Las alas, fémures y tibias se montaron entre cubre y portaobjetos sellados con bálsamo de

MATERIALES Y MÉTODOS

Canadá sintético marca Álwick. Se utilizó objetivo de 8 X para Ancho de cara, 1 X para las mediciones en las alas y 4 X para el resto de los caracteres.

En total se midieron 298 individuos, aunque en 40 fue imposible medir el juego completo de caracteres. Los 258 restantes corresponden a 135 hembras y 123 machos.

Figura 12. Caracteres medidos en moscas exitosas y no exitosas (LA, AA y LTO con una magnificación de 12,5 X; ACB, LO, LF y LTI con una magnificación de 50 X y ACR con una magnificación de 100 X). Barra = 1mm



Porciones anatómicas	Carácter	Abreviatura
Cabeza	ancho de cabeza	ACB
	ancho de cara	ACR
	largo de ojo izquierdo	LO
Tórax	largo de tórax	LTO
Ala izquierda	largo de ala	LA
	ancho de ala	AA
3er. pata izquierda	largo de fémur	LF
	largo de tibia	LTI

Análisis de datos

Las mediciones se agruparon de acuerdo al sexo y origen de los individuos utilizados. Los datos correspondientes a laboratorio se agruparon, ya fuera que correspondiesen a individuos irradiados o no.

Como primera aproximación al análisis se calcularon las medias y desvíos estándares para cada grupo, Luego se aplicaron métodos de estadística multivariada para medir la selección sobre los rasgos fenotípicos.

En primer lugar se realizó un análisis de la varianza multivariado (MANOVA) para verificar la existencia de diferencias en los rasgos que se debieran al sexo, al origen y a la interacción entre estos factores. Se utilizaron en este caso únicamente los individuos que no habían entrado a la jaula, a fin de independizarse de los efectos de la supervivencia y simplemente analizar las posibles diferencias previas entre los organismos.

Luego, se dividió a todos los individuos medidos de acuerdo a su sexo y se realizaron sendos MANOVAs con el objetivo de ver si los que provenían de distintas poblaciones (y eran del mismo sexo) diferían en sus caracteres morfométricos. De esta manera podía explorarse el efecto de la adaptación a la cría artificial sobre la morfología de estos insectos, identificando particularmente aquellos caracteres que hubieran sufrido diferenciación y, por tanto, hubieran divergido en ambas poblaciones, investigando además si esos caracteres eran los mismos en ambos sexos.

Ante el potencial problema presentado por la colinealidad de la variación de los rasgos relacionados con el tamaño, se aplicaron dos métodos de análisis alternativos. Por un lado se realizó un análisis de regresión lineal multivariada tomando el origen como una variable dependiente del fenotipo multivariado. Este análisis permite evaluar

MATERIALES Y MÉTODOS

con mayor precisión la presión de selección sobre cada rasgo durante la diferenciación entre las dos líneas a través de los coeficientes beta. En cierta forma permite comprobar qué tan bueno es el sistema de medición de este fenotipo multivariado para identificar el origen de un individuo. Naturalmente, cuanto más diferentes sean los valores en ambos grupos más fácil será cumplir con este objetivo. Sería posible asignar un individuo de origen desconocido a una de las dos categorías de cría,. Por lo tanto, el método permite estimar la importancia de las diferencias entre las poblaciones e identificar aquellos caracteres que son responsables de esas diferencias.

Posteriormente, a fin de confirmar los resultados obtenidos del análisis anterior, y tomando en cuenta que el origen representa una variable dicotómica se aplicó para cada conjunto de individuos del mismo sexo, un modelo de regresión logística mediante el método de maximización de la verosimilitud (Lumley, 2007) Con respecto a lo directamente relacionado con la supervivencia diferencial de los insectos de las dos poblaciones, hubiera sido deseable efectuar la comparación directa entre los individuos liberados que hubiesen sobrevivido a cada período en la jaula y los que no, de manera de poder hallar rasgos morfométricos diferentes en ambos grupos. Experimentalmente, esto no fue posible, ya que no se pudo recuperar los individuos muertos en las jaulas (normalmente estos son destruidos por los predadores).

La mejor aproximación factible es comparar los grupos de sobrevivientes y comprobar si los que fueron recuperados tras pasar una mayor cantidad de días en las jaulas van enriqueciéndose en algunas características específicas, por ejemplo, si su media corporal cambia. Se puede considerar que han sido sometidos a un proceso selectivo que puede o no modificar sus medias, y, por lo tanto, asociar los caracteres que presenten diferencias a una respuesta a la selección.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para estudiar los cambios entre los grupos estudiados se utilizó la regresión lineal múltiple, tanto en su versión estándar como en la paso a paso (*step-wise*) que busca de manera exploratoria la regresión de la aptitud (en este caso identificada con la supervivencia en jaula) como variable dependiente sobre los valores de los rasgos morfométricos (varias variables independientes) y emplea diversas combinaciones de éstos, intentando obtener un mínimo de varianza residual no explicada en términos del mismo número de variables independientes (Sokal & Rohlf, 1979).

Como último paso se empleó el Análisis de Componentes Principales (ACP), como un método complementario que permite superar algunas de las dificultades que presenta la aplicación de la regresión múltiple a datos de caracteres posiblemente afectados por la selección, como el efecto de los rasgos no medidos (ej. Crespi, 1990), la multicolinealidad entre los rasgos (ej. Schluter & Smith, 1986) y el alejamiento de la normalidad (ej. Mitchell-Olds & Shaw, 1987).

El análisis de regresión logística mediante el método de maximización de la verosimilitud se hizo utilizando el programa R (www.r-project.org). Las restantes estimaciones estadísticas se realizaron utilizando Statistica (5.1) para Windows (Stat Soft Inc. 2000).

Comportamiento

Obtención de datos

En lo que respecta al cortejo, durante la realización de esta tesis se realizaron videograbaciones de individuos de *A. fraterculus* pertenecientes a la mencionada línea criada en la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (Tucumán). Desde allí se enviaron pupas al Instituto de Genética del INTA Castelar, donde se mantuvieron en cámaras de cría que aseguraban temperatura y humedad adecuadas (T: $23,5 \pm 1^\circ\text{C}$, HR: $70 \pm 10\%$) hasta la emergencia de los adultos. Los mismos se separaban por sexo en las primeras 48 o 72 horas a partir de la emergencia, es decir, cuando aún no habían alcanzado la madurez sexual, de esta manera se aseguraba que las moscas utilizadas en la experiencia fueran vírgenes. El protocolo de grabación fue adaptado del utilizado para describir el comportamiento de *Ceratitis capitata* (Calcagno et al. 2002). Los principales ajustes tuvieron que ver con la hora de los ensayos y las condiciones de iluminación.

Cada día, a la mañana temprano (momento que coincide con el pico de apareamientos en esta especie), en condiciones óptimas en laboratorio (suficiente luz natural dada por la cercanía del equipo a un gran ventanal, temperatura y humedad adecuadas) se colocaban machos sexualmente maduros (16 ± 2 días) en cajas de acrílico transparentes (de 7 cm de alto y 8,5 cm de diámetro) que posibilitaban la filmación y que estaban provistas de un orificio que permitía la introducción de las moscas y que se cerraba con un tapón de goma espuma. En el techo de las cajas había una hoja de limonero (*Citrus limon* (L.)), que permitía simular algunas condiciones naturales, ya que la mayor parte de los apareamientos ocurre en la cara abaxial de las

MATERIALES Y MÉTODOS

hojas. Cuando el primero de los machos iniciaba el llamado destinado a atraer a la hembra, a través de la liberación visible de feromonas, se colocaba una videocámara Sony Hi 8 (Modelo CCD-TR805,) con lente macro Novoflex y conectada a una video grabadora JVC (Modelo H-J401EN) y un televisor color Phillips (Modelo 14GX1510/77B) bajo la caja y se grababa su comportamiento por 10 minutos, observando al mismo tiempo en el televisor para verificar la calidad de la filmación. Al cabo de los mismos, y sin detener la filmación, se liberaba en la caja una hembra de la misma edad y se grababa la actividad del macho durante 30 minutos más.

En caso de producirse la cópula se registraba hora de inicio y también la de finalización, aunque esta ocurriese luego de finalizada la videograbación.

Se realizaron 48 videograbaciones, pero las primeras 7 no se tomaron en cuenta ya que se emplearon principalmente como ensayos para encontrar las condiciones óptimas de ubicación, iluminación, y filmación propiamente dicha. Por lo que sólo se consideraron para el análisis las filmaciones de las 41 parejas que mantuvieron estables todas las condiciones.

Observación

Todos los videos fueron observados cuidadosamente en la mencionada videograbadora y se determinaron los comportamientos realizados por el macho, reconociéndolos y discriminándolos para permitir su tipificación. Para ello, se empleó la función de avance cuadro por cuadro de la videocasetera para alcanzar el máximo detalle posible cuando el comportamiento lo requería. Utilizando el contador de la video casetera se determinó el tiempo que los machos dedicaban a cada actividad. De esta manera se logró un registro de las actividades desplegadas por el macho segundo a

MATERIALES Y MÉTODOS

segundo y se las caracterizó en base a la actitud general y a los movimientos particulares en cada instante. .

Análisis de datos

Una vez identificados los comportamientos, se realizó la estadística básica (medias y desvíos estándares) y se compararon los machos exitosos con los no exitosos a través del método de regresión lineal múltiple utilizando el método paso a paso. Para el cálculo de estas regresiones se utilizó el programa Statistica (5.1) para Windows (Stat Soft Inc. 2000).

Por otro lado, se agruparon los comportamientos relativos a la posición del cuerpo durante el cortejo y se graficó el tiempo promedio dedicado por los individuos exitosos y los no exitosos a cada una de esas actividades en cada minuto, de manera de tener una representación del cambio en esas actividades a medida que avanzaba el cortejo.

Se intentó hallar una secuencia consistente en los cortejos exitosos, es decir, aquellos que terminaban con la consecución de la cópula y detectar, en caso de existir, comportamientos diferenciales realizados en tales cortejos y que estuvieran ausentes en los no exitosos o que fueran realizados durante tiempos significativamente distintos. Es decir, se intentó caracterizar diferencialmente los cortejos exitosos y los no exitosos

RESULTADOS



RESULTADOS

Longevidad

En esta parte del trabajo se comparó la supervivencia en jaulas de campo de moscas de la población de laboratorio (irradiadas o no) con la de moscas silvestres.

Durante toda la experiencia el clima fue favorable, con la excepción de un día en que hubo abundantes precipitaciones y viento intenso. La tabla 1 muestra los datos climáticos para cada día.

Tabla 1. Condiciones climáticas durante el período del ensayo. (Datos pertenecientes a la Estación Meteorológica del Instituto de Clima y Agua del INTA Castelar)

Fecha	Temp. Máx. (°C)	Temp. Media (°C)	Temp. Mín. (°C)	Veloc. del viento ¹ (km/h)	Precip. (mm)	Humedad (%)
25-Mar	33.0	25.2	17.4	4.0	0.0	63
26-Mar	32.6	24.5	16.4	4.1	0.0	61
27-Mar	31.0	23.0	15.0	4.3	0.0	59
28-Mar	30.6	23.8	17.0	7.3	0.0	65
29-Mar	32.0	26.0	20.0	6.0	0.0	56
30-Mar	30.6	26.0	21.5	11.9	0.0	69
31-Mar	27.4	24.2	21.0	6.2	0.5	79
01-Abr	28.2	22.5	16.8	5.1	0.0	67
02-Abr	32.0	25.8	19.6	3.3	0.0	76
03-Abr	34.0	28.0	22.0	3.7	0.0	68
04-Abr	34.8	28.8	22.8	10.9	0.0	59
05-Abr	30.7	25.9	21.0	9.4	26.3	70
06-Abr	25.8	22.3	18.8	3.4	0.0	89
07-Abr	28.2	22.6	17.0	2.6	0.0	74
08-Abr	28.0	22.0	16.0	9.2	5.0	87

¹ La velocidad de del viento se midió 2m sobre la superficie

En todas las réplicas se compararon moscas de la línea de laboratorio, irradiadas o no, con las de origen silvestre. Por lo tanto, el número de insectos irradiados que se utilizó en la experiencia fue la mitad de la cantidad total de moscas silvestres, equilibrándose ese número con los no irradiados.

Las tablas 2 y 3 muestran el número total de machos y hembras (respectivamente) que se recuperaron vivos de las jaulas. Para cada condición los resultados de las distintas réplicas

RESULTADOS

fueron homogéneos. En esa tabla también aparecen discriminados los insectos recuperados tras cada tiempo de permanencia dentro de la jaula.

De esta manera, en esas tablas puede apreciarse que, en el caso de los machos, la cantidad de insectos recuperados fue similar para las dos clases de laboratorio (es decir, las irradiadas y no irradiadas) y, para los tiempos cortos de permanencia en jaula, se asemeja a la cantidad de moscas silvestres recuperadas. Sin embargo, la cantidad de moscas de laboratorio recuperadas se hace mayor respecto a la de silvestres cuando se comparan los individuos recuperados tras 6 días, y esta tendencia aumenta a los 8 días, que es el tiempo máximo ensayado de permanencia en jaula. Los resultados son similares en el caso de las hembras, aunque llama la atención la diferencia entre los resultados observados para las moscas recuperadas 8 días después de su liberación en las jaulas que contenían moscas de laboratorio irradiadas por un lado y moscas no irradiadas por otro. Aunque en ambas situaciones la proporción de moscas de laboratorio recuperadas es mayor que la de salvajes, en el caso de las moscas de laboratorio irradiadas las diferencias de frecuencias no son significativas, mientras que la proporción de moscas de laboratorio no irradiadas supera de forma altamente significativa a la de moscas salvajes.

Siempre observando las tablas 2 y 3 se ve que la relación entre el número de moscas de laboratorio y las salvajes recuperadas (LAB/WILD) tiende a aumentar con la cantidad de días que las moscas permanecen en las jaulas. Una prueba de Wilcoxon para muestras pareadas no mostró que las diferencias fueran significativas ($P= 0.29$ para machos y $P= 0.72$ para hembras). A fin de evitar cualquier sesgo introducido por la diferencia de edad de las moscas en uno de los casos (una réplica correspondiente a dos días en jaula) se repitió todo el análisis eliminando esa réplica. No hubo cambios en los niveles de significación. Sin embargo, un análisis de regresión muestra la misma tendencia en todos los casos (Fig. 13). La relación entre el cociente LAB/WILD y los días de permanencia en jaula es positiva y altamente significativa

RESULTADOS

($p < 0.01$). Esto indicaría que, en promedio, las moscas de laboratorio sobreviven más que las silvestres.

Tabla 2. Machos recuperados después de cada período (días en jaula) y test de χ^2 de Bondad de Ajuste comparando la supervivencia relativa de las moscas de laboratorio respecto a las silvestres. (Los datos muestran el número absoluto (N) de insectos recobrados en todas las replicas correspondientes a un mismo período) y el correspondiente porcentaje de supervivencia (%), es decir $100 \times \text{recuperados} / \text{liberados}$).¹

Días en jaula	W		Lab		χ^2	P	W*		Irr		χ^2	P
	N	(%)	N	(%)			N	(%)	N	(%)		
2	27	50.00	31	57.41	0.28	0.60	31	57.41	44	81.48	2.25	0.13
4	15	41.67	12	33.33	0.33	0.56	9	26.47	9	25.00	0.01	0.90
6	6	16.67	14	38.89	3.20	0.07	2	5.56	5	13.89	1.29	0.26
8	2	5.56	9	25.00	4.45	0.03	2	5.56	10	27.78	5.33	0.02
Total	50	30.86	66	40.74			44	27.5	68	41.98		

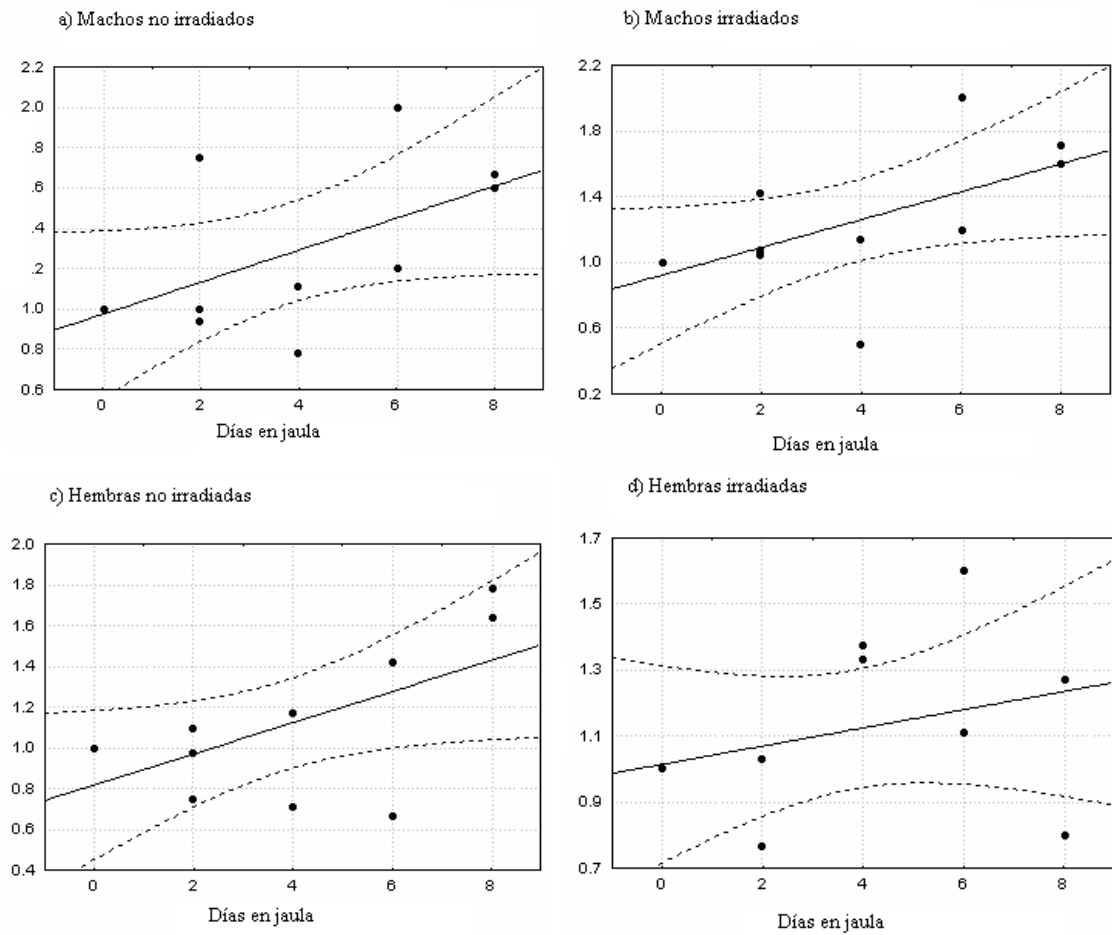
¹W representa las moscas silvestres (Wild) liberadas en las mismas jaulas que las moscas de laboratorio no irradiadas (Lab) y W* las que se liberaron en jaulas con moscas de laboratorio irradiadas (Irr)

Tabla 3. Hembras recuperadas después de cada período (días en jaula) y test de χ^2 de Bondad de Ajuste comparando la supervivencia relativa de las moscas de laboratorio respecto a las silvestres. (Los datos muestran el número absoluto (N) de insectos recobrados en todas las replicas correspondientes a un mismo período) y el correspondiente porcentaje de supervivencia (%), es decir $100 \times \text{recuperados} / \text{liberados}$).²

Días en jaula	W		Lab		χ^2	P	W*		Irr		χ^2	P
	N	(%)	N	(%)			N	(%)	N	(%)		
2	49	65.33	45	60.00	0.17	0.68	54	72.00	48	64.00	0.35	0.55
4	16	32.00	13	27.66	0.27	0.60	9	18.00	19	38.00	3.57	0.06
6	9	18.00	18	36.00	3.00	0.08	10	20.00	18	36.00	2.29	0.13
8	3	6.00	17	34.00	9.80	<0.01	7	14.00	9	18.00	0.25	0.62
Total	77	34.22	93	41.89			80	35.56	94	41.78		

²W representa las moscas silvestres (Wild) liberadas en las mismas jaulas que las moscas de laboratorio no irradiadas (Lab) y W* las que se liberaron en jaulas con moscas de laboratorio irradiadas (Irr)

Figura 13. Regresiones entre la ventaja relativa de las moscas de laboratorio irradiadas o no irradiadas respecto a las silvestres y el número de días de subsistencia en las jaulas de campo. La línea punteada representa el intervalo de confianza del 95% para la regresión. (La ventaja relativa se calculó como la proporción de moscas de laboratorio (irradiadas o no) sobre el total de silvestres recuperado en cada período).



Morfometría:

En este ensayo se realizaron mediciones morfométricas sobre las moscas recuperadas en el ensayo anterior y una muestra de las mismas poblaciones, pero no liberadas en jaula que se tomaron como el grupo control. Ese grupo fue el más numeroso ya que la disponibilidad era buena, mientras que las moscas sobrevivientes a la experiencia de jaula de campo conformaban un grupo más reducido. En este caso, no se discriminó entre las moscas de laboratorio y las irradiadas, ya que la irradiación no altera sus características morfológicas.

En total se analizaron 162 individuos no liberados y 96 de los que pudieron recuperarse en las jaulas. En la tabla 4 figura la cantidad de días que esas moscas pasaron dentro de las jaulas (0 corresponde a insectos no liberados) y los totales discriminados por su origen.

Las tablas 5a, 5b, 5c y 5d muestran las medias y desvíos estándares y el coeficiente de variación (media/desvío estándar) para cada combinación de sexo y origen. Es posible observar que, con excepción del ancho del ala, los machos y las hembras de laboratorio muestran en promedio mayores valores para todos los rasgos medidos que sus contrapartes salvajes. Las hembras, por su parte, son más grandes que los machos para todos los rasgos morfométricos analizados.

Tabla 4. Moscas analizadas en cada período para cada categoría.

Días en jaula	Machos		Hembras	
	laboratorio	silvestres	laboratorio	silvestres
0	40	46	28	48
2	8	4	7	12
4	2	3	12	3
6	6	1	2	4
8	10	3	10	9
TOTALES	66	57	59	76

RESULTADOS

Tabla 5. Número de individuos (N), medias Desvío Estándar (DS) y coeficiente de variación para: a) machos de laboratorio. b) machos silvestres c) hembras de laboratorio y d) hembras silvestres. En todos los casos los valores corresponden a unidades ópticas.

1 u.o.= 10 mm para 12,5 X (mínima magnificación utilizada)

a)	N	Media	DS	Media/ DS
ACR	66	4,65	0,45	10,36
ACB	66	7,49	0,38	19,60
LO	66	5,53	0,39	14,27
LTO	66	10,52	0,60	17,41
LA	66	4,85	0,33	14,38
AA	66	2,47	0,15	16,29
LF	66	7,01	0,41	16,83
LTI	66	6,43	0,47	13,56

b)	N	Media	DS	Media/ DS
ACR	57	4,49	0,37	12,14
ACB	57	7,14	0,51	13,84
LO	57	5,20	0,43	12,00
LTO	57	9,99	1,33	7,50
LA	57	4,64	0,50	9,19
AA	57	2,52	0,26	9,48
LF	57	6,73	0,62	10,82
LTI	57	6,19	0,63	9,84

c)	N	Media	DS	Media/ DS
ACR	59	4,73	0,28	16,57
ACB	59	7,62	0,35	21,40
LO	59	5,60	0,42	13,37
LTO	59	10,73	0,65	16,52
LA	59	5,023	0,34	14,68
AA	59	2,54	0,15	17,08
LF	59	7,134	0,44	16,10
LTI	59	6,55	0,36	17,98

d)	N	Media	DS	Media/ DS
ACR	76	4,63	0,38	12,15
ACB	76	7,43	0,44	16,88
LO	76	5,39	0,49	10,94
LTO	76	10,60	0,87	12,22
LA	76	4,95	0,65	7,57
AA	76	2,67	0,27	9,66
LF	76	6,96	0,48	14,57
LTI	76	6,41	0,54	11,71

RESULTADOS

En la tabla 6 se muestran los resultados del análisis de la varianza multivariado (MANOVA) efectuado sobre los individuos no ingresados en las jaulas para comparar las diferencias morfométricas iniciales entre la cepa de laboratorio y los silvestres. Estos permiten apreciar que existen diferencias altamente significativas entre las moscas de laboratorio y las salvajes. Se observaron también diferencias significativas entre sexos, mientras que la interacción sexo x origen no apareció como significativa.

Tabla 6. Resumen de los efectos calculados por MANOVA para los individuos no ingresados a jaula.

Factor	Wilks' Lambda	Rao's R	Gr. de lib 1	Gr. de lib 1	Valor p
origen	0.742897	6.532301	8	151	0.000000
sexo	0.903665	2.012158	8	151	0.048551
interacción	0.960169	0.782997	8	151	0.618312

Para comparar las dos poblaciones verificando el efecto de la diferente forma de cría sobre el fenotipo se efectuaron comparaciones independientes para cada sexo entre las moscas de los dos orígenes utilizando el total de moscas medidas.

El análisis de varianza multivariado (MANOVA) para los machos demostró diferencias altamente significativas (Test de Wilks = 0.71, $P < 10^{-5}$). Al observar cada carácter individualmente se vio que todas las diferencias son significativas o altamente significativas, excepto en el caso del ancho del ala (AA). (Tabla 7)

El siguiente análisis, realizado principalmente para superar el problema de la colinealidad de los rasgos, fue una regresión lineal multivariada en que el origen se consideraba la variable dependiente. (Tabla 8) Si bien nuevamente se vio una asociación altamente significativa entre el origen y el fenotipo ($F = 5.88$, $P < 10^{-5}$), los rasgos que habrían sufrido mayor presión selectiva diferencial a lo largo de la adaptación al ambiente de

RESULTADOS

laboratorio, de acuerdo con este método son el ancho de la cabeza (ACB), Largo de ojo (LO) y ancho de ala (AA). A fin de validar esta interpretación se comprobó que el supuesto subyacente de que las matrices de varianzas-covarianzas fenotípicas tienen la misma estructura en los dos grupos de machos ($r= 0.81$, $P= 0.005$, de acuerdo con un test de Mantel basado en 10000 permutaciones).

Para confirmar estos hallazgos y por el carácter dicotómico de la variable “origen”, se decidió aplicar un análisis de regresión logística con el método de maximización de la verosimilitud (Tabla 9). Sus resultados fueron coincidentes con el análisis anterior y reafirman la hipótesis de que los rasgos que fueron seleccionados de manera directa como respuesta a la adaptación a las condiciones de laboratorio fueron ACB, LO y AA.

Este procedimiento se aplicó igualmente para las hembras. (Tablas 10, 11 y 12). Nuevamente se hallaron diferencias significativas entre orígenes (verificadas por un test de Wilks = 0.823, $P= 0.001$). En este caso ACB, LO y AA resultaron los únicos caracteres significativos en el MANOVA. y sólo AA resultó significativo al aplicar las regresiones lineal y logística considerando el origen como la variable dependiente. También en esta ocasión se efectuó el test de Mantel basado en 10000 permutaciones, que dio como resultado $r= 0.91$, $P < 10^{-5}$, verificando el supuesto de que no hay diferencias en la estructura de las matrices de varianza y covarianza de los dos grupos.

De aquí se desprende nuevamente que AA fue objeto de selección directa. Los valores de LO y ACB no resultaron significativos, sin embargo, su sentido fue el mismo que en el caso de los machos. El análisis global indica que la cría artificial tiende a modificar los rasgos morfométricos de los insectos llevando a reducir el AA y aumentar el ACB y el LO.

RESULTADOS

Tabla 7. Resultados del MANOVA efectuado para los machos.

	F	P
ACR	4.34	0.039
ACB	18.98	2.8 10 ⁻⁵
LO	21.20	1.023 10 ⁻⁵
LT	7.95	0.006
LA	7.13	0.009
AA	1.69	0.196
LF	8.82	0.0036
LTI	6.00	0.016

Tabla 8. Resumen del análisis de regresión lineal considerando al origen una variable dependiente de los caracteres morfológicos (aplicado a los machos).

	Beta	T	P
ACR	0.110	0.775	0.440
ACB	-0.475	-2.746	0.007
LO	-0.338	-2.617	0.010
LT	-0.026	-0.457	0.649
LA	0.071	0.599	0.551
AA	0.903	4.081	8.3 10 ⁻⁵
LF	0.052	0.423	0.673
LTI	0.011	0.104	0.918

Tabla 9. Resumen del análisis de regresión logística mediante el método de maximización de la verosimilitud (aplicado a los machos).

	coef	Z	P
ACR	0.200	0.439	0.660
ACB	-1.037	-2.026	0.043
LO	-0.723	-1.946	0.052
LT	-0.020	-0.118	0.910
LA	0.208	0.637	0.520
AA	1.641	2.533	0.011
LF	0.155	0.411	0.680
LTI	0.044	0.110	0.910

RESULTADOS

Tabla 10. Resultados del MANOVA efectuado para las hembras.

	F	P
ACR	2.826	0.095
ACB	6.788	0.010
LO	6.832	0.010
LT	0.898	0.345
LA	0.571	0.451
AA	10.419	0.002
LF	4.571	0.034
LTI	2.914	0.090

Tabla 11. Resumen del análisis de regresión lineal considerando al origen una variable dependiente de los caracteres morfológicos (aplicado a las hembras).

	Beta	T	P
ACR	-0.014	-0.095	0.925
ACB	-0.276	-1.338	0.183
LO	-0.091	-0.625	0.533
LT	0.120	1.511	0.133
LA	-0.075	-0.875	0.383
AA	0.720	3.964	1.10 ⁻⁴
LF	-0.122	-0.795	0.428
LTI	-0.017	-0.121	0.904

Tabla 12. Resumen del análisis de regresión logística mediante el método de maximización de la verosimilitud (aplicado a las hembras).

	coef	Z	P
ACR	-0.0362	-0.0830	0.930
ACB	-0.4418	-0.7619	0.450
LO	-0.1495	-0.3634	0.720
LT	0.2169	0.9909	0.320
LA	-0.1289	-0.5884	0.560
AA	1.0397	2.3446	0.019
LF	-0.2104	-0.4656	0.640
LTI	-0.0157	-0.0377	0.970

En lo que respecta a la relación entre el conjunto de caracteres morfológicos estudiados y la supervivencia en las jaulas de campo, nuevamente se empleó como herramienta de análisis estadístico la regresión

RESULTADOS

En primer lugar se investigó lo sucedido con los machos de laboratorio. La regresión múltiple estándar resultó significativa únicamente para el carácter LO, que aparece con pendiente positiva (Tabla 13). Se realizó también una regresión paso a paso (forward stepwise) que confirmó la asociación significativa y positiva entre la supervivencia y el LO, pero también mostró una asociación significativa, aunque de sentido opuesto, con el carácter LT (Tabla 14).

Las figuras 14 y 15 muestran las regresiones simples de ambos rasgos en función de la cantidad de días pasados en jaula.

Por su parte, cuando se aplicó el mismo ensayo para el caso de los machos silvestres ningún carácter mostró una asociación significativa con la supervivencia en jaula de campo, como se ve en las tablas 15 y 16, correspondientes a la regresión múltiple y a la regresión paso a paso respectivamente. Sin embargo, en la regresión paso a paso el carácter LT resultó marginalmente significativo, por lo que se realizó el correspondiente gráfico mostrando la regresión simple (Figura 16). Es de destacar que la pendiente de esta regresión es positiva, a diferencia de lo ocurrido con los machos criados en laboratorio.

Las hembras de laboratorio sólo mostraron asociación significativa y positiva con el carácter LO, tanto en la regresión múltiple estándar como en la paso a paso (Tablas 17 y 18 respectivamente). Esa regresión simple aparece en la figura 17.

Por último, al realizar el análisis de regresión múltiple para el caso de las hembras silvestres, aparecieron resultados significativos para los caracteres ACR y AA, ambos con pendiente negativa (Tabla 19) . La regresión paso a paso (Tabla 20) mostró, además de esos mismos resultados, una relación significativa y positiva con los caracteres LO y, marginalmente, con LA. Las regresiones simples correspondientes a estos cuatro rasgos se ilustran en las figuras 18, 19, 20 y 21.

RESULTADOS

Tabla 13. Resumen de la regresión múltiple para machos de laboratorio, utilizando los caracteres morfométricos como variables independientes y los días en jaula como dependiente.

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(57)	p-level
Intercept			-0,216	7,921	-0,027	0,978
ACR	-0,068	0,160	-0,471	1,100	-0,428	0,670
ACB	0,192	0,254	1,557	2,059	0,756	0,453
LO	0,550	0,187	4,390	1,490	2,946	0,005
LT	-0,312	0,193	-1,600	0,991	-1,614	0,112
LA	-0,025	0,150	-0,233	1,378	-0,169	0,866
AA	-0,038	0,192	-0,771	3,910	-0,197	0,844
LF	-0,069	0,211	-0,510	1,569	-0,325	0,746
LTI	-0,191	0,157	-1,247	1,027	-1,214	0,230

Tabla 14. Resumen de la regresión múltiple paso a paso para machos de laboratorio, utilizando los caracteres morfométricos como variables independientes y los días en jaula como dependiente.

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(62)	p-level
Intercept			1,199	6,894	0,174	0,862
LO	0,584	0,148	4,656	1,177	3,956	0,000
LT	-0,303	0,144	-1,552	0,736	-2,108	0,039
LTI	-0,204	0,122	-1,329	0,798	-1,665	0,101

Figura 14. Machos de laboratorio. Regresión para LO.

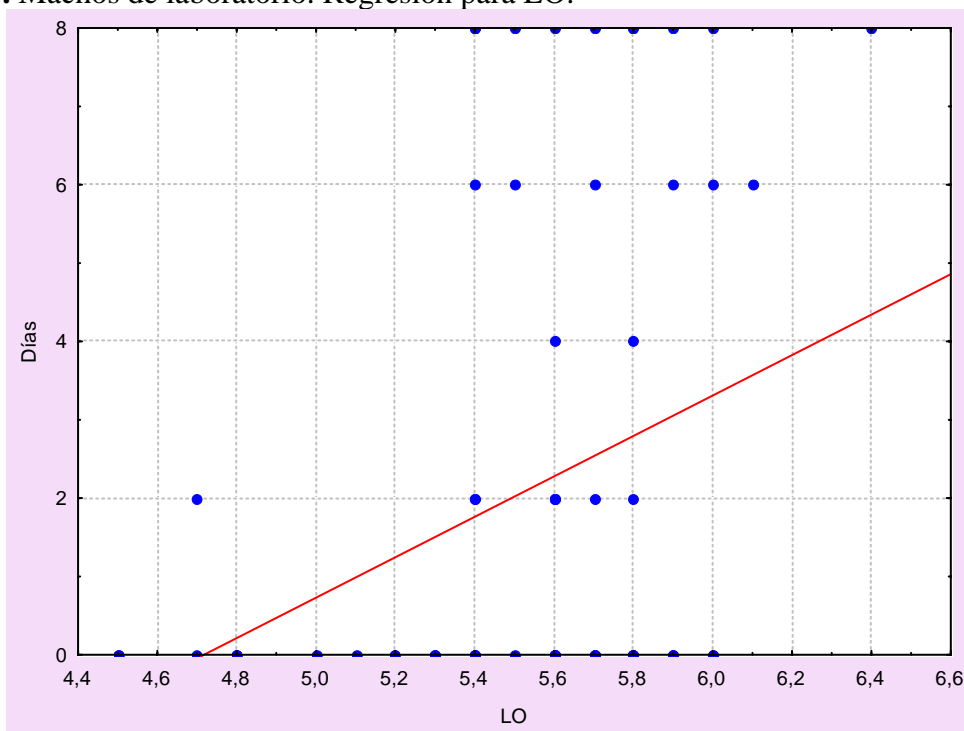


Figura 15. Machos de laboratorio. Regresión para LT.

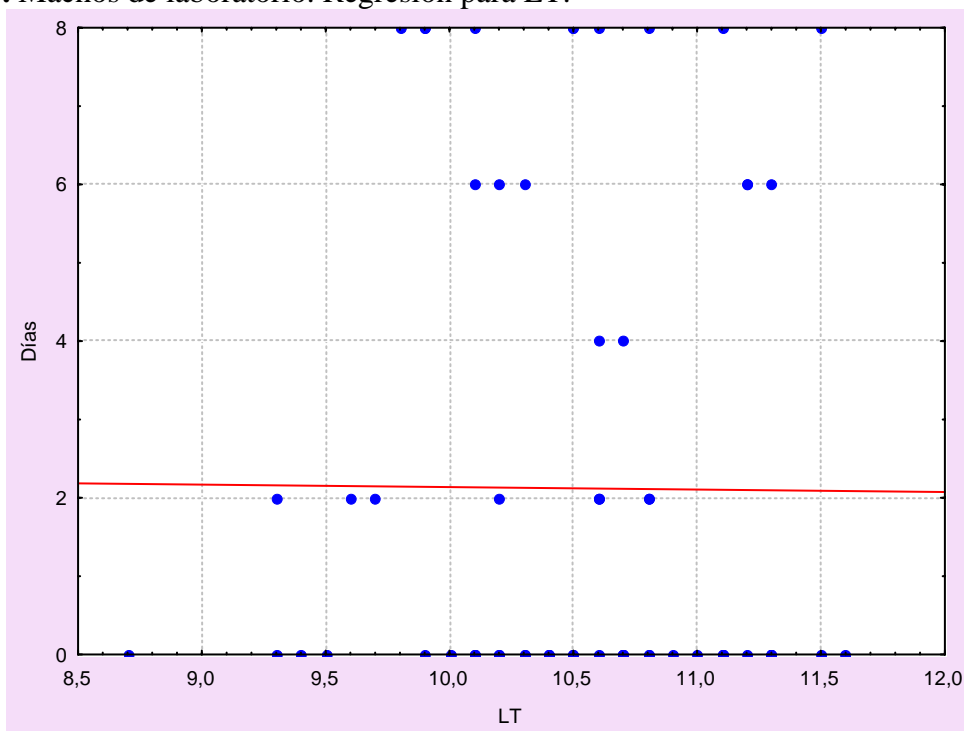


Tabla 15. Resumen de la regresión múltiple para machos silvestres, utilizando los caracteres morfométricos como variables independientes y los días en jaula como dependiente.

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(49)	p-level
Intercept			-4,944	4,663	-1,060	0,294
ACR	-0,359	0,263	-2,032	1,491	-1,363	0,179
ACB	0,389	0,289	1,590	1,180	1,348	0,184
LO	0,104	0,176	0,506	0,852	0,594	0,555
LT	0,201	0,191	0,317	0,301	1,052	0,298
LA	0,088	0,181	0,367	0,751	0,488	0,628
AA	-0,122	0,169	-0,969	1,337	-0,725	0,472
LF	0,202	0,213	0,686	0,722	0,950	0,347
LTI	-0,294	0,270	-0,984	0,905	-1,088	0,282

Tabla 16. Resumen de la regresión múltiple paso a paso para machos silvestres, utilizando los caracteres morfométricos como variables independientes y los días en jaula como dependiente.

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(55)	p-level
Intercept			-0,199	2,799	-0,071	0,944
LT	0,288	0,145	0,455	0,229	1,983	0,052
AA	-0,174	0,145	-1,383	1,153	-1,199	0,236

Figura 16. Machos silvestres. Regresión para LT.

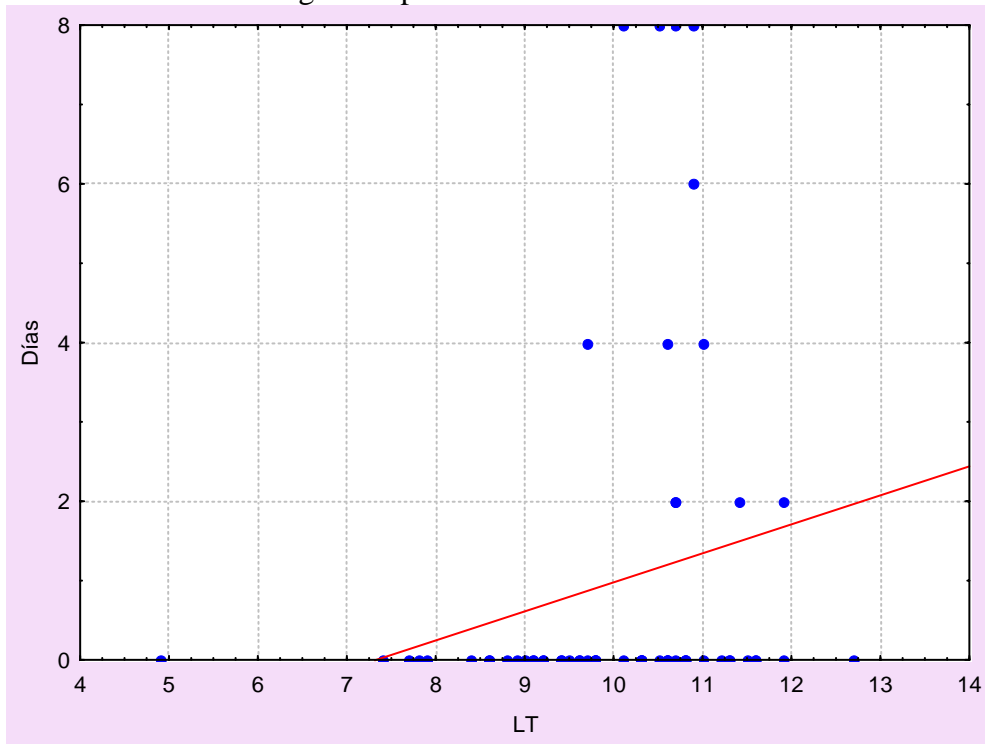


Tabla 17. Resumen de la regresión múltiple para hembras de laboratorio, utilizando los caracteres morfométricos como variables independientes y los días en jaula como dependiente.

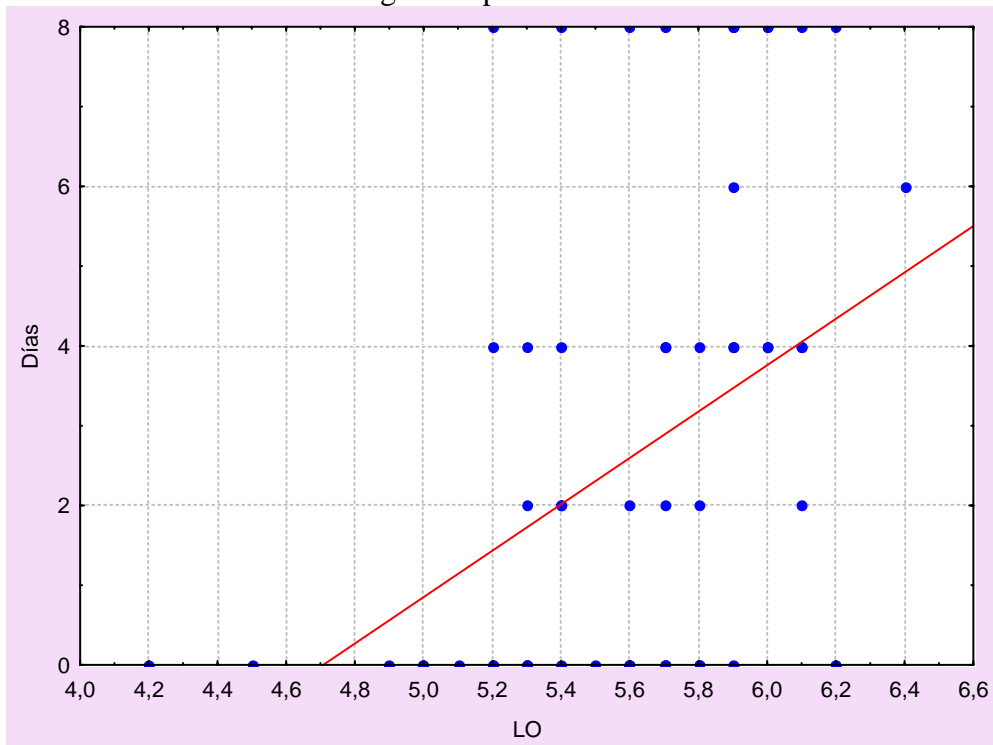
	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(50)	p-level
Intercept			-10,796	8,238	-1,310	0,196
ACR	-0,163	0,153	-1,720	1,624	-1,060	0,294
ACB	0,241	0,235	2,046	1,996	1,025	0,310
LO	0,400	0,156	2,889	1,128	2,561	0,013
LT	0,204	0,182	0,951	0,845	1,125	0,266
LA	-0,213	0,156	-1,877	1,375	-1,365	0,178
AA	0,296	0,168	6,016	3,407	1,766	0,084
LF	-0,322	0,185	-2,193	1,260	-1,740	0,088
LTI	-0,196	0,183	-1,622	1,515	-1,071	0,289

RESULTADOS

Tabla 18. Resumen de la regresión múltiple paso a paso para hembras de laboratorio, utilizando los caracteres morfométricos como variables independientes y los días en jaula como dependiente

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(52)	p-level
Intercept			-10,679	7,093	-1,505	0,138
LO	0,472	0,141	3,406	1,017	3,349	0,002
LF	-0,314	0,172	-2,144	1,174	-1,826	0,074
LT	0,280	0,152	1,303	0,710	1,836	0,072
LTI	-0,213	0,181	-1,768	1,501	-1,178	0,244
AA	0,296	0,165	6,005	3,358	1,788	0,080
LA	-0,184	0,153	-1,622	1,351	-1,201	0,235

Figura 17. Hembras de laboratorio. Regresión para LO.



RESULTADOS

Tabla 19. Resumen de la regresión múltiple para hembras silvestres, utilizando los caracteres morfométricos como variables independientes y los días en jaula como dependiente.

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(67)	p-level
Intercept			-5,520	5,242	-1,053	0,296
ACR	-0,310	0,127	-2,275	0,932	-2,442	0,017
ACB	-0,014	0,240	-0,087	1,526	-0,057	0,955
LO	0,283	0,214	1,605	1,214	1,322	0,191
LT	0,086	0,171	0,279	0,550	0,506	0,615
LA	0,192	0,123	0,820	0,526	1,560	0,124
AA	-0,242	0,111	-2,445	1,124	-2,176	0,033
LF	0,123	0,210	0,720	1,226	0,587	0,559
LTI	0,131	0,181	0,667	0,926	0,720	0,474

Tabla 20. Resumen de la regresión múltiple paso a paso para hembras silvestres, utilizando los caracteres morfométricos como variables independientes y los días en jaula como dependiente

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(70)	p-level
Intercept			-4,354	4,654	-0,936	0,353
LO	0,365	0,149	2,073	0,842	2,461	0,016
ACR	-0,298	0,116	-2,188	0,852	-2,569	0,012
LA	0,219	0,109	0,934	0,468	1,996	0,050
AA	-0,234	0,105	-2,364	1,063	-2,224	0,029
LTI	0,205	0,159	1,049	0,813	1,290	0,201

Figura 18. Hembras silvestres. Regresión para LO.

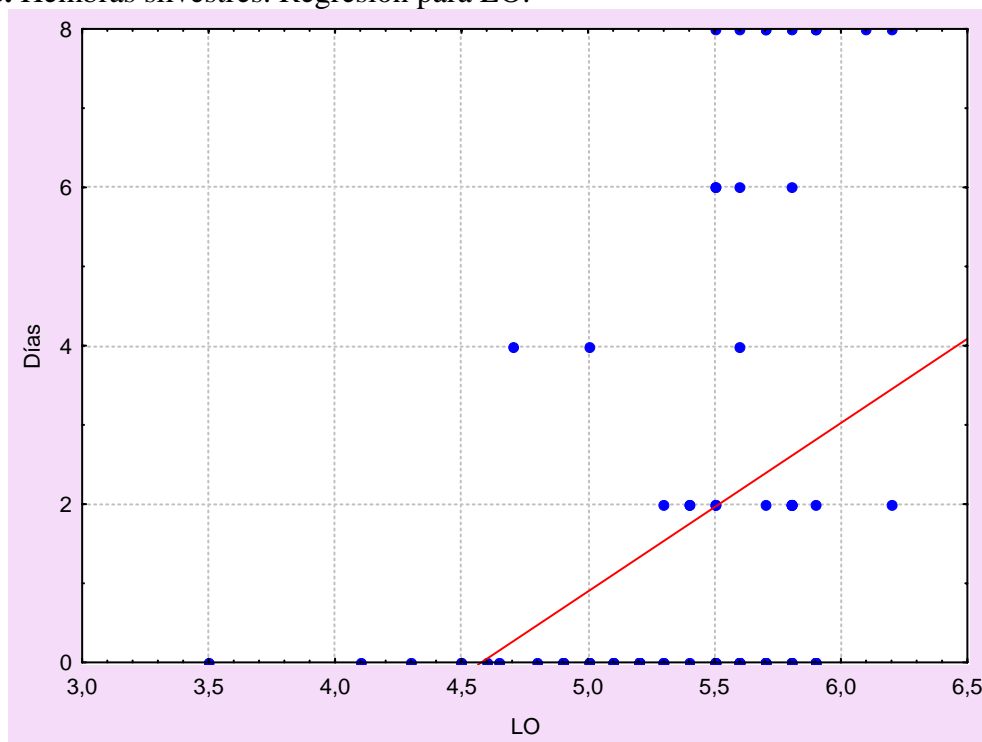


Figura 19. Hembras silvestres. Regresión para ACR.

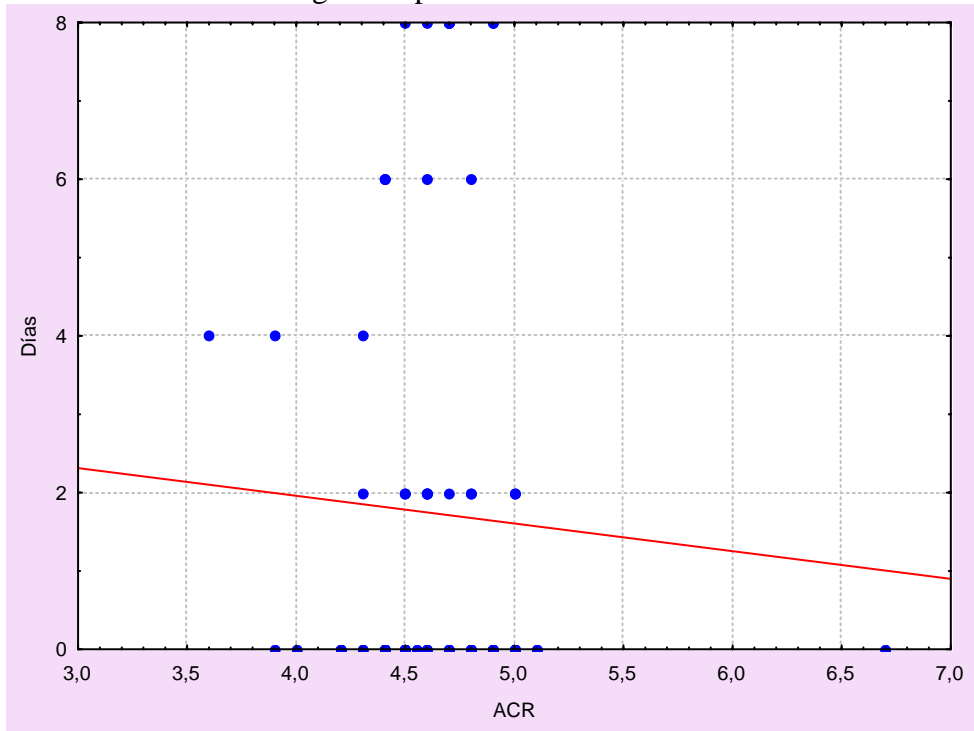


Figura 20. Hembras silvestres. Regresión para LA.

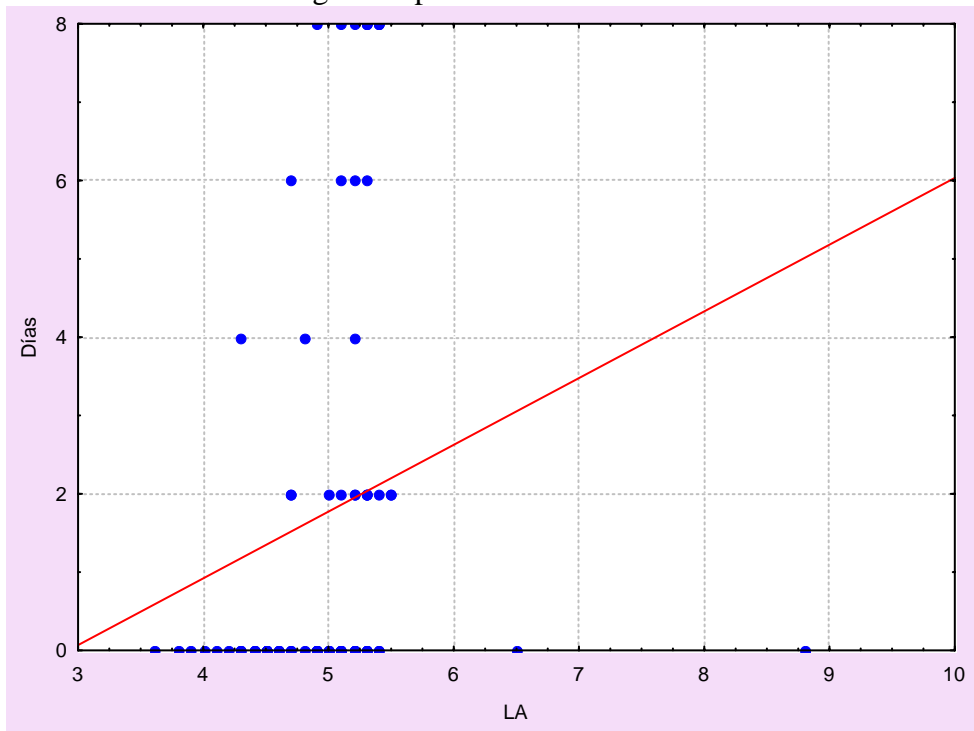
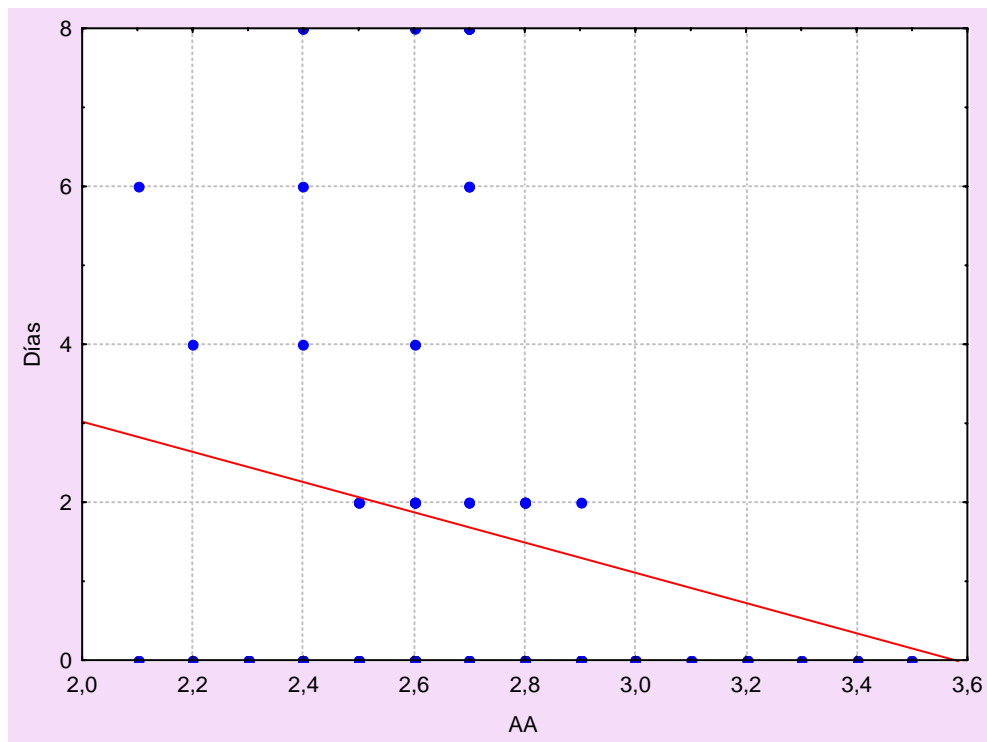


Figura 21. Hembras silvestres. Regresión para AA.



A continuación, para cada grupo se realizó un análisis de componentes principales (análisis factorial) utilizando la rotación Varimax normalizada. Los 3 primeros ejes explican en total cerca del 80% de la varianza observada, para las cuatro combinaciones de sexo y origen. Este porcentaje fue algo menor para los insectos de laboratorio que para los salvajes. Los resultados para cada grupo aparecen en las tablas 21, 22, 23 y 24. También se muestran los gráficos correspondientes a las regresiones significativas de los ejes sobre los días pasados en jaula. (figuras 22 y 23) Únicamente se exhiben los gráficos correspondientes a las hembras ya que ninguno de los dos grupos de machos presentó alguna regresión significativa para los ejes encontrados.

RESULTADOS

Tabla 21. Análisis factorial para los machos de laboratorio. Se empleó rotación Varimax normalizada. Se muestra en verde el porcentaje de la varianza total explicado por estos factores y en rojo los caracteres que explican una mayor cantidad de la varianza observada (> 0.7).

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
ACR	0,264	0,206	0,916
ACB	0,675	0,407	0,471
LO	0,756	0,333	0,181
LT	0,751	0,235	0,291
LA	0,802	0,052	0,073
AA	0,747	0,166	0,407
LF	0,502	0,715	0,251
LTI	0,094	0,931	0,139
% varianza acumulada.	39,035	61,320	79,201

Tabla 22. Análisis factorial para las hembras de laboratorio. Se empleó rotación Varimax normalizada. Se muestra en verde el porcentaje de la varianza total explicado por estos factores y en rojo los caracteres que explican una mayor cantidad de la varianza observada (> 0.7).

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
ACR	0,062	0,945	0,107
ACB	0,335	0,577	0,647
LO	0,223	0,051	0,907
LT	0,453	0,294	0,618
LA	0,823	0,011	0,224
AA	0,850	0,096	0,207
LF	0,629	0,509	0,267
LTI	0,663	0,335	0,367
% varianza acumulada	32,555	53,745	77,908

Tabla 23. Análisis factorial para los machos silvestres. Se empleó rotación Varimax normalizada. Se muestra en verde el porcentaje de la varianza total explicado por estos factores y en rojo los caracteres que explican una mayor cantidad de la varianza observada (> 0.7).

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
ACR	0,710	0,440	0,347
ACB	0,722	0,430	0,386
LO	0,187	0,188	0,883
LT	0,568	0,452	0,335
LA	0,884	-0,131	0,195
AA	0,066	0,934	0,178
LF	0,474	0,158	0,707
LTI	0,594	0,363	0,574
% varianza acumulada	34,344	55,155	80,909

Figura 22. Hembras de laboratorio, el eje 3 es el único que dio una regresión significativa. ($p = 0,000117$).

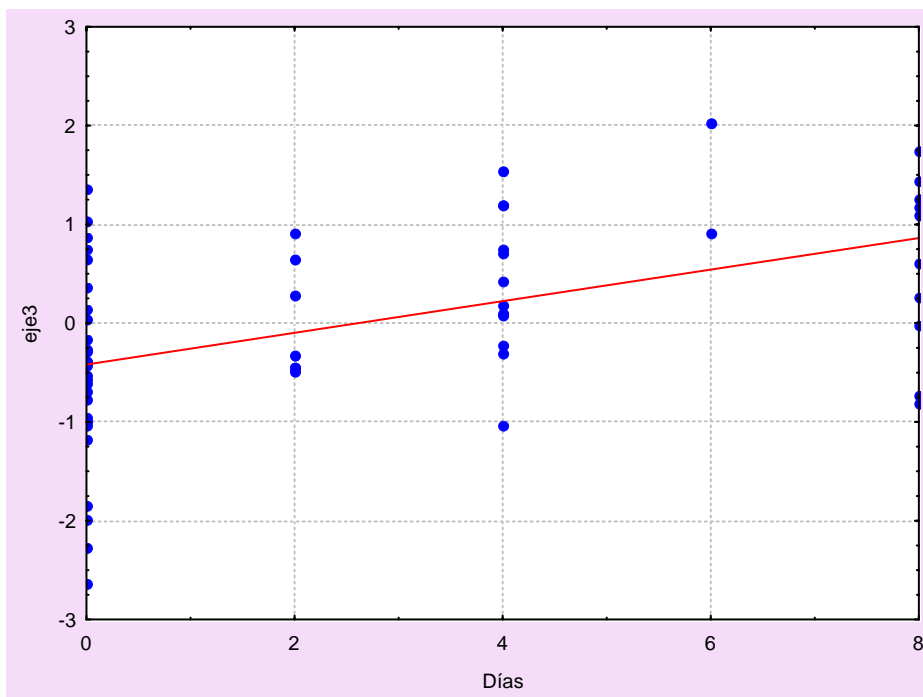
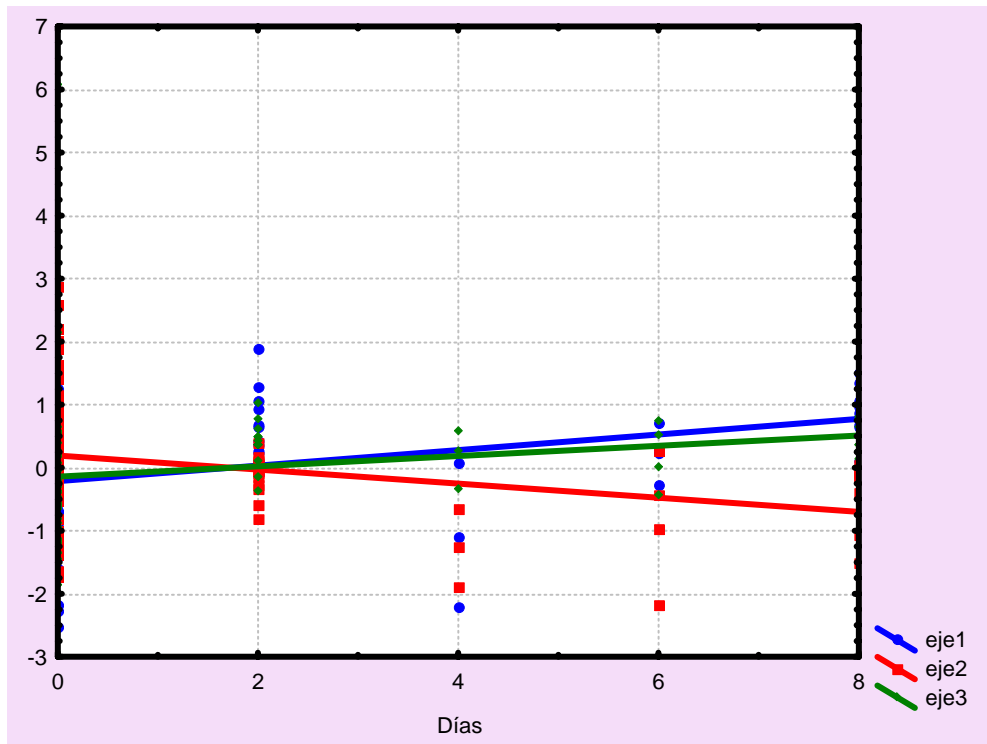


Tabla 24. Análisis factorial para las hembras silvestres. Se empleó rotación Varimax normalizada. Se muestra en verde el porcentaje de la varianza total explicado por estos factores y en rojo los caracteres que explican una mayor cantidad de la varianza observada (> 0.7).

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
ACR	0,634	0,327	-0,122
ACB	0,892	0,190	0,144
LO	0,908	-0,105	-0,115
LT	0,823	-0,069	0,272
LA	0,131	0,119	0,956
AA	0,075	0,947	0,131
LF	0,889	0,136	0,162
LTI	0,844	0,125	0,230
% varianza acumulada	52,814	66,611	80,772

RESULTADOS

Figura 23. Hembras silvestres, Los tres ejes dieron una regresión significativa. (eje 1, $p = 0,000991$; eje 2, $p = 0,002727$; eje 3, $p = 0,02638$.)



Comportamiento

En esta parte del trabajo se obtuvieron y analizaron registros del comportamiento de cortejo de machos de la población de laboratorio colocados individualmente en presencia de una única hembra.

Durante el tiempo que duró la experiencia, se obtuvieron videgrabaciones del comportamiento de 41 machos, de los cuales 31 (75%) se aparearon en el lapso de grabación. Esos machos fueron considerados “exitosos” y los restantes 10 “no exitosos” a los efectos del análisis. La duración de las cópulas varió entre los 19 y los 125 min. con una media de 63. Estos valores son similares a los obtenidos en trabajos previos al evaluar la duración de la cópula entre moscas salvajes en jaulas de campo (65 minutos promedio).

Casi la mitad de los apareamientos (14 de 31) se produjeron en los primeros 5 minutos desde que el macho entró en contacto con la hembra, indicando cortejos breves y una tendencia de la hembra a la aceptación. Aunque se siguió observando y cuantificando el comportamiento de las parejas durante la cópula, esos datos no brindaron una información muy útil, por lo que no se incluyeron en este trabajo. Sin embargo, cualitativamente se observó que las parejas pasaban la mayor parte del tiempo sin moverse del lugar. Además, excepto por periódicos reacomodamientos en que el macho reafirmaba su posición sobre la hembra, no hubo mucha movilidad de los integrantes de la pareja, que incluso al cambiar la posición de sus alas lo hacían con bastante lentitud. Pueden mencionarse como comportamiento frecuente, sin embargo, los breves golpes que el macho da con su proboscis a la cabeza de la hembra, lo que aparentemente tiene un efecto tranquilizante sobre la misma.

La posterior visualización detallada de las grabaciones permitió identificar ciertas actividades y movimientos del macho, descartando algunas actividades por muy frecuentes y aparentemente no relacionadas con el cortejo, como limpiarse el ala con las patas.

RESULTADOS

Así, pudo observarse que el cortejo es un proceso complejo en que el macho envía señales a la hembra produciendo una gota en la ampolla anal, hinchando además los pliegues ventrales que posee a los costados del cuerpo y que sólo son notoriamente visibles en ese estado, destacando por su color blanco contra el color marrón del animal. También, el macho produce ocasionales batidos de las alas o realiza movimientos oscilatorios característicos y mueve las alas en forma alternativa, presumiblemente para ayudar a dispersar las feromonas en todas direcciones. Se cuantificó el tiempo dedicado por cada macho a cada actividad, incluyendo las relacionadas con las interacciones a corta distancia entre el macho y la hembra y la actividad de la pareja durante la cópula. Para cada macho se logró tener, segundo a segundo, la información de tres parámetros: posición y actitud del cuerpo, posición de las alas, y tipo de llamado a la hembra a través de la liberación de feromona desde el extremo anal.

Aunque el detalle de cada combinación de comportamientos fue muy informativo y permitió conocer en forma más precisa el cortejo, para facilitar el análisis se estudió por separado el tiempo de llamado, las actitudes corporales y las posiciones de las alas, a los efectos de poder trabajar con menos variables y más cantidad de datos para cada una.

Fue posible identificar distintas fases del llamado. Se tipificaron 3 condiciones de llamado por liberación de feromona, 9 posiciones de las alas y 7 tipos de movimiento corporal, aunque dos de estas actividades (**Fanning** y **Spin**) coinciden con dos posiciones de alas. El nombre y descripción detallada de cada movimiento que pudo reconocerse aparecen en la Tabla 25.

En lo que respecta a la terminología, la misma está basada principalmente en la nomenclatura utilizada generalmente en *C. capitata* (ver, por ejemplo, Calcagno et al. 2002). El término **Arrowhead** es utilizado frecuentemente en estudios del género *Anastrepha* (Dodson, 1982), aunque la división en **Arrowhead 1** y **2** es propia, lo mismo que las

RESULTADOS

subdivisiones de **Calling** y el término **Oscillation**. Por último, los términos **Enantion** y **Hamation** corresponden a Robacker y Hart (1985).

A los efectos de facilitar la comprensión de algunas de las actitudes mencionadas, además de la descripción que aparece en la tabla, las figuras 24, 25, 26 y 27 muestran algunas fotos representativas de las posiciones estáticas más frecuentes.

Tabla 25. Análisis del cortejo. Actitudes del macho (respecto al llamado, alas y movimiento corporal).

a) Fases de llamado / no llamado
calling 0: No es posible percibir la liberación de feromona, se considera que el macho no está llamando
calling 1: Se observa una gota de feromona en el extremo anal del macho
calling 2: Además de la gota de feromona, las glándulas laterales del abdomen están protruyentes.
b) Actitud de las alas
Relax: Alas hacia atrás del cuerpo, en reposo
Transversal: Alas transversales a la línea principal del cuerpo.
R/T: Una de las alas se encuentra hacia atrás y la otra transversal al cuerpo.
Hamation: Movimiento alternativo de cada una de las alas, hacia delante y atrás
Enantion: Movimiento simultáneo de ambas alas hacia delante y atrás.
Arrowhead I (punta de flecha): Posición en que el macho echa hacia atrás totalmente las alas, manteniéndolas rígidas y extiende la proboscis
Arrowhead II: El macho mueve alternativamente las alas frotándolas contra los pliegues expandidos del abdomen. La proboscis se encuentra extendida
Fanning: Aleteo muy rápido, intermitente o continuo
Spin: Giro sobre sí mismo acompañado por aleteo vigoroso
c) Movimiento corporal
Stationary: El macho permanece quieto o limpiándose en el lugar.
Mobile: camina o vuela, desplazándose de un lugar a otro
Oscillation: movimiento lateral, describiendo un arco
Fight: Interacción agresiva en que el macho o la hembra empuja al otro o lo golpea con la cabeza
Attempt: el macho salta o sube sobre la hembra, con intención de copular.

RESULTADOS

Figura 24. *A. fraterculus* en actitud de calling0 y Transversal (alas perpendiculares a la línea media del cuerpo).



Figura 25. *A. fraterculus* en actitud de calling1 y Transversal (alas perpendiculares a la línea media del cuerpo).



Figura 26. *A. fraterculus* en actitud de calling2 y Relax (alas hacia los costados del cuerpo).



Figura 27. *A. fraterculus* en actitud de hamation (señales con las alas en distinta posición)

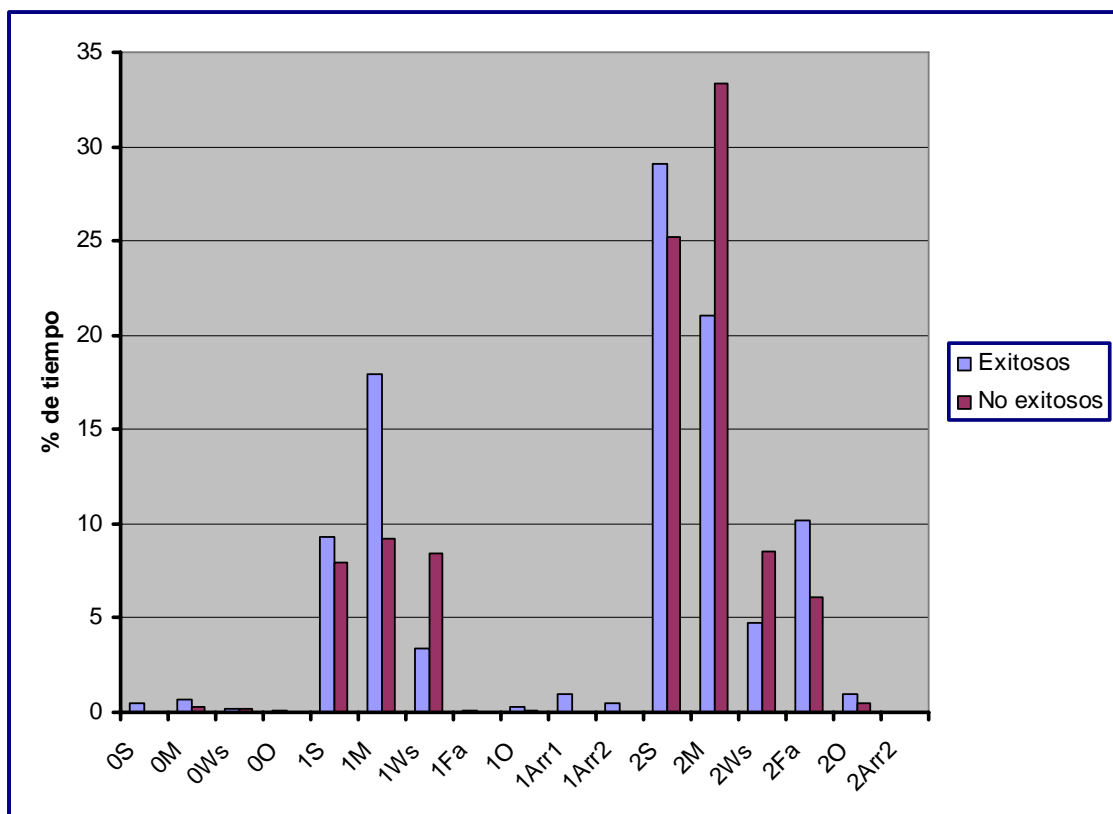


Como una primera aproximación cuantitativa, se dividió a los machos en un grupo conformado por los que habían logrado la cópula (exitoso) y los que no lo hicieron (no exitosos). Se calculó el tiempo promedio que los individuos de cada grupo habían dedicado a

RESULTADOS

cada actividad durante los 10 minutos en que se los filmó en ausencia de la hembra. Para simplificar la visualización de estos resultados, las señales con las alas (**Enantion** + **Hamation**) formaron la nueva categoría **Wing Signalling**. (Figura 28).

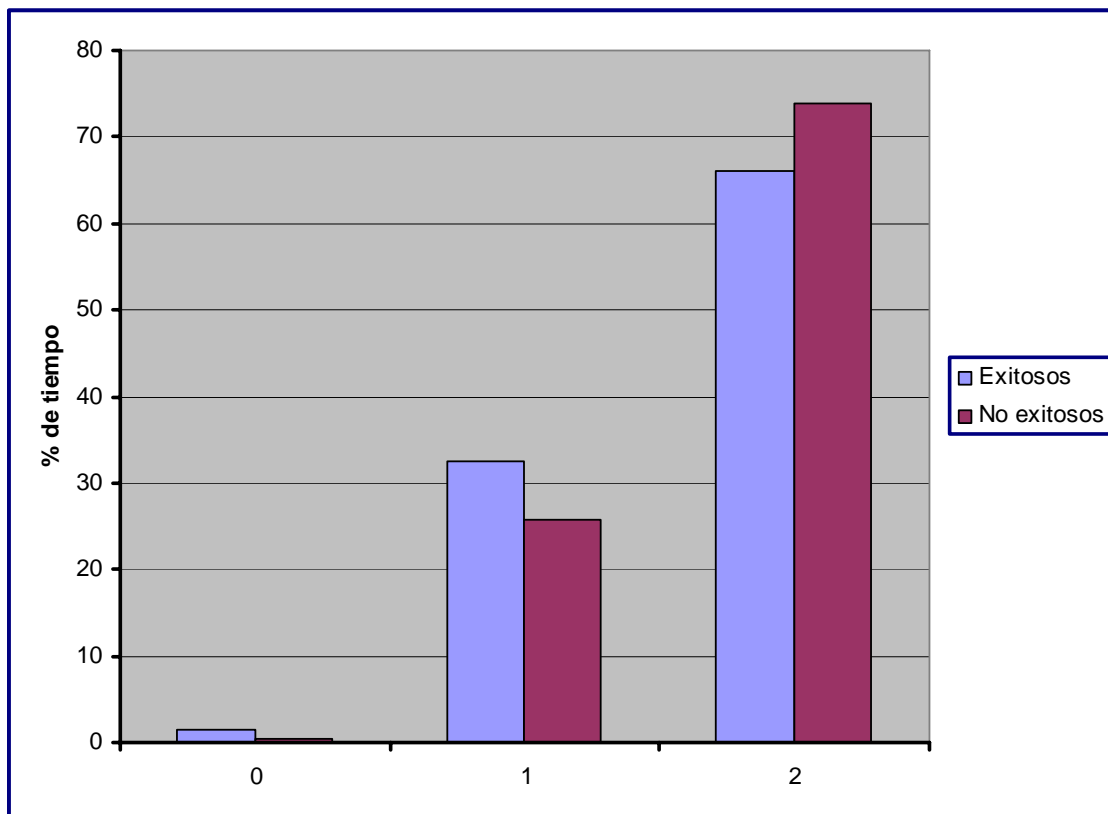
Figura 28. Promedio de tiempo dedicado por los machos exitosos y los no exitosos a cada actividad durante los 10 minutos en que se los filmó sin la presencia de la hembra. El primer número corresponde al llamado (Calling0, 1 o 2). (S: Steady, M: Mobile, Fa: Fanning, O: Oscillation, Ws: Wing signalling, Arr: Arrowhead)



A continuación, se graficaron las etapas del cortejo discriminadas en los tres parámetros, es decir, el tiempo promedio dedicado por cada grupo de individuos a cada tipo de llamado (figura29), posición de las alas (figura 30) y actitud corporal (figura 31).

RESULTADOS

Figura 29. Promedio de tiempo dedicado por los machos exitosos y los no exitosos a cada tipo de llamado (Calling0, Calling1, Calling2) durante los 10 minutos en que se los filmó sin la presencia de la hembra.



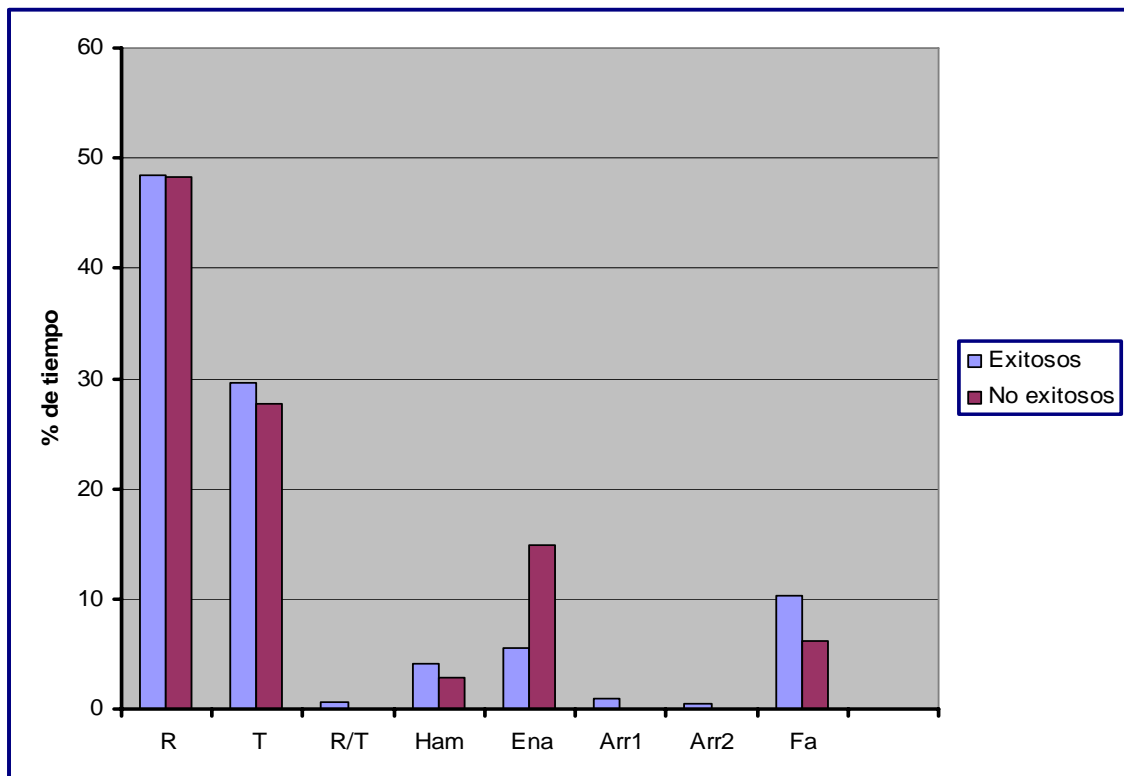
Luego se repitió el mismo tipo de análisis para los 30 minutos en que el macho fue filmado en presencia de la hembra. Para evitar problemas generados por la mayor o menor velocidad en alcanzar la cópula los porcentajes del tiempo dedicado a cada actividad se relativizaron al tiempo total transcurrido entre el comienzo de la filmación de la pareja y el inicio de la cópula, si es que esta sucedía. Consecuentemente, para los individuos no exitosos ese tiempo total eran los 30 minutos que duraba la filmación. Los resultados se muestran en las figuras 32, 33, 34 y 35.

La estadística básica, para los 10 minutos del individuo filmado en soledad y para los 30 minutos de filmación del macho junto a la hembra, aparece en las tablas 26 a 33. Para ver las diferencias entre los grupos (exitosos y no exitosos) se hizo primeramente una prueba de t para muestras independientes.

RESULTADOS

Para los 10 minutos de filmación del macho en soledad, el único comportamiento que mostró diferencias significativas entre grupos ($p = 0,011$) en la prueba t fue **enantion**, es decir, movimientos de alas simultáneos, más frecuente en los individuos no exitosos. Para los 30 minutos enfrentados a la hembra, sólo el intento de cópula (Attempt) y el movimiento estacionario en llamado 2 (**2S**) aparecieron como significativos. Los intentos fueron más frecuentes en el grupo exitoso ($p = 0,046$) y la actitud 2S es más frecuente en los no exitosos. ($p = 0.008$).

Figura 30. Promedio de tiempo invertido por los machos exitosos y los no exitosos en cada posición de las alas durante los 10 minutos en que se los filmó sin la presencia de la hembra. (R: Relax, T: Transversal, Ham: Hamation, Ena: Enantion, Arr: Arrowhead, Fanning)



RESULTADOS

Figura 31. Promedio de tiempo dedicado por los machos exitosos y los no exitosos a cada posición corporal durante los 10 minutos en que se los filmó sin la presencia de la hembra. (S: Steady, M: Mobile, Fa: Fanning, O: Oscillation)

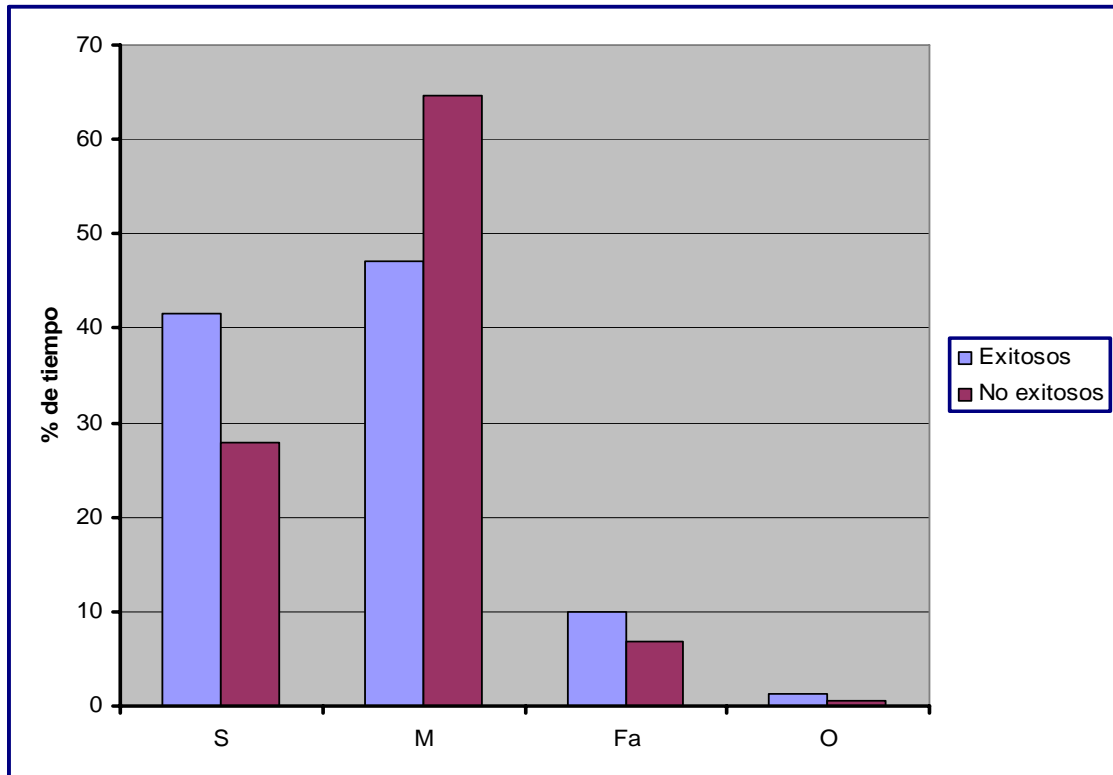
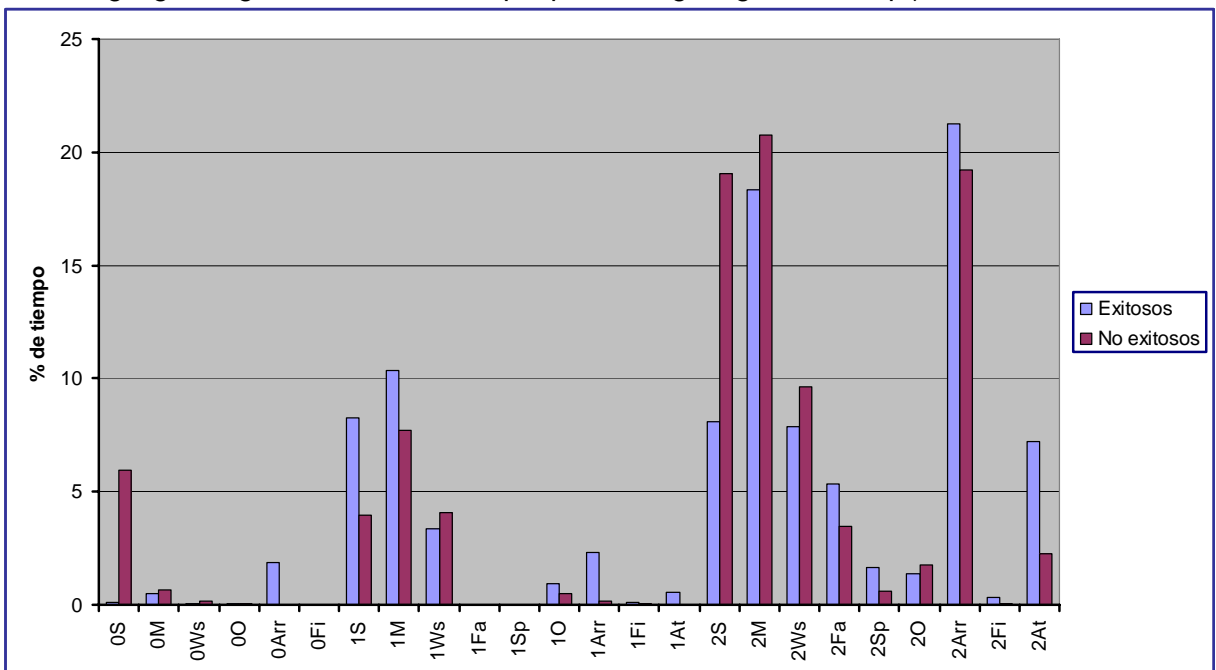


Figura 32. Promedio de tiempo dedicado por los machos exitosos y los no exitosos a cada actividad durante los 30 minutos de filmación en presencia de la hembra. El primer número corresponde al llamado (Calling0, 1 o 2). (S: Steady, M: Mobile, Fa: Fanning, O: Oscillation, Ws: Wing signalling, Arr: Arrowhead, Sp: spin, Fi: Fighting, At: Attempt)



RESULTADOS

Figura 33. Promedio de tiempo dedicado por los machos exitosos y los no exitosos a cada tipo de llamado (Calling0, Calling1, Calling2) durante los 30 minutos de filmación en presencia de la hembra.

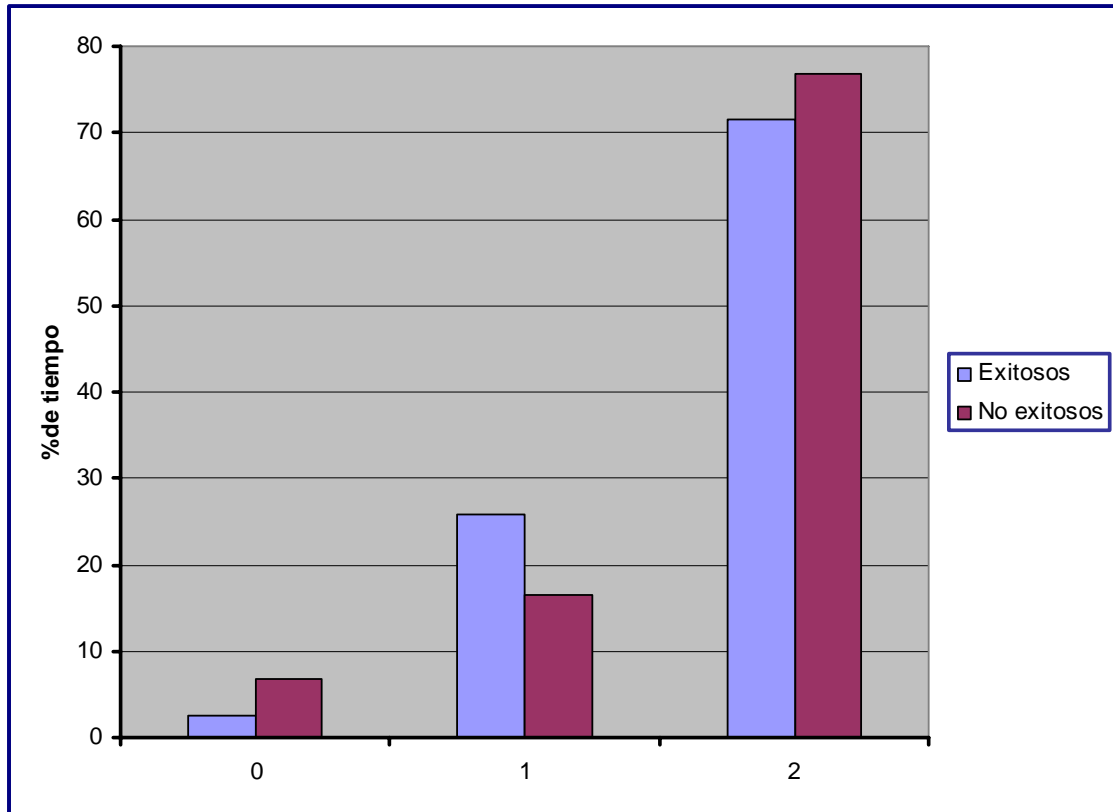
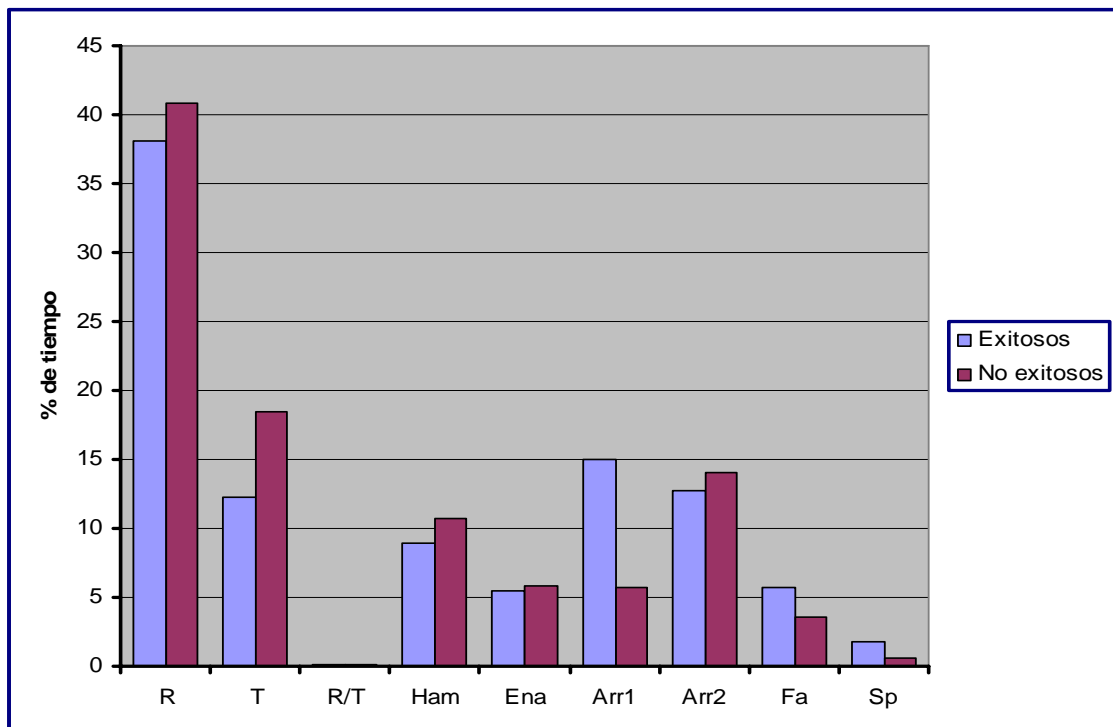


Figura 34. Promedio de tiempo invertido por los machos exitosos y los no exitosos en cada posición de las alas durante los 10 minutos en que se los filmó sin la presencia de la hembra. (R: Relax, T: Transversal, Ham: Hamation, Ena: Enantion, Arr: Arrowhead, Fa: Fanning, Sp: Spin.)



RESULTADOS

Figura 35. Promedio de tiempo dedicado por los machos exitosos y los no exitosos a cada posición corporal durante los 10 minutos en que se los filmó sin la presencia de la hembra. (S: Steady, M: Mobile, Fa: Fanning, Sp: Spin, O: Oscillation, Att: Attempt, Fi: Fighting)

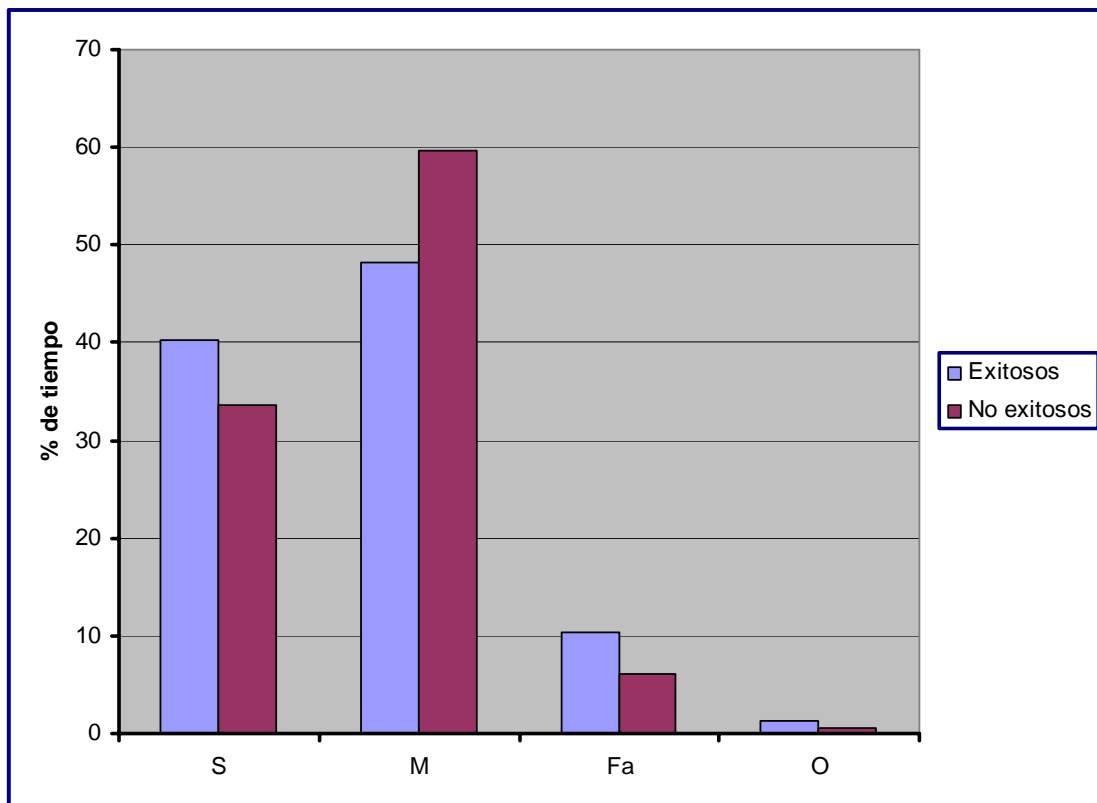


Tabla 26. Medias y desvío estándar para las actitudes generales (en los 10 minutos en que el macho estuvo solo)

	No Exitosos		Exitosos	
	Media	Desvío	Media	Desvío
0S	0,000	0,000	0,005	0,022
0M	0,003	0,009	0,006	0,027
0Ws	0,002	0,006	0,002	0,013
0O	0,000	0,000	0,001	0,002
1S	0,080	0,158	0,093	0,157
1M	0,092	0,149	0,180	0,269
1Ws	0,085	0,213	0,034	0,073
1Fa	0,000	0,000	0,001	0,007
1O	0,001	0,002	0,003	0,005
1Arr1	0,000	0,000	0,009	0,052
1Arr2	0,000	0,000	0,005	0,020
2S	0,253	0,230	0,291	0,253
2M	0,333	0,237	0,210	0,190
2Ws	0,085	0,086	0,047	0,059
2Fa	0,062	0,086	0,102	0,185
2O	0,005	0,008	0,010	0,014
2Arr1	0,000	0,001	0,000	0,000

RESULTADOS

Tabla 27. Medias y desvío estándar para el tiempo dedicado al llamado (en los 10 minutos en que el macho estuvo solo).

	No exitosos		Exitosos	
	Media	Desvío	Media	Desvío
Calling0	0,005	0,015	0,014	0,051
Calling1	0,257	0,403	0,325	0,365
Calling2	0,738	0,412	0,660	0,374

Tabla 28. Medias y desvío estándar para el tiempo dedicado a cada movimiento de alas (en los 10 minutos en que el macho estuvo solo)

	No exitosos		Exitosos	
	Media	Desvío	Media	Desvío
Relax	0,483	0,239	0,484	0,247
Transversal	0,277	0,302	0,295	0,256
R/T	0,001	0,002	0,006	0,011
Hamation	0,028	0,025	0,042	0,051
Enantion	0,149	0,176	0,055	0,054
Arrowhead1	0,000	0,001	0,009	0,052
Arrowhead2	0,000	0,000	0,005	0,020
Fanning	0,062	0,086	0,103	0,185

Tabla 29. Medias y desvío estándar para el tiempo dedicado a cada movimiento del cuerpo (en los 10 minutos en que el macho estuvo solo).

	No exitosos		Exitosos	
	Media	Desvío	Media	Desvío
Steady	0,336	0,268	0,402	0,266
Mobile	0,596	0,233	0,482	0,265
Fanning	0,062	0,086	0,103	0,185
Oscillation	0,006	0,008	0,013	0,016

RESULTADOS

Tabla 30. Medias y desvío estándar para las actitudes generales (en los 30 minutos de filmación)

(FiH: Fighting de la hembra hacia el macho, FiM: Fighting del macho, SaE: Salto errado (es decir, el macho salta sobre la hembra, pero falla.), IP: intento pacífico, IV: Intento violento)

	Exitosos		No Exitosos	
	Media	Desvío	Media	Desvío
0S	0,001	0,004	0,059	0,188
0M	0,005	0,019	0,007	0,021
0Ws	0,001	0,003	0,002	0,005
0O	0,001	0,004	0,001	0,002
0Arr1	0,008	0,043	0,000	0,000
0Arr2	0,011	0,061	0,000	0,000
0FiH	0,000	0,000	0,000	0,000
1S	0,083	0,150	0,040	0,073
1M	0,104	0,152	0,077	0,152
1Ws	0,033	0,058	0,041	0,107
1Fa	0,000	0,001	0,000	0,000
1Sp	0,000	0,000	0,000	0,000
1O	0,009	0,024	0,005	0,010
1Arr1	0,013	0,031	0,002	0,005
1Arr2	0,011	0,044	0,000	0,000
1FiH	0,001	0,003	0,000	0,001
1FIM	0,000	0,001	0,000	0,000
1SaE	0,000	0,001	0,000	0,000
1IP	0,005	0,026	0,000	0,000
2S	0,081	0,091	0,191	0,153
2M	0,183	0,135	0,208	0,156
2Ws	0,079	0,094	0,096	0,069
2Fa	0,054	0,112	0,035	0,047
2Sp	0,016	0,035	0,006	0,008
2O	0,014	0,024	0,018	0,022
2Arr1	0,115	0,150	0,053	0,060
2Arr2	0,098	0,147	0,139	0,176
2FiH	0,002	0,004	0,000	0,000
2FIM	0,002	0,004	0,000	0,001
2SaE	0,001	0,002	0,000	0,000
2IP	0,063	0,066	0,020	0,058
2IV	0,008	0,022	0,002	0,005

RESULTADOS

Tabla 31. Medias y desvío estándar para el tiempo dedicado al llamado(en los 30 minutos de filmación).

	Exitosos		No exitosos	
	Media	Desvío	Media	Desvío
Calling0	0,026	0,122	0,068	0,216
Calling1	0,259	0,323	0,164	0,321
Calling2	0,715	0,354	0,768	0,403

Tabla 32. Medias y desvío estándar para el tiempo dedicado a cada movimiento de alas (en los 30 minutos de filmación).

	Exitosos		No exitosos	
	Media	Desvío	Media	Desvío
Relax	0,381	0,209	0,408	0,155
Transversal	0,122	0,164	0,185	0,209
R/T	0,001	0,002	0,001	0,002
Hamation	0,090	0,074	0,107	0,088
Enantion	0,054	0,073	0,059	0,065
Arrowhead1	0,150	0,177	0,057	0,064
Arrowhead2	0,127	0,165	0,141	0,176
Fanning	0,057	0,115	0,036	0,049
Spin	0,017	0,037	0,006	0,009

Tabla 33. Medias y desvío estándar para el tiempo dedicado a cada movimiento del cuerpo (en los 30 minutos de filmación).

	Exitosos		No exitosos	
	Media	Desvío	Media	Desvío
Steady	0,326	0,183	0,460	0,235
Mobile	0,500	0,164	0,453	0,223
Fanning	0,037	0,070	0,035	0,047
Spin	0,016	0,035	0,006	0,008
Oscillation	0,025	0,030	0,023	0,020
Attempt	0,091	0,099	0,023	0,058
Fighting	0,005	0,007	0,001	0,001

RESULTADOS

En las condiciones de la experiencia, los machos dedicaron más del 90% de su tiempo a la liberación de feromona atractiva para la hembra (**Calling1** y **Calling 2**).

Globalmente, pudo determinarse que estuvieron cerca del 40% del tiempo con las alas relajadas, hacia atrás del cuerpo (**Relax**). En promedio, permanecieron quietos (**Steady**) un 39% del tiempo, aunque la actividad más frecuente (**Mobile**), que insume cerca del 50% del tiempo es el desplazamiento (caminando o volando), lo que quizás contribuya a difundir el olor de las feromonas. Sólo una fracción relativamente corta del tiempo (un 6% aproximadamente) es dedicado directamente al proceso de saltar sobre la hembra intentando copular (**Attempt**).

En 21 de los 31 machos que lograron aparearse en el tiempo de filmación se observó que la última posición antes del intento de cópula es **Arrowhead** (en la mayoría de los casos, **Arrowhead1** acompañada por **Mobile**). El tiempo que permanecen en esta posición es variable (1 a 25 segundos) Previamente, lo más usual es que haya movimientos a corta distancia, particularmente **Enantion** y **Hamation**, así como **Oscillation**.

En los 10 minutos previos a la entrada de la hembra no hubo diferencias notables en el comportamiento a lo largo del tiempo de exitosos y no exitosos. (figura 36 y 37 respectivamente). Luego, en los 30 minutos filmados en presencia de la hembra, se ve como los exitosos redujeron su actividad individual, principalmente de **steady** and **mobile**, a medida que logran alcanzar la cópula. (Figura 38 y 39)

RESULTADOS

Figura 36. proporción del tiempo dedicado por machos exitosos a cada movimiento corporal durante los 10 minutos de coexistencia con la hembra.
(S: Steady, M: Mobile, Fa: Fanning, O: Oscillation)

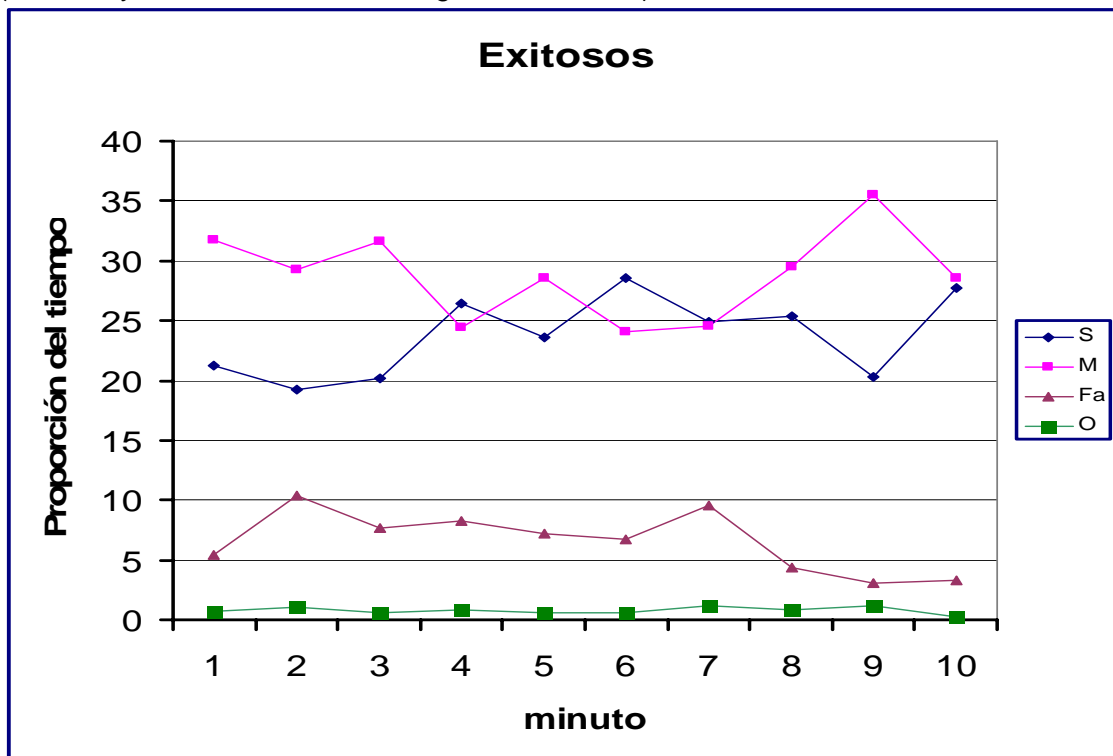
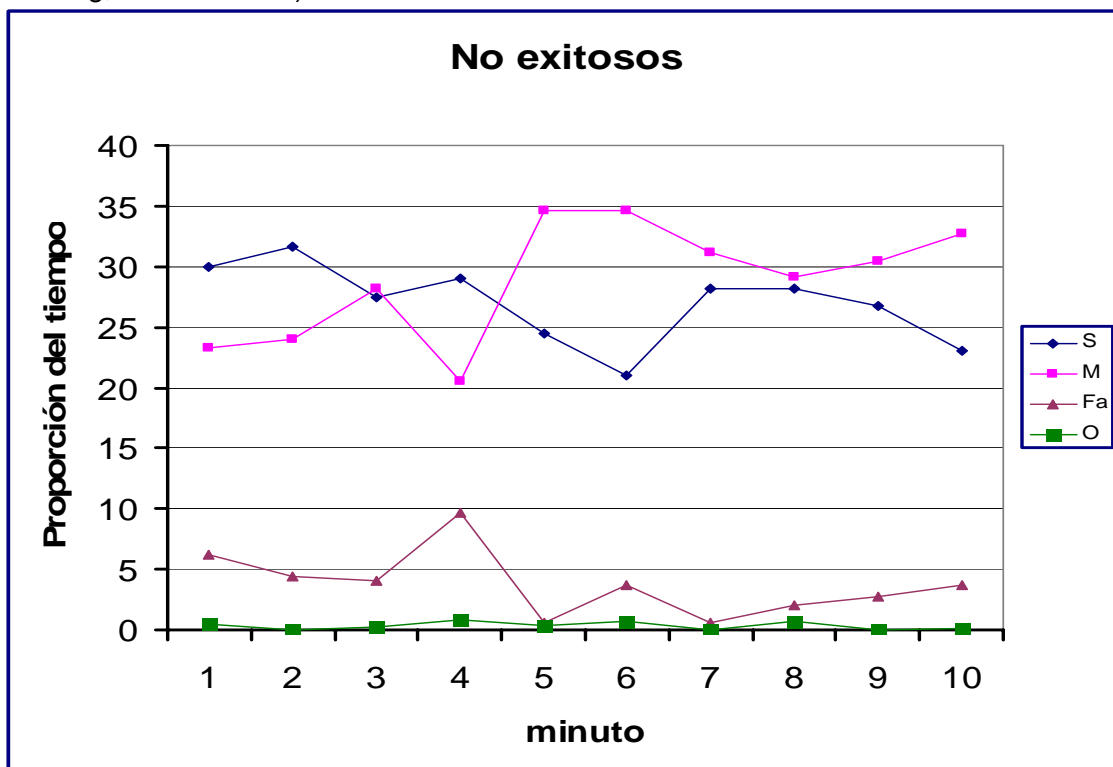


Figura 37. proporción del tiempo dedicado por machos no exitosos a cada movimiento corporal durante los 10 minutos de coexistencia con la hembra. (S: Steady, M: Mobile, Fa: Fanning, O: Oscillation)



RESULTADOS

Figura 38. proporción del tiempo dedicado por machos exitosos a cada actividad durante los 30 minutos de coexistencia con la hembra.

(S: Steady, M: Mobile, Fa: Fanning, , Sp: Spin, O: Oscillation, At: Attempt, Fi: Fighting)

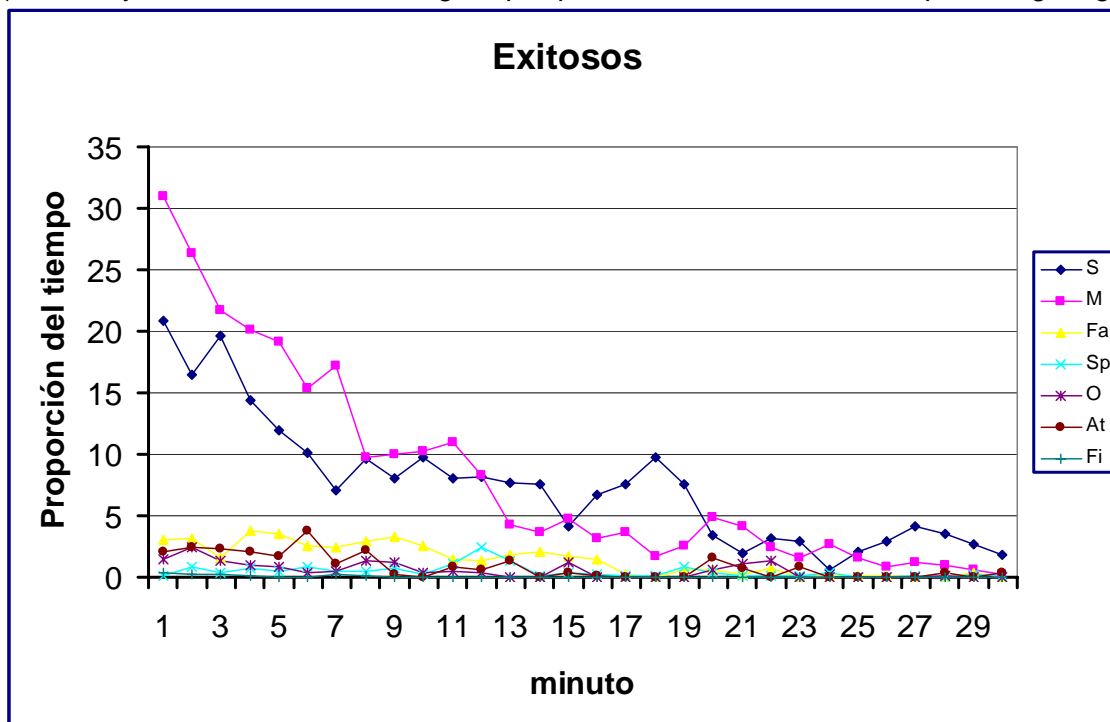
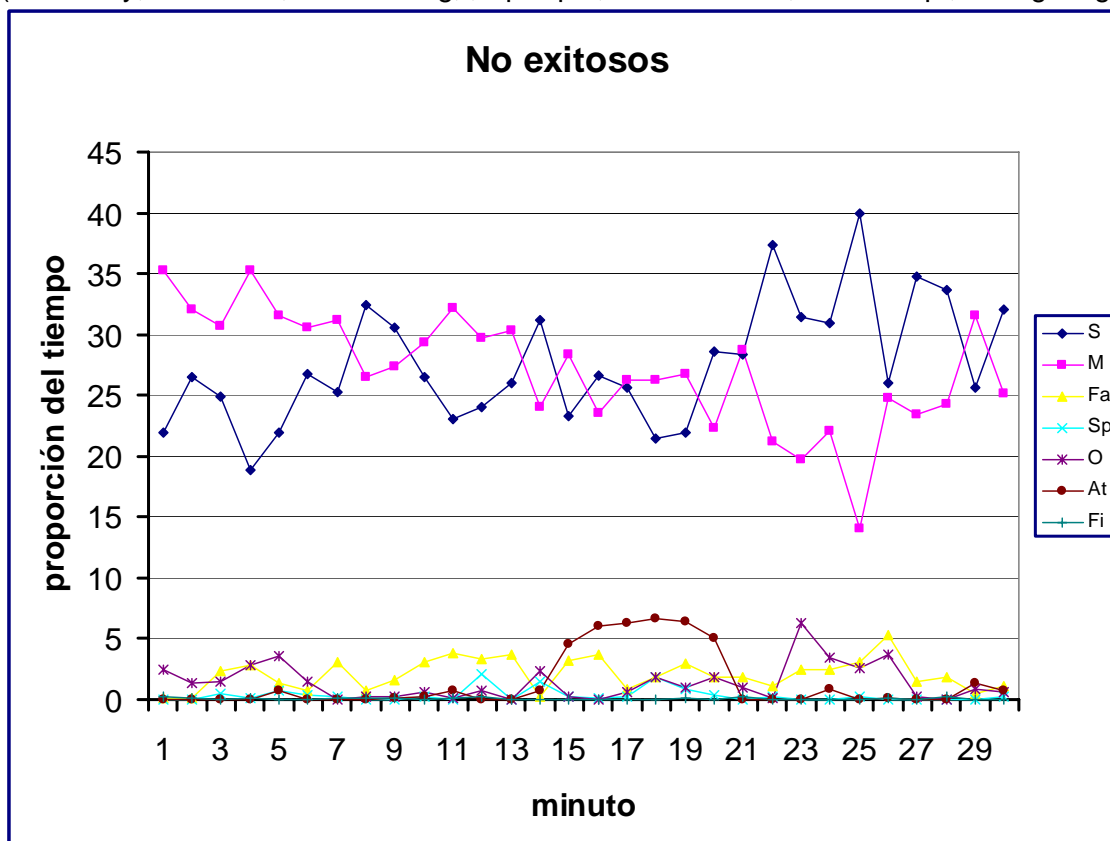


Figura 39. proporción del tiempo dedicado por machos no exitosos a cada actividad durante los 30 minutos de coexistencia con la hembra.

(S: Steady, M: Mobile, Fa: Fanning, , Sp: Spin, O: Oscillation, At: Attempt, Fi: Fighting)



RESULTADOS

Los resultados de las regresiones paso a paso entre los tiempos dedicados a cada actividad (variable independiente) y el éxito copulatorio (variable dependiente) para los 10 minutos de filmación del macho previo a la liberación de la hembra se muestran en las tablas 34 (para todas las actitudes identificadas), 35 (la actitud de las alas) y 36 (movimientos corporales). Los resultados del mismo análisis para los 30 minutos de filmación de los machos en presencia de la hembra se ven en las tablas 37, 38 y 39. respectivamente. Las regresiones significativas se grafican en las figuras 40 a 47.

Cabe señalar que en el caso de los 10 minutos de filmación del macho antes de liberar la hembra, sólo uno de los individuos realizó **Arrowhead1** combinado con **Calling2** (Es decir, **2Arr1**), por lo que los resultados no son representativos y no se tomaron en cuenta. De la misma manera, la regresión significativa para el caso de **Enantion** se debe principalmente a un solo individuo que realizó ese movimiento por mucho tiempo, como se observa en la figura NN2. En lo que respecta a los 30 minutos en presencia de la hembra, también hubo muy pocos datos para **0S (Steady + Calling0)** y la regresión significativa se debe principalmente a un punto aislado, por lo que tampoco resulta representativo.

Tabla 34. Resumen de la regresión paso a paso entre los tiempos dedicados a cada actitud y el éxito copulatorio durante los 10 minutos en que el macho estuvo solo.

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(36)	p-level
Intercept			1,227	0,1486	8,25754	0,000000
2Arr1	-0,319996	0,140943	-267,249	117,7104	-2,27040	0,029637
2M	-0,442610	0,197452	-0,935	0,4169	-2,24161	0,031622
1Ws	-0,400918	0,154284	-1,440	0,5543	-2,59857	0,013743
1S	-0,409493	0,208766	-1,144	0,5831	-1,96150	0,058052
0S	0,229171	0,181343	5,108	4,0419	1,26374	0,214920
2Ws	-0,202128	0,174416	-1,306	1,1273	-1,15888	0,254579

RESULTADOS

Tabla 35. Resumen de la regresión paso a paso entre los tiempos dedicados a cada posición de las alas y el éxito copulatorio durante los 10 minutos en que el macho estuvo solo

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(37)	p-level
Intercept			0,70795	0,111465	6,35129	0,000000
Enantion	-0,427932	0,151212	-1,78456	0,630580	-2,83002	0,007566
Hamation	0,288082	0,151750	2,70590	1,425361	1,89840	0,065683
R/T	0,220397	0,149105	9,38688	6,350494	1,47813	0,148069
Fanning	0,162443	0,153240	0,42407	0,400045	1,06006	0,296178

Tabla 36. Resumen de la regresión paso a paso entre los tiempos dedicados a cada movimiento corporal y el éxito copulatorio durante los 10 minutos en que el macho estuvo solo

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(38)	p-level
Intercept			0,620819	0,101511	6,115756	0,000000
Oscill.	0,267007	0,162781	7,810427	4,761619	1,640288	0,109198
Fanning	0,186560	0,162781	0,487030	0,424953	1,146082	0,258927

Tabla 37. Resumen de la regresión paso a paso entre los tiempos dedicados a cada actitud y el éxito copulatorio durante los 30 minutos de filmación del macho en presencia de la hembra.

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(33)	p-level
Intercept			1,234	0,148	8,333	0,000
2S	-0,566	0,140	-2,096	0,517	-4,053	0,000
0S	-0,478	0,142	-2,243	0,666	-3,369	0,002
2Fi	0,268	0,133	32,116	15,954	2,013	0,052
0O	0,246	0,144	32,410	18,937	1,712	0,096
1Ws	-0,351	0,154	-2,138	0,935	-2,286	0,029
2M	-0,259	0,152	-0,810	0,476	-1,701	0,098
2Arr2	-0,181	0,136	-0,515	0,386	-1,333	0,192

Tabla 38. Resumen de la regresión paso a paso entre los tiempos dedicados a cada posición de las alas y el éxito copulatorio durante los 30 minutos de filmación del macho en presencia de la hembra.

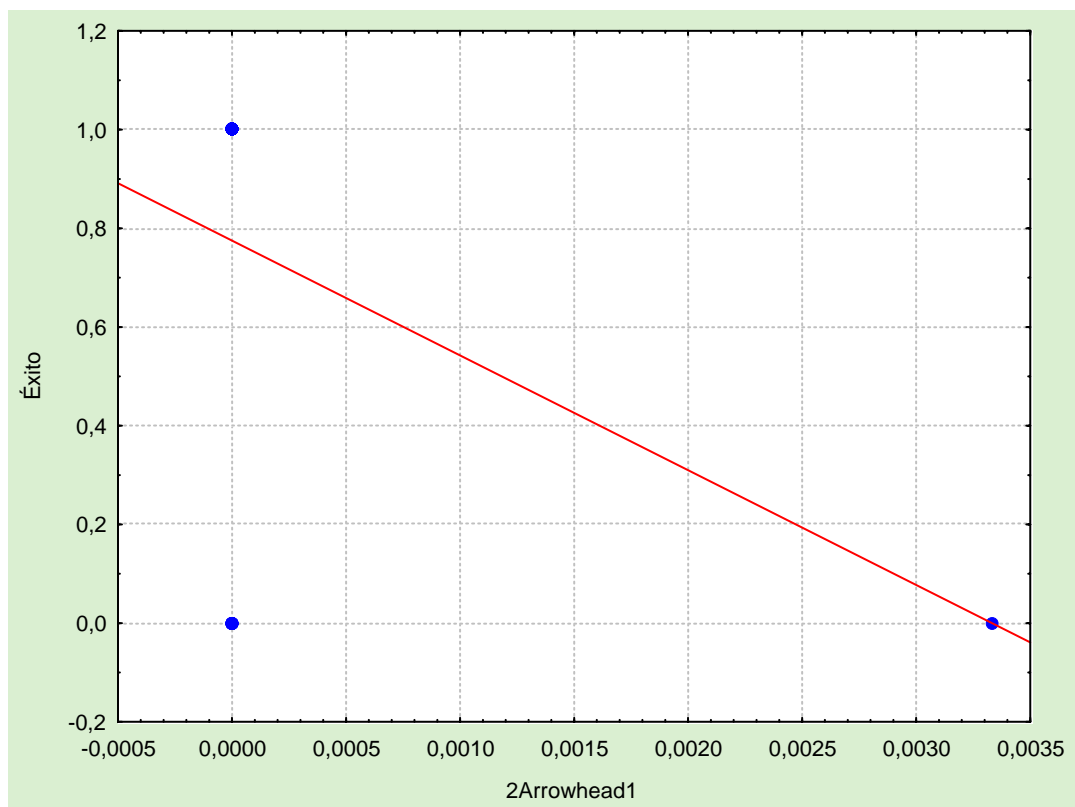
	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(38)	p-level
Intercept			0,635	0,092	6,932	0,000
Arr1	0,260	0,155	0,702	0,418	1,679	0,101
Spin	0,161	0,155	2,154	2,080	1,036	0,307

RESULTADOS

Tabla 39. Resumen de la regresión paso a paso entre los tiempos dedicados a cada movimiento corporal y el éxito copulatorio durante los 30 minutos de filmación del macho en presencia de la hembra.

	Beta	Std.Err.	B	Std.Err.	t(37)	p-level
Intercept			0,546	0,095	5,752	0,000
Attempt	0,337	0,149	1,540	0,681	2,260	0,030
Fighting	0,243	0,148	16,568	10,104	1,640	0,110
Spin	0,170	0,150	2,396	2,107	1,137	0,263

Figura 40. Regresión entre el tiempo dedicado a realizar la posición Arrowhead1 mientras llamado 2 (en los 10 minutos que el macho pasa solo) y el éxito copulatorio



RESULTADOS

Figura 41: Regresión entre el tiempo dedicado a moverse mientras realiza llamado 2 (en los 10 minutos que el macho pasa solo y el éxito copulatorio).

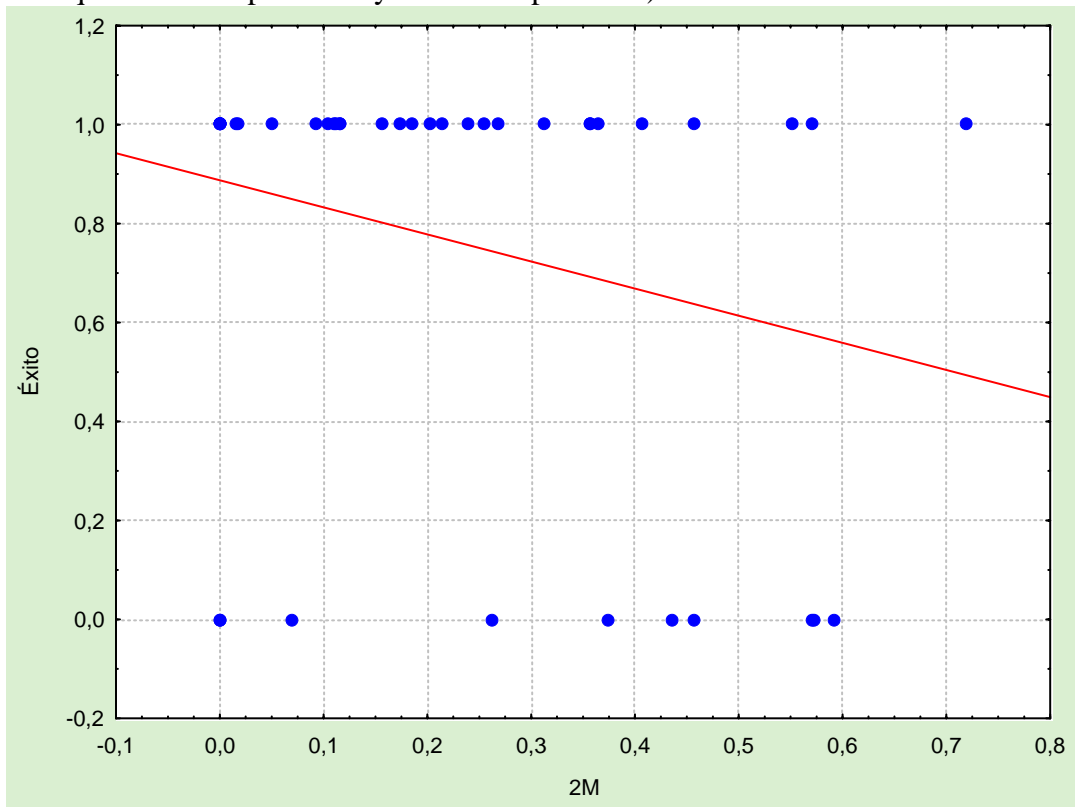
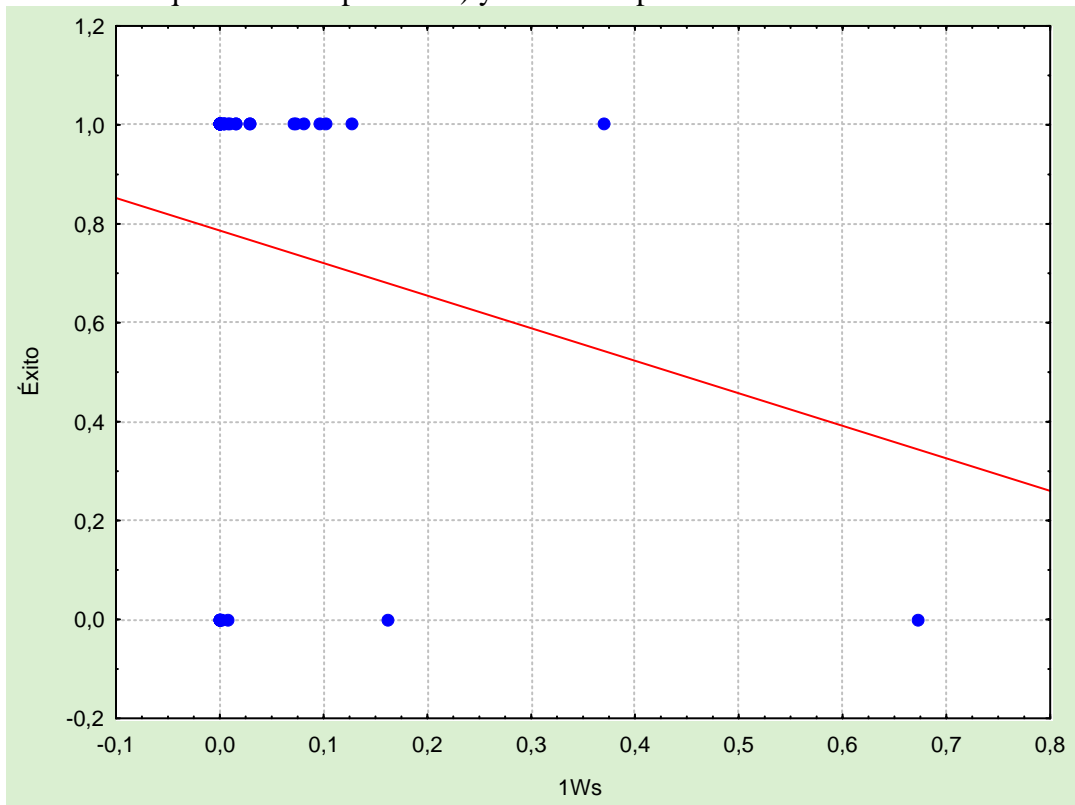


Figura 42. Regresión entre el tiempo dedicado a realizar señales con las alas y en llamado 1 (en los 10 minutos que el macho pasa solo) y el éxito copulatorio.



RESULTADOS

Figura 45. Regresión entre el tiempo dedicado a permanecer estacionario y en llamado 0 en los 30 minutos que el macho pasa junto a la hembra y el éxito copulatorio.

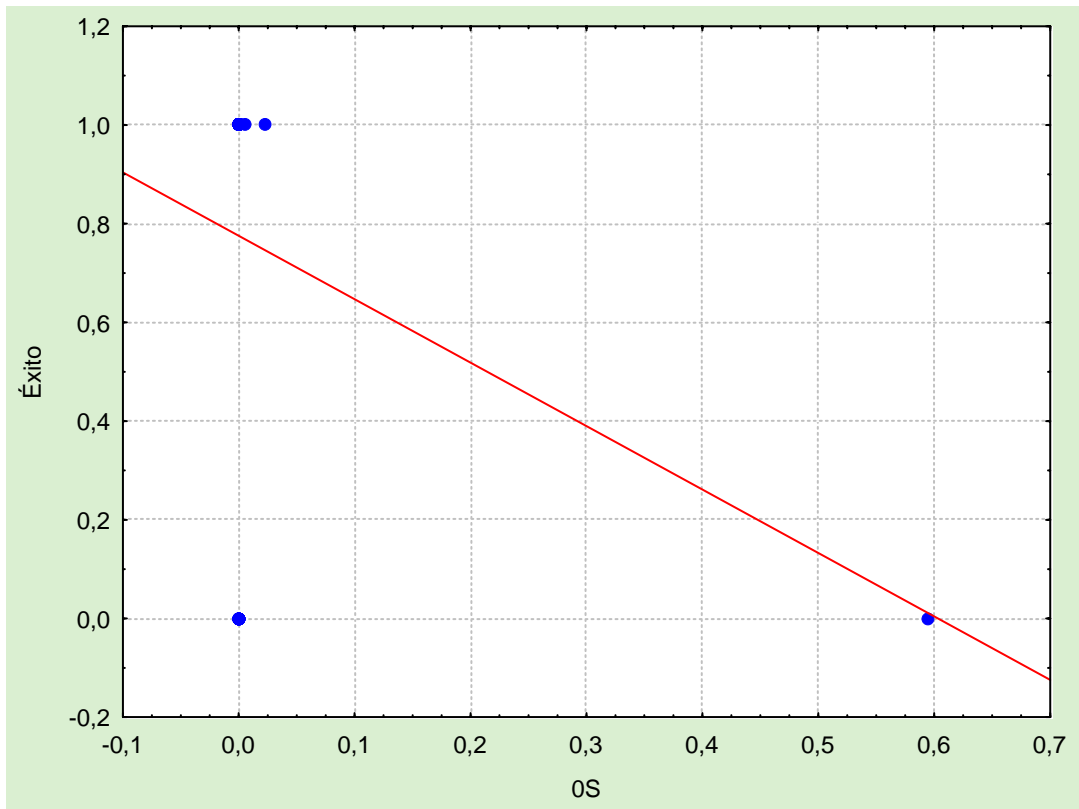
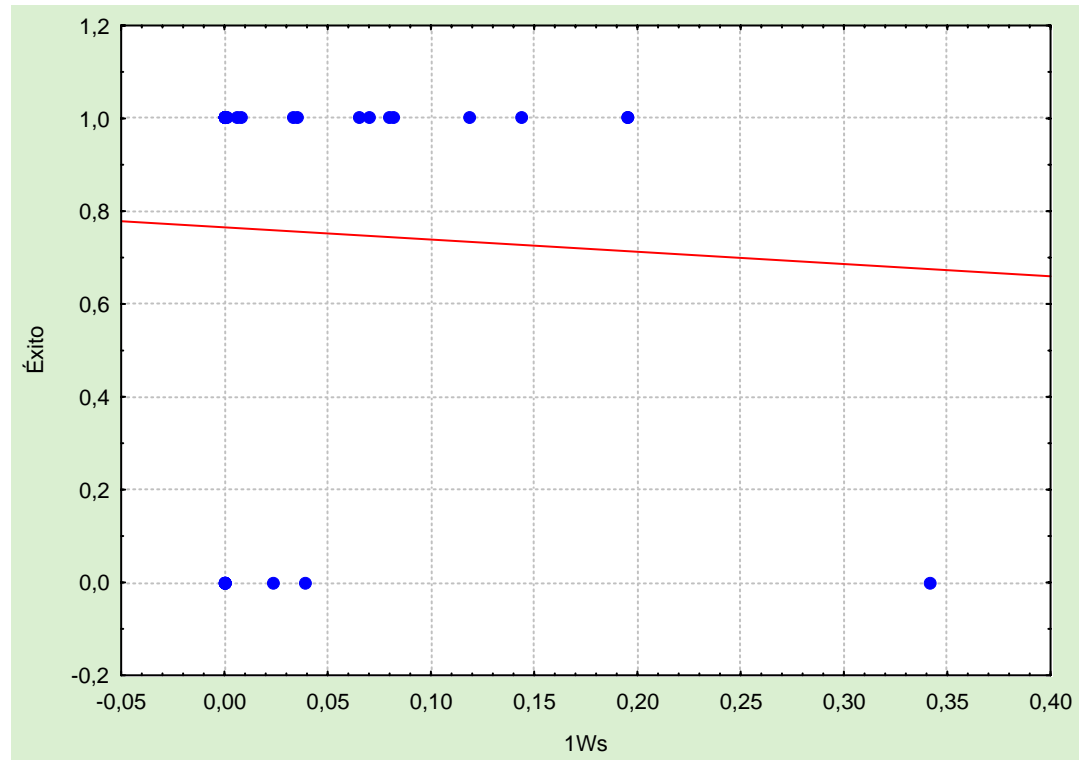
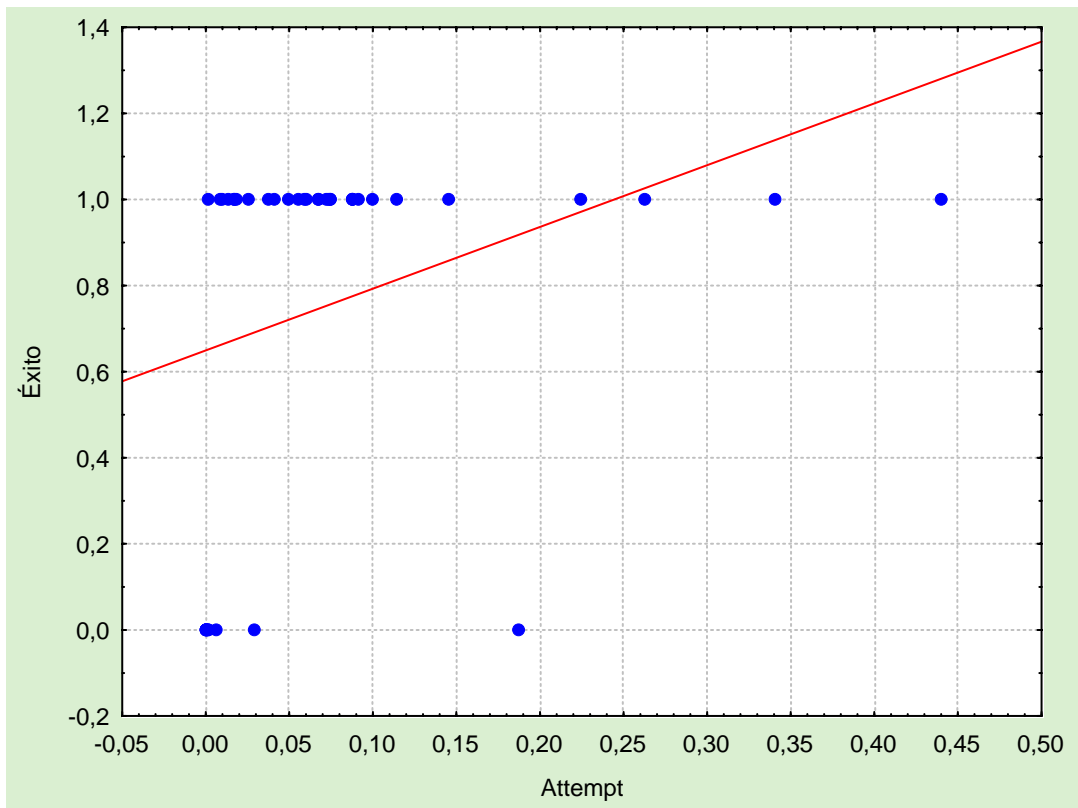


Figura 46. Regresión entre el tiempo dedicado a realizar señales con las alas mientras permanece en llamado 1 en los 30 minutos que el macho pasa junto a la hembra y el éxito copulatorio.



RESULTADOS

Figura 47. Regresión entre el tiempo dedicado a intentar la cópula en los 30 minutos que el macho pasa junto a la hembra y el éxito copulatorio.



DISCUSIÓN



Longevidad

Uno de los puntos de interés central en la biología, relacionado directamente con los cambios y la evolución es el valor adaptativo de un individuo, es decir, su capacidad de sobrevivir y dejar descendientes, que hará que sus genes subsistan en una población a través de las generaciones. Para ello, el organismo, suponiendo que pertenece a una especie de fecundación cruzada, deberá ser capaz de sobrevivir, encontrar pareja y transmitir efectivamente sus gametas para formar la progenie, que a su vez deberá hallar la manera de sobrevivir y multiplicarse. Cada uno de estos pasos es blanco de la selección natural, cuyos efectos tenderán a asegurar el predominio de los organismos más capaces de realizarlos.

En el presente trabajo se intentó ahondar en el conocimiento de algunos de esos componentes del valor adaptativo en una especie, *Anastrepha fraterculus*, que aún no ha sido estudiada en la profundidad que requeriría su abundancia en el país, su controvertida taxonomía, su utilidad como organismo modelo y su interés económico.

El trabajo se centró en dos componentes principales de la adaptación, sobre los que opera la selección natural tanto en las condiciones de campo como en las poblaciones adaptadas a la cría en laboratorio.. Esos componentes son la longevidad y la capacidad de realizar la cópula.

La longevidad es quizá la forma más intuitiva de pensar en la selección. Los organismos que no viven lo suficiente como para dejar alcanzar la madurez y descendencia tienen un valor adaptativo de 0. Por lo tanto, su combinación de caracteres se perderá. En cambio, aquellos que no sólo lleguen a reproducirse una vez sino que puedan hacerlo más veces “se verán favorecidos”. Sus genes subsistirán.

DISCUSIÓN

Entonces, un análisis profundo sobre la biología de esta especie requerirá conocer su potencialidad para sobrevivir en la naturaleza. Pero la tarea no es sencilla. Son muchos los factores que determinan que un organismo sobreviva o no. Son factores fisiológicos, ecológicos, etológicos, estocásticos o determinísticos. No es posible abarcar en un solo trabajo toda la complejidad del tema. Necesariamente hubo que efectuar un recorte. Y eso llevó a que este trabajo se centre en dos características que poseen la capacidad de modificar el tiempo de vida de esta mosca, determinando que alcance o no la madurez sexual y que pueda o no reproducirse más de una vez. Esas dos características son la forma de cría de esas moscas y sus rasgos físicos. Estos últimos, a su vez, son en parte dependientes de la forma de cría, por lo que los dos temas están relacionados, aunque las características morfométricas tienen también un componente genético heredable e independiente del medio en que se criaron los individuos.

Como se mencionó en la introducción, el interés del estudio de esta mosca y sus características no está limitado a lo puramente académico. Tiene una aplicación directa y concreta como sustento teórico para métodos de control de las poblaciones naturales. Uno de esos medios es la técnica del insecto estéril, que se basa en la liberación de machos esterilizados por radiación. Esta es la razón por la que en este trabajo también se midió el efecto de la radiación y las conclusiones apuntan principalmente a la capacidad de los machos, criados artificialmente y sometidos al proceso de irradiación, de sobrevivir y copular con hembras silvestres.

En la primer parte del trabajo se comparó directamente la supervivencia de moscas que tenían un origen distinto e incluso habían sido sometidas a distintos tratamientos, ya que algunas de ellas habían sido esterilizadas por radiación gamma.

Las condiciones climáticas y del ambiente en general afectan la supervivencia absoluta de los insectos, de modo que los valores registrados en ensayos particulares no

DISCUSIÓN

suelen ser generalizables para situaciones diferentes de las experimentales. Para reducir esta limitación el presente trabajo se dirigió preferentemente a la viabilidad relativa de las moscas criadas en laboratorio respecto a las silvestres, más que a los valores absolutos de supervivientes.

Las jaulas de campo constituyen un ambiente seminatural y, por lo mismo, un compromiso entre las condiciones controladas, pero artificiales, de un laboratorio y las condiciones del campo. Ellas son la aproximación a las condiciones naturales más utilizada (Calkins and Webb 1983) y se trata de una técnica habitual en estudios de comportamiento en insectos, por ejemplo, tefrítidos (Prokopy et al. 1987, McInnis et al. 1996), especialmente por la dificultad que presenta estudiar en la naturaleza organismos tan pequeños y móviles.

El presente diseño para evaluar la longevidad fue propuesto y aplicado por primera vez en este trabajo. Si bien la capacidad de dispersión de los insectos es limitada, en las jaulas se conservan muchas de las características de un ambiente natural, que pueden tener un efecto muy importante en la reducción del tiempo de vida promedio de las moscas liberadas. Por esta razón, a pesar de las limitaciones, la metodología utilizada provee información valiosa acerca de la capacidad de poblaciones de distinto origen para competir en las cambiantes condiciones (temperatura, luz, humedad, etc.) características de los ambientes naturales.

A pesar de que el clima fue relativamente benigno durante la mayor parte del ensayo, la mayor presión selectiva en las jaulas de campo con respecto al laboratorio es evidente al observar el reducido número de supervivientes. En la experiencia sólo pudo recuperarse un bajo porcentaje de los insectos liberados, aún considerando que no se los dejó en las jaulas por más de 8 días. Por el contrario, moscas del mismo origen y criadas en las mismas condiciones que las liberadas en jaula, mantenidas en condiciones de

DISCUSIÓN

laboratorio resultaron mucho más longevas. En laboratorio y en condiciones ideales para su supervivencia Joachim-Bravo et al. (2003) observaron que *A. fraterculus* puede vivir más de 190 días, con un promedio de 115 para las hembras y 100 para los machos, y algunos estudios (Lima et al. 1994) registraron supervivencias aún mayores. Se sabe que la expectativa de vida de las moscas de esta especie depende en gran medida de la temperatura imperante (Cardoso et al. 2002.) En este trabajo, moscas de las mismas poblaciones que las usadas en la experiencia mostraron sin problemas una vida media de al menos un mes en el laboratorio en frascos de 3 litros (con la misma comida y agua que las moscas en jaula.). Este resultado confirma que las jaulas de campo representan un ambiente relativamente hostil en donde el clima puede resultar perjudicial y no es posible evitar completamente la presencia de predadores, como algunas especies de arañas. A esto debe sumarse la dificultad que implica buscar activamente la comida y agua en oposición a la facilidad con que reciben estos recursos en el laboratorio.

En cierta forma, la notable disminución de la esperanza de vida de las moscas liberadas en jaulas de campo respecto a la de las que son criadas en las condiciones favorables que brinda un laboratorio, es una forma de medir la efectividad del método para representar de manera realista las condiciones naturales, ya que si la supervivencia en jaula hubiese sido similar a la de laboratorio, se podría haber sospechado que las jaulas brindaban condiciones demasiado seguras y más cercanas a las de un laboratorio que a la naturaleza.

A pesar de tales exigencias, es un hecho que algunas moscas lograron sobrevivir en las jaulas de campo y el análisis de las condiciones que aumentan la capacidad de supervivencia es fundamental, puesto que el éxito de la técnica del insecto estéril requiere que las moscas de laboratorio estériles una vez liberadas en el campo puedan sobrevivir hasta alcanzar la madurez sexual y aparearse con las salvajes. Usualmente, la

DISCUSIÓN

liberación de moscas en estos programas es semanal. Por lo tanto, es deseable que una alta proporción de las moscas estériles liberadas sobreviva al menos ese tiempo, a los efectos de asegurar que siempre haya una cantidad adecuada de ellas compitiendo por las hembras silvestres. Similar a la situación de nuestro experimento, las moscas que se liberan en los programas de control que ya están aplicando la TIE sobre *C. capitata* están inmaduras y deben alcanzar la madurez sexual en ese período. En promedio, los machos de *A. fraterculus* adquieren la madurez sexual en 7 a 10 días (Cardoso et al. 2002, Segura et al. 2005) de modo que la estimación de su capacidad de supervivencia es fundamental para predecir la proporción de moscas que pueden alcanzar la madurez sexual luego de su liberación a campo.

En lo relativo a las condiciones fisiológicas que modifican los parámetros demográficos, como la esperanza de vida, existen cuatro factores primarios; forma de cría (masiva o no), hospedero (en el campo) o medio de cría (en el laboratorio) de la larva, nutrición del adulto y tamaño corporal (Carey 1993).

La influencia del tamaño corporal se comentará en el apartado correspondiente (página 107 - 119). Con respecto a los otros factores, se sabe que el tipo de alimentos que reciben los adultos, en combinación con los factores abióticos, puede afectar drásticamente la supervivencia, así como la fertilidad (Hendrichs et al. 1993, Perez et al. 2000, Taufer et al. 2000). Usualmente, las moscas de laboratorio tienen un acceso ilimitado al alimento, mientras que las moscas en la naturaleza disponen de recursos mucho más restringidos. Sin embargo, en este caso, la disponibilidad de alimento para los adultos fue la misma para las moscas de los dos orígenes, permitiendo la comparación entre ellos. Por ello se estima que las diferencias observadas en este ensayo son el resultado de diferencias genéticas y la influencia de la cría artificial, incluyendo particularmente la alimentación de las larvas. Un tratamiento diferencial

DISCUSIÓN

que se tendrá en cuenta, sin embargo, es la radiación. Cabe mencionar que entre los efectos de la cría artificial se cuenta la posibilidad de que existan diferencias en la capacidad de búsqueda de recursos. Aunque los nutrientes estuvieron igualmente expuestos para todas las moscas, no necesariamente todas poseían la misma capacidad de aprovecharlo. No obstante, el alimento estaba disponible ad libitum de manera que las primeras en llegar no lo consumían totalmente ni impedían el acceso a las demás. En otras palabras, si los insectos lograban localizar el alimento, no tenían que competir directamente por él.

Dados los efectos genéticos asociados con la adaptación a la cría artificial, una suposición razonable sería que las moscas adaptadas a la cría en laboratorio, con cuidados particulares y medios muy controlados, tuvieran más problemas para subsistir en un ambiente natural que las moscas silvestres, adaptadas a un medio heterogéneo. Sin embargo, las moscas de laboratorio mostraron una supervivencia en las jaulas mayor que las salvajes. La experiencia llevada a cabo muestra que aproximadamente el 25% de las moscas estériles es capaz de subsistir al menos una semana en las jaulas de campo. La relación entre el número de moscas liberadas y las sobrevivientes al cabo de una semana es un factor que debe ser muy tenido en cuenta si se desea aplicar la TIE. Este dato debería usarse para calcular el número de moscas que se liberará en cada ocasión, así como la frecuencia de estas liberaciones. En este ensayo se pudo verificar que la mayoría de las moscas sobreviven los primeros 2 días en las jaulas de campo, resistiendo al posible estrés que representa el contacto inicial con el ambiente exterior. Por lo tanto, si las moscas se liberaran sexualmente maduras, es probable que la mayoría vivan lo suficiente como para encontrar una hembra y lograr aparearse, al menos una vez, y un porcentaje no despreciable de los machos tendrá ocasión de volver a aparearse durante los días siguientes.

Sin embargo, cabe tener en cuenta que las moscas utilizadas en esta experiencia pertenecen a una línea criada en laboratorio, pero no adaptada aún a la escala de cría masiva requerida en los programas basados en la TIE, que implican la producción de decenas a cientos de millones de insectos por semana. La cría a tan altas densidades podría tener un importante efecto negativo sobre la competitividad de los insectos a liberar. Por ejemplo, se ha observado que las moscas criadas en laboratorio suelen tener mayor fertilidad, pero un ciclo de vida más corto que las silvestres (Joachim-Bravo and Zucoloto 1998). Cayol (2000) verificó que la cría masiva podía afectar la duración del cortejo y de la cópula. También, estudios en especies relacionadas, como el gusano barrenador, mostraron que los insectos criados en forma masiva suelen ser de menor tamaño que los de poblaciones naturales de la misma especie (Spates & Hightower 1970). Esto podría ser especialmente perjudicial ya que existe cierta evidencia que indica que los machos tefrítidos más grandes suelen ser más exitosos reproductivamente (Churchill-Stanland et al. 1986, Blay & Yuval 1997, Taylor & Yuval 1999). Además, es dable pensar en la ocurrencia de cambios específicos en caracteres que podrían afectar la posibilidad de cópula. Sciurano et al. (en prensa) hallaron una correlación entre el éxito copulatorio de *A. fraterculus* y ciertos rasgos morfométricos. En este caso la relación es no lineal, con una tendencia que favorece la diversidad y una combinación de caracteres (largo de tórax y ancho de ala) medianamente grandes más que un solo rasgo de gran longitud. Los trabajos de Segura et al (en prensa) tampoco mostraron correlación entre el éxito copulatorio y el tamaño del macho (peso corporal, largo de tórax, ancho de ala). Kaspi et al. (2000) sugirieron que no es realmente el tamaño, si no la nutrición lo que afecta realmente la capacidad de apareamiento, y, en principio, este no sería un problema para moscas criadas en forma masiva.

DISCUSIÓN

Otro factor a tener en cuenta es la radiación, que puede dañar algunos procesos fisiológicos y alterar las posibilidades de vida de los insectos irradiados (Spates & Hightower 1970, Crystal & Whitten 1976) y/o su capacidad de competir por las hembras silvestres (Calcagno 2001, Allinghi et al. 2002, Calcagno et al. 2002, Lux et al. 2002). En esta experiencia, no se observaron efectos nocivos de la radiación sobre la supervivencia. Las moscas de laboratorio sobrevivieron más que las silvestres aún si habían sido esterilizadas. Incluso la única disminución de la longevidad por la irradiación se observó en las hembras, lo cual es un efecto favorable a la TIE cuando no se dispone de líneas de sexado genético (LSG). En el escenario ideal de aplicación de la TIE no se liberarían hembras irradiadas, puesto que podrían aparearse con los machos estériles, retirándolos de la competencia por las hembras fértiles. Adicionalmente, las hembras liberadas podrían ocasionar daños en los frutos, aunque no dejasen descendencia. Cuando no se dispone de LSG sería muy beneficioso que las hembras de laboratorio no viviesen mucho en la naturaleza. Por lo tanto, un efecto de reducción de la supervivencia de las hembras por causa de la radiación resultaría ventajoso para la aplicación de la TIE.

Es factible que la mayor capacidad de supervivencia que mostraron las moscas de laboratorio que se usaron en la experiencia se deba a un método de cría muy adecuado, pero existe el riesgo de que su pérdida al pasar a un sistema de cría masiva. Además, no es posible predecir totalmente los efectos que tendría este tipo de producción, ya que las presiones de selección serían completamente distintas a las naturales. De esta manera podrían seleccionarse características útiles para la supervivencia y la capacidad de apareamiento en laboratorio, pero inútiles en un ambiente natural. (Mayer et al. 1998).

DISCUSIÓN

Obviamente, a todas estas consideraciones debe sumarse el efecto negativo que podría ocasionar la manipulación en laboratorio y durante el transporte al campo, que pueden causar daños y aumentar el stress de los insectos. Asimismo se registraron casos en que los insectos de laboratorio mostraron una menor capacidad de dispersión que los silvestres (Mayer et al. 1998). Este es un factor a tener en cuenta en el momento de decidir los posibles puntos de liberación de los insectos de laboratorio.

Un último problema, común a las líneas criadas en laboratorio, es la falta de diversidad genética, que puede o no relacionarse con la capacidad para sobrevivir, madurar, localizar una hembra y lograr efectivamente copular en la naturaleza. Por lo tanto, cualquier política de liberación de insectos estériles debería incluir controles periódicos para verificar el estado y el valor adaptativo de los insectos a liberar.

Aunque los riesgos de la cría masiva parecen ser muchos, hay que destacar que hasta el momento no existen evidencias de este tipo de problemas en *A. fraterculus*, ya que los machos del laboratorio han mostrado compatibilidad con las moscas de la naturaleza (Petit Marty et al. 2004a), ausencia de problemas de tamaño en relación al éxito reproductivo (Segura et al, en prensa) y en el presente estudio exhibieron una buena capacidad de supervivencia en jaula de campo.

Morfometría

Como se mencionó previamente otro de los objetivos de este trabajo fue estudiar la relación entre las características morfométricas y la supervivencia de los individuos. Los rasgos fenotípicos pueden estar directa o indirectamente relacionados con la supervivencia y pueden ser objeto de la selección tendiente a asegurar la supervivencia del individuo y su capacidad reproductiva. Muchos son los rasgos que pueden tener una influencia sobre la supervivencia del individuo, ya sea por permitirle pasar desapercibido ante predadores, escapar de ellos más rápido, mejorar su capacidad de enfrentarlos, facilitarle la detección de recursos, etc.

En este trabajo se estudiaron caracteres morfométricos diversos que, en lo posible, fueran representativos de todo el fenotipo multivariado. En ese sentido se incluyeron rasgos relacionados con la movilidad (alas y patas) o la detección (cabeza). Son caracteres, además, estudiados en esta y otras especies por su relación con la capacidad de atraer al macho y su función en el cortejo (Norry et al. 1995, Sciurano 2004). Además, como indicador general del tamaño corporal se midió el largo del tórax.

No hay que perder de vista la importancia de tratar de identificar rasgos asociados con la supervivencia, tanto por su interés académico para mejorar el conocimiento de la especie, como por su utilidad como caracteres a estudiar y comparar entre poblaciones. Serían además rasgos que sería interesante evaluar en moscas sometidas a cría masiva para verificar que su capacidad de supervivencia sea adecuada, tanto para la reproducción en laboratorio como para la coexistencia con las moscas silvestres en la naturaleza.

DISCUSIÓN

En lo relacionado con la morfometría, se encontraron diferencias significativas entre moscas de las dos poblaciones estudiadas. Esas diferencias se presentaron en todos los rasgos, ya que los machos de laboratorio resultaron ser mayores que los silvestres en la mayoría de sus rasgos, excepto el ancho de ala (que es el único que no resultó significativamente distinto en las dos poblaciones)

La observación de la regresión lineal multivariada tomando el origen como una variable dependiente de los caracteres morfométricos y de la regresión lineal logística (aplicada porque el origen es una variable dicotómica) permitió identificar los caracteres que presentan mayor diferenciación entre ambas poblaciones. Ellos son el Ancho de la cabeza (ACB), el largo del ojo (LO) y el ancho de ala (AA). Como este tipo de análisis muestra la capacidad de los caracteres medidos para asignar individuos a cada origen, ya que toma la población como la variable respuesta, puede interpretarse que estos tres rasgos son los que han sufrido mayor presión de selección diferencial durante la divergencia entre las dos poblaciones.

La selección sobre estos caracteres puede deberse a su importancia directa sobre la supervivencia o a su influencia sobre la capacidad de apareamiento o selección sexual. Esa selección, aparentemente, actuó en los individuos sometidos a cría masiva llevando a un aumento en el largo del ojo, el ancho de la cabeza y una disminución en el ancho del ala.

Estos resultados resultan de gran interés, especialmente si se toma en cuenta que trabajos previos en *A. fraterculus* (Sciurano 2004) y *C. capitata* (Norry *et al.* 1999, Rodriguero *et al.* 2002a, b) mostraron que el ancho de ala era objeto de selección sexual y que los individuos con alas más estrechas poseían más probabilidades de ser elegidos por la hembra. Además, en *C. capitata* también había aparecido como blanco de la selección sexual el LO (Rodriguero *et al.* 2002a, b). Entonces, es posible que esa sea la manera en

DISCUSIÓN

que actúa la selección artificial en la cría en laboratorio, profundizando aún el efecto de la selección natural. Las moscas criadas en laboratorio, no dependen tanto del vuelo, dado que no necesitan desplazarse para buscar alimento ni pareja. Por otra parte, en general el hacinamiento favorece las interacciones agresivas entre individuos del mismo sexo, para lo cual un mayor tamaño podría ser una ventaja. Es razonable pensar que en las condiciones de hacinamiento propias de la cría masiva, donde la capacidad de vuelo pierde importancia y aumenta la importancia de las interacciones a corta distancia se profundice la tendencia a resaltar los rasgos preferidos por las hembras: alas reducidas y, aparentemente, también cabeza y ojo mayores.

Las matrices de varianza/covarianza fenotípica, evaluadas por el test de Mantel, resultaron similares en ambas poblaciones, confirmando la validez de los análisis anteriores y los resultados obtenidos para cada carácter.

En otros insectos, como *C. capitata*, se observó que el tiempo de desarrollo (Joachim-Bravo and Zucoloto 1998). y el tamaño corporal (Rodriguero et al. 2002b.) suelen reducirse en las líneas de cría masiva de como resultado involuntario de la selección para alcanzar mayor producción de moscas por unidad de tiempo. En nuestro caso en cambio, el mayor tamaño general de los individuos de laboratorio constituye una evidencia clara de que los insectos de laboratorio aún no sufren consecuencias negativas de una cría masiva. Por el contrario, los insectos salvajes son más pequeños parcialmente debido a que los recursos son más limitados. Un hipótesis alternativa, pero no excluyente es que la selección natural en el campo favorece a individuos más pequeños porque en condiciones donde el medio es efímero (frutos en putrefacción) y existen enemigos naturales, otros factores como el tiempo de desarrollo o la habilidad para escapar de los predadores son más importantes que el tamaño corporal. Los individuos de laboratorio no se verían afectados por este proceso. Este es un dato alentador para la propuesta de aplicación de la TIE, ya que si la cría masiva llega

DISCUSIÓN

realmente a reducir el tamaño de los insectos no es probable que lo haga tanto como para hacerlos mucho más pequeños que los silvestres. Al contrario, sería posible que, al aplicar presiones que podrían tener el mismo sentido que las que encuentran en la naturaleza, los individuos resultantes de la cría masiva presenten aún mayor similitud de tamaño corporal con los silvestres que los ejemplares utilizados en esta experiencia.

En la mayoría de los rasgos, el coeficiente de variación, dada como la relación entre la media y el desvío estándar, resultó mayor para los individuos de laboratorio que para la naturaleza. Esto puede reforzar la idea de que los individuos de la naturaleza estuvieron históricamente sometidos a más presión de selección que los de la línea de laboratorio, y, como consecuencia, se ven mucho más limitados en sus posibilidades de variación de tamaño. Nuevamente, esto podría cambiar en el caso de que las moscas de esta línea sean criadas en las condiciones más rigurosas típicas de una verdadera cría masiva.

En el caso de las hembras, no hay diferencias tan importantes entre los caracteres morfométricos de ambas poblaciones, aunque las tendencias son similares a las de los machos, sólo el ancho del ala resultó significativo. De todas formas, desde el punto de vista de la TIE, la calidad de las hembras de laboratorio no reviste importancia, excepto en lo que respecta a su fertilidad y buen estado para mantener la línea.

Por supuesto, si la naturaleza representa un ambiente tan hostil, ejerciendo tanta presión, será muy necesario verificar la capacidad de las moscas de laboratorio para subsistir y competir con las silvestres, por lo que en todo proyecto de implementación de la TIE debería contemplarse la realización de estudios periódicos para verificar la aptitud de las moscas liberadas. Será necesario discriminar también hasta qué punto las diferencias morfológicas observadas tienen una base genética, es decir, son heredables, o sólo son el resultado directo de la cría de los individuos a liberar.

DISCUSIÓN

En lo que respecta a los estudios directos comparando los individuos que estuvieron en las jaulas por distinta cantidad de días, se enfrentó el problema de los pocos individuos recuperados tras los tiempos más largos. Eso disminuyó el tamaño de la muestra usada para el análisis estadístico.

En ambos sexos LO mostró una asociación significativa y positiva con la supervivencia. Aunque no resulta extraña la idea de una ventaja adaptativa en tener un ojo más grande, que podría permitir una mejor visión y capacidad para desempeñarse en la naturaleza, resulta llamativo que tal tendencia no se ve en los individuos silvestres, aún cuándo estos presentan, en promedio, ojos más chicos que los de laboratorio.

Este resultado podría sugerir que los individuos de laboratorio, al enfrentarse al terreno nuevo de las condiciones naturales, son más dependientes de su vista que los silvestres, que quizá cuentan con estrategias alternativas que les permiten cierta independencia de ese rasgo. Otra hipótesis, como se mencionó antes, es que los individuos de laboratorio son más dependientes de su vista que los salvajes porque en el laboratorio son mucho más importantes las interacciones relacionadas con la selección sexual a corta distancia entre individuos de distinto sexo. También, en otras especies, como *C. capitata*, se encontró un incremento en las interacciones entre individuos del mismo sexo como resultado de la cría masiva. Tal vez existe una ventaja competitiva en poseer un ojo más grande y una mayor capacidad de visión. (Calcagno et al. 2002), o bien, el tamaño del ojo contribuye al reconocimiento específico durante la arena del cortejo.

Si el LO resulta importante para las moscas del campo, la estandarización de los métodos de cría masiva debería tenerlo en cuenta y controlar que los insectos liberados no poseyeran ojos demasiado pequeños que redujeran su supervivencia o el éxito en el apareamiento a campo, por lo que deberían realizarse ocasionales muestreos entre los

DISCUSIÓN

individuos a liberar, verificando que el ojo no resulte demasiado pequeño en la mayoría de los insectos. Sería interesante considerar la selección de los individuos que presenten mayores tamaños de ojo como los progenitores para mantener la cría.

La relación entre el largo del tórax (LT) y la supervivencia no es clara. La regresión paso a paso muestra una asociación negativa significativa entre LT y la supervivencia de los machos de laboratorio. El mismo análisis muestra valores cercanos a la significación en machos silvestres, pero con un sentido opuesto. En las hembras no aparece relación significativa.

Una posible explicación estaría en el tamaño medio. Los machos de laboratorio tienen, en promedio, tórax bastante más grandes que los silvestres (10,52 contra 10). Esta diferencia quizá no sea relevante en laboratorio, pero tenga importancia en la naturaleza, donde podría existir una selección favorable a los individuos de menor tamaño. Resultaría muy interesante explorar las causas de esa tendencia, para lo que sería necesario realizar más estudios. Una explicación plausible sería que, al poseer un tórax más grande, los individuos resultarían más fáciles de detectar por los predadores, a los que, adicionalmente, los insectos criados en laboratorio no están habituados. También éste podría ser un indicador de la calidad que debería tomarse en cuenta al realizar la liberación de machos estériles. Sciurano et al. (en prensa) encontraron una tendencia, aunque no significativa, de las hembras a preferir machos más grandes. Similarmente, Burk and Webb (1983) habían señalado la preferencia de las hembras de *Anastrepha suspensa* (Loew) por los machos más grandes del lek. Sin embargo, tales resultados no se verificaron para *A. fraterculus* (Segura et al. en prensa). En este sentido se ve que la influencia del tamaño corporal es compleja y parece existir una tendencia hacia evitar los extremos.

Resulta llamativo analizar el caso de las hembras silvestres, que mostraron una regresión significativa y negativa de la supervivencia sobre el ancho de cara y ala. El análisis paso a paso sumó a estos resultados una tendencia positiva hacia el largo del ojo y el del ala. En resumen, si la selección natural está actuando sobre estos factores podría pensarse en una selección a favor de individuos de alas aguzadas, con ojos más grandes y cara más pequeña. Este último rasgo podría deberse a una ganancia en la superficie total ocupada por el ojo, que facilitara la visión de los alrededores y podría ser de importancia tanto para los procesos de huida de predadores como para la facilitación en la búsqueda de alimento o refugio. Norry et al. (1999) habían encontrado en *C. capitata* la misma tendencia a seleccionar individuos de ojos grandes y cara estrecha y Sciurano (2004) había encontrado una tendencia en ese sentido, pero no significativa. Quizá su efecto en las hembras es sólo la correlación de la selección en los machos. Es decir, los machos escogidos por las hembras por poseer la forma de la cara preferida por ella transmitirán esas características no sólo a sus hijos sino también a sus hijas, con lo que la población en su conjunto tenderá en esa dirección hasta alcanzar un máximo.

Ante los resultados relacionados con las alas podría resultar interesante la realización de estudios de morfometría geométrica que permitan buscar una relación entre la forma (más que el tamaño absoluto) del ala y la supervivencia. También puede plantearse la posibilidad de realizar ensayos tendientes a verificar si la forma de ala que parece ser favorecida brinda alguna ventaja en la capacidad de vuelo o en el escape de los predadores. En cualquiera de ambos casos, lo que resulta sorprendente es que la tendencia encontrada en las hembras no se repitió en los machos.

Al observar los resultados del análisis de componentes principales, lo primero que resulta necesario marcar es que el primer eje no explica una proporción demasiado grande de la varianza total, siendo necesarios 3 para llegar a explicar alrededor del 80 %

DISCUSIÓN

de la misma. Esto sugiere que no hay factores predominantes, sino que la supervivencia es producto de una compleja interacción entre los rasgos (esto sugiere también que la forma, asociada con los ejes 2 y 3 podría ser más importantes que el tamaño general).

En el caso de los machos, tanto los de laboratorio como los silvestres, ninguno de los ejes presentó una regresión significativa. Sin embargo, el primer factor, que explica la mayor parte de la varianza, está influido por rasgos distintos en las moscas provenientes de los dos orígenes, ya que sólo tienen en común el largo del ala, que es el más importante en ambos casos. Es decir, que las mayores variaciones se darían en este rasgo. No obstante, el análisis no resulta claro, aunque puede destacarse, en el caso de los machos de laboratorio, la importancia del tamaño de las patas en el segundo factor.

En lo que respecta a las hembras de laboratorio, sorprende ver que los caracteres más importantes para este análisis sean tan distintos en los dos grupos de origen. Es decir, para las hembras de laboratorio el primer eje está dado principalmente por el ala (largo y ancho) y el segundo por el ancho de la cara (ACR) mientras que para las hembras silvestres son importantes todos los factores excepto esos tres. Esto muestra claramente las diferencias entre los grupos y, posiblemente, es una marca más de que la selección está actuando de forma muy diferente en las distintas condiciones ambientales (campo vs. laboratorio)

De hecho, todo lo observado confirma la suposición inicial de que las poblaciones criadas en condiciones tan disímiles presentan diferencias fenotípicas. Si bien es claro que una parte de esta diferencia puede deberse directamente a la forma de cría, es dable pensar que algunas diferencias pueden estar impresas en los genes del organismo. Dado que las exigencias, ventajas y desventajas, son muy distintas en la naturaleza que en la cría en laboratorio, la selección será diferente también

DISCUSIÓN

Este estudio demostró que la adaptación a las condiciones de laboratorio se acompaña de una diferenciación fenotípica significativa. Por esta razón es necesario tomar en cuenta que en una cría masiva existe la posibilidad de divergencia y modificaciones respecto a la población natural. Nuevamente, esto resalta la importancia de realizar controles periódicos, incluyendo ensayos morfométricos y comportamentales, a fin de asegurar que las diferencias entre las moscas no resulten tan importantes como para dificultar seriamente la posibilidad de apareamiento entre los machos estériles y las hembras salvajes.

Comportamiento

En *Anastrepha* se han registrado dos estrategias de apareamiento; la defensa del recurso (el macho vigila y defiende los frutos que son más atractivos para la hembra (habitual en *A. bistrigata*) y los sistemas de apareamiento tipo *lek* (Aluja, 2000). Estos consisten en agrupamientos de machos que son visitados por las hembras para copular (Bradbury 1981). En 1993, Aluja y Birke definieron un lek de *Anastrepha* como “un conjunto de al menos 3 machos que realizan llamados en un área claramente definida, como hojas vecinas”, siendo la cantidad de machos involucrados es un lek muy variable (Sivinsky 1989).

Los sistemas tipo lek parecen ser los más frecuentes en el género (Burk, 1983; Hendricks, 1986). Aunque el sentido de la formación de *leks* en moscas de la fruta aún no se ha comprendido completamente, las hipótesis propuestas para su evolución en insectos (ej., Shelly & Whittier, 1997) son: a) amplificación de la señal de los machos, incrementando el número de hembras encontradas por los participantes, b) facilitación de la elección de la hembra, de manera segura y rápida, protegida de predadores; c) no se trata de un verdadero proceso, sino que surge como subproducto de la natural acumulación de machos llamando en los lugares más favorables.

En el presente trabajo no se evaluaron los leks, ya que los machos se filmaron individualmente en cajas acrílicas dónde se liberaba una hembra, pero no hay que olvidar que es posible que el cortejo en esta especie haya evolucionado en relación con la formación de leks y no sólo en función directa del encuentro con la hembra.

En el presente trabajo, por primera vez fue posible lograr un análisis adecuado del cortejo de una línea de *A. fraterculus* que podría usarse para la TIE en el país y

DISCUSIÓN

tipificar los comportamientos más frecuentes, registrando además el tiempo que invierten los machos en cada paso. Se pudo verificar que, al menos a la hora adecuada para el apareamiento, los machos dedican la mayor parte del tiempo a la liberación de feromonas a través de la ampolla anal.

Una gran cantidad de los apareamientos se realizó en los primeros 5 minutos de contacto entre el macho y la hembra. Los cortejos breves podrían ser una consecuencia de la cría, ya que se ha observado, por ejemplo en *C. capitata* (Calcagno et al. 1999), que la cría masiva favorece la reducción en los tiempos de cortejo, la aceptación por parte de las hembras de estos cortejos más breves (Briceño and Eberhard 2000) e incluso la disminución de la duración de la cópula. Esta característica no se manifestó en el presente ensayo, ya que los apareamientos tuvieron una duración promedio similar a la observada en poblaciones naturales.

Un descubrimiento quizá inesperado de estas observaciones fue la gran variación comportamental observada entre individuos. Algunos resultaron ser muy activos y realizar un gran despliegue de señales con las alas, giros, violentos movimientos con las alas que podrían contribuir a la dispersión de la feromona. Otros, principalmente recorrían el lugar caminando o por medio de vuelos cortos. Por último, algunos solían permanecer en actitud pasiva, sin realizar demasiados movimientos.

Estas actitudes dispares no tienen una correlación tan directa como podría esperarse con el éxito reproductivo. Sin embargo, en general, los resultados muestran una relación negativa entre el éxito copulatorio y la falta de movilidad.

De acuerdo con lo observado no habría una secuencia precisa y única que conduzca al cortejo. Sin embargo, en la mayoría de los casos, el intento de cópula por parte de los machos estuvo directamente precedido al menos por algunos segundos de

DISCUSIÓN

la posición Arrowhead o Arrowhead 2. Las oscilaciones amplias con despliegue de alas presentaron una relación positiva, pero no definitiva, con el éxito reproductivo, por lo que, si bien no puede afirmarse que este paso sea imprescindible para el cortejo, sí parecería haber una tendencia a que esta actitud resulte favorable. Sin embargo, cualitativamente puede decirse que existe un comportamiento mayoritario en que los momentos previos al intento de cópula incluyen la realización de movimientos de alas, hacia delante y atrás del cuerpo (enation y hamation), oscilaciones y a veces rápidos aleteos (fanning) y giros (spin). A estas exhibiciones sigue normalmente la posición de arrowhead que a su vez precede al salto del macho sobre la hembra. Como no siempre se sigue esta secuencia, podemos hablar de una diferencia con los resultados hallados con la misma metodología para *C. capitata* (Calcagno et al. 1999), donde el cortejo exhibía normalmente los mismos pasos y el intento de copular era precedido generalmente por la brusca agitación de las alas (buzzing).

Otra observación indica que la agitación de las alas no ha resultado tan importante como se observó en *C. capitata*. En el caso de *A. fraterculus* este despliegue energéticamente costoso no siempre se ve “recompensado” con el logro de la cópula. Sin embargo, hay que tener en cuenta que es posible que en la naturaleza este despliegue tenga más utilidad, ya sea llamando la atención de la hembra sobre la presencia del macho o llamando la atención de otros machos para constituir o integrar el lek. Aunque en la naturaleza (y también en filmaciones) suelen observarse ataques directos en que un macho aleja a otro golpeándolo con la cabeza, también sería beneficioso para los machos constituir leks. En este panorama, el ruido generado por el rápido batir de alas podría ser interpretado por otro macho como un aviso de que existe un lek en formación al que puede unirse.

DISCUSIÓN

Una observación que puede resultar sorprendente es la relación negativa encontrada entre el tiempo que los machos dedicaron, antes de encontrarse en presencia de la hembra, a moverse mientras realizaban lo que dimos en llamar calling 2, es decir, emitiendo notablemente feromona y extendiendo los pliegues laterales al máximo. Este comportamiento parece relacionado con la mejor dispersión de la feromona, sin embargo, los machos que realizaron esta actividad por más tiempo resultaron menos exitosos. Quizá en el modelo empleado, con cajas de acrílico que no requieren demasiada dispersión del olor de la feromona, tal despliegue resultaba innecesario o incluso contraproducente por el gasto energético ocasionado. Es el mismo sentido, se halló que el movimiento Enantion, el que las alas se mueven simultáneamente y podría tener también influencia en la dispersión de feromona, también fue más frecuente, durante esos 10 minutos, en los individuos no exitosos (como lo muestran la prueba t y la regresión) También, aunque la prueba t no fue significativa, la regresión indicó que los individuos no exitosos también pasaban más tiempo en Arrowhead1, se movían más (2M) y realizaban más señales con las alas. Todos estos comportamientos en principio se hubieran supuesto como relacionados con el éxito.

Una posible explicación sería que esas actitudes fuesen más relevantes para atraer a la hembra al lugar que para conseguir directamente su aceptación. En ese sentido, podría pensarse que los individuos que durante los 10 minutos en que estuvieron solos realizaron comportamientos tendientes a atraer a la hembra estuvieron invirtiendo energía inútilmente, ya que, por el diseño del experimento, la hembra iba a llegar de todas formas tras 10 minutos de espera. Esto explicaría que en los 30 minutos siguientes permanecieran más estáticos (pasaran más tiempo en 2S que los que se habían esforzado menos en los minutos previos)

DISCUSIÓN

Si bien resultaría interesante y necesario repetir este tipo de análisis comportamentales empleando esta vez insectos silvestres, resulta alentador notar que no parece haber una fórmula rígida para el cortejo que sea imprescindible para el éxito reproductivo. Por lo tanto, los machos criados en laboratorio, que podrían tener algunos cambios en su comportamiento como consecuencia del proceso de cría, no tendrían una desventaja importante con respecto a los silvestres para conseguir la cópula. Estos resultados se han visto apoyados, por ejemplo, por los trabajos de Petit Marty et al. (2003) y Segura et al. (en prensa) que mostraron compatibilidad reproductiva entre varias poblaciones naturales y la misma línea de laboratorio estudiada aquí.

CONCLUSIONES



Conclusiones generales

En este trabajo se avanzó en el conocimiento de la biología de la especie. Se pudo determinar que la selección a condiciones ambientales particulares se asocian con modificaciones significativas del fenotipo multivariado.

Al someterse por primera vez a escrutinio detallado fue posible descubrir que el cortejo, aparentemente tan complicado, de *Anastrepha fraterculus*, no es tan estricto ni tiene una secuencia fija que deba ser reconocida. Tampoco se encontraron diferencias cuantitativas tan importantes entre los individuos exitosos y los que no lo son. Es posible que algunos comportamientos no tengan una influencia real en la selección de pareja actual y sólo sean relictos evolutivos, herencia de la forma de comportarse de antepasados comunes. Esta observación muestra que dentro de la misma familia el comportamiento de cortejo puede mostrar diferencias muy importantes, puestas en evidencia por los resultados distintos que se obtuvieron en *C. capitata* (Calcagno et al. 1999).

Los resultados mostraron, también, una baja supervivencia en la naturaleza, de manera que la esperanza de vida de estas moscas resulta menor de lo que se supuso inicialmente. Es notable que esta baja esperanza de vida no es intrínseca de la especie, ya que en laboratorio resulta ser mucho más longeva. En otras palabras, es la interacción con las restricciones ecológicas y no aspectos exclusivamente fisiológicos la que más influencia tiene sobre la supervivencia y, consecuentemente, también la principal reguladora del desarrollo de las poblaciones naturales. Sin embargo, las moscas criadas en laboratorio presentaron una supervivencia similar a las silvestres, incluso mayor que las mismas. La irradiación no tuvo un marcado efecto nocivo sobre su supervivencia.

CONCLUSIONES

Todas las evidencias resultan favorables a la aplicación de la TIE, ya que los machos estériles no mostraron ningún tipo de problema especial, viven tanto o más que los silvestres, son capaces de aparearse, y lo hacen sin demoras especiales, ni problemas de duración. El cortejo no parece ser tan complicado como para constituir un factor limitante en el apareamiento. Tampoco las características físicas parecen ser un problema, aunque algunos caracteres podrían utilizarse como indicadores de la calidad de los insectos criados.

Si bien hay que ser cautelosos y recordar que aún se deben realizar muchas investigaciones, lo analizado en este trabajo, sumado a estudios previos de diversos grupos, no ha mostrado nada en contra y sí varios puntos a favor de la aplicación de la TIE en *Anastrepha fraterculus*.

BIBLIOGRAFÍA

TEXTOS CITADOS

- Alberti, A. C., M. S. Rodriguero, P. Gómez-Cendra, B. O. Saidman, and J. C. Vilardi. 2002. Evidence indicating that Argentinean populations of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) belong to a single biological species. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 95(4):505-512.
- Alberti, A. C., V. A. Confalonieri, R.O. Zandomeni, and J.C. Vilardi. 2007. Phylogeographic studies on natural populations of the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Genetica*, en prensa
- Allinghi, A., G. Calcagno, N. Petit-Marty, P. Gomez Cendra, D. Segura, M. T. Vera, J. Cladera, C. Gramajo, E. Willink, and J. C. Vilardi. 2002. Selección sexual y compatibilidad entre una línea de laboratorio y una población natural de la mosca sudamericana de la fruta, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Basic and Applied Genetics (Argentine Society of Genetics)*. vol 15: p142
- Allinghi A., M. C. Gramajo, E. Willink, and J.C. Vilardi. 2007. Induction of sterility in *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) by means of gamma radiation. *Flo. Entomol.* (En prensa)

- Alphey, L. 2002. Re-engineering the sterile insect technique. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 32(10):1243-1247.
- Aluja, M. 1994. Biomix and management of *Anastrepha*. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 155-178.
- Aluja, M., J. Piñeiro, I. Jácome, F. Diaz-Fleischer and J. Sivinski. 2000. Behavior of flies in the genus *Anastrepha* (Trypetinae: Toxotripanini), pp 375-408. In M. Aluja, M. and A. L. Norrbom (Eds.). *Fruit flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. CRC Pres. Washington, DC.
- Appolonio, M., M. Festa-Blanchet, and F. Mari, 1989. Correlates of copulatory success in a fallow deer lek. *Behavioral ecology and sociobiology* 25: 89-97
- Arak, A. & M. Enquist, 1995. Conflict, receiver bias and the evolution of signal form. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 349: 337-344. In H. Kokko, R. Brooks, M. D. Jennions and J. Morley (2003) *The evolution of mate choice and mating biases*. Review. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 653-664.
- Aruani, R., A. Ceresa, J. C. Granados, G. Taret, P. Peruzzoti, and G. Ortiz. 1996. Advances in the National Fruit Fly Control and Eradication Program in Argentina, pp. 521-530. In B. McPherson and G. J. Steck, (eds.), *Fruit Flies Pest: A World*

- Assessment of their Biology and Management. St Lucie Press. Del Ray Beach, Florida.
- Baker, E.W. 1945 Studies on the Mexican fruit fly known as *Anastrepha fraterculus*. J. of Econ. Entomol. 39: 95-100.
 - Baker, A. C., W. E. Stone, C. C. Plummer, and H. McPhail. 1944. A review of studies on the Mexican fruit fly and related Mexican species. USDA Misc. Publ. V. 531: 1-155.
 - Basolo, A. L. 1995 Phylogenetic evidence for the role of a preexisting bias in sexual selection. *Proc. R. Soc. Lond. B* 259: 307-311. In S. K. Salaluk (2000) Sensory exploitation as an evolutionary origin to nuptial food gifts in insects. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 339-343
 - Belford, S. R., and M. D. Jenkins, 1998 Establishig cryptic female choice in animals. *Trends Ecol. Evol.* 13:216-218. In M. Aluja and A. L. Norrbom [eds.], *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and evolution of behavior*, USA, CRC Press, 2000, 944 pp.
 - Bradbury, J.W. 1981. The evolution of leks. In *Natural Selection and Social Behavior* (Ed. By R.D. Alexander & D.W. Tinkle) pp.138-169. New York. Chiron Press.

- Benedict, M. Q., and A.S. Robinson. 2003. The first releases of transgenic mosquitoes: an argument for the sterile insect technique *Trends Parasitol.* 19: 349-355
- Blay, S. and B. Yuval. 1997. Nutritional correlates to reproductive success of male Mediterranean fruit flies. *Anim. Behav.* 54, 59-66.
- Brodie III, E. D., D. J. Moore, and F. Janzen, J. 1995. Visualizing and quantifying natural selection. *TREE* 10: 313-318.
- Briceño, R. D., and W. G. Eberhard. 2000. Male wing positions during courtship by Mediterranean fruit flies (*Ceratitidis capitata*; Diptera: Tephritidae). *J. Kans. Ent. Soc.* 73: 111-115
- Burk, T. 1983 Behavioral ecology of mating in the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera: Tephritidae). *Flo. Entomol.* 66: 330-344.
- Burk, T. and J. C. Webb. 1983. Effect of male size on calling propensity, song parameters, and mating success in Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76: 678-682 In M. Aluja and A. L. Norrbom [eds.] *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*, Washington DC, CRC Press, 2000, pp 459-489.

- Cabrera, A.L. and A. Willink, 1980 *Biogeografía de América Latina*. 122pp. Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos (OEA). Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington DC.
- Calcagno G., M. T. Vera, F. Manso, S. Lux, F. Norry, N. Munyiri, and J. C. Vilardi. 1999. Courtship behavior of wild and mass-rearing Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) males from Argentina. *J. Econ. Entomol.* 92(2):373–37
- Calcagno, G. and J. Vilardi, 2001 Basic studies on Argentinean populations of *A. fraterculus* in support of pest control program: III. Preliminary analysis of mating behaviour by video recording, pp 8-9. In IAEA [ed.], *Quality Assurance in Mass-Reared and Released Fruit Flies for Use in SIT Programmes*. Proceedings of a workshop organized by Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture-Mendoza (Argentina). 19-23 Nov. 2001.
- Calcagno, G.E., F. Manso, and J.C. Vilardi. 2002. Comparison of mating performance of medfly (Diptera: Tephritidae) genetic sexing and wild type strains: field cage and video recording experiments. *Flo. Entomol.* 85: 41-45.
- Calkins C. O. and J. C. Webb. 1983. A cage and support framework for behavioral tests of fruit flies in the field. *Flo. Entomol.* 66 (4): 512 – 514.

- Caraballo J. 2001. Diagnósis y clave pictórica para las especies del género *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae) de importancia económica en Venezuela. *Entomotropica* 16(3): 157-164.
- Cardoso, V. V., M. P. Ferreira, J. M. Montagner, C. G. Fernandez, J. C. Moreira, and A. K. Oliveira. 2002. Efeitos de temperaturas constantes e alternadas no potencial reprodutivo, longevidade e expectativa de vida de fêmeas e machos de *Anastrepha fraterculus* (Wiedmann) (Tephritidae). *Braz. J. Biol.* [periódico na Internet]. 62(4b): 775-786.
- Carey, J.R. 1993. *Applied demography for biologists*. Oxford University Press, Inc. New York. 206p.
- Cayol, J. P. 2000. Changes in sexual behavior and in some life history traits of Tephritid species caused by mass-rearing processes: pp 843-860. *In* M. Aluja and A. Norrbom [eds.], *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and evolution of behavior*, CRC Press, Boca Raton, Florida
- Celedonio-Hurtado, H., M. Aluja, and P. Liedo. 1995. Adult population fluctuations of *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae) in tropical orchard habitats of Chiapas, México. *Environ. Entomol.* 24: 861-869.

- Christy, J. H. 1995 Mimicry, mate choice, and the sensory trap hypothesis. *Am. Nat.* 146: 171-181. In S. K. Salaluk (2000) Sensory exploitation as an evolutionary origin to nuptial food gifts in insects. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 339-343
- Churchill-Standland, C., R. Standland, T.T.Y. Wong, N. Tanaka, D.O. Mc. Innis, and R.V. Dowell. 1986. Size as a factor in the mating propensity of Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in the laboratory. *J. Econ. Entomol.* 79: 614-619.
- Cowley, J. M., R. T. Baker, and D. S. Harte. 1992. Definition and determination of host status for multivoltine fruit fly (Diptera: Tephritidae) species. *J. Econ. Entomol.* 85: 312-317.
- Crespi B. J. 1990 Measuring the effect of natural selection on phenotypic interaction systems. *Am. Nat.* 135: 32-47. In F. J. Janzen and H. S. Stern (1998) Logistic regression for empirical studies of multivariate selection. *Evolution*, 52 (6): 1564-1571.
- Crystal, M.M., and C.J. Whitten. 1976. Screwworm flies for sterile-male releases: Laboratory observations of the quality of newer candidate strains. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 69: 621-624

- Cunningham, R. T., W. Routhier, E. J. Harris, G. Cunningham, N. Tanaka, L. Johnston, W. Edwards, and R. Rosander. 1980. A case study: eradication of medfly by sterile-male release. *Citrograph* 65(3): 63-69.
- De Longo, O., A. Colombo, P. Gomez-Riera, and A. Bartolucci. 2000. The use of massive SIT for the control of the Medfly, *Ceratitis capitata* (Wied.), Strain SEIB 6-96, in Mendoza, Argentina, pp. 351-360. In: Tan, K. H. (eds.), Area-wide control of fruit flies and other insect pests. Penerbit Universiti Sains Malaysia Press. Penang, Malaysia.
- Dobzhansky, T. 1937. Genetics and the origin of species. Columbia University Press, New York.
- Dodson, G. 1982. Mating and territoriality in wild *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) in field cages. *J.Ga.Entomol.Soc.* 17: 189-200.
- Domínguez, J. C. 1998. Métodos de cría masiva de moscas de la fruta. XII Curso Internacional sobre moscas de la fruta: 379-394 IAEA, USDA, FAO..
- Dominguez Gordillo, J. C. 1999 Mass rearing methods for fruit fly, pp59-71. In IAEA [ed.], The South American Fruit Fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. Proceedings

- of a workshop organized by Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture-Viña del Mar (Chile). 1-2 Nov. 1996. Vienna, Austria. 202 pp
- Duyck, P., P. David, and S. Quilici. 2004. A review of relationships between interspecific competition and invasions in fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Ecol. Entomol.* 29: 511-520.
 - Eberhard, W. G. 1996. *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton University Press, Princeton, 504 pp. In M. Aluja and A. L. Norrbom [eds.], *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*, USA, CRC Press, 2000, 944 pp.
 - Endler, J. A. 1986. *Natural selection in the wild*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 336 pp.
 - Endler, J. A. and A. Basolo. 1998. Sensory ecology, receiver biases and sexual selection. *Trends Ecol. Evol.* 13: 415–420. In H. Kokko, R. Brooks, M. D. Jennions and J. Morley (2003) *The evolution of mate choice and mating biases*. Review. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 653-664.
 - Enkerlin, D., L. García, and F. López M. 1989. Pest status: Mexico, Central and South America, pp. 83-90. In A. S. Robinson and G. Hooper [eds.], *Fruit flies: their biology, natural enemies and control*, vol. 3A. Elsevier, Amsterdam, The

Netherlands.

- Garcia, E., P. Rendon, D. Mcinnis, and R. Castañeda. 1999. Evaluation of competitiveness between two strains of Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Wied.) Villa Canales, Guatemala, pp 39, Working group on fruit flies of the western hemisphere, Guatemala City, Guatemala
- Gavrilets, S., G. Arnqvist, and U. Friberg, 2001. The evolution of female mate choice by sexual conflict. *Proc. R. Soc. Lond. B* 268: 531–539.
- González, R. H. 1978. Introduction and spread of agricultural pests in Latin America: analysis and prospects. *FAO Plant Protection Bulletin* 26: 41-52.
- Harris, E. J., and C. Y. Lee. 1989. Development of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in coffee in wet and dry habitats. *Environ. Entomol.* 18: 1042-1049.
- Heisler, I. L. (and 11 others). 1987 The evolution of mating preferences and sexually selected traits: group report. [In *Sexual selection: testing the alternatives* (ed. J. W. Bradbury & M. B. Andersson), pp. 96–118. Chichester: Wiley]. In H. Kokko, R. Brooks, M. D. Jennions and J. Morley (2003) The evolution of mate choice and mating biases. *Review. Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 653-664.

- Hendrichs, J. 1986. Sexual selection in wild and sterile Caribbean fruit fly, *A. suspensa* (Loew) (Diptera: Tephritidae). M. Sc. Thesis, University of Florida, Gainesville, FL. 263 pp.
- Hendrichs, J., C. R. Lauzon, S. S. Cooley, and R. J. Prokopy. 1993. Contribution of natural food sources to adult longevity and fecundity of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 86: 250-264.
- Hendrichs, J., G. Franz, and P. Rendon. 1995. Increased effectiveness and applicability of the sterile insect technique through male-only release for control of Mediterranean fruit-flies during fruiting seasons. *J. Appl. Entomol.* 119: 371–377.
- Hendrichs, J., A. S. Robinson, J. P. Cayol, and W. Enkerlin. 2002. Medfly areawide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: the importance of mating behaviour studies. *Flo. Entomol.* 85 (1):1-13.
- Hernandez-Ortiz, V. 1992. El género *Anastrepha* Schiner en México. (Diptera: Tephritidae). Taxonomía, distribución y sus plantas huéspedes. Instituto de Ecología. Sociedad Mexicana de Entomología. Xalapa, Veracruz, Mexico.
- Hernandez-Ortiz, V., y M. Aluja. 1993. Listado de especies del género neotropical *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) con notas sobre su distribución y plantas

hospederas. *Folia Entomol. Mex.* 88: 89-105.

- Hernandez- Ortiz, V.J., Gomez–Araya, A., Sánchez, B.A., McPheron, B. and M. Aluja. 1999. Morphological variability in natural populations of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) from Mexico and South America. p 92 in Proceedings, Third Meeting Working Group on Fruit Flies of the Western Hemisphere, Guatemala city, 4-9 July 1999.
- Heywood, J. S. 1989 Sexual selection by the handicap mechanism. *Evolution* 43: 1387–1397. In H. Kokko, R. Brooks, M. D. Jennions and J. Morley (2003) The evolution of mate choice and mating biases. Review. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 653-664.
- Hoelzer, G. A. 1989 The good parent process of sexual selection. *Anim. Behav.* 38: 1067–1078. In H. Kokko, R. Brooks, M. D. Jennions and J. Morley (2003) The evolution of mate choice and mating biases. Review. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 653-664.
- Hoglund, J. and A. Lundberg. 1987. Sexual selection in a monomorphic lek-breeding bird: correlates of male mating success in the great snipe, *Gallinago media*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 21: 211-216

- Holland, B. and W. R. Rice, 1998 Chase-away sexual selection: antagonistic seduction versus resistance. *Evolution* 52,1-7. In H. Kokko, R. Brooks, M. D. Jennions and J. Morley (2003) The evolution of mate choice and mating biases. Review. Proc. R. Soc. Lond. B 270: 653-664.
- Howse, P. E. and J. J. Knapp, 1996 Pheromone of Mediterranean fruit flies: presumed mode of action and implications for improved trapping techniques. In B. A. McPherson and G. J. Steck [eds.], Fruit Fly Pests: A World Assessment of Their Biology and Management. Delray Beach, St. Lucie Press, pp 91-99.
- [IAEA] International Atomic Energy Agency. 1998. A manual of quality control for fruit flies, version 4.0. IAEA, Vienna, Austria.
- IAEA, 2001. Insect and Pest Control Newsletter 57. Joint FAO/IAEA Division, Vienna.
- Infante-Malachias, M. E., A. H. Shoji, and D. Selivon. 2001. Phylogeny of *Anastrepha fraterculus* species group (Diptera: Tephritidae) based upon 16S and COI mitochondrial DNA sequences, pp. 70-71. In. Rendon, P. and Knight, S. (eds.), Proceedings, of the 4th Meeting of the Working Group On Fruit Flies Of The Western Hemisphere. Mendoza Argentina.
- Iwasa, Y. and A. Pomiankowski, 1999 A good parent and good genes models of

- handicap evolution. *J. Theor. Biol.* 200, 97–109.
- Jaldo, H. E.; M. C. Gramajo, and E. Willink, 2001 Mass rearing of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae): A preliminary strategy. *Flo. Entomol.* 84(4): 716-718.
 - Joachim-Bravo, I.S. and F.S. Zucoloto. 1998. Performance and feeding behavior of *Ceratitis capitata*: comparison of a wild population and laboratory population. *Entomol. Exp. Appl.* 87: 67-72.
 - Joachim-Bravo, I. S., T. C. Magalhães, A. M. da Silva Neto, A. N. Guimarães, and A. S. Nascimento. 2003. Longevity and fecundity of four species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). *Neotrop. Entomol.* 32(4): 543-549.
 - Kaspi, R., P.W. Taylor, and B. Yuval. 2000. Diet and size influence sexual advertisement and copulatory success of males in Mediterranean fruit fly leks. *Ecol. Entomol.* 25: 279-284.
 - Kirkpatrick, M. 1996 Good genes and direct selection in the evolution of mating preferences. *Evolution* 50, 2125–2140
 - Klassen, W., D. A. Lindquist, and E. J. Buyckx. 1994. Overview of the Joint FAO/IAEA Divisions involvement in Fruit Fly Sterile Insect Technique Programs,

- pp. 3-26. In C. O. Calkins, W. Klassen, and P. Liedo (eds.), *Fruit flies and the sterile insect technique*. CRC, Boca Raton, FL.
- Knipling, E.F. 1959. Sterile-male method of population control. *Science* 130, 902–904
 - Knipling, E.F. 1968. Genetic control of insects of public health importance. *Bull. World Health Organ.* 38, 421–438.
 - Kokko, H.; Brooks, R.; Jennions, M. D.; and J. Morley. 2003. The evolution of mate choice and mating biases. *Review. Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 653-664.
 - Kotiaho, J.S., L.W. Simmons, and J.L Tomkins. 2001. Towards a resolution of the lek paradox. *Nature.* 410: 684-686.
 - Lance, D., D.O. Mcinnis, P. Rendon, and C. Jackson. 2000. Courtship among sterile and wild *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in field cages in Hawaii and Guatemala. *Ann. Entomol. Soc. America.* 93: 1179–1185.
 - Landolt, P. J. 1985. Papaya fruit fly eggs and larvae (Diptera: Tephritidae) in field-collected papaya. *Flo. Entomol.* 68: 354-356.

- Lande, R. and S. J. Arnold. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 37 (6): 1210-1226.
- Legname, P. R. 1982. Los árboles indígenas del noroeste argentino. *Opera Lilloana* 34: 1-226.
- Light, D. M.; E. B. Jang, and R. A. Flath, 1992 Electroantennogram responses of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*, to the volatile constituents of nectarines. *Entomol. Exp. Appl.* 63: 13-26. In M. Aluja and A. L. Norrbom [eds.], *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*, USA, CRC Press, 2000, 944 pp.
- Lima, I.S., P.E. Howse & I.D.R. Stevens. 1994. Reproductive behaviour of the south american fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae). Laboratory and field studies. *Physiol. Entomol.* 19: 271-277.
- Lumley, T. 2007. The survival package.
(<http://cran.r-project.org/src/contrib/Descriptions/survival.html>)
- Lindquist, D.A., M. Abusowa, and M. J. Hall. 1992. The New World screwworm fly in Libya: a review of its introduction and eradication. *Med. Vet. Entomol.* 6: 2-8.

- Lux, S. A.; F. N. Munyiri,; J. C. Vilardi,.; P. Liedo,; A. Economopoulos,; O. Hasson,; S. Quilici,; K. Gaggi,; J. P. Cayol, and P. Rendon, 2002. Consistency in courtship pattern among populations of medfly (Diptera: Tephritidae): comparisons among wild strains and strains mass reared for SIT operations. *Flo. Entomol.* 85 (1):113-125.
- Malavasi, A., J. S. Morgante and R. J. Prokopy. 1983. Distribution and activities of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) flies on host and non host trees. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76 286-292.
- Malavasi, A., R. A. Zucchi, and R. L. Sugayama. 2000. Biogeografía, pp. 93-98. In A. Malavasi and R. A. Zucchi [eds.], *Moscas-das frutas de importancia economica no Brasil: conhecimento básico e aplicado*. Holos Editora, Ribeirao Preto, Brazil.
- Manso, F. 1998. Breeding technique of *Anastrepha fraterculus* (Wied.) for genetic studies, pp. 25-30. In IAEA- TECDOC 1064. *The South American Fruit Fly, Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. IAEA, Vienna, Austria.
- Manso, F. 1999 Breeding technique of *Anastrepha fraterculus* (Wied.) for genetic studies, pp 25-30. In IAEA [ed.], *The South American Fruit Fly, Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. Proceedings of a workshop organized by Joint FAO/IAEA Division of

- Nuclear Techniques in Food and Agriculture-Viña del Mar (Chile). 1-2 Nov. 1996.
Vienna, Austria. 202 pp
- Manso, F. and A. Basso, 1999. Notes on the present situation of *Anastrepha fraterculus*, pp147-162. In IAEA [ed.], The South American Fruit Fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. Proceedings of a workshop organized by Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture-Viña del Mar (Chile). 1-2 Nov. 1996. Vienna, Austria. 202 pp
 - Mayer, D.G., M. G. Atzeni, M. A. Stuart, K. A. Anaman, and G.D. Butler 1998. Mating competitiveness of irradiated flies for screwworm fly eradication campaigns. *Prev. Vet. Med.* 36 (1):1-9.
 - Mayr, E. 1963. Animal species and evolution. Belknap Press of Harvard University, Cambridge.
 - Mcinnis, D. O., D. R. Lance, and C. G. Jackson. 1996. Behavioral resistance to the sterile insect technique by Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. *Ann. of the Entomol. Soc. Am.* 89: 739-744.
 - Mendes, L. O. T. 1958. Observacoes citologicas em “moscas das frutas”. *Bragantia* 17: 29-39.

- Mitchell-Olds, T. and R. G. Shaw, 1987 Regression analysis of natural selection: statistical inference and biological interpretation. *Evolution* 41: 1149-1161. In F. J. Janzen and H. S. Stern (1998) Logistic regression for empirical studies of multivariate selection. *Evolution*, 52 (6): 1564-1571.
- Morgante, J. S., A. Malavasi, and G. L. Bush. 1980. Biochemical systematics and evolutionary relationships of neotropical *Anastrepha*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 73: 622-630.
- Morgante, J. S. and A. Malavasi. 1985. Genetics variability in populations of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Tephritidae). *Rev. Bras. Gen.* 8: 241-247.
- Norrbom, A. L., and K. C. Kim. 1988. A list of the reported host plants of the species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). USDA-APHIS-PPQ, Hyattsville, MD. Pp 19-28
- Norrbom, A. L.; A. Zucchi, and V. Hernández-Ortiz, 2000 Phylogeny of the Genera *Anastrepha* and *Toxotrypana* (Trypetinae: Toxotrypanini) Based on Morphology, pp 299-342. In M. Aluja and A. L. Norrbom [eds.], *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. CRC Press, 2000, USA.

- Norry, F. M.; G. Calcagno, M. T. Vera,; F. Manso, and J. C. Vilardi, 1999. Sexual selection on morphology independent of male-male competition in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 92 (4): 571-577.
- Ogloblin, A. 1937. La protección de los enemigos naturales de la mosca de la fruta (*Anastrepha fraterculus* Wied.). *Almanaque Ministerio de Agricultura (Argentina)* 3: 177-179.
- Oroño, L.E., S.M. Ovruski, A.L. Norrbom, P. Schliserman, C. Colin and C.B. Martin. 2005. Two new native host plant records for *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) in Argentina *Flo. Entomol.* 88(2): 228-232
- Ovruski, S. M., J. L. Cancino, P. Fidalgo, and P. Liedo. 1999. Perspectivas para la aplicación del control biológico de moscas de la fruta en Argentina. *Manejo Integrado de Plagas* 54: 1-12.
- Ovruski, S.; P. Schliserman, and M. Aluja, 2003. Native and Introduced Host Plants of *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Northwestern Argentina. *J. Econ. Entomol.* 96(4): 1108-1118.
- Paterson, H. E. H. 1978. More evidence against speciation by reinforcement. *South Africa J. Sc.* 74: 369-371.

- Paterson, H. E. H. 1985. The recognition concept of species. In Vrba, E.S. (eds.) Species and Speciation, pp. 21-29. Transvaal Museum (Transvaal Museum Monograph, no. 4), Pretoria, South Africa.
- Partridge, L., and T.R. Halliday. 1984. Mating patterns and mate choice. In: Krebs JR, Davies NB (eds) Behavioral Ecology: an Evolutionary Approach: chap. 9 pp 222-250, Blackwell Scientific Publications: Oxford.
- Payne, R. J. H. and M. Pagel. 2000 Inferring the origins of state-dependent courtship traits. *Am.Nat.*157,42–50. In H. Kokko, R. Brooks, M. D. Jennions and J. Morley (2003) The evolution of mate choice and mating biases. Review. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 653-664.
- Perez, M.C., J. Toledo, and F.P. Liedo. 2000. Fecundidad y desarrollo ovarico em hembras de *Anastrepha obliqua* (Macquart) com cuatro fuentes de alimento. *Folia Entomol. Mexicana* 108: 43-51.
- Petit-Marty, N., M. T. Vera, G. Calcagno, J. L. Cladera, and J. C. Vilardi. 2002 Lack of Post-mating Isolation Between Two Population of *Anastrepha fraterculus* from Different Ecological Regions in Argentina. Scientific Programme and Abstracts. 6th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance. Stellenbosch, South Africa (6-10 May). Matthew Addison & Brian Barnes (comp.):

70.

- Petit-Marty, N. D. F. Segura, R. B. Sciurano, G. Calcagno, A. Allinghi, P. Gómez Cendra, M. T. Vera, R. Russo, M. E. Utgés, S. Goenaga, J.L. Cladera y J.C. Vilardi. 2003. Factores que afectan el éxito copulatorio y la formación de *leks* en el macho de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). XXV Congreso Nacional de Entomología, evento organizado por la Universidad de Talca. 26-28 de Noviembre de 2003. Talca – Chile.
- Petit-Marty, N., M. T. Vera, G. Calcagno, J. L. Cladera, D. F. Segura, A. Allinghi, M. Rodriguero, P. Gómez Cendra, M. M. Viscarret, and J. C. Vilardi. 2004a. Sexual Behavior and Mating Compatibility Among Four Populations of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) from Argentina. *Ann. Entomol. Soc. America*. 97: 1320-327.
- Petit-Marty, N., M.T. Vera., G.Calcagno, J.L.Cladera and J.C. Vilardi. 2004b. Lack of post-mating isolation between two populations of *Anastrepha fraterculus* from different ecological regions in Argentina. In the: Proceedings of the 6th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, 6-10 May 2002, Stellenbosch, South Africa. Brian Barnes (Editor) pg 79-82.
- Phillips, P. C. and S. J. Arnold, 1989. Visualizing multivariate selection. *Evolution* 43 (6): 1209-1222.

- Pitnick, S. and F. García-González, 2002 Harm to females increases with male body size in *Drosophila melanogaster*. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269, 1821–1828. (DOI 10.1098/rspb. 2002.2090.) In H. Kokko, R. Brooks, M. D. Jennions and J. Morley (2003) The evolution of mate choice and mating biases. Review. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 653-664.
- Prokopy, R, D. Papaj, S. Opp, and T. Wong. 1987. Intra-tree foraging behavior of *Ceratitis capitata* flies in relation to host fruit density and quality. *Entomol.Exp. Appl.* 45: 251-258.
- Puche, H., D.G. Midgarden, O. Ovalle, P.E. Kendra, N.D. Epsky, P. Rendón, and R. R. Heath. 2005. Effect of elevation and host availability on distribution of sterile and wild Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) Flo. *Entomol.* 88(1): 83-90
- Putruele, M.T.G. 1996. Hosts for *Ceratitis capitata* and *Anastrepha fraterculus* in the Northeastern province of Entre Ríos, Argentina, pp. 343-345. In B. A. McPherson and G. J. Steck. [eds.], *Fruit fly pests: a world assessment of their biology and management*. St. Lucie Press, Delray Beach, FL.
- Robacker, D.C. and W. Hart. 1985. Courtship and territoriality of laboratory-reared Mexican Fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) in cages containing host and nonhost trees. *Ann. Entomol.Soc.Am.* 78: 488-494.

- Robinson, A. S., J. P. Cayol, and J. Hendrichs, 2002 Recent Findings on Medfly Sexual Behavior: Implications for SIT. *Flo. Entomol.* 85(1): 171-182
- Rodriguero, M. S., M. T. Vera, E. Rial, J. P. Cayol, and J. C. Vilardi 2002a Sexual selection on multivariate phenotype in wild and mass-reared *Ceratitidis capitata* (Diptera:Tephritidae). *Heredity* 89: 480-487.
- Rodriguero, M. S., J. C. Vilardi, M. T. Vera, J. P. Cayol, and E. Rial, 2002b. Morphometric traits and sexual selection in medfly (Diptera:Tephritidae) under field cage conditions. *Flo. Entomol.* 85 (1):143-149.
- Rossler Y., E. Ravins, and P.J. Gomes 2000 Sterile insect technique (SIT) in the near east: a transboundary bridge for development and peace. *Crop Protection* 19: 733-738
- Ryan, M. J. 1990 Sexual selection, sensory systems and sensory exploitation. *Oxford Surv. Evol. Biol.* 7: 157-195. In M. Aluja and A. L. Norrbom [eds.], *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*, USA, CRC Press, 2000, 944 pp.
- Salles, L. A. 1999 Behaviour of *Anastrepha fraterculus*, pp 133-137. In IAEA [ed.], *The South American Fruit Fly, Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in

- artificial rearing, taxonomic status and biological studies. Proceedings of a workshop organized by Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture-Viña del Mar (Chile). 1-2 Nov. 1996. Vienna, Austria. 202 pp
- Schluter, D. and J. N. M. Smith, 1986 Natural selection on beak and body size in the song sparrow. *Evolution* 40: 221-231.
 - Sciurano, R. 2004. “*Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae): selección sexual sobre el fenotipo multivariado en un sistema de apareamiento tipo lek”. Graduation thesis. Universidad de Buenos Aires. Argentina.
 - Segura D. F., M. T. Vera, M. F. Rodriguez, M. E. Utgés, and J. L. Cladera. 2005. Maduración sexual en machos de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). Actas del VI Congreso Argentino de Entomología. San Miguel de Tucumán. Argentina.
 - Segura, D.F., M.T.Vera, C.L.. Cagnotti, N.Vaccaro, O. de Coll, S.M. Ovruski, and J.L. Cladera. 2006. Relative abundance of *Ceratitis capitata* and *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) in diverse host species and localities of Argentina. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99(1): 70-83

- Segura, D.F. N. Petit-Marty, R.B. Sciurano, M.T. Vera, G. Calcagno, A. Allinghi, P. Gómez Cendra, J.L. Cladera, and J.C. Vilardi. 2007. Lekking behavior of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) Florida Entomologist. (En prensa).
- Selivon, D. 1996. Estudio sobre a diferenciação populacional em *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae). Ph. D. dissertation. Departamento de Biología, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Selivon, D., J. S. Morgante, and A. L. P. Perondini. 1997. Egg size, yolk mass extrusion and hatching behavior in two cryptic species of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Dipteran, Tephritidae). Brazil. J. Genetics 20: 587-594.
- Selivon, D. and A. L. P. Perondini. 1998. Eggshell morphology in two cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Dipteran, Tephritidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 91: 473-478.
- Selivon, D., A. L. P. Perondini, and J. S. Morgante. 1999. Haldane's rule and other aspects of reproductive isolation observed in the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). Genet. Mol. Biol. 22:507-510.
- Selivon, D., A. L. P. Perondini, C. Vretos, and L. Fontes. 2001. Characterization of cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex, pp. 30-31. In. P.Rendon, and S. Knight (eds.), Proceedings, of the 4th Meeting of the Working Group On Fruit

Flies Of The Western Hemisphere. Mendoza, Argentina.

- Semple, S. 1998 The function of Barbary macaque copulation calls. *Proc.R.Soc.Lond.B* 265, 287–291. (DOI 10.1098/rspb.1998.0294.). In H. Kokko, R. Brooks, M. D. Jennions and J. Morley (2003) The evolution of mate choice and mating biases. Review. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 653-664.
- SENASA. 1998. Resumen ejecutivo del Programa Nacional de Control y Erradicación de Moscas de los Frutos (PROCEM), pp. 3-6. In 2° Taller de Trabajo sobre Avances en Investigación y Apoyo Científico al PROCEM. SENASA, Buenos Aires, Argentina.
- SENASA [eds.] 2001 La mosca de la fruta, pp 11-20. En *Manual del Sistema Nacional de Moscas de la Fruta*. Programa Nacional de Moscas de la Fruta- Ministerio de Agricultura Servicio Nacional de Sanidad Agraria, Perú.
- Shelly, T. E. and T. S. Whittier, 1994 Lek distribution in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): influence of tree size, foliage density, and neighborhood. *Proc. Hawaii Entomol. Soc.* 32: 113-121. In M. Aluja and A. L. Norrbom [eds.], *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*, USA, CRC Press, 2000, 944 pp.

- Shelly, T., T. Whittier, and K. Kaneshiro. 1994. Sterile insect release and the natural mating system of the Mediterranean fruit fly, *Ceratits capitata* (Diptera:Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. America.* 87: 470–481.
- Shelly, T. E. and T. S. Whittier, 1997. Lek behavior of insects, pp 273-293. In J.C. Choe and D. J. Crespi [eds.], *Mating Systems in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Shelly, T. E. 2001 Lek size and female visitation in two species of tephritid fruit flies. *Animal Behaviour* 62: 33-40
- Simpson, G. G. 1953 *The Major Features of Evolution*. Clumbia University Press, New York. In P. C. Phillips and S. J. Arnold (1989). Visualizing multivariate selection. *Evolution* 43 (6): 1209-1222.
- Sivinski, J. 1989. Lekking and the small-scale distribution of the sexes in the Caribbean fruit fly *Anastrepha suspensa* (Loew). *J. Insect Behav.* 2 3-13.
- Sokal, R. and J. Rohlf, Otras materias avanzadas en regresión, pp 533-537. En *Biometría: Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. H.Blume Ediciones, Madrid, España, 362 pp.

- Solferini, V. N., and J. S. Morgante. 1987. Karyotype study of eight species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). *Caryologia* 40 : 229-241.
- Spates Jr., G.E., and B.G. Hightower, 1970. Variations in the size and reproductive capacity of wild-type and laboratory-adapted populations of the screwworm fly. *J. Econom. Entomol.* 63, pp. 1381–1385
- Spiess, E. B. 1977 *Genes in Populations*. Wiley, New York. In P. C. Phillips and S. J. Arnold (1989). Visualizing multivariate selection. *Evolution* 43 (6): 1209-1222
- Statsoft, Inc. 1998 STATISTICA 6.0 for Windows. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street,
- Statsoft Inc. 1999. STATISTICA 5.1 for Windows. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street,
- Steck, G. J. 1991. Biochemical systematic and population genetic structure of *Anastrepha fraterculus* and related species (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. America.* 84: 10-28.
- Steck, G. J. 1998. Taxonomic status of *Anastrepha fraterculus*, pp 13-20. In *The South American Fruit Fly, Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in artificial

- rearing, taxonomic status and biological studies. IAEA- TECDOC 1064. IAEA, Vienna, Austria.
- Steck, G. J. 1999 Taxonomic status of *Anastrepha fraterculus*, pp 13-17. In IAEA [ed.], The South American Fruit Fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. Proceedings of a workshop organized by Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture-Viña del Mar (Chile). 1-2 Nov. 1996. Vienna, Austria. 202 pp
 - Steck, G. J. and W.S. Sheppard, 1993. Mitochondrial DNA variation in *Anastrepha fraterculus*, pp 9-14. In *Fruit Flies: Biology and Management*. M. Aluja, and P. Liedo, (eds.), Springer Verlag New York.
 - Stone, A. 1942. The fruit flies of the genus *Anastrepha*. U.S.D.A. Miscellaneous Publication. N° 439. Washington, DC.
 - Suesdek-Rocha, L., and D. Selivon. 2001. Characterization of cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) complex through analysis of highly repetitive DNA, pp. 69-70. In P.Rendon, and S. Knight, (eds.), *Proceedings of the 4th Meeting of the Working Group On Fruit Flies Of The Western Hemisphere*. Mendoza, Argentina.

- Tauber, M., J.C. Nascimento, I. Cruz, and A. Oliveira. 2000. Efeito da temperatura na maturação ovariana e longevidade de *Anastrepha fraterculus* (Wied) (Diptera: Tephritidae). *Anais da Soc. Entomol. Brasil* 29: 639-648.
- Taylor, P.W., and B. Yuval. 1999. Postcopulatory sexual selection in Mediterranean fruit flies: advantages for large and protein-fed males. *Anim. Behav.* 58: 247-254.
- Tejada Hurtado, G. (sin año) Manual de Identificación Taxonómica: Especies de *Anastrepha* mas frecuentes en trampas McPhail Ministerio de Agricultura, SENASA, Perú.
- Thornhill, R. 1976 Sexual selection and paternal investment in insects. *Am. Nat.* 110: 153-163. In S. K. Salaluk (2000) Sensory exploitation as an evolutionary origin to nuptial food gifts in insects. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 339-343
- Vahed, K. 1998 The function of nuptial feeding in insects - review of empirical studies. *Biol. Rev.* 73: 43-78. In S. K. Salaluk (2000) Sensory exploitation as an evolutionary origin to nuptial food gifts in insects. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267: 339-343
- Vera, M.T., C. Caceres, V. Wornoyaporn, A. Islam, A. S. Robinson, M. H. De La Vega, J. Hendrichs, and J.P. Cayol. 2006. Mating incompatibility among

- populations of the South American Fruit Fly *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99 (2): 387-397
- Vera, M.T., A. Solana, , A. Oviedo, and E. Willink. 2007 Demographic and quality control parameters of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) artificial rearing. *Florida Entomologist*. (En prensa)
 - Vergani, A. R. 1952. La mosca del Mediterráneo. *Publ. Instituto de sanidad vegetal serie b (argentina)* 22: 1-12.
 - Vergani, A R. 1956 Distribución geográfica de las Moscas de los Frutos en la Argentina. *Idia* 99, 1-5.
 - Vilardi, J.C., B.O. Saidman, A.C. Alberti, G.E. Calcagno, A. Basso, F. Manso and J. Cladera. 1994. Isoenzymatic and chromosomal analyses in three argentine populations of *Anastrepha fraterculus*. *In Proceedings, IV International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, 5-10 June, VIII-14, Sand Key, FL.*
 - Weems, H.V. Jr. 2002 Common name: South American fruit fly
Scientific name: *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Insecta: Diptera: Tephritidae). *DPI Entomology Circular* 217, EENY-266, 6 pp.
 - West-Eberhard, M. J. 1984 Sexual selection, competitive communication and

- species-specific signals in insects. [In T. Lewis [ed.] *Insect Communication*, New York – USA, Academic Press, pp 284-324] In M. Aluja and A. L. Norrbom [eds.], *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*, USA, CRC Press, 2000, 944 pp.
- Wright, N.; S. So, and K. Fisher. 2001 Adopting new technology transforming a facility. 4th Meeting of the working group on fruit fly of the Western Hemisphere. November 25-30, 2001. Mendoza, Argentina.
 - Wyss, J.H. 2000. Screwworm eradication in the Americas. *Ann. New York Acad. Sci.* 916: 186–193
 - Zucchi, R. A.; E. L. Araujo; D. N. A. Canal and F. M. A Ochoa. 1999. La mosca sudamericana de las frutas, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) en el Brasil, pp 5-11. In IAEA [ed.], *The South American Fruit Fly, Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. Proceedings of a workshop organized by Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture-Viña del Mar (Chile). 1-2 Nov. 1996. Vienna, Austria. 202 pp.
 - Zucchi, R.A. 1981 *Anastrepha* Schiner, 1868 (Diptera: Tephritidae): novas sinonimias. *Revista Brasileira de Entomologia* 25, 189-194.

Sitios de internet utilizados:

- www.iaea.org.
- www.fsca-dpi.org/entomologists/weems.htm
- www.r-project.org.
- www.senasa.gob.pe
- www.surdelsur.com/flora/biogeogr/promap.htm