

COLEGIO DE POSTGRUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO
POSGRADO EN FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA**

MECANISMOS DE DETECCIÓN Y SEÑALES VISUALES
UTILIZADOS POR *Catolaccus hunteri* (HYMENOPTERA:
PTEROMALIDAE) PARA LOCALIZAR A SU HUÉSPED

NADIA SALOMÉ GÓMEZ DOMÍNGUEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2016

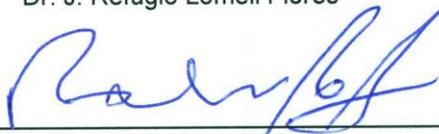
La presente tesis titulada: **"MECANISMOS DE DETECCIÓN Y SEÑALES VISUALES UTILIZADOS POR *Catolaccus hunteri* (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) PARA LOCALIZAR A SU HUÉSPED"** realizada por la alumna **Nadia Salomé Gómez Domínguez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

**DOCTORA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 

Dr. J. Refugio Lomeli Flores

ASESOR: 

Dr. Esteban Rodríguez Leyva

ASESOR: 

Dr. Julio S. Bernal

ASESOR: 

Dr. Ángel Rene Arzúffi Barrera

ASESOR: 

Dr. Juan Cibrián Tovar

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Junio del 2016.

**MECANISMOS DE DETECCIÓN Y SEÑALES VISUALES UTILIZADOS POR
Catolaccus hunteri (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) PARA LOCALIZAR A
SU HUÉSPED**

Nadia Salomé Gómez Domínguez, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2016

RESUMEN

El proceso de localización es un elemento clave en las interacciones entre los parasitoides y sus huéspedes. Mientras que los fitófagos desarrollan estrategias para evitar la detección, los parasitoides perfeccionan sus sistemas sensoriales o aumentan el número de fuentes de información para localizar y reconocer a sus huéspedes. *Catolaccus hunteri* Crawford (Hymenoptera: Pteromalidae) es un ectoparasitoide de huéspedes endofíticos y potencial agente de control de *Anthonomus eugeni* Cano (Coleoptera: Curculionidae) la plaga más importante de cualquier especie de chile cultivado (*Capsicum spp.*). En esta tesis se estudiaron los mecanismos de detección involucrados en el comportamiento de búsqueda, y localización del huésped por el parasitoide, así como la atracción innata de este a la combinación de señales visuales forma-color, y su capacidad para desarrollar un aprendizaje a estas señales durante el proceso de búsqueda. *C. hunteri* manifestó siete patrones comportamentales durante el proceso de búsqueda y localización del huésped, en los cuales los apéndices antenas y ovipositor estuvieron involucrados. Estos apéndices presentan siete tipos morfológicos de sénsulos antenales y seis en el ovipositor, su morfología y distribución siguieron el uso de señales químicas (olfativas y de contacto) y mecánicas en la localización de sus huéspedes. Se estableció la relevancia de las señales visuales durante la localización del hábitat del huésped por *C. hunteri*, y la atracción innata del parasitoide hacia la combinación de señales visuales rojo/oval, la cual podría estar relacionada evolutivamente con el hábitat de algunos huéspedes naturales. Se determinó que la combinación de señales color/forma son de ayuda en la selección del hábitat del huésped distancias cortas.

Palabras clave: Control biológico, parasitoides, localización del huésped, huésped endofítico, señales visuales.

DETECTION MECHANISMS AND VISUAL CUES USED BY *Catolaccus hunteri* (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) TO LOCATE THE HOST

Nadia Salomé Gómez Domínguez, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2016

ABSTRACT

Host location is a key element in the interactions between parasitoids and their hosts. While phytophagous develop strategies to avoid detection, the parasitoids improve their sensory systems or increase the number of information sources to locate and recognize hosts. *Catolaccus hunteri* Crawford (Hymenoptera: Pteromalidae) is an ectoparasitoid of endophytic hosts and a potential control agent of *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae), the most important pest of any species of cultivated chili pepper (*Capsicum* spp.). The mechanisms detection involved in search behavior and host location by parasitoid, as well as the innate attraction to combination form and color, and its ability to develop learning a new signal combination during the searching process was studied. *C. hunteri* showed seven behavior patterns during host location, the antennae and ovipositor were involved in the patterns. The antennae have seven morphological types of sensilla and six the ovipositor, their morphology and distribution suggest the use of chemical signals (olfactory and gustatory) and mechanical in the host location. We established the relevance of visual cues during host habitat location by *C. hunteri*, and the innate attraction to the combination of red-oval, this signal could be evolutionarily related to natural host habitats. It was determined that the combination of form-colored are helpful in locating host habitat at close range.

Keys words: Biological control, parasitoids, host location, endophytic host, sensilla, visual cues

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT) por brindarme una beca completa para la realización de mis estudios de Doctorado.

Al Colegio de Postgraduados por la oportunidad de continuar con mi formación profesional en sus instalaciones y poner a mi disposición toda su infraestructura y plantilla de profesores.

A mi consejero Dr. Refugio Lomeli Flores y al Dr. Esteban Rodríguez Leyva por integrarme a su equipo y por el apoyo en la realización de este trabajo y el apoyo a lo largo del doctorado

Al Dr. Julio S. Bernal por su apoyo a lo largo del doctorado, por los aportes brindados para llevar a buen puerto mi investigación.

Al Dr. René Arzuffi Barrera por sus comentarios objetivos y precisos que enriquecieron mi investigación, así como sus palabras motivantes y ayuda incondicional.

Al Dr. Juan Cibrián Tovar por su apoyo y contribución al buen desarrollo de la investigación, también por su buena disposición que siempre mostró hacia mí.

A Trinidad Lomeli Flores por su apoyo, contribución, pláticas y consejos durante mi estadía en el laboratorio de Control Biológico y por la amistad brindada.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
CONTENIDO.....	vi
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1. Parasitoides de huéspedes endofíticos	3
1.2. Estrategias de búsqueda de los parasitoides.	4
1.3. Delimitación del problema	5
1.4. Objetivos	7
1.4.1 Objetivo general	7
1.4.2 Objetivos específicos	7
CAPÍTULO 2. MECANISMOS DE DETECCIÓN DEL HUÉSPED Y COMPORTAMIENTO DE OVIPOSICIÓN DE <i>Catolaccus hunteri</i> (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE)	8
2.1. Resumen	8
2.2. Abstract	9
2.3. INTRODUCCIÓN	10
2.4. METODOLOGÍA	12
2.4.1. Establecimiento de cría de insectos	12
2.4.1.1. Cría de <i>Callosobruchus maculatus</i>	12
2.4.1.2. Cría de <i>Catolaccus hunteri</i>	12
2.4.2. Comportamiento de oviposición de <i>C. hunteri</i>	13
2.4.2.1. Registro y medición de patrones comportamentales	14
2.4.2.1. Elaboración de etograma	14
2.4.3. Caracterización morfológica de sénsulos antenales y del ovipositor	15
2.4.3.1. Descripción e identificación de sénsulos (antena y ovipositor)	16
2.4.3.2. Medición, abundancia y distribución de sénsulos antenales	16
2.4.4. Análisis estadístico	16
2.5. RESULTADOS	17
2.5.1. Comportamiento de oviposición	17
2.5.1.1. Repertorio de patrones comportamentales de oviposición	17
2.5.1.2. Descripción del comportamiento de oviposición de <i>C. hunteri</i>	19
2.5.2. Antenas de <i>C. hunteri</i>	19

2.5.2.1. Morfología general de antenas.....	19
2.5.2.2. Sénsulos antenales.....	20
2.5.2.3. Abundancia y distribución	25
2.5.3. Ovipositor	28
2.5.3.1. Morfología general del ovipositor	28
2.5.3.2. Sénsulos del ovipositor	29
2.6. DISCUSIÓN	31
2.6.1. Comportamiento de oviposición.....	32
2.6.2. Sénsulos en antenales.....	33
2.6.3. Sénsulos del ovipositor	37
CAPITULO 3. SEÑALES VISUALES Y APRENDIZAJE EN LA SELECCIÓN DEL	
HÁBITAT POR <i>Catolaccus hunteri</i> (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE).....	40
3.1. Resumen	40
3.2. Abstract.....	41
3.3. INTRODUCCIÓN	42
3.4. METODOLOGÍA	44
3.4.1. Material biológico.....	44
3.4.2. Tratamientos y condiciones experimentales	44
3.4.3. Bioensayos comportamentales	45
3.4.3.1. Atracción innata a la combinación de señales color y forma	45
3.4.3.2. Desarrollo del aprendizaje asociado a la combinación forma/color ..	46
3.4.4. Análisis estadístico	48
3.8. RESULTADOS.....	48
3.8.1. Atracción innata.	48
3.8.2. Aprendizaje.	50
3.9. DISCUSIÓN	55
4. CONCLUSIONES GENERALES Y SUGERENCIAS	58
5. LITERATURA CITADA.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Cría de *Callosobruchus maculatus* sobre garbanzo (A) y Cría de *Catolaccus hunteri* sobre garbanzo infestado con larvas de gorgojo (B) 13
- Figura 2.** Etograma del comportamiento de oviposición de *Catolaccus hunteri* en condiciones de laboratorio. Los siete patrones se representan mediante fotografías y las flechas transiciones. Los valores mostraron corresponden a los porcentajes. La flecha punteadas indican transiciones entre patrones con medias < 1. 18
- Figura 3.** Morfología general de la antena del parasitoide *Catolaccus hunteri*. (A) Antena geniculada conformada por radícula (Rd), escapo (Sc), pedicelo (Pd), y flagelo (Fl) formado por dos anillos (An), un funículo (Fn) de seis antenómeros y una clava (Cl). Antena de macho (B) y hembra (C). 21
- Figura 4.** Tipo, localización y morfología de sénsulos antenales del *Catolaccus hunteri*
A. Último segmento de la clava que muestra la localización de los sénsulos tricoideos tipo uno sin poro (ST1-SP) y sénsulo quético uniporo (SCh-UP) en antena de hembra. B. Segmento funicular de la antena de una hembra, donde se observan la ubicación de los sénsulos tricoidea tipo2 (ST2-SP), sénsulo placoideo multiporo (SPM) y sénsulo basicónico capitado (SBC) ubicados en la parte distal del funículo. C. Localización y morfología de los sénsulos tricoideos tipo tres (ST3-SP), tricoideo tipo dos (ST2-SP) y placoideo multiporo (SPM) en antena de una hembra. D Ubicación de sénsulos tricoideos tipo cuatro (ST4-SP) en la radícula de las antenas de machos y hembras. E. Morfología del SCh-UP que muestra ornamentaciones longitudinales en el eje y poro en el ápice en hembras. F. Morfología del SBC con ornamentaciones en bulbo de antena de machos. 24
- Figura 5.** Ovipositor de *Catolaccus hunteri*; (A) posición natural del ovipositor, (B) estructura del ovipositor. valviferos 1 (Vf-1), valviferos 2 (Vf-2), Valvas 1 y 2 (V1, V2) formando el estilete. 29
- Figura 6.** Tipo, localización y morfología de sénsulos del ovipositor en *Catolaccus hunteri*. A. Sénsulo Basicónico (SB). B. valvas 2 (V2) y valvas 1, (V1) con sénsulo Celocónico tipo 1 (SCe-1). C. Sénsulo Celocónico tipo 2 (SCe-2). D. Sénsulo estilocónico tipo A y B (SEs-A, SEs-B). E. Lanceta con denticulaciones donde se encuentran insertos los sénsulos basicónico (SB). F valvas 2 (V2) fusionadas y valvas 1 (V1). G. Ubicación de los sénsulos basicónico (SB) y celocónico tipo 2 (Sce.2) en valvas 1. H. Abdomen de hembra de posición ventral donde se observan valvas 1, 2 y 3 (V1, V2, V3). I. Gonostilus con sénsulos quético uniporo (SCha-UP) y Tricoideo tipo b sin poro (STb-SP). 30
- Figura 7.** Arena de trabajo del experimento de atracción innata de *Catolaccus hunteri* Caja Petri (10x10x2cm) con distribución aleatoria y equidistante de modelos artificiales de oviposición resultado de la combinación de las señales visuales forma/color conteniendo dos larvas de *Callosobruchus maculatus* cada una. 46
- Figura 8.** Arena de trabajo (10x10x2cm) con tratamientos para experimento de aprendizaje. A) arena de adiestramiento, los modelos artificiales amarillo/circular contenían larvas de *Callosobruchus maculatus*. B) Arena para prueba de aprendizaje asociativo, modelos amarillo/circular y rojo/oval sin presencia de larvas. 47

Figura 9. Comparación de medias (\pm E. S.) de la respuesta de atracción innata de <i>Catolaccus hunteri</i> a la combinación de señales visuales color forma de los parámetros evaluados. (A). Número de hembras visitantes por combinación. (B). Número de picaduras y (C). Número de huevos ovipositados por combinación color-forma. ANOVA factorial con $P < 0.05$	51
Figura 10. Comparación de medias (\pm E. S.) para determinar el aprendizaje a señales visuales, mediante los parámetros evaluados. (A) Número de hembras por elección y (B). Tiempo de permanencia (segundos) de las de hembras de <i>Catolaccus hunteri</i> (*). Diferencia significativa.....	53
Figura 11. Comparación de medias \pm E. S. (A). Número de picaduras realizadas por las hembras adiestradas de <i>Catolaccus hunteri</i> sobre los modelos artificiales y (B) número de picaduras. (*). Diferencia significativa.....	54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Secuencia generalizada del comportamiento de búsqueda y parasitación por himenópteros.	2
Cuadro 2. Patrones de comportamiento de oviposición de hembras de <i>C. hunteri</i>	17
Cuadro 3. Abundancia y distribución de los diferentes sénsulos en antenas del macho y la hembra de <i>Catolaccus hunteri</i>	26
Cuadro 4. Características espectrales de la señal visual color de los modelos artificiales de oviposición (burbujas de parafilm) utilizados en los bioensayos.	45
Cuadro 5. Efecto de los factores color (A) y forma (B), sobre la atracción innata de <i>Catolaccus hunteri</i> a señales visuales.....	49

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La teoría del forrajeo óptimo indica que la búsqueda del alimento es una actividad decisiva para los animales, por ello el esfuerzo se concentra en una búsqueda eficiente de los alimentos con la mayor retribución de contenido energético y el menor riesgo, lo cual contribuye a la maximización de su éxito reproductivo como especie (Stephens y Krebs 1986). Lo anterior responde a que los recursos alimenticios en general se encuentran agrupados en parches con diferente disponibilidad (Begon 2006), por lo que los organismos tienden a incrementar la búsqueda en lugares donde la probabilidad de encontrar su alimento es mayor (Schowalter 2006).

La estrategia de vida de los parasitoides consiste principalmente en la búsqueda activa y dirigida del huésped por la hembra, su reproducción mediante la oviposición y el desarrollo de parasitoide inmaduro a partir del consumo parcial o total del huésped (Godfray 1994). En los parasitoides sinovigénicos la proteína requerida para la maduración de sus huevos se obtiene a partir de la hemolinfa del huésped extraída de heridas producidas por el ovipositor (Jervis et al. 2001, Bernal, 2007) por lo que la búsqueda del huésped en estos parasitoides podría ser considerada como una búsqueda de alimento.

El proceso de búsqueda del huésped en los parasitoides himenópteros es un proceso que consiste en cuatro etapas: 1) localización del hábitat, 2) localización del huésped, 3) aceptación del huésped y 4) uso del huésped (Vinson 1976, 1998; Godfray 1994,). En esas etapas, la hembra es protagonista de las tres primeras, mientras que la larva protagoniza la cuarta etapa (Brodeur y Boivin 2004). Durante este proceso los parasitoides son guiados hacia sus huéspedes mediante una serie de señales físicas, químicas y mecánicas (Cuadro 1),

relacionadas de manera directa o indirecta a través del ambiente con su huésped, permitiéndole a las hembras reducir y restringir la búsqueda hacia hábitats o áreas en la cuales la posibilidad de encontrar a su huésped es mayor (Vinson 1997, 1998). Para percibir estas señales, las hembras de los parasitoides poseen estructuras especializadas denominadas sénsulos ubicados en diferentes partes del organismo (antenas, palpos, tarso y ovipositor) involucrados en la búsqueda y aceptación de huésped (Chapman 1998)

Cuadro 1. Secuencia generalizada del comportamiento de búsqueda y parasitación por himenópteros.

Fase/Evento	Comportamiento	Tipo de señal involucrada			
		Visual	Olfativas	Mecánica	Gustativas
1. Localización del hábitat del huésped Plantas asociadas al fitófago	Vuelo dirigido <i>kinesis / taxis</i>	○	●		
CONTACTO CON LA PLANTA (Hospedera del fitófago)		ATERRIAJE			
2. Localización del huésped Microhábitat del huésped	Movimiento dirigido <i>Caminatas de exploración</i> <i>Tamborileo de antenas, tarsos, abdomen</i>	○	●	◇	●
3. Aceptación del huésped Estimación de la calidad del huésped	Contacto de evaluación del huésped <i>caminatas de exploración</i> Oviposición y/o alimentación <i>picadura de prueba / paralización</i>		●	◇	●
4. Uso del huésped Manipulación del huésped por el estado inmaduro	Parasitación exitosa <i>Alimentación del hospedera por el estado inmaduro del parasitoide</i>		●		●

Columna izquierda: fase del proceso de parasitación con el origen de emisión de las señales; Columna intermedia: comportamiento del parasitoide; Columna derecha tipo de señales involucradas en cada fase. El punto negro indica que esas señales se encuentran documentadas en varias especies de parasitoides. El punto blanco indica el posible uso de señales por algunas especies de parasitoides. El rombo blanco se refiere a señales utilizadas por parasitoides de huéspedes endofíticos.

1.1. Parasitoides de huéspedes endofíticos

La reproducción de un parasitoide depende del éxito en localizar y seleccionar a los huéspedes adecuados, lo que significa que su comportamiento de búsqueda y selección presenta bases genéticas que se formaron mediante procesos de selección natural para optimizar dicho proceso (Bernal 2007).

Los parasitoides de huéspedes endofíticos generalmente son parasitoides idiobiontes, por lo que las etapas de localización del hábitat y aceptación del huésped son importantes para el parasitismo exitoso. La familia Pteromalidae agrupa entre sus especies un gran número de parasitoides idiobiontes que se desarrollan como ectoparasitoides solitarios o gregarios de larvas y pupas de dípteros, coleópteros, himenópteros, lepidópteros y sifonápteros. Un gran número de ellos atacan especies ocultas en tejidos vegetales como frutos, tallos y hojas (Hanson y Gauld 2006).

El primer paso del proceso de búsqueda y selección del huésped es la localización del hábitat de éste, el cual generalmente consta de una planta, un fruto, semilla o grupo de éstas. La atracción al hábitat se basa principalmente en la atracción hacia compuestos químicos volátiles de larga distancia como los volátiles producidos en respuesta al daño producido por la alimentación del herbívoro denominados "sinomonas". Sin embargo cuando el huésped se encuentra oculto en estructuras vegetales las señales químicas que emite la alimentación del herbívoro pueden ser más difíciles de detectar, por lo que señales químicas, visuales o mecánicas del hábitat del huésped toman mayor relevancia para el parasitoide (van Alphen et al. 1991, Henneman 1998).

Entre las señales del hábitat del huésped se encuentran las kairomonas que son sustancias químicas que favorecen al receptor (parasitoide) pero no al emisor

(huésped). Ejemplo de ellas son los olores emitidos por las heces del huésped y las feromonas; no obstante, las kairomonas son utilizadas frecuentemente en la localización del huésped y su microhabitat a distancias cortas por los parasitoides (Wang y Yang 2008). La información visual de hábitat donde se desarrolla el huésped también es usada por los parasitoides durante el proceso de búsqueda y localización sobre todo en las etapas de localización del hábitat para asegurar un parasitismo exitoso (Godfray 1994).

Las señales visuales (colores, formas o patrones de daño asociadas con el huésped o sus actividades) proporcionan información valiosa para la búsqueda de huéspedes ocultos. La alimentación de estos fitófagos dentro de las estructuras de la planta puede resultar en lesiones, desecación, orificios de entrada y de emergencia, minas en hoja, agallas, o cambios en la coloración de las partes de las plantas infestadas que pueden ser detectadas visualmente por parasitoides (Segura et al. 2007). El color y el contraste son las señales visuales más importantes a distancias largas (Fischer et al. 2004), mientras que las formas y patrones son relevantes en distancias cortas (Wäckers y Lewis 1999, Segura et al. 2007).

1.2. Estrategias de búsqueda de los parasitoides.

Los parasitoides comienzan la búsqueda de sus huéspedes mediante mecanismos innatos que se manifiesta la primera vez que un organismo se enfrenta a un estímulo (Dukas 2008). Sin embargo su huésped puede localizarse en una gran variedad de hábitats en los cuales la disponibilidad de este recurso varía espacial y temporalmente, lo cual puede no estar relacionado con los mecanismos innatos.

El éxito de los parasitoides se debe en gran medida a la búsqueda activa y dirigida de su huésped, por lo que los parasitoides presentan estrategias para explotar los sistemas tritróficos y así maximizar su éxito reproductivo (Stephens y Krebs 1986). La experiencia y el aprendizaje juegan un papel importante durante el proceso de búsqueda de los huéspedes, ya que incrementa la capacidad de los parasitoides para localizarlos al emplear señales relacionadas directamente o indirectamente (a través de su ambiente) con el huésped (Vet et al. 1995).

La experiencia (sensibilización) puede producir un perfeccionamiento en la respuesta comportamental de los parasitoides. Es decir, las hembras con experiencia responden con mayor intensidad al estímulo con respecto a las hembras sin experiencia (Vinson 1998). Este perfeccionamiento puede verse reflejado en el aumento de la eficiencia de forrajeo (Dukas 2008). Por otra parte el aprendizaje asociativo se define como la asociación de un estímulo sin significado específico (es decir, es neutro) con un estímulo significativo el cual produce una respuesta. Así después en un encuentro posterior, el parasitoide responderá al estímulo sin significado porque le permite encontrar el estímulo significativo (comida o huésped) pero esta vez provocada por el estímulo neutro, lo cual le permite a los parasitoides a hacer frente a la variabilidad de señales en las cuales se encuentran inmersos sus huéspedes para poder localizarlos. El aprendizaje asociativo aparte del efecto directo en la búsqueda del huésped por los parasitoides, podría presentar implicaciones evolutivas de los patrones de búsqueda de los parasitoides (Bernays y Chapman 2007, Dukas 2008).

1.3. Delimitación del problema

Los parasitoides son los enemigos naturales más utilizados en los programas de control biológico, debido a su nivel de especialización y a su búsqueda activa

para encontrar a sus huéspedes en comparación con los depredadores. En los programas de control biológico se realizan estudios básicos sobre la ecología y la etología de los enemigos naturales, estos trabajos permiten determinar la efectividad de un agente de control en un entorno determinado. Sin embargo, los parasitoides buscan su alimento, huéspedes y congéneres en entornos complejos y variantes. Quizás por esta razón donde necesitan explorar una variedad de estímulos que incluyen señales visuales, olfativas, táctiles y vibratorias que guían sus decisiones.

A pesar de la importancia del tema, existe poca información sobre los mecanismos de parasitación exitosa de huéspedes ocultos en estructuras vegetales (frutos, semillas, hojas etc.), y aún menos sobre las señales visuales que utilizan los parasitoides durante la etapa de localización del huésped (Wardle y Borden 1990, Pérez et al. 2011, Benelli y Canale 2012). Muchos estudios se han centrado la investigación de la señal visual color pero no de otras seales (Michaud y Mackauer 1994, Oliai y King 2000). Para atender algunas de estas interrogantes en este estudio se utilizó como modelo a *Catolaccus hunteri* Crawford (Hymenoptera: Pteromalidae), un ectoparasitoide solitario, de al menos 17 especies de Curculionidae y dos especies de Bruchidae (Cross y Mitchell 1969, Cross y Chesnut 1971).

Catolaccus hunteri ataca larvas endofíticas de Bruchidae dentro de semillas y de *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) en frutos de Chile, y se considera como un insecto que debería explorarse como posible agente de control biológico del picudo del Chile (Rodríguez-Leyva et al. 2007, Schuster 2007). Se asume que utiliza señales químicas, físicas y mecánicas provenientes del huésped y/o de su entorno como se ha señalado para otros parasitoides

(Mbata et al. 2005, van Baaren et al. 2007). Además se desconoce si utiliza información sobre la localización del huésped desde su emergencia (experiencia innata) o bien de la experiencia acumulada durante el proceso de búsqueda, es decir el aprendizaje asociativo. Para entender en parte estas faltas de conocimiento se planteó el presente estudio con los objetivos que se señalan adelante.

1.4. Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Conocer los mecanismos involucrados en la localización de huéspedes y el papel de las señales visuales dentro del proceso de búsqueda y parasitación por el parasitoide *Catolaccus hunteri*.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Describir el comportamiento de oviposición de *C. hunteri* en laboratorio
2. Describir mediante el estudio de los sénsulos presentes en antenas y ovipositor los mecanismo utilizados por *C. hunteri* en el proceso de localización y aceptación del huésped.
3. Determinar la relevancia de la atracción innata de las hembras del parasitoide *C. hunteri* hacia la combinación de señales visuales forma/color.
4. Determinar si la experiencia previa del parasitoide *C. hunteri* sobre la combinación forma/color puede modificar el proceso de localización de su huésped.

CAPÍTULO 2. MECANISMOS DE DETECCIÓN DEL HUÉSPED Y COMPORTAMIENTO DE OVIPOSICIÓN DE *Catolaccus hunteri* (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE)

2.1. Resumen

Catolaccus hunteri es un himenóptero ectoparasitoide de huéspedes endofíticos del que se conoce su biología, pero del cual se desconocen los mecanismos implicados en el proceso de búsqueda y parasitación de sus huéspedes. Los objetivos de este estudio fueron establecer los patrones de comportamiento de oviposición de *C. hunteri* mediante modelos artificiales conteniendo a su huésped alternativo *Callosobruchus macullatus* en condiciones de laboratorio y determinar la morfología de los sénsulos presentes en los apéndices involucrados durante el proceso de oviposición mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido. En el proceso de oviposición de *C. hunteri* se evidenciaron siete patrones comportamentales: acicalamiento, anteneo tipo 1, exhibición del ovipositor, anteneo tipo 2, doblamiento del abdomen, picadura, y oviposición. La secuencia del comportamiento se describió mediante un etograma. Las antenas y el ovipositor fueron los apéndices involucrados en el proceso de oviposición implicando la presencia de sénsulos en esos apéndices. Se registró la presencia de siete tipos morfológicos de sénsulos en antenas y seis en ovipositor, entre los que se encuentran sénsulos tricoideos sin poro, placoideos multiporo, quéticos, basicónicos capitados, celocónicos y estilocónicos. La morfología externa de los sénsulos y su frecuencia permitieron discutir, con base en la literatura, la función que posiblemente desempeñan en *C. hunteri*, tales como la percepción de vibraciones (mecanorrecepción) y olores y sabores (quimiorrecepción).

Palabras clave: Parasitoides, localización del huésped, huésped endofítico, etograma, sensilla, mecanorrecepción, quimiorrecepción.

2.2. Abstract

Catolaccus hunteri is a hymenopteran ectoparasitoid of endophytic hosts. There is basic biology information on it, but there are not studies on its searching behavior. The objectives of this study were to describe the oviposition behavior of *C. hunteri* on artificial models containing its factitious host *Callosobruchus macullatus* under laboratory conditions, and identify the sensilla present on the appendages involved in the oviposition processes using scanning electron microscopy. The results indicated that *C. hunteri* females exhibited seven distinct behaviors during oviposition: cleaning, antennation type 1, ovipositor display, antennation type2, abdominal bending, stinging, and oviposition. The behavior was described in an ethogram. Antennae and ovipositor were involved in ovipositional behaviors implying the presence of sensilla on those appendages. Seven morphological types of sensilla types were recorded in the antennae of both sexes, and six in the ovipositor of females: five types of sensilla tricoidea, two chaetica sensilla, two coeloconic sensilla, one basiconic sensilla peg, one placoid sensillum, and one styloconic sensillum. The functions of those sensilla, such as mechanoperception (vibration), and chemoreception (smell, taste) was inferred based on examination of their morphological features and available reports in the literature.

Key words: Parasitoids, host location, endophytic host, ethogram, sensilla, mechanorreception, chemoreception.

2.3. INTRODUCCIÓN

La localización y aceptación de huéspedes en las avispas parasíticas es una área de investigación que ha crecido en las últimas tres décadas. Muchos estudios al respecto se han enfocado en la identificación de estímulos claves en la localización de huéspedes y la caracterización de la respuesta comportamental de los parasitoides (Godfray 1994).

Los estímulos para el reconocimiento de huéspedes incluye señales (químicas, físicas o mecánicas) provenientes del interior y/o en la superficie del huésped o bien de sus entorno en el caso de los huéspedes endofíticos (Hoffmeister y Roitberg 1997). Para percibir esta información, las hembras de los parasitoides poseen un equipo sensorial de localización y discriminación del huésped (Godfray 1994).

Las señales externas son generalmente detectadas por sénsulos localizados en las antenas de las hembras (Amornsak et al. 1998, Chapman 1998), mientras que las señales internas utilizadas para la aceptación o discriminación del huésped son detectadas por sénsulos presentes en su ovipositor (Le Ralec et al. 1996, Brown y Anderson 1999).

Catolaccus hunteri se ha reportado como uno de los parasitoides más frecuente asociados al picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) (Mariscal et al. 1998, Rodríguez-Leyva et al. 2007), que es la plaga más importante de cualquier especie de chile (*Capsicum spp.*) cultivado en México, Centro América, el Sur de Estados Unidos (Riley y Schuster 1992, Rodríguez-Leyva et al. 2007) y recientemente detectada en Holanda e Italia, países donde se erradicó (EPPO 2011, Speranza et al. 2014).El control de esta

plaga se basa en el manejo cultural y en el uso de insecticidas dirigidos a los adultos.

Con el fin de explorar otras tácticas de control del picudo del chile se han realizado estudios sobre los atributos de *C. hunteri* como agente de control biológico (Rodríguez-Leyva et al. 2000, Seal et al. 2002). También se mejoró su sistema de cría (Rodríguez-Leyva et al. 2002, Vásquez et al. 2005), se evaluó su potencial de supresión de la plaga en Florida (Schuster 2007) y el efecto de insecticidas sobre este parasitoide (Schuster y Thompson 2011). Aunque existe interés en el estudio de este parasitoide, se desconocen los mecanismos involucrados en la localización y aceptación de sus huéspedes.

Catolaccus. hunteri ataca huéspedes endofíticos (Ej., larvas de Bruchidae en semillas y de *A. eugenii* en frutos de chile) y se supone que utiliza señales físicas, químicas y mecánicas provenientes del huésped o de su entorno, como se ha señalado para otros parasitoides (Mbata et al. 2005; van Baaren et al. 2007). El estudio de los sénsulos de *C. hunteri*, así como la secuencia de comportamientos durante la oviposición podrían contribuir a soportar dichas suposiciones sobre el proceso de búsqueda. Por ello, los objetivos de este trabajo fueron estudiar el comportamiento del parasitoide *C. hunteri* durante el reconocimiento y oviposición de su huésped, y describir la morfología, localización, abundancia y distribución de los sénsulos presentes en antenas y ovipositor de hembras de *C. hunteri* involucrados en el proceso de búsqueda y aceptación de huéspedes.

2.4. METODOLOGÍA

2.4.1. Establecimiento de cría de insectos

Para la realización de este estudio se establecieron dos crías; una del parasitoide *C. hunteri* y otra más del gorgojo del garbanzo *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae), este último es un huésped facticio del parasitoide. Ambas crías se establecieron en el laboratorio de Control Biológico del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

2.4.1.1. Cría de *Callosobruchus maculatus*

La colonia del gorgojo del garbanzo se estableció mediante la técnica descrita en Rodríguez-Leyva et al. (2002), con algunas modificaciones. Básicamente cada tercer día 200 g de garbanzo se infestaban con aproximadamente 100 gorgojos de menos de cinco días de edad. Este material se mantenía en recipientes de 0.5L en condiciones controladas ($29 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $30 \pm 5\%$ HR, y 24 h de obscuridad), y se usaba para proporcionar larvas para la cría del parasitoide, material para mantener la colonia del brúchido y material biológico durante la etapa de experimental (Figura 1A). La cantidad de grano infestado se incrementaba según las necesidades de este.

2.4.1.2. Cría de *Catolaccus hunteri*

La colonia del parasitoide se estableció en el 2012 en el laboratorio de Control Biológico del Colegio de Posgraduados en condiciones controladas ($29 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $30 \pm 5\%$ HR, y 12: 12 h Luz: Obscuridad). Se usó una metodología similar a la descrita por Vásquez et al. (2005), y la colonia original se estableció con parasitoides de campo provenientes de picudo del chile *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) de frutos de esta solanácea (*Capsicum spp.*).

Los organismos obtenidos de campo (15 a 20 parejas de parasitoide) se introdujeron en recipientes de cría del gorgojo del garbanzo que tenían entre 25 y 30 días de haber sido infestados con la plaga, de esta manera el parasitoide encontró larvas de último ínstar para parasitar y alimentarse.

Los parasitoides provenientes de campo se dejaron en esos recipientes por dos semanas y posteriormente se eliminaron. El garbanzo con larvas y parasitoides se mantuvieron en cámaras de cría a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 10 días. Posteriormente se colocaron en cámaras de emergencia (recipientes de plástico con ventilación en la base y tapa) (Vásquez et al. 2005). De esta cámara de emergencia se colectaron grupos de parasitoides de 2 o 3 días de edad y se introdujeron en jaulas con larvas del gorgojo del garbanzo para el mantenimiento e incremento de la colonia en laboratorio (Figura 1B).

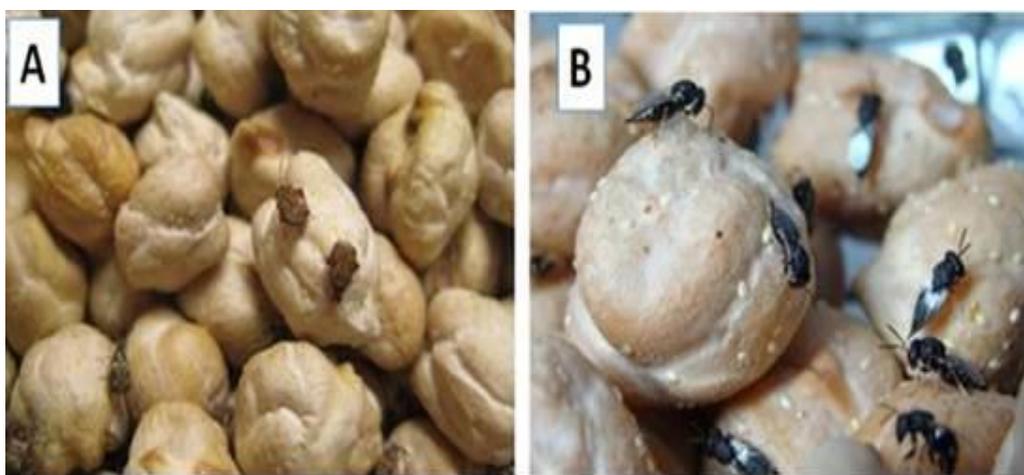


Figura 1. Cría de *Callosobruchus maculatus* sobre garbanzo (A) y Cría de *Catolaccus hunteri* sobre garbanzo infestado con larvas de gorgojo (B)

2.4.2. Comportamiento de oviposición de *C. hunteri*

La unidad experimental estuvo conformada por una hembra de 10 días de edad apareada y sin experiencia previa de oviposición. Con esa edad se

aseguraba que ya había pasado el periodo de preoviposición. Cada hembra se alimentó con una solución de miel y agua hasta su utilización en los bioensayos.

Los bioensayos se realizaron entre las 8:30 y 16:30 h, periodo en el cual se encuentra la mayor actividad del parasitoide (datos de experimentos preliminares).

2.4.2.1. Registro y medición de patrones comportamentales

Una hembra del parasitoide *C. hunteri* se colocó en una caja Petri (10 x 10 x 2cm) donde se encontraba una lámina de 6 burbujas de Parafilm ® que contenían dos larvas de 4to ínstar de *C. maculatus* cada una. Para definir el comportamiento de oviposición se realizó el registro y observación del comportamiento de oviposición, de manera individual, de 30 hembras del parasitoide por un periodo aproximado de 45 min (tiempo promedio en el cual se llevaba a cabo la oviposición). Las observaciones se realizaron con la ayuda de una video cámara SONY ® HDR-PJ440 670. Al final de cada periodo de observación se revisó la presencia de huevos en las burbujas. Los registros y medición de patrones se llevaron a cabo en una habitación en condiciones controladas [$25 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ H.R. y 12:12 (L: O)].

2.4.2.1. Elaboración de etograma

El etograma describe los patrones que forman el proceso de oviposición y las transiciones que se presentan entre estos, se elaboró en base a Gonzaga (2010) y Salmerón (2012). Para la elaboración se consideraron aquellos patrones que mostraron una media ≥ 1 .

2.4.3. Caracterización morfológica de sénsulos antenales y del ovipositor

Un grupo de 50 organismos adultos de *C. hunteri* (hembras y machos) de menos de 12 h de edad, provenientes de la cría establecida en laboratorio, se sacrificaron en etanol al 70% para extirparles a las hembras las antenas y el ovipositor, y a los machos sólo las antenas. La disección se realizó con pinzas entomológicas del No.5 (Fisher Scientific) en un microscopio estereoscópico a 20x (VELAB®, Modelo VE-S4, Madrid, España). Las antenas y los ovipositores se colocaron por separado en etanol al 70% durante 24 horas, posteriormente este material se deshidrató en una serie de alcoholes de 75, 80, 90% y alcohol absoluto, en cada caso por un lapso de una hora.

El material deshidratado se transfirió a un secador de punto crítico Samdri-780A® (TOUSIMIS Research Corporation, Rockville, USA) por 45 minutos. Las antenas de machos y hembras así como los ovipositores de cada ejemplar se montaron por separado unos en posición dorsal y otros en posición ventral en porta-muestras de cobre. Para ello se usó cinta adhesiva de carbón y el material se recubrió con oro-paladio (40:60) en una ionizadora JEOL® (JFC-1100, Tokio, Japón) durante 10 minutos para ser observados al microscopio electrónico.

Las estructuras se observaron y examinaron en un microscopio electrónico de barrido (JEOL-JSM6390, Tokio, Japón), en el laboratorio de Microscopía Electrónica del Colegio de Postgraduados. Se obtuvieron micrografías del ovipositor y antenas de hembras, como micrografías de antenas de machos, así como de los diferentes sénsulos presentes en las antenas de ambos sexos y el ovipositor.

2.4.3.1. Descripción e identificación de sénsulos (antena y ovipositor)

La descripción morfológica de los sénsulos antenales de machos y hembras de *C. hunteri* se realizó a partir de las imágenes obtenidas. Se utilizaron los caracteres morfológicos: presencia, ausencia y posición de poros como base de la identificación, utilizando la terminología, clasificación, e identificación descrita por Chapman (1982, 1998) y Onagbola y Fadamiro (2008). Para el caso de los sénsulos del ovipositor se utilizó la terminología descrita por Snodgrass (1993), Matsuda (1976) y Le Ralec et al (1996).

2.4.3.2. Medición, abundancia y distribución de sénsulos antenales

Se realizaron las mediciones en micrómetros (μm) de la longitud total, ancho basal y diámetro del pozo de inserción (en caso de estar presente) para cada tipo de sénsulo morfológicamente diferente, tanto en las antenas de machos como de hembras. También se realizaron mediciones de cada tipo de sénsulo mediante el programa Image-Tool para Windows versión 3.0 (Wilcox et al. 2002).

La abundancia y distribución de los diferentes tipos de sénsulos se realizó mediante la observación de 12 antenas de cada sexo, mientras que las mediciones (micrómetros) fueron obtenidas a partir de imágenes de 30 sénsulos individuales del mismo tipo para calcular los valores medios (media \pm E.S.).

2.4.4. Análisis estadístico

Los sénsulos presentes en la superficie dorsal y ventral de las antenas de ambos sexos se contaron y midieron para calcular los valores medios (media \pm E.S.). Las medidas correspondientes a machos y hembras se compararon mediante una prueba de *t* de Student (Statistix 8, Versión 2005).

2.5. RESULTADOS

2.5.1. Comportamiento de oviposición

2.5.1.1. Repertorio de patrones comportamentales de oviposición

Se observaron y registraron 7 patrones diferentes que forman parte del comportamiento de oviposición y terminan con la ovipostura (Cuadro 2).

Cuadro 2. Patrones de comportamiento de oviposición de hembras de *C. hunteri*

Patrones	Descripción
A	Acicalamiento; limpieza de antenas, alas y abdomen
An-1	Anteneo tipo 1: anteneo alternado (de arriba- abajo) de las antenas haciendo contacto con la superficie del sustrato (burbuja).
An-2	Anteneo tipo 2 con la masa antenal de manera perpendicular a la superficie del sustrato (burbuja)
DA	Doblamiento del Abdomen hacia la parte interna del cuerpo de la hembra
EO	Exhibición del ovipositor
P	Picadura: inserción del ovipositor al interior de la burbuja mediante movimientos del abdomen
OV	Ovipostura

Durante las observaciones del comportamiento de oviposición se observaron dos patrones con muy poca frecuencia, uno de ellos fue el “periodo de adecuación” (PA) el cual se caracterizó por la falta de actividad y movimiento por parte de la hembra (seis minutos aproximadamente) y el segundo patrón denominado “caminata de exploración” (CE) la cual fue realizada por la hembra entre los modelos en la arena de prueba (dos minutos aproximadamente).

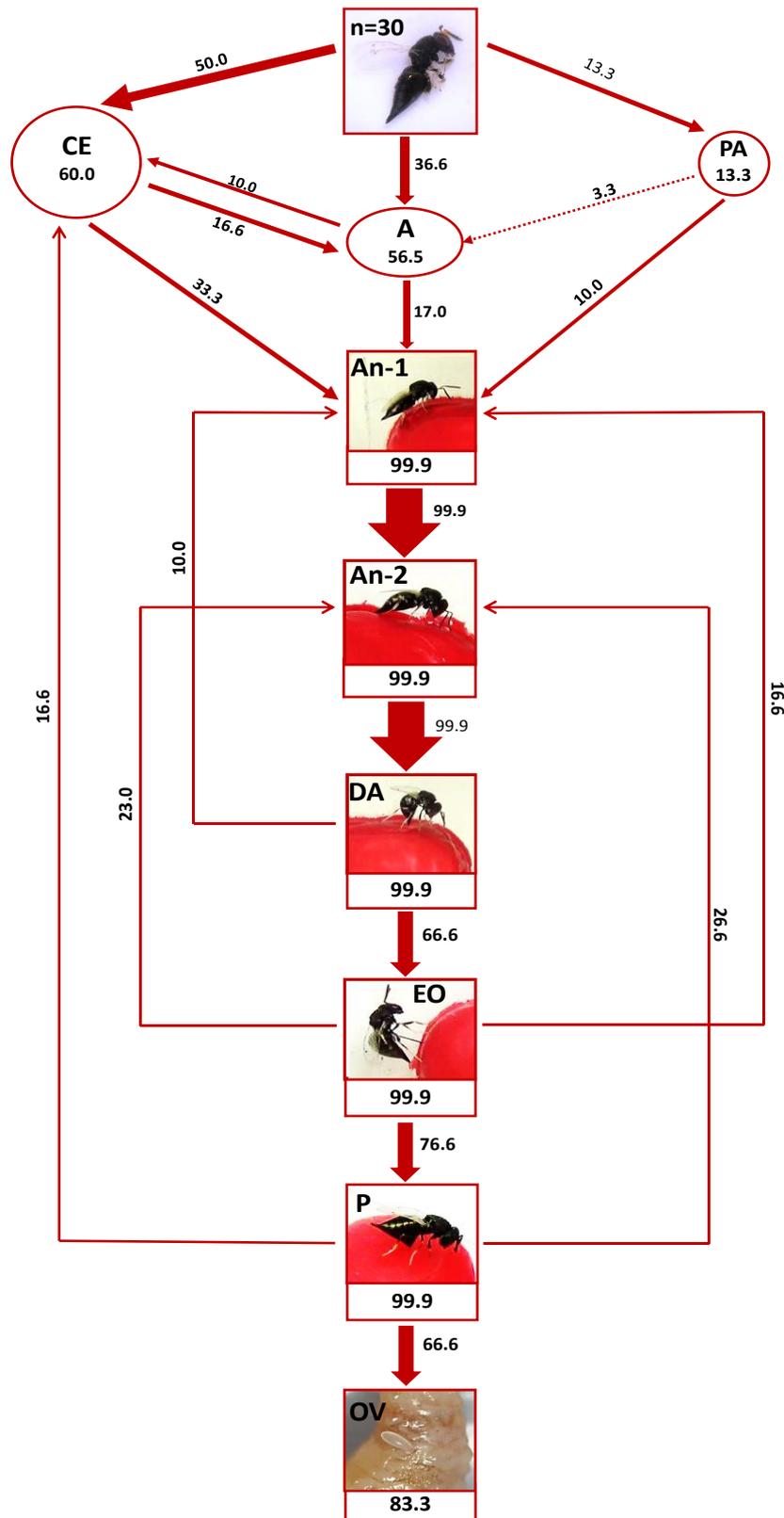


Figura 2. Etograma del comportamiento de oviposición de *Catolaccus hunteri* en condiciones de laboratorio. Los siete patrones se representan mediante fotografías y las flechas transiciones. Los valores mostraron corresponden a los porcentajes. La flecha punteadas indican transiciones entre patrones con medias < 1.

2.5.1.2. Descripción del comportamiento de oviposición de *C. hunteri*

Las hembras grávidas de *C. hunteri* al ser colocadas en la arena de prueba presentaron un periodo de adecuación promedio de seis minutos, periodo después del cual se inició el patrón comportamental de acicalamiento de antenas, alas y abdomen (**A**), seguido de caminatas de exploración en la arena de prueba para elegir una de las burbujas. Allí la hembra iniciaba la exploración de la burbuja mediante un anteneo tipo 1 (**An-1**), caracterizado por un anteneo alternado (de arriba- abajo) de las antenas haciendo contacto con la superficie de la burbuja, posteriormente se exhibía un comportamiento de anteneo tipo 2 (**An-2**), caracterizado por el golpeteo de la masa antenal de manera perpendicular a la superficie de la burbuja hasta que la hembra doblaba el abdomen (**DA**) y este hacía contacto con la superficie de la burbuja, para posteriormente exhibir el ovipositor (**EO**) y mediante movimientos laterales del abdomen lograr introducir a éste en la burbuja (**P**). Con el ovipositor dentro de la burbuja podía mover éste en búsqueda del huésped y llevar a cabo la picadura del huésped, y terminando con la oviposición (**OV**). De las 30 hembras observadas el 83.3% (25 hembras) llevó a cabo la oviposición.

2.5.2. Antenas de *C. hunteri*

2.5.2.1. Morfología general de antenas

Las antenas de *C. hunteri* son geniculadas y constan de 14 segmentos en ambos sexos. Son significativamente mayores en su longitud ($t=5.35$; $gl= 22$; $P<0.001$) en las hembras ($1295.6 \pm 15.6 \mu\text{m}$) en relación a los machos ($1146.9 \pm 22.1 \mu\text{m}$). Cada antena está formada por cuatro áreas: radícula, escapo, pedicelo y flagelo (Figura 3A). La radícula (Rd) se midió por separado del escapo y constituye aproximadamente el 3% de la longitud total de la antena, con un valor

promedio en machos de $34.4 \pm 1.4\mu\text{m}$ (media \pm E.S.) y en hembras de $43.7 \pm 1.3\mu\text{m}$. El escapo (Sc) es cilíndrico, aproximadamente 6 veces más largo que ancho (longitud $304.2 \pm 4.2\mu\text{m}$ en machos, y $371.8 \pm 6.5\mu\text{m}$ en hembras), y constituye aproximadamente el 28% de la longitud antenal. El pedicelo (Pd) es corto en forma de barril, de $75.4 \pm 2.4\mu\text{m}$ de longitud en machos y $97.7 \pm 2.3\mu\text{m}$ en hembras; equivalente al 7% de la longitud antenal. El flagelo (Fl) constituye aproximadamente el 62% de la longitud antenal y está formado de tres partes: una basal de dos anillos (An1 y An2) aproximadamente tres veces más anchos que largos; la parte intermedia, el funículo (Fn), formada de seis antenómeros (Fn1 a Fn6) cilíndricos, y la parte distal, llamada clava formada de tres antenómeros (Cl1, Cl2 y Cl3) que se aplanan y estrechan formando una punta (Figura 3A). El flagelo tiene una longitud total en machos de $735.4 \pm 11.9\mu\text{m}$ y en hembras de $782.4 \pm 14.1\mu\text{m}$ ($t=3.38$, $gl=22$; $P<0.05$).

2.5.2.2. Sénsulos antenales

A magnificación baja la superficie de las antenas de *C. hunteri* parece similar en ambos sexos. Sin embargo, la abundancia y distribución de los sénsulos difiere claramente entre sexos (Figura 3B y C). Las antenas de *C. hunteri* (machos y hembras) presentan siete tipos morfológicos de sénsulos, los cuales incluyen cuatro tipos de sénsulos tricoideos sin poro (ST1-SP, ST2-SP, ST3-SP y ST4-SP), un sénsulo placoideo múltiporo (SPM), un sénsulo quético de un poro (SCh-UP), y un sénsulo basicónico capitado (SBC) en forma de chupón. La distribución de sénsulos en cada segmento antenal en hembras y machos se observa en el Cuadro 3.

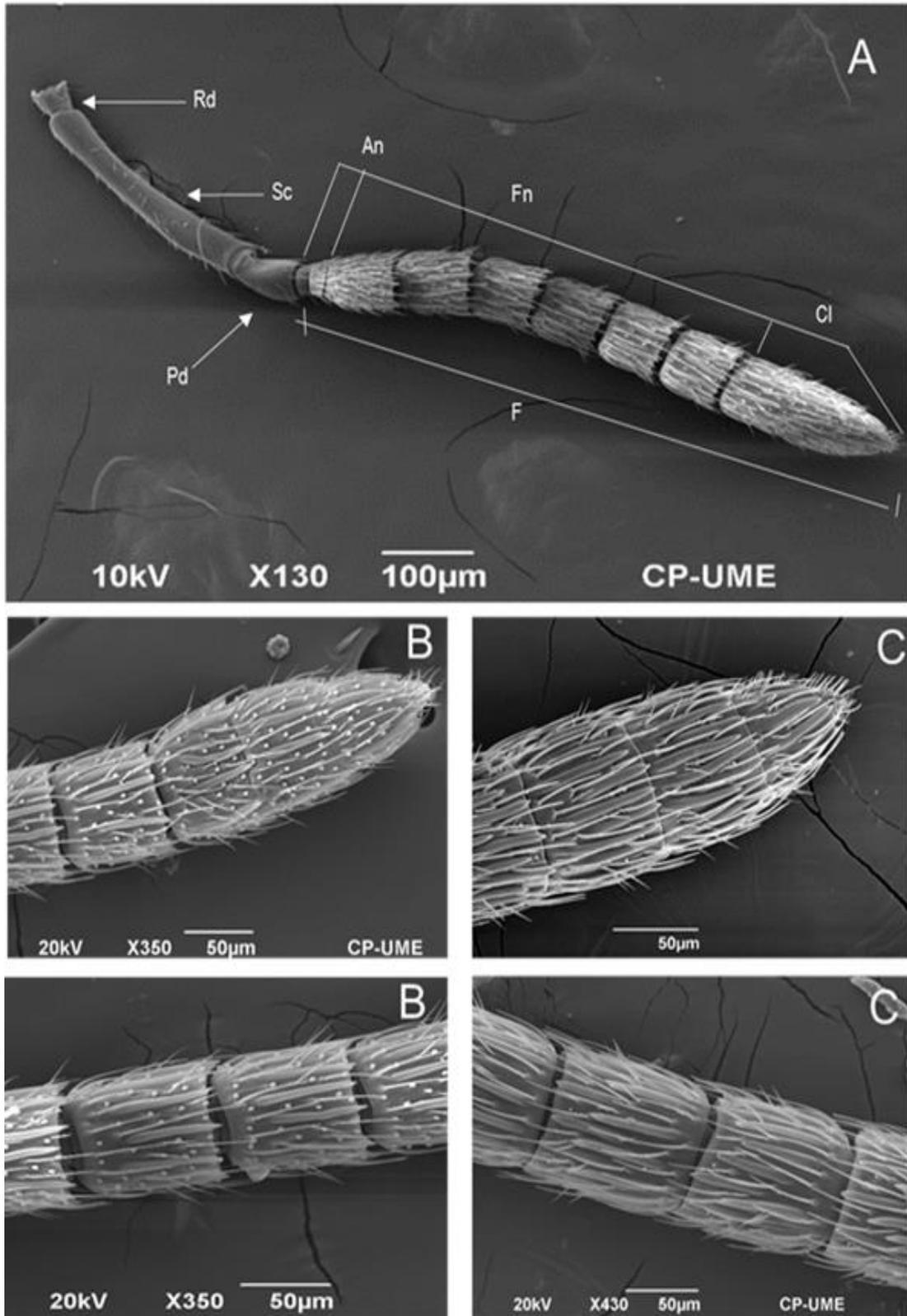


Figura 3. Morfología general de la antena del parasitoide *Catolaccus hunteri*. **(A)** Antena geniculada conformada por radícula (Rd), escapo (Sc), pedicelo (Pd), y flagelo (F) formado por dos anillos (An), un funículo (Fn) de seis antenómeros y una clava (Cl). Antena de macho **(B)** y hembra **(C)**.

Tricoideos tipo 1 sin poro (ST1-SP). Se encuentran insertados en una pequeña base cónica, de la cual surge un eje delgado y sólido que se dobla fuertemente al llegar al ápice. Se localizan únicamente en el extremo distal del último antenómero de la clava en antenas de ambos sexos (Figura 4A). El tamaño de este tipo de sésulo varía de $11.8 \pm 0.11 \mu\text{m}$ a $11.09 \pm 0.21 \mu\text{m}$ en longitud y $1.01 \pm 0.01 \mu\text{m}$ a $0.92 \pm 0.02 \mu\text{m}$ de ancho basal. Las antenas de hembras presentan una cantidad mayor de este tipo de sésulos comparado con los machos ($t=10.5$; $gl= 22$; $P<0.001$) (Cuadro 3D).

Tricoideos tipo 2 sin poro (ST2-SP). Estas estructuras cónicas alargadas terminan en un ápice recto y puntiagudo y la superficie de su eje presenta líneas longitudinales. Estos sésulos se encuentran insertados profusamente en alveolos de la cutícula antenal (Figura 4A). Se encuentran ampliamente distribuidos en el pedicelo (Cuadro 3A), anillos (Cuadro 3B), funículo (Cuadro 3C) y clava (Cuadro 3D) de ambos sexos; sin embargo, su cantidad es 1% menor en hembras que en machos ($t=20.7$; $gl= 22$; $P<0.001$). La longitud promedio es de aproximadamente de $20.13 \pm 0.41 \mu\text{m}$ de longitud por $1.61 \pm 0.03 \mu\text{m}$ de ancho basal.

Tricoideos tipo 3 sin poro (ST3-SP). Estas estructuras son largas y afiladas como agujas que surgen de la cutícula antenal con una base curva (no se observa inserción), presentan una cutícula lisa (Figura 4B y 4C); se encuentran localizados en los antenómeros del funículo y clava de ambos sexos, con excepción del Fn2 en machos (Cuadro 3C). La longitud media de este tipo de sésulo es de $41.05 \pm 0.44 \mu\text{m}$ de longitud por $2.69 \pm 0.05 \mu\text{m}$ en ancho. ($t=13.96$; $gl= 22$; $P<0.001$)

Sénsulos Tricoideos sin poro tipo 4 (ST4-SP). Los sénsulos de este tipo son estructuras cónicas cortas, con una superficie lisa que se estrecha en un ápice romo, se encuentran inmersos en pozos poco profundos ($4.32 \pm 0.12 \mu\text{m}$ diámetro). Estos sénsulos se sitúan limitados a la parte basal de la radícula y el pedicelo (Figura 4D) en grupos de dos a cinco, con una longitud aproximada de $8.23 \pm 0.39 \mu\text{m}$ y un ancho basal de $1.38 \pm 0.02 \mu\text{m}$.

Placoideos multiporo (SPM). El sénsulo placoideo multiporo surge del borde de la cutícula, se eleva de manera paralela al eje de la antena, y es una placa alargada con forma de hoja de espada medieval con una superficie que presenta múltiples poros (Figura 4B). Los sénsulos MPS se presentan en el antenómero Fn1 del funículo al Cl3 de la clava, localizados entre los sénsulos ST2-SP y ST3-SP y se distribuyen a manera de un anillo sobre los antenómeros (Figura 4C). El sénsulo MPS, presenta una longitud aproximada de $55.20 \pm 0.67 \mu\text{m}$ por $5.28 \pm 0.09 \mu\text{m}$ de ancho. La mayor abundancia de este tipo de sénsulos se presenta en las antenas de hembras versus los machos ($t=21.9$; $gl= 22$; $P<0.001$).

Quéticos de un poro (SCh-UP). El SCh-UP se inserta en un base cónica estrecha, de la cual se proyecta de manera perpendicular al eje de la antena. Presenta una superficie ranurada que termina en una punta obtusa (achatada) con un poro apical (Figura 4E). Este tipo de sénsulo tiene una longitud aproximada de $10.86 \pm 0.13 \mu\text{m}$ por $1.40 \pm 0.02 \mu\text{m}$ de ancho en la parte basal. Los sénsulos quéticos de un poro se encuentran presentes únicamente en el extremo distal de la parte ventral del antenómero Cl3 de la clava en ambos sexos (Figura 4A) y en mayor número en las antenas de hembras.

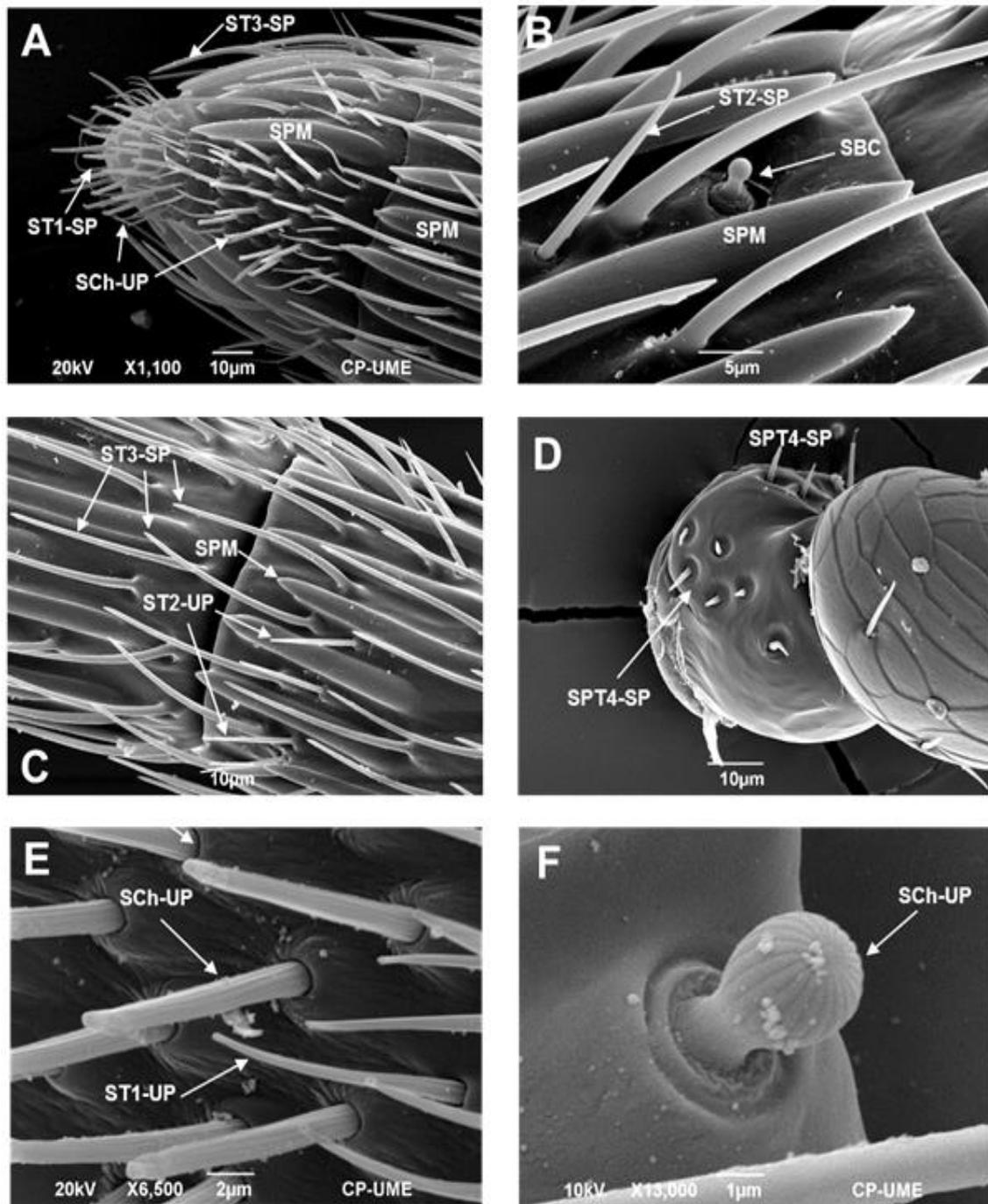


Figura 4. Tipo, localización y morfología de sénsulos antenales del *Catolaccus hunteri*
A. Último segmento de la clava que muestra la localización de los sénsulos tricoideos tipo uno sin poro (ST1-SP) y sénsulo quético uniporo (SCh-UP) en antena de hembra.
B. Segmento funicular de la antena de una hembra, donde se observan la ubicación de los sénsulos tricoidea tipo2 (ST2-SP), sénsulo placoideo multiporo (SPM) y sénsulo basicónico capitado (SBC) ubicados en la parte distal del funículo.
C. Localización y morfología de los sénsulos tricoideos tipo tres (ST3-SP), tricoideo tipo dos (ST2-SP) y placoideo multiporo (SPM) en antena de una hembra.
D Ubicación de sénsulos tricoideos tipo cuatro (ST4-SP) en la radícula de las antenas de machos y hembras.
E. Morfología del SCh-UP que muestra ornamentaciones longitudinales en el eje y poro en el ápice en hembras.
F. Morfología del SBC con ornamentaciones en bulbo de antena de machos.

Basicónicos Capitados (SBC). Este sésulo es en forma de bulbo ($2.28 \pm 0.06 \mu\text{m}$ de diámetro). Tiene una superficie ranurada a manera de gajos de naranja (Figura 4F); el bulbo surge de un tallo de aproximadamente $1.39 \pm 0.02 \mu\text{m}$ de largo por $1.50 \pm 0.02 \mu\text{m}$ de ancho basal, el cual se encuentra inmerso en una depresión cuticular rugosa poco profunda ($2.74 \pm 0.02 \mu\text{m}$ diámetro). El SBC se localiza en todos los antenómeros del flagelo antenal en machos donde se encuentra distribuido en mayor número a lo largo de los antenómero, desde el antenómero Fn1 al Cl3 (Cuadro 3C y D); sin embargo, en las antenas de hembras estos sésulos se encuentran confinados a la porción ventral y distal de los antenómeros (Figura 3B).

2.5.2.3. Abundancia y distribución

Cada tipo de sésulo antenal posee un número, ubicación y patrón de distribución específico en las antenas de machos y hembras *C. hunteri*. Las principales diferencias entre sexos se observan en la abundancia y la distribución de los sésulos en el flagelo antenal (Cuadro 3B, C y D).

Los ST1-SP se localizan únicamente en el antenómero Cl3 de la clava, específicamente en el ápice del antenómero en ambos sexos y en la parte ventral del antenómero en hembras (Figura 4A). Los ST1- SP presentan una mayor abundancia en las antenas de las hembras ($t=10.47$; $gl=22$; $P<0,001$) en comparación con los machos (Cuadro 3D). De igual manera, la distribución del sésulo antenal SCh-UP se produce en la punta y la parte ventral del antenómero Cl3 de la clava, donde se encuentran agrupados y rodeados por sésulos STP-1 (Figura 4A).

Cuadro 3. Abundancia y distribución de los diferentes sénsulos en antenas del macho y la hembra de *Catolaccus hunteri*

Sénsulo	Sexo	Segmento anillos				Total
		An1	An2			
A	ST2-AP	Macho	—	78 ± 3.5	26 ± 1.2	104 ± 3.9
		Hembra	—	101 ± 4.5	33 ± 4.7	134 ± 6.4 **
	ST4-AP	Macho	17 ± 1.1	—	3 ± 0.2	20 ± 1.2
		Hembra	17 ± 1.1	—	3 ± 0.9	20 ± 1.2

Sénsulo	Sexo	Segmentos del funículo						Total	
		Fn1	Fn2	Fn3	Fn4	Fn5	Fn6		
B	ST2-SP	Macho	10 ± 0.6	—	—	—	19.2 ± 1.4	—	29 ± 1.4 **
		Hembra	8 ± 0.4	—	—	—	17.9 ± 1.1	—	26 ± 0.82

Sénsulo	Sexo	Segmentos en la clava						Total	
		Cl1	Cl2	Cl3					
C	ST2-SP	Macho	54 ± 2.4	22 ± 0.9	22 ± 0.9	21 ± 0.9	20 ± 1.1	18 ± 0.5	156 ± 4.0 **
		Hembra	36 ± 0.6	23 ± 0.7	18 ± 0.7	20 ± 1.1	18 ± 0.4	17 ± 0.5	132 ± 2.2
C	ST3-SP	Macho	—	35 ± 0.7	35 ± 1.9	38 ± 0.1	34 ± 1.7	41 ± 1.0	271 ± 3.7 **
		Hembra	20 ± 0.8	46 ± 0.7	46 ± 0.8	47 ± 1.1	43 ± 0.1	47 ± 0.9	248 ± 2.7
C	SPM	Macho	11 ± 0.4	13 ± 0.4	13 ± 0.3	13 ± 0.4	14 ± 0.2	14 ± 0.4	108 ± 1.3
		Hembra	15 ± 0.6	20 ± 0.4	20 ± 0.4	22 ± 1.2	20 ± 0.3	20 ± 1.4	117 ± 2.1 **
C	SBC	Macho	72 ± 1.8	82 ± 1.5	81 ± 1.7	75 ± 3.2	76 ± 3.2	79 ± 2.6	465 ± 6.1 **
		Hembra	2.6 ± 0.2	4 ± 0.2	4 ± 0.3	4 ± 0.2	4 ± 0.3	2 ± 0.3	20 ± 0.6

Sénsulo	Sexo	Segmentos en la clava			Total	
		Cl1	Cl2	Cl3		
D	ST1-AP	Macho	—	—	—	20 ± 0.4
		Hembra	—	—	—	40 ± 1.9 **
D	ST2-AP	Macho	18 ± 0.6	16 ± 0.8	17 ± 0.7	50 ± 1.4 **
		Hembra	20 ± 0.9	20 ± 0.4	5 ± 0.6	45 ± 1.4
D	ST3-AP	Macho	35 ± 0.9	31 ± 0.8	21 ± 1.3	88 ± 2.4
		Hembra	43 ± 1.3	39 ± 1.9	17 ± 0.3	99 ± 2.1 **
D	SPM	Macho	12 ± 0.2	12 ± 0.4	7 ± 0.3	31 ± 0.6
		Hembra	19 ± 0.8	18 ± 0.6	11 ± 0.4	49 ± 1.1 **
D	SCh-UP	Macho	—	—	—	20 ± 0.5
		Hembra	—	—	—	34 ± 1.1 **
D	SBC	Macho	62 ± 3.1	71 ± 2.4	51 ± 1.4	184 ± 5.2 **
		Hembra	3 ± 0.2	2 ± 0.2	1 ± 0.2	6 ± 0.3

Valores medios (\pm E.S.) del número de sénsulos en cada segmento antenal (n= 12 antenas por sexo). ST1-SP: Sénsulo tricoideo sin poro tipo1; ST2-SP: Sénsulo tricoideo sin poro tipo2; ST3-SP: Sénsulo tricoideo tipo 3 sin poro; ST4-SP: Sénsulo tricoideo sin poro tipo 4; SPM: sénsulo placoideo multiporo; SCh-UP: sénsulo quético uniporo; SBC: Sénsulo basicónico capitado. ** indica que el número total de cada tipo sénsulo difiere significativamente entre machos y hembras (P <0,05).

La abundancia de los sénsulos SCh-UP muestra diferencias entre antenas de machos y hembras ($t=11.50$; $gl=22$; $P<0,001$); las hembras presentan aproximadamente el doble del número de sénsulos registrados para los machos (Cuadro 3D). En contraste, los sénsulos ST2-SP son más abundantes en las antenas de machos ($t=20.68$; $gl=22$; $P<0,001$) con respecto a las hembras y se encuentran distribuidos en los segmentos escapo, pedicelo (Cuadro 3A) y flagelo (del antenómero An1 del anillo al antenómero Cl3 de la clava) en ambos sexos (Cuadro 3C y D).

El sénsulo tipo ST3-AP en las antenas de machos se localiza a partir del antenómero funicular Fn2 al Cl3 de la clava, mientras que en las antenas de hembras a partir del antenómero Fn1 del funículo al antenómero Cl3 de la clava (Cuadro 3C y D) la abundancia de los ST3-AP es mayor en hembras que en machos ($t=13.96$; $gl=22$; $P<0,001$). La distribución del tipo ST4-AP se limita a la radícula (Figura 3C) y a la superficie ventral del pedicelo, en la articulación del codo donde se une con el escapo (Cuadro 3A). Este sénsulo no mostró diferencia en su distribución, localización y abundancia entre las antenas de ambos sexos.

La distribución de los sénsulos SPM se establecen a manera de anillos que rodean los antenómeros y se muestran a partir del antenómero Fn1 y hasta el último antenómero Cl3 de la clava en ambos sexos; No obstante, la abundancia en las antenas de machos es menor que en las hembras ($t=21.92$; $gl=22$; $P<0,001$). En las hembras se observan a manera de un anillo doble de MPS en los antenómeros (Figura 3C). El sénsulo basicónico capitado (SBC) en forma de bulbo presenta diferencias significativas entre antenas de machos y hembras en su distribución y abundancia (Cuadro 3C y D), y es significativamente mayor en las antenas de machos ($t=63.62$; $gl=22$; $P<0,001$).

La diferencia entre machos y hembras en la abundancia de los sénsulos ST1-AP, ST2-AP, ST3-AP, SPM y SCh-UP, así como la distribución y abundancia de sénsulo SBC, indica dimorfismo sexual en la antenas de *C. hunteri*.

2.5.3. Ovipositor

2.5.3.1. Morfología general del ovipositor

El parasitoide *C. hunteri* presenta un ovipositor insertado en la base del metasoma como es típico en la superfamilia Chalcidoidea (Figura 5A), presenta una longitud variable de 1,42 a 2,27 mm, y una longitud promedio de $1,91 \pm 0,17$ mm. El ovipositor está formado de tres pares de valvas (V1, V2, V3) soportadas por dos pares de valvíferos (Vf1 y Vf2) (Figura 5B).

Las valvas V3 presentan una parte cóncava interna que rodea y resguarda a las valvas 1 y 2 cuando estas no están siendo utilizadas (Figura 6H). El segundo par de valvas se encuentran fusionadas a lo largo de su longitud, (Figura 6F), y su extremo distal por la parte dorsal posee 10 denticulaciones formando una lanceta (Figura 6E).

El traslape de las V1 y V2 forman el eje del ovipositor y el canal de oviposición. Las micrografías obtenidas del ovipositor muestran la presencia de seis tipos morfológicos de sénsulos: basicónico (SB), celocónico tipo1 (SCe-1) y tipo 2 (SCe-2), estilocónico tipo a (SEs-A) y tipo b (SEs-A), tricoideo sin poro tipo b (STb-SP) y quético tipo a uniporo (SCha-UP).

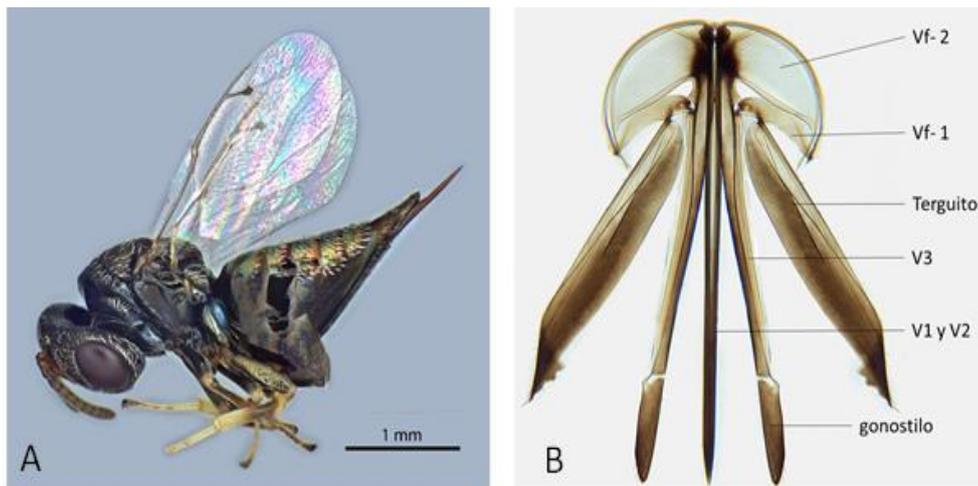


Figura 5. Ovipositor de *Catolaccus hunteri*; (A) posición natural del ovipositor, (B) estructura del ovipositor. valvíferos 1 (Vf-1), valvíferos 2 (Vf-2), Valvas 1 y 2 (V1, V2) formando el estilete.

2.5.3.2. Sénsulos del ovipositor

Basicónicos (SB). Sénsulos ampliamente distribuido en la parte externa de las valvas 1 y 2 (Figura 6G), e igualmente ubicados uno en cada denticulación de la lanceta (Figura 6E). Se caracterizan por tener una forma cónica con terminación en una punta roma, este sénsulo se encuentra inserto en una fosa alargada longitudinalmente (Figura 6A)

Celocónicos tipo 1 (SCe-1). Este tipo de sénsulos se encuentra en la punta de las V1 en pares, se describe como una pequeña protuberancia cuticular que presenta un poro basal, este sénsulo se encuentra inmerso en una cavidad poco profunda (Figura 6C).

Celocónico tipo 2 (SCe-2). Localizados en las valvas 1, dos por cada valva y ubicado de manera paralela entre ambas valvas (Figura 6G). Se caracteriza por ser una cavidad de la cutícula (Figura 6B).

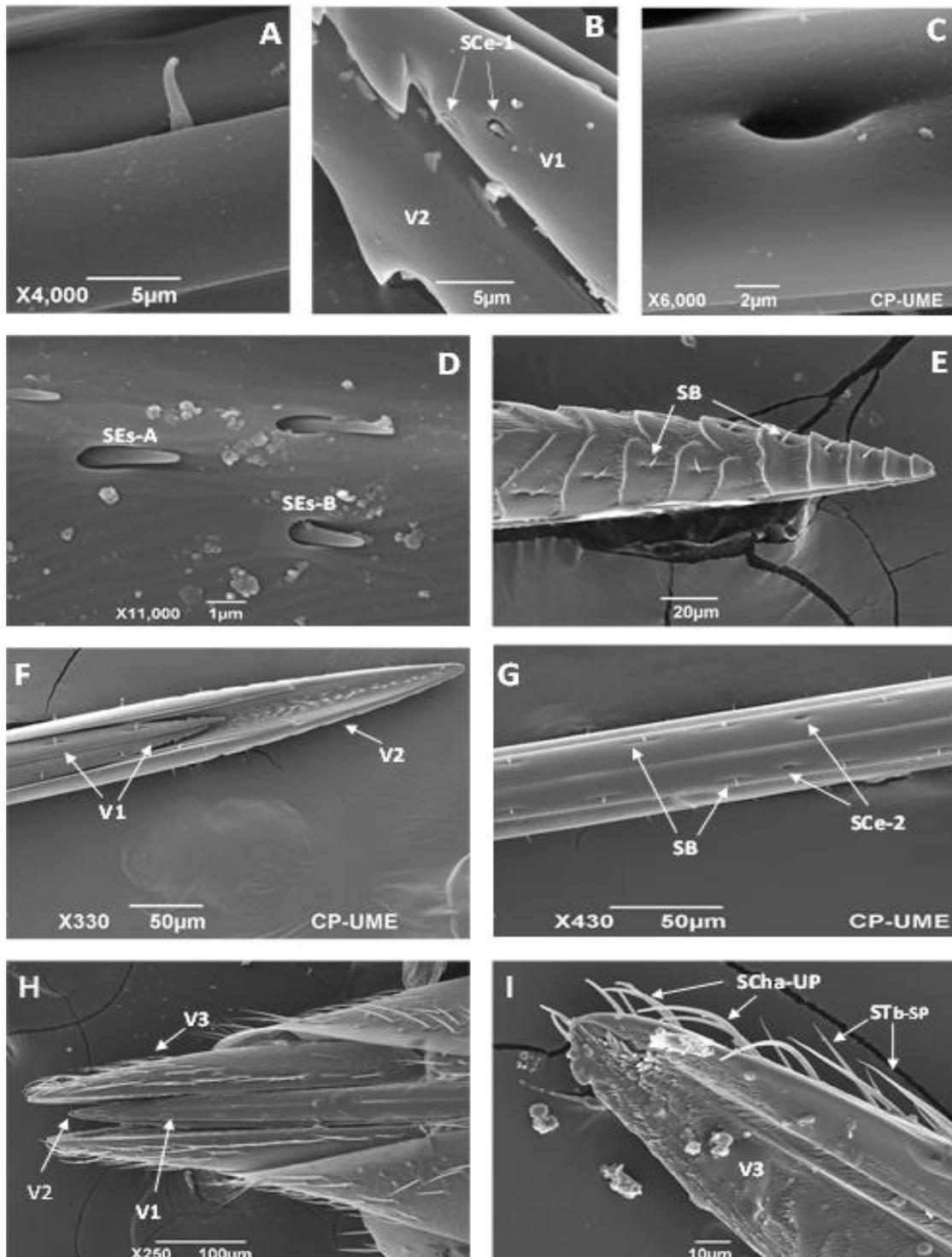


Figura 6. Tipo, localización y morfología de sensulos del ovipositor en *Catolaccus hunteri*. A. Sensulo Basicónico (SB). B. valvas 2 (V2) y valvas 1, (V1) con sensulo Celocónico tipo 1 (SCe-1). C. Sensulo Celocónico tipo 2 (SCe-2). D. Sensulo estilocónico tipo A y B (SEs-A, SEs-B). E. Lanceta con denticulaciones donde se encuentran insertos los sensulos basicónico (SB). F valvas 2 (V2) fusionadas y valvas 1 (V1). G. Ubicación de los sensulos basicónico (SB) y celocónico tipo 2 (Sce.2) en valvas 1. H. Abdomen de hembra de posición ventral donde se observan valvas 1, 2 y 3 (V1, V2, V3). I. Gonostilus con sensulos quético uniporo (SCha-UP) y Tricoideo tipo b sin poro (STb-SP).

Estilocónicos tipo A (SEs-A) y tipo B (SEs-B). Se encuentran distribuidos en la parte interna de las V1 formando hileras o filas. Se caracterizan por ser una estructura en forma de papila de punta roma inmersa en una depresión profunda. La longitud promedio de las SEs-A es de $2.4 \pm 2.3 \mu\text{m}$ mientras que la SEs-B presenta una longitud promedio de $1.6 \pm 0.1 \mu\text{m}$ (Figura 6D).

Tricoideos sin poro tipo "b" (STb-SP). Este tipo de sénsulo es el más abundante y se encuentra presente en el tercer par de valvas. Son estructuras con un eje recto que terminan en un punta fina, su longitud promedio de $43.5 \pm 1.0 \mu\text{m}$, y su superficie es lisa sin la presencia de poros (Figura 6I).

Quéticos uniporo tipo "a" (SCha-UP). Se encuentran presente en la parte distal de la valva 3 (gonostilus) en grupos de 8 a 10 sénsulos aproximadamente. Estos se encuentran insertados en una base cónica del cual surge un eje de base ancha que se adelgaza hacia una punta roma y con un poro en ella, el eje del sénsulo se dobla en la parte media a manera una curva poco pronunciada (Figura 6I). El sénsulo SCha-UP presenta una longitud promedio de $41.3 \pm 2.3 \mu\text{m}$.

2.6. DISCUSIÓN

Las avispas parasíticas utilizan una variedad de señales o estímulos durante el proceso de búsqueda y aceptación de huéspedes (Vinson 1984, Schmidt 1991, Vet y Dicke 1992, Turlings et al. 1993). Este proceso depende de las respuestas comportamentales a una serie de señales involucradas en el proceso (Vet et. 1990). En este estudio se determinaron los patrones comportamentales presentes durante el proceso de oviposición de *C. hunteri*, y se realizó la descripción morfológica de los sénsulos antenales y del ovipositor involucrados en el proceso de búsqueda y parasitación de huéspedes endofíticos.

2.6.1. Comportamiento de oviposición

En esta investigación se describen por primera vez los patrones de comportamiento exhibidos por el parasitoide *C. hunteri* para la localización y parasitación de su huésped facticio *C. maculatus*. Se identificaron y describieron siete patrones de comportamiento que de manera sucesiva culminaron en la oviposición de un huevo sobre el huésped (Figura 2).

El patrón de comportamiento de acicalamiento se observa en otros artrópodos y parasitoides como *Trissolcus basalus* (Hymenoptera: Scelionidae), parasitoide de huevos, el cual realiza el acicalamiento de antenas para detectar los compuestos químicos presentes en el corion de los huevos que parasita (Colazza et al. 1996). Este tipo de comportamiento se presentó en el 66.6% de las observaciones realizadas sobre *C. hunteri*.

El anteneo de tipo 1 caracterizado por el movimiento alternado de antenas (arriba-abajo) se presenta en la detección de volátiles a larga distancia, generalmente usadas para la localización del hábitat del huésped, como lo muestra *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) en la detección de monoterpenos y glucosinolatos provenientes de la planta que alberga a *Plutella xylostella* L. (Reddy et al 2002). Este tipo de anteneo se observó en las hembras *C. hunteri* durante el proceso de oviposición antes de que el parasitoide hiciera contacto con alguno de los modelos artificiales de oviposición (cápsulas de parafilm).

El anteneo tipo 2 realizado por *C. hunteri* con la parte ventral de la clava de las antenas de manera continua e intermitente y en posición perpendicular a la superficie de la burbuja, para localizar al huésped. Este tipo de anteneo se presenta en parasitoides de las familia Mymaridae sobre tejido vegetal donde se

encuentran huevos ocultos de curculiónidos, tricogramatidos y lepidópteros (van Baaren et al. 2007), y pteromálidos atacando a scolítidos (Pettersson et al. 2001).

El patrón comportamental donde *C. hunteri* dobla el abdomen y hacer contacto con la superficie de la burbuja, es un comportamiento que presentan algunos parasitoides que utilizan compuestos químicos de contacto para localizar huéspedes endofíticos. Por ejemplo en parasitoides de moscas de la fruta al hacer contacto con el pericarpio de frutos (Prokopy y Webster 1978).

Los dos últimos patrones comportamentales descritos aquí para *C. hunteri*, (i) exhibición del ovipositor y (ii) picadura, al parecer se describen por primera vez. Estos dos patrones parecen ser preámbulos necesarios para la parasitación del huésped. En observaciones de laboratorio se determinó que el ovipositor es una estructura flexible y que se mueve al interior de la burbuja hasta encontrarse con el huésped para llevar a cabo la oviposición (datos no publicados).

2.6.2. Sénsulos en antenas

Se encontraron siete tipos de sénsulos morfológicamente distintos en las antenas de machos y hembras de *C. hunteri*. De estos sénsulos, cuatro fueron del tipo tricoideo sin poro (ST1, ST2, ST3 y ST4-SP), entre estos los sénsulos ST2-SP y ST3-SP fueron los más numerosos y ampliamente distribuidos en las antenas, mientras que en menor abundancia se presentaron los sénsulos ST1-AP, con ubicación en el antenómero Cl3 de la clava, y los ST4-AP que se presentaron en la radícula y escapo. Aunado a estos sénsulos tricoideos sin poro se identificaron un sénsulo placoideo multiporo (SPM), un sénsulo basicónico capitado en forma de chupón (SBC) y un sénsulo quético uniporo (SCh-UP). Los diferentes tipos de sénsulos presentes en las antenas sugieren que las hembras del parasitoide podrían hacer uso de señales olfativas, gustativas

(semioquímicos) y mecánicas (vibraciones) para localizar a sus huéspedes ocultos en estructuras vegetales o semillas, como se ha descrito para otras especies (Onagbola y Fadamiro 2008). Con base a lo anterior y otros estudios (Wibel et al. 1984, Pettersson et al. 2001, van Baaren et al. 1996, Onagbola y Fadamiro 2008), se clasificaron los sénsulos encontrados en las antenas de *C. hunteri* de la siguiente manera:

Sénsulos mecanorreceptores: ST1-AP y ST2-AP. En la mayoría de las especies de himenópteros estos sénsulos son numerosos y se distribuyen a lo largo de la antena, cubriendo la superficie total de ésta. Se describen como sénsulos tricoideos sin poro, insertos en bases cónicas de la cutícula antenal que pueden presentar ornamentaciones longitudinales. (Chapman 1998), y que al estar en contacto con un sustrato se mueven dentro de su base cónica, indicándole a la hembra que se realizó contacto con un sustrato (van Baaren 2007). Por lo anterior, los sénsulos tricoideos ST1-AP y ST2-AP encontrados en *C. hunteri* podrían considerarse como mecanorreceptores (Olson y Andow 1993, Isidoro et al. 1996, van Baaren et al. 1996, 1999; Amornsak et al. 1998, Pettersson et al. 2001, Roux et al. 2005). Por otra parte, la morfología y ubicación de los sénsulos STP1-AP y su asociación con el anteneo tipo 2 descrito en las observaciones de los patrones de comportamiento descrito previamente (Figura 2), sugiere su participación en la localización y discriminación de huéspedes endofíticos. Situación que concuerda con lo reportado en varias especies de parasitoides, las cuales examinan a sus huéspedes y/o a la estructura vegetal en la que estos se desarrollan, mediante la acción de tamborileo con la parte ventropical de la maza antenal (Isidoro et al. 1996).

Sénsulos propioceptores (ST4-AP). Son aquellos que se localizan en las uniones entre segmentos o escleritos, cuya función es sentir el movimiento de un elemento cuticular con respecto a otro (Chapman 1998). Los sénsulos ST4-AP descritos para *C. hunteri*, son sénsulos tricoideos con ausencia de poros, localizados únicamente en la radícula y la articulación del codo del pedicelo. Son morfológicamente similares a los descritos en especies como *Gryon boselli* Mineo et Szabo (Villa 1990) y *Trichogramma australicum* (Girault) (Schmidt y Smith 1987, Amornsak et al. 1998).

Sénsulos quimiorreceptores (ST3-AP, MPS y SCh-UP). Los quimiorreceptores (olfativos y gustativos) perciben sustancias químicas volátiles y no volátiles, se caracterizan por presentar un cuerpo tubular con una inervación de numerosas dendritas internamente (Chapman 1998). Los sénsulos ST3-AP y SPM descritos en este estudio podrían presentar una función quimiorreceptora de tipo olfativa como se ha reportado para otros parasitoides (Wibel et al. 1984, Olson y Andow 1993, Pettersson et al. 2001, Bleeker et al. 2004) y confirmado su función mediante estudios electrofisiológicos (Hansson et al. 1991). La mayor abundancia de ST3-AP en antenas de machos en comparación con las antenas de hembras podría relacionarse con la producción de la feromona sexual en machos de *C. hunteri* (Hansson et al. 1991) durante el apareamiento como se reporta en otros parasitoides durante la cópula (Romani et al. 2008, Battaglia et al. 2013).

Los quimiorreceptores olfativos MPS descritos en este estudio, que se reportan como sénsulos de amplia distribución en las antenas de avispas parasíticas (Barlin y Vinson 1981, Wibel et al. 1984, Olson y Andow 1993, Amornsak et al. 1998, Pettersson 2001), y sus múltiples poros sugieren una

función olfativa (Barlin y Vinson 1981, Ochieng et al. 2000, Bleeker et al. 2004, Roux et al. 2005). La mayor abundancia, posición y distribución de los MPS en hembras de *C. hunteri* podría indicar su posible función como detectores de semioquímicos del hábitat relacionado con el huésped (Bleeker et al 2001), como sucede en parasitoides de especies endofíticas como *Pteromalus cerealellae* (Ashmead) (Onagbola 2008).

Los sénsulos quéticos uniporo (SCh-UP), que se caracterizan por presentar un eje con superficie ranurada longitudinalmente y un poro terminal o sub-terminal, fueron más abundantes en hembras que en machos. Se encuentran confinados a los ápices de las antenas, esta distribución les permite ser el primer tipo de sénsulo que esté en contacto con el substrato, al igual que ocurre en otras especies como *Pteromalus cerealellae* (van Barren et al. 2007), lo cual podría sugerir su papel como quimiorreceptores gustativos (Wibel et al. 1984, Pettersson et al. 2001) así como su función en el reconocimiento de acogida y aceptación del huésped (Borden et al. 1973). Su morfología y ubicación concuerda con los sénsulos descritos en otros insectos (Slifer 1969, Wibel et al. 1984, Olson y Andow 1993, Isidoro et al. 1996), y en especial en braconidos (Norton y Vinson 1974).

Sénsulos termo-higroreceptor (SBC). Este tipo de sénsulo se localiza de manera proximal en los antenómeros flagelares de las hembras, mientras que en los machos se encuentran distribuidos en mayor número tanto en posición dorsal como ventral a lo largo de los antenómeros del flagelo. El sénsulo basicónico capitado con forma de bulbo (SBC) se localizan en pequeñas depresiones de la superficie de la cutícula (Altner y Linde 1980, van Baren 1999), y presenta una morfología similar a la de los sénsulos termo-higroreceptores de pteromálidos,

otros parasitoides (Barlin et al. 1981, Wibel et al. 1984, Bleeker et al. 2004) y artrópodos (Hallberg 1979, Altner et al. 1983, Wibel et al. 1984), lo que sugiere una función termo-higroreceptora.

2.6.3. Sénsulos del ovipositor

El ovipositor de las avispas parasíticas es un órgano especializado con el cual las hembras valoran el anfitrión, perforan el tegumento del huésped, inyectan sustancias a partir de las glándulas accesorias, perciben estímulos que intervienen en el proceso de selección de acogida del huésped, guían y pone huevos. El ovipositor de las hembras de *C. hunteri* presenta seis tipos morfológicos diferentes de sénsulos, entre los que se encuentran sénsulos con funciones presuntamente mecanorreceptoras y quimiorreceptoras.

Sénsulos en valvas 3. El tercer par de valvas son aquellas que resguardan a las valvas 1 y 2 (ovipositor) en ellas a lo largo de su borde ventral se presentan los sénsulos tricoideos tipo b sin poro (STb-SP) y en la parte distal de ellas se encuentran los sénsulos quéticos tipo “a” uniporo (SCha-UP) sus funciones son mecanorreceptora y quimiorreceptora respectivamente. Se presentan sénsulos similares en las V3 de *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) y otros parasitoides (Wang et al. 2010, Goubault et al. 2011). Estas funciones podrían relacionarse con el comportamiento de doblamiento de abdomen de *C. hunteri* observado en garbanzo y frutos de chile (datos sin publicar).

Sénsulos en valvas 2. El segundo par de valvas del ovipositor se encuentran fusionados en su longitud y en el extremo distal su fusión forma la lanceta que presenta 10 denticulaciones. Los sénsulos basicónicos (SB) se encuentran en estas denticulaciones y su morfología sugiere una función mecanorreceptora y posiblemente química. La disposición de estos sénsulos parece estar relacionado

con las características del huésped como se observa en las especies que atacan a huéspedes ocultos en sustratos vegetales, tales como los parasitoides de larvas de *Drosophila* (Le Ralec et al. 1996). En estos parasitoides el mayor número de receptores mecánicos se encuentran sobre estas valvas, y esto presuntamente les permite localizar a sus huéspedes ocultos dentro de frutos (Le Ralec et al. 1996).

Sénsulos en valvas 1. El primer par de valvas presenta, al igual que las valvas 2, a los sénsulos SB, los cuales se distribuyen de manera lineal a lo largo de las valvas 1, su función se ha descrito como mecanorreptora. En las valvas 1 se encuentran también dos sénsulos celocónicos tipo1 (SCe-1) en cada valva localizados en el 1er y 2do tercio de estas, su función se ha descrito como quimiorreptora en otras especies de parasitoides (Nacro y Néon 2009). En la parte apical de cada valvas 1 se encuentran los sénsulos celocónico tipo1 (SCe-1), que son pequeñas clavijas con un poro basal. Estos sénsulos se encuentran inmersos en un surco poco profundo, y debido a su morfología podría tener una función quimiorreptora gustativa y estar involucrado en la discriminación del huésped (Goubault et al. 2004). En la cara interna de las valva 1 se encuentran distribuidas en columnas los sénsulos estilocónicos de tipo 1 y 2, por su morfología y su localización podría desempeñar una función mecanorreptora en el oviducto durante la oviposición (Le Ralec et al. 1996, Nacro y Néon 2009). El parasitoide de huéspedes endofíticos *C. hunteri* exhibió siete patrones comportamentales durante el proceso búsqueda y oviposición. Los apéndices involucrados en estos procesos fueron las antenas y el ovipositor. La observación de los sénsulos presentes en las antenas y el ovipositor sugieren que *C. hunteri* probablemente utiliza señales químicas olfativas y de contacto (STP3, MPS y

SCh-UP) proveniente del hábitat del huésped, así como posibles señales mecánicas (STP1, STP2 y STP4) e incluso térmicas o de infrarrojo (SBC) para localizar a sus huéspedes endofíticos. Después de esta localización el ovipositor juega un papel importante durante la aprobación del huésped para su parasitación. Los sénsulos presentes en el ovipositor indican la presencia de señales de tipo mecánica (STb-SP, SEs-A, SEs-B) y química de contacto (SCha-UP, SB, SCe-1) que le permiten evaluar la calidad del huésped para llevar a cabo la oviposición.

Considerando la complejidad de los sénsulos encontrados en esta especie, se proponen la realización de estudios electrofisiológicos, de microscopía electrónica de transmisión y estudios manipulativo experimentales (amputación o interferencia de estructuras) que sustente la funcionalidad e importancia de los sénsulos olfativos en antenas y ovipositor del parasitoide *C. hunteri*. También de estudios que permitan determinar la capacidad de detección de calor o infrarrojo que proporcionen mayor información sobre los sénsulos SBC descritos en este estudio.

CAPITULO 3. SEÑALES VISUALES Y APRENDIZAJE EN LA SELECCIÓN DEL HÁBITAT POR *Catolaccus hunteri* (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE)

3.1. Resumen

Las especies de parasitoides generalistas deben hacer frente a una gran variedad de señales visuales como colores y formas para encontrar a sus hospedantes, y estas señales juegan un papel primordial en la localización del hábitat en los parasitoides de huéspedes endofíticos. El aprendizaje se ha propuesto como una estrategia rentable para hacer frente a la variedad de señales durante el proceso de localización del hábitat. En este estudio un primer experimento, evaluó la atracción innata del parasitoide generalista *Catolaccus hunteri* a combinaciones de señales forma y color. Posteriormente en un segundo experimento, se evaluó el aprendizaje asociativo en hembras de *C. hunteri*. Para esto se utilizaron larvas de brúchidos y combinaciones de forma/color de las burbujas. Las hembras de *C. hunteri* mostraron una atracción innata a la combinación oval/rojo, y esta atracción no se afectó aún después de 7 días por el adiestramiento a una nueva señal. Aparentemente en este caso no se presentó un aprendizaje asociativo y la atracción innata se antepuso al adiestramiento. Los resultados de este estudio sugieren que la señal visual color es un estímulo importante a distancia durante la localización del hábitat, mientras que la forma podría determinar la ubicación del huésped a una distancia corta.

Palabras clave: Selección del hábitat, señales visuales, atracción innata, aprendizaje asociativo, huésped endofítico.

3.2. Abstract

Generalist parasitoids must face a variety of visual cues as colors and shapes to find their hosts. These signals play a major role in habitat location of parasitoids which develop on endophytic hosts. Learning has been proposed as a strategy to deal with variation of signals for habitat location. In this work we evaluated the innate attraction of a generalist parasitoid *Catolaccus hunteri* to combinations of shape and color signals. In a second experiment the associative learning of *C. hunteri* was evaluated. For doing that we used combinations of cowpea weevil larvae housed in parafilm bubbles, and different shape and color of bubbles. *C. hunteri* females showed an innate attraction to oval / red parafilm bubbles, and the attractions not affected by training on a new signal. In this case (*C. hunteri*) the innate attraction was more important even after 7 days that the training on a new signal. The results suggest that the colored visual signal is an important stimulus for the location of remote habitat, while the shape could determine the location of the host at a short distance.

Key words: Host location, visual cues, innate attraction, associative learning, endophytic host.

3.3. INTRODUCCIÓN

La capacidad de localización del huésped es determinante para el éxito reproductivo de los parasitoides (Roitberg et al. 2001), y es una medida indirecta de su efectividad como agentes de control biológico. La primera etapa del proceso de búsqueda y selección de huésped, consiste en localizar el hábitat donde se encuentra el huésped (planta hospedera).

La atracción al hábitat por el parasitoide depende primordialmente de compuestos químicos volátiles (=sinomonas) provenientes del primer nivel trófico (planta) y de kairmonas derivadas del segundo nivel trófico u huésped (Vet y Dicke 1992). Sin embargo, dichos volátiles (sinomonas y kairomonas) pueden ser poco detectables a larga distancia, o bien ser imperceptibles cuando el huésped se encuentra oculto dentro de estructuras de las plantas como frutos, tallos, raíces u hojas. En estas situaciones el parasitoide debe emplear información menos específica, que generalmente es asociada con el hábitat del huésped para asegurar su supervivencia y éxito reproductivo (Vinson 1984; Godfray 1994).

La información asociada con el hábitat que utilizan los parasitoides de huéspedes endofíticos, puede involucrar señales de tipo: olfativo (sinomonas y kairomonas) (Feener et al. 1996), visual (color, forma y tamaño) (Ichiki et al. 2011) y/o auditivo (sonido de vibración) (Carde et al. 1975), algunas de estas señales puede incrementar la probabilidad de que un parasitoide encuentre a los huéspedes endofíticos. Estas señales suelen ser utilizadas para localizar a su huésped o bien el hábitat en el cual es más probable encontrarlo (Hoffmeister et al. 1999; Vet 2001).

Las señales visuales empleadas por los himenópteros tienen diferente relevancia en el comportamiento de búsqueda durante la ubicación del micro-

hábitat del huésped. El color parece ser un estímulo utilizado a largas distancias por los parasitoides (Brown et al. 1998). Por otra parte, la forma y tamaño son perceptibles a una distancia menor (Wäckers y Lewis 1999).

Durante el proceso de búsqueda, la respuesta de los parasitoides a las señales de su huésped pueden estar determinada por la genética del parasitoide (atracción innata), es decir puede ser heredada, o modificada por la experiencia (aprendizaje) (Vet y Dicke 1992).

La experiencia puede aumentar la capacidad de respuesta (sensibilización) a una señal o estímulo después de un primer encuentro con el huésped, e incluso algunas especies pueden asociar las señales y la experiencia con la presencia del huésped (aprendizaje asociativo) (Steidle 1998) a tal grado de ser atraídos a dichas señales en ausencia del mismo huésped.

Se ha propuesto que tanto las señales visuales, como el aprendizaje, son importantes en el proceso de búsqueda para los parasitoides (Bora y Deka 2014), especialmente en especies generalistas (Geervliet et al. 1998; Stireman 2002). Quizá esta combinación les permite hacer frente a la variabilidad de las señales a las que se enfrentan durante el proceso de búsqueda. Un buen sistema para probar esta hipótesis es *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae). Este es un ectoparasitoide sinovigénico generalista de larvas de Bruchidae y Curculionidae, que se desarrollan dentro de frutos y semillas (Cross y Mitchell 1969, Cross y Chesnut 1971). Es posible que éste parasitoide haga uso del aprendizaje de señales visuales que contribuyen en gran medida al éxito de la alimentación y el proceso de oviposición, dado los diferentes tipos de hábitats de sus diversos huéspedes.

Schuster (2012) reportó la atracción de este parasitoide a trampas de colores, sentando el precedente de la respuesta innata a la señal visual color. Por otra parte, poco se ha estudiado el papel de la forma en el proceso de localización del huésped por este parasitoide. Considerando lo anterior, el presente estudio se realizó para (i) entender si la interacción entre las señales visuales forma y color afecta la búsqueda del huésped por *C. hunteri*, y (ii) determinar si las hembras del parasitoide son capaces de desarrollar un aprendizaje asociativo al combinar estas señales.

3.4. METODOLOGÍA

3.4.1. Material biológico

Se estableció una cría del parasitoide *Catolaccus hunteri* sobre un huésped facticio *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) en el laboratorio de Control Biológico del Colegio de Posgraduados en las condiciones descritas por Rodríguez-Leyva et al. (2002) y Vásquez et al. (2005) (Capítulo dos de este escrito). Los parasitoides (hembras y machos) se mantuvieron en una jaula entomológica de plástico de 4 L en condiciones controladas ($25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$, HR: $60\pm 5\%$, 2500 luxes), y se alimentaron con miel y agua (relación 1:1).

Las hembras del parasitoide recién emergidas (<12 h de edad) y hasta la realización de los bioensayos, se mantuvieron con machos (para asegurar la cópula). Los insectos se mantuvieron en una jaula entomológica de plástico de 4L en las condiciones ambientales ya señaladas.

3.4.2. Tratamientos y condiciones experimentales

Se evaluó la respuesta comportamental de los parasitoides a las señales visuales forma y color en combinación. Para esto se usarán modelos artificiales

de oviposición (burbujas) elaborados en Parafilm M® con volumen de 285 µl. Se utilizaron 15 modelos artificiales resultado de la combinación de 3 formas (circular, cuadrada y oval) y de cinco colores. Los modelos artificiales (burbujas) se pintaron internamente con pintura no tóxica de la marca Vinci®. Los colores seleccionados fueron amarillo (50), azul (66), rojo (54-A), verde (62) y transparente (sin color) (Cuadro 4 y Figura 7).

Cuadro 4. Características espectrales de la señal visual color de los modelos artificiales de oviposición (burbujas de parafilm) utilizados en los bioensayos.

Color	Catálogo Vinci	R*G*B	M*S*L
Amarillo	50/ 2300	250-235-01	29-253-126
Azul	66/ 2306	0-0-120-	170-225-60
Rojo	54A/ 2314	212-25-11	3-230-112
Verde	62/ 2309	0-153-0	85-225-77
Testigo	s/n	s/n	s/n

(R * G * B) código de color utilizado en ordenadores. (M*S*L) matiz, saturación y luminosidad de cada señal visual utilizado para la elaboración de modelos artificiales. (n/s): sin medición.

Los experimentos se realizaron en una cámara bioclimática (12.3 m²) con paredes y techo blancos a 25± 1°C, 60 ± 5% H.R. La iluminación se estableció con tubos de luz fluorescente, garantizando que la intensidad de luz fuera lo más uniforme posible en cualquier punto de la habitación (2500 luxes).

3.4.3. Bioensayos comportamentales

3.4.3.1. Atracción innata a la combinación de señales color y forma

La finalidad de este experimento fue determinar si las hembras del parasitoide presentaban una preferencia innata por alguno de las 15 combinaciones color/forma arriba descritas. La unidad experimental consistió de una caja Petri (10 x 10 x 2 cm) donde se colocaron de manera aleatoria y equidistante los quince modelos artificiales que contenían dos larvas de 4to ínstar del huésped

facticio *C. maculatus* (Figura 7). En cada unidad experimental se colocó un grupo de 10 hembras de 14 días de edad, con ayuno de 48h; cada 5 min se registró el número de hembras visitantes sobre cada tratamiento y al finalizar el periodo de observación (3 h) se cuantificó la cantidad de picaduras y huevos en cada uno de los tratamientos (combinación color/forma). El experimento se repitió tres veces más con hembras provenientes de tres generaciones distintas, por lo que al finalizar se obtuvieron un total de 60 repeticiones.

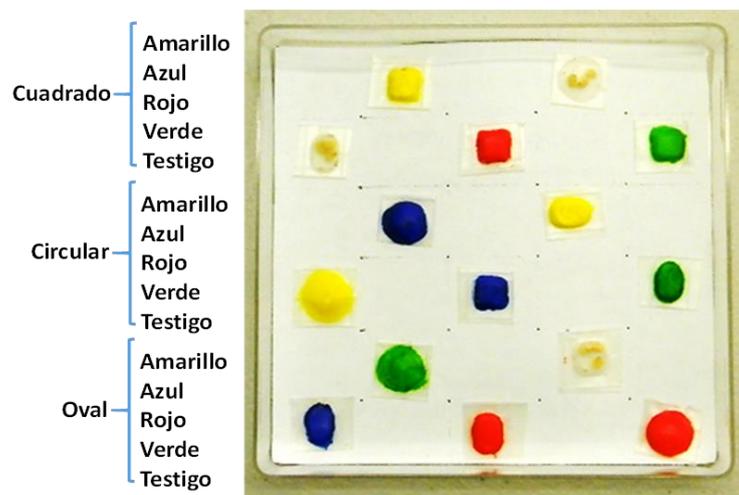


Figura 7. Arena de trabajo del experimento de atracción innata. De *Catolaccus hunteri* Caja Petri (10x10x2cm) con distribución aleatoria y equidistante de modelos artificiales de oviposición resultado de la combinación de las señales visuales forma/color conteniendo dos larvas de *Callosobruchus maculatus* cada una.

3.4.3.2. Desarrollo del aprendizaje asociado a la combinación forma/color

La capacidad de asociación de *C. hunteri* a las combinación de señales visuales se exploró utilizando hembras de 11 días de edad que previamente fueron adiestradas sobre un tipo único de combinación color/forma. Para el adiestramiento se seleccionó el modelo artificial (color/forma) menos atractiva del experimento anterior y se contrastó el modelo más atractivo o preferido anteriormente (atracción innata).

Adiestramiento: Una hembra del parasitoide (24 h de edad) se colocó en una caja Petri (10x10x2cm), y se le ofreció, por un periodo de 12 h, una lámina de Parafilm M® con el modelo menos preferido (amarillo/circular) que contenían dos larvas de 4to ínstar de *C. maculatus* cada uno (Figura 8A). Lo anterior se repitió durante 7 días. Posteriormente a este entrenamiento se dejó a la hembra en ayuno por 48h y se procedió a examinar su comportamiento en una prueba de elección.

La prueba de elección consistió en la observación por un periodo de 20 min de una hembra adiestrada en una arena similar a la utilizada en la sesión de entrenamiento, la cual contenía 8 figuras amarillo/circular y 8 rojo/oval (ambas combinaciones sin presencia de larvas) (Figura 8B). Durante 20 min se registraron las siguientes observaciones: (i) Primera, segunda y tercera elección de algún modelo por la hembra, ii) Tiempo de permanecía en el modelo artificial para cada una de las tres elecciones, iii) Número de intentos de picadura por cada elección, y (iv) Número de picaduras certeras por elección. Se realizaron 8 repeticiones con 20 unidades experimentales (hembras) cada una.

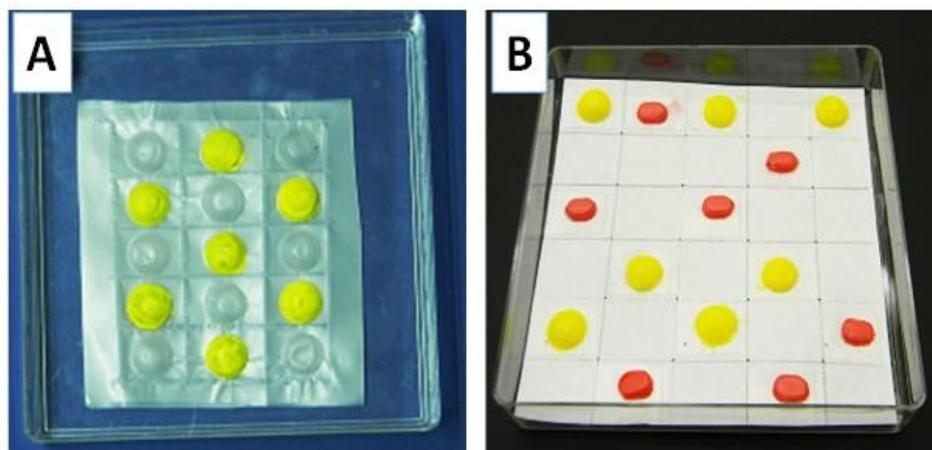


Figura 8. Arena de trabajo (10x10x2cm) con tratamientos para experimento de aprendizaje. A) arena de adiestramiento, los modelos artificiales amarillo/circular contenían larvas de *Callosobruchus maculatus*. B) Arena para prueba de aprendizaje asociativo, modelos amarillo/circular y rojo/oval sin presencia de larvas.

3.4.4. Análisis estadístico

Atracción innata. El número de hembras que respondieron al estímulo, el número de picaduras y la cantidad de huevos presentes en cada tratamiento, se analizó por separado mediante una ANOVA factorial (en rangos) y comparación de medias (Tukey $\alpha=0.05$), el análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico Statistix 9.1.

Aprendizaje. Las elecciones, tiempo de permanencia por elección, intentos de picadura y picaduras certeras por elección, se analizaron por separado mediante una ANOVA en rangos y prueba de comparación de medias (Tukey $\alpha=0.05$) utilizando el paquete estadístico Statistix 9.1.

3.8. RESULTADOS

3.8.1. Atracción innata.

La atracción innata de las hembras de *C. hunteri* a la combinación de señales visuales (color/forma) se determinó de manera indirecta mediante la evaluación de tres parámetros: número de hembras visitantes, número de picaduras y cantidad de huevos ovipositados sobre las combinaciones color/forma.

El análisis factorial de los tres parámetros estudiados de manera individual indicó que la señal visual color ejerce en las hembras sin experiencia una alta atracción hacia el color rojo (independientemente de la forma), en los tres parámetros observados: hembras visitantes [$F_{(4,826)}=85.8$, $P < 0.001$], picadura [$F_{(4,826)}=91.4$, $P < 0.001$] y huevos ovipositados [$F_{(4,826)}=30.4$, $P < 0.001$]. El rojo fue el color más atractivo para las hembras sin considerar la forma (Cuadro 5A.)

Cuadro 5. Efecto de los factores color (A) y forma (B), sobre la atracción innata de *Catolaccus hunteri* a señales visuales.

Color	Hembras visitantes		Picaduras		Huevos	
	Media ± E.S.		Media ± E.S.		Media ± E.S.	
A Rojo	16.54 ± 2.3	a	2.50 ± 0.4	a	0.6 ± 0.1	a
verde	9.82 ± 1.7	b	1.01 ± 0.2	b	0.3 ± 0.1	b
azul	4.21 ± 0.9	c	0.63 ± 0.2	b	0.1 ± 0.0	c
amarillo	4.33 ± 0.4	c	0.22 ± 0.1	c	0.0 ± 0.0	c
testigo	2.21 ± 0.5	c	0.07 ± 0.0	c	0.0 ± 0.0	c
	F(4, 826)= 85.8; P<0.001		F(4, 826)= 91.4; P<0.001		F(4, 826)= 30.4; P<0.001	

Forma	Hembras visitantes		Picaduras		Huevos	
	Media ± E.S.		Media ± E.S.		Media ± E.S.	
B Oval	10.07 ± 1.9	a	1.16 ± 0.3	a	0.31 ± 0.1	a
Cuadrado	7.57 ± 1.3	b	0.98 ± 0.2	a	0.25 ± 0.0	a
Circular	4.62 ± 1.2	c	0.51 ± 0.2	b	0.08 ± 0.0	b
	F(2, 826)= 85.8; P<0.001		F(2, 826)= 85.8; P<0.001		F(2, 826)= 85.8; P<0.001	

Valores medios (± E. S.) de las variables observadas: número de visitas, picaduras y huevos. (A) Cuadro de comparación de medias para el factor color. (B) Cuadro de comparación de medias para el factor forma. Columnas con medias seguidas de letras iguales no mostraron diferencias significativas (Tukey $\alpha = 0.05$).

Por otra parte el análisis indicó que la señal visual forma fue igualmente significativa. Se demostró que la forma menos atractiva para las hembras del parasitoide fue la forma circular ($P < 0.001$) en los tres parámetros. Por otro lado la figura oval registró el mayor número promedio de hembras visitantes [$\bar{X} = 10.01$; $F_{(2,826)} = 50.11$, $P < 0.001$] (Cuadro 5B), mientras que las formas oval y circular presentaron una atracción igualmente significativa en los parámetros número de picaduras [$F_{(2,826)} = 15.73$, $P < 0.001$], y huevos [$F_{(2,826)} = 12.89$, $P < 0.001$] (Cuadro 5B).

El análisis factorial indicó la existencia de una interacción entre los factores (señales visuales) forma y color la cual es significativa en los tres parámetros evaluados. La combinación rojo/oval es la combinación más atractiva de las 15 combinaciones y ésta presentó el mayor número de hembras visitantes [$F_{(8,826)}=5.95$, $P<0.001$], (Figura 9A), de igual manera presentó el mayor número de picaduras (Figura 9B) junto con la combinación rojo-cuadrado [$F_{(8,826)}=3.17$, $P=0.0015$]. Mientras que el mayor número de huevos se presentó en la combinación rojo/oval [$F_{(8,826)}=3.17$, $P=0.0008$].

De manera general, podemos indicar que las señales color rojo y la forma oval fueron las dos señales visuales más atractivas para el parasitoide, ya que se determinó la existencia de una interacción entre ambas señales que potenciaron la atracción a la combinación rojo/oval, la cual se reflejó en el mayor número de hembras visitantes, picaduras y huevos ovipositados.

3.8.2. Aprendizaje.

El desarrollo del aprendizaje en hembras con adiestramiento previo se determinó de manera indirecta, para ello se usó el análisis del comportamiento individual de las hembras antes dos modelos artificiales [atracción innata (rojo/oval) y adiestramiento (amarillo/circular)]. De estos ensayos se registraron los siguientes parámetros: registro de las tres primeras elecciones de las hembras del parasitoide en la arena de prueba, el tiempo de permanencia en cada elección, el número de intentos de picaduras (picaduras de prueba) y número de picaduras certeras.

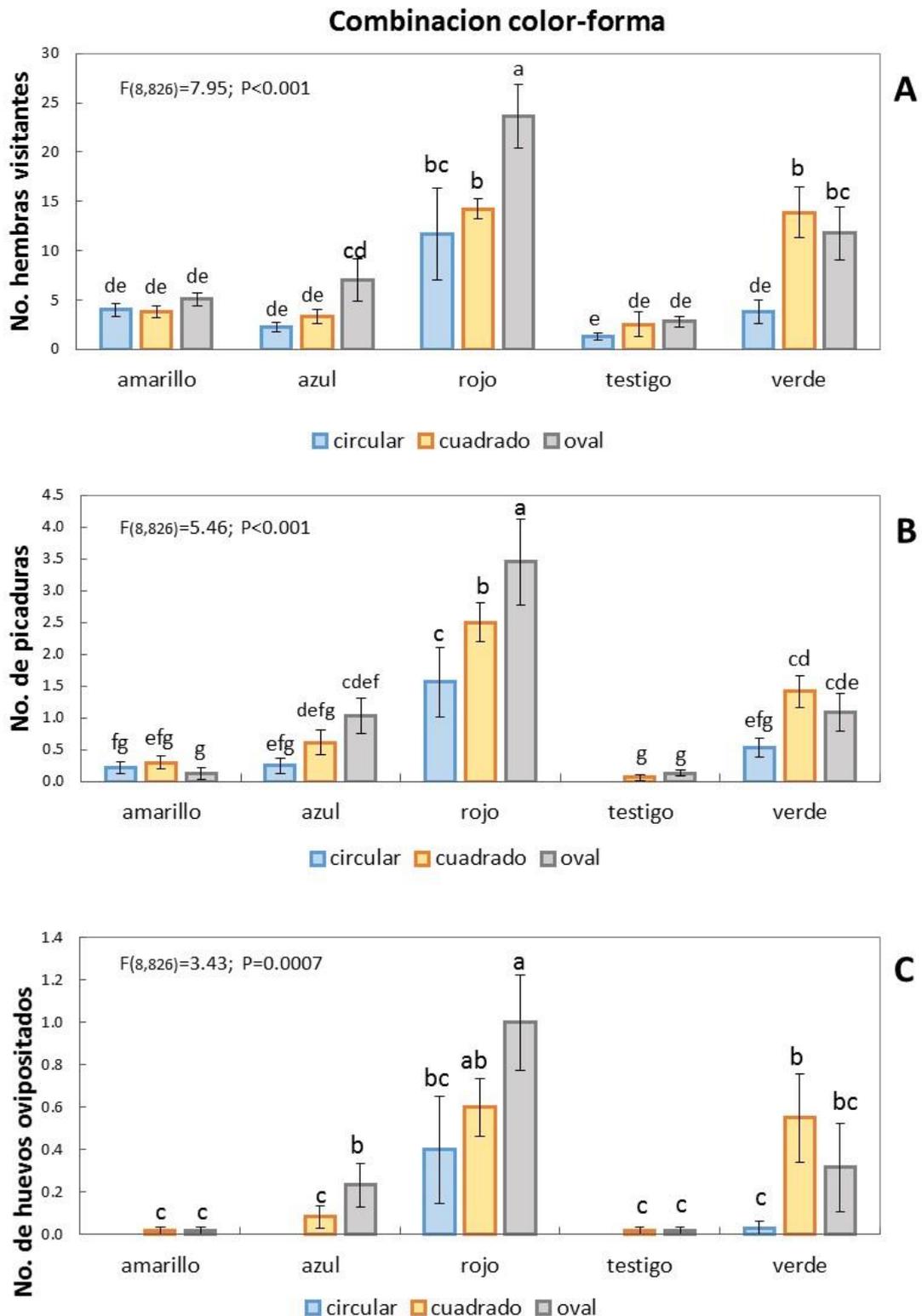


Figura 9. Comparación de medias (\pm E. S.) de la respuesta de atracción innata de *Catolaccus hunteri* a la combinación de señales visuales color forma de los parámetros evaluados. (A). Número de hembras visitantes por combinación. (B). Número de picaduras y (C). Número de huevos ovipositados por combinación color-forma. ANOVA factorial con $P < 0.05$

Elecciones. El análisis factorial para el parámetro elecciones, indicó que el factor modelo de manera independiente presenta un efecto en la atracción de las hembras del parasitoide [$F_{(1,42)}=58.78$, $P<0.0001$], mientras que el factor elección (de manera individual) no lo fue [$F_{(2,42)}=0.004$, $P=0.996$]. Sin embargo, la interacción de los factores color y elección resultó ser significativo, es decir la elección de las hembras está influenciada por la atracción de estas hacia uno de los dos modelo artificial a prueba en cada una de las tres elecciones [$F_{(2,42)}=7.06$, $P=0.0023$].

Para determinar la preferencia por alguno de los dos modelos se realizó una comparación por contrastes para cada elección. La primera elección nos indica que la combinación rojo/oval (innata) es altamente atractiva sobre la combinación amarillo/circular [$F_{(1,42)}=34.28$, $P<0.0001$] al igual que en la tercera elección [$F_{(1,42)}=36.77$, $P<0.0001$]. No obstante, la segunda elección a pesar de presentar un mayor atracción de hembras visitantes el modelo rojo/oval sobre el amarillo/circular esta atracción no fue significativa [$F_{(1,42)}=1.84$, $P=1.18$]. El factor modelo (color/forma) fue un factor significativo en la atracción de las hembras adiestradas sin importar el número de elección. El modelo innato rojo/oval fue más atractivo que el modelo amarillo/circular en la cual fueron adiestrados los parasitoides (Figura 10A).

Tiempo de permanencia. El análisis factorial para este parámetro demostró que el tiempo que las hembras permanecen buscando a su huésped se ve determinado por el modelo artificial (color/forma) [$F_{(1,42)}=19.3$, $P<0.0001$]. Es decir, la elección no es un factor que determine el tiempo de permanencia [$F_{(1,42)}=1.2$, $P<0.28$] y por tanto no existe una interacción entre los factores modelo y elección [$F_{(2,42)}=2.34$, $P<0.09$].

En la Figura 10B se puede observar que el modelo de atracción innata (rojo/oval) fue la más atractiva en las tres elecciones, siendo significativa estadísticamente en las dos primeras. Esta aseveración se confirma cuando se analiza el tiempo total de permanencia para cada uno de los modelos. De manera general se observa que el tiempo promedio total de permanencia de las hembras en el modelo rojo/oval (106.88 ± 4.7) es 1.3 veces mayor al promedio del modelo amarillo/circular (79.50 ± 6.2).

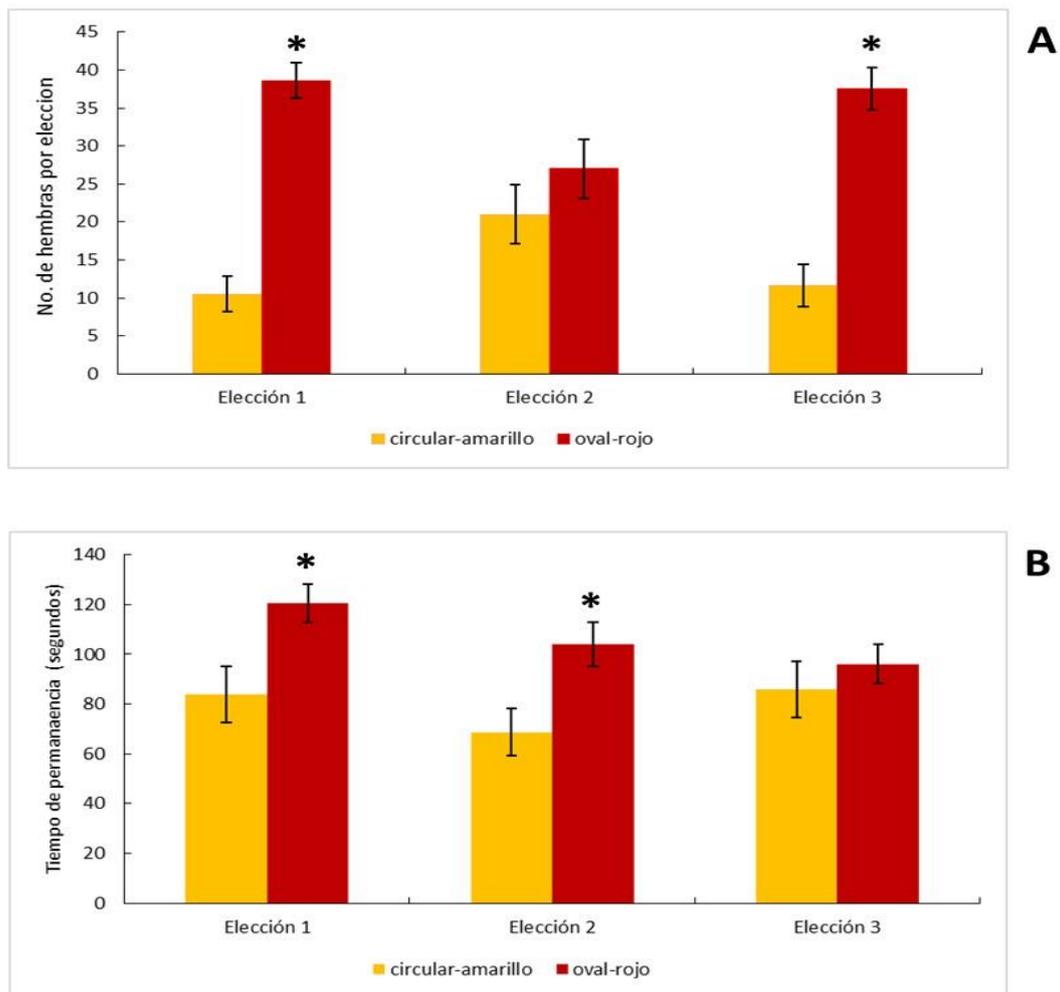


Figura 10. Comparación de medias (\pm E. S.) para determinar el aprendizaje a señales visuales, mediante los parámetros evaluados. (A) Número de hembras por elección y (B). Tiempo de permanencia (segundos) de las de hembras de *Catolaccus hunteri* (*). Diferencia significativa.

Intento de picaduras y picaduras de prueba. El mayor número de intentos de picaduras realizadas por las hembras se realizó en el modelo rojo/oval el cual tuvo un efecto de atracción sobre las hembras [$F_{(1,474)}=8.5$, $P=0.004$]; sin embargo, en la selección tres (Figura 11A) la diferencia del número de intentos de picadura en ambos modelos no fue significativo. Mientras que el análisis factorial indicó que no existe un efecto de la elección [$F_{(1,474)}=2.5$, $P=0.06$] o de la interacción color elección [$F_{(1,474)}=1.9$, $P=0.14$]. El mayor número promedio de picaduras se realizó en el modelo rojo/oval [$F_{(1,474)}=8.48$, $P<=0.004$], el cual fue preferido sobre el modelo de adiestramiento amarillo/circular, lo cual se observó en las dos primeras elecciones; sin embargo, en la tercera elección no se observa una diferencia significativa en la preferencia.

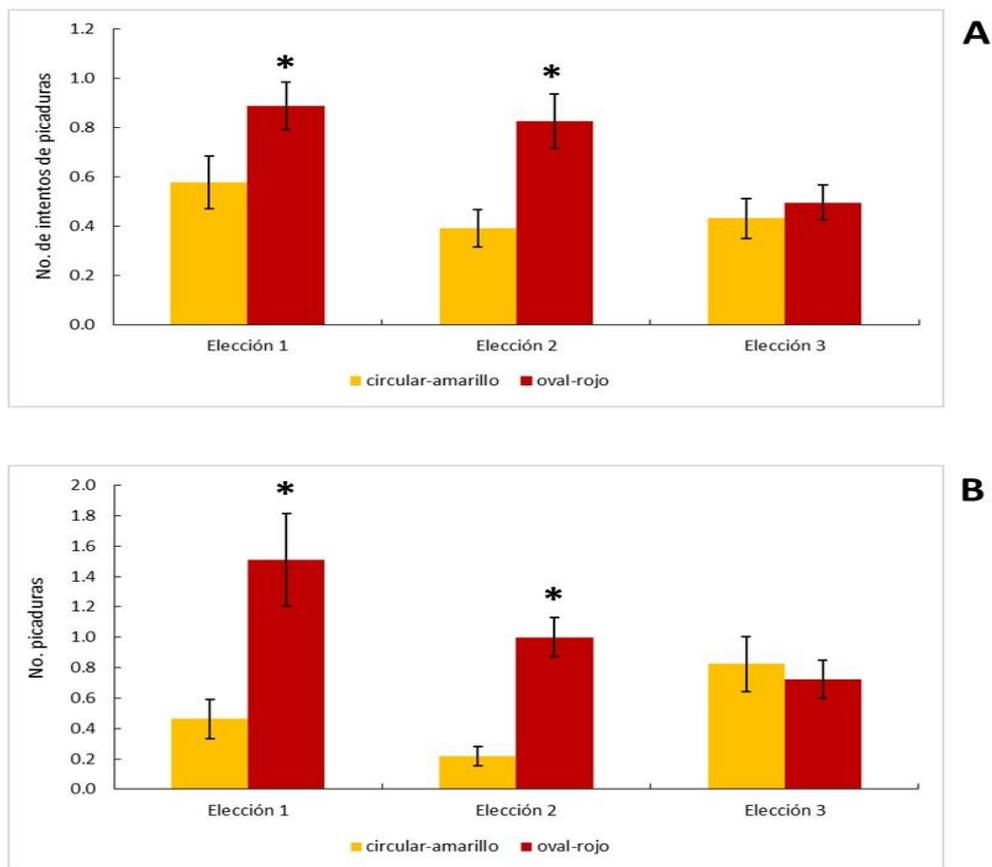


Figura 11. Comparación de medias \pm E. S. (A). Número de picaduras realizadas por las hembras adiestradas de *Catolaccus hunetri* sobre los modelos artificiales y (B) número de picaduras. (*). Diferencia significativa

3.9. DISCUSIÓN

Durante el proceso de búsqueda y localización de huésped, las señales visuales como el color, patrón, forma y tamaño pueden ser utilizadas por los parasitoides para limitar su búsqueda a los posibles microhábitats en los cuales la probabilidad de encontrar un huésped es mayor (Godfray 1994). En este estudio se determinó la atracción innata de las hembras de *C. hunteri* a combinaciones de formas y colores involucrados en el proceso de localización de su huésped. También se determinó si la experiencia con una señal visual diferente a la innata puede modificar la atracción en el proceso de búsqueda.

El presente estudio muestra que las hembras del parasitoide *C. hunteri* pueden distinguir entre las quince diferentes combinaciones de las señales visuales examinadas, de las cuales la combinación oval/rojo fue la más atractiva para las hembras sin experiencia. La atracción al color rojo concuerda con lo ya observado por Schuster (2012) con trampas pegajosas.

Muchos insectos recién emergidos prefieren ciertos colores sobre otros, estas preferencias (respuesta innata) ayudan a los insectos sin experiencia a encontrar a su huésped (Chittka y Wella 2004). La atracción innata al color rojo que se reporta en este estudio podría estar relacionada con las características del microhábitat en el cual se desarrolla uno de los huéspedes de *C. hunteri*, el picudo del chile *Anthonomus eugenii* que se desarrolla dentro de yemas florales y frutos inmaduros (Goff y Wilson 1937). Durante su alimentación, el picudo del chile induce la producción de etileno en la planta, lo que adelanta la maduración de frutos y causa cambios en su coloración de amarillo a rojo, e incluso produce la abscisión de los frutos (von Dahl y Baldwin 2007).

Durante el proceso de localización del huésped *C. hunteri* podría ser atraído por los cambios de coloración de los frutos de chile ya que estas longitudes de onda ofrecen un fuerte contraste cromático contra un ambiente mayormente verde, debido a la visión tricromática de los himenópteros (Briscoe y Chittka, 2001). En nuestros tratamientos con fondo blanco, los cuatro colores ofrecieron fuertes contrastes cromáticos, por lo que las hembras pudieron detectar cualquiera de los colores a prueba. El color preferido por las hembras del parasitoide sin experiencia fue el color rojo independientemente de la forma, lo cual se reflejó con la atracción de más del 60% de las hembras del estudio.

Por otra parte la atracción de las hembras sin experiencia hacia la forma oval se reflejó en el mayor número de hembras visitantes y huevos ovipositados. Esto coincide con la preferencia de parasitoides generalistas de huéspedes endofíticos en frutos y otros parasitoides que muestran una marcada preferencia por formas alargadas u ovals (Sivinski 1991, Ovruski et al. 2004, Segura et al. 2007). Esta atracción hacia los frutos ovals o alargados podría estar relacionada con la capacidad de la forma de almacenar una mayor cantidad de huéspedes, haciendo así más rentable para los parasitoides el proceso de búsqueda y localización de huéspedes (Segura et al. 2007).

El aprendizaje se considera una estrategia de los parasitoides generalistas que les permite hacer frente a la variabilidad de cualquiera de las señales directas o indirectas durante el proceso de búsqueda (Vet y Dicke 1992; Geervliet et al. 1998, Dukas y Duan 2000, Stireman 2002). Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la respuesta de elección de las hembras “adiestradas” fue del 63% para la combinación que mostró atracción innata, la combinación

rojo/oval. Este patrón también se observó en el tiempo de permanencia, el cual fue 1.7 veces mayor para la combinación rojo/oval respecto a la amarillo/circular.

En este estudio la cría de *C. hunteri* se estableció con parasitoides provenientes de huéspedes desarrollados en frutos de Chile, por lo que la respuesta de atracción innata hacia la combinación rojo/oval podría estar estrechamente relacionada con señales visuales provenientes de frutos de Chile. Lo anterior podría explicarse mediante el concepto de especialización dietaria, el cual expone que la respuesta comportamental innata y/o aprendida, y la especificidad de las señales depende en gran medida de la dieta del organismo, en el caso de parasitoides de huéspedes endofíticos y de la dieta de estos (Steidle y van Loon 2003).

Se confirmó que las señales visuales color y forma son usadas por *C. hunteri* en el proceso de búsqueda y localización de su huésped o de del hábitat de éste. El color parece ser un estímulo importante a distancia para este parasitoide (Schuster 2012), mientras que la combinación de color y forma podrían determinar la selección del microhábitat del huésped a una distancia más corta (Wäckers y Lewis, 1999). El color rojo sería importante a distancias largas debido al contraste acromático, mientras que la forma oval es atractiva por que podría albergar un mayor número de larvas lo cual sería más rentable para el parasitoide.

4. CONCLUSIONES GENERALES Y SUGERENCIAS

Los parasitoides son los enemigos naturales más utilizados en los programas de control biológico y su éxito se basa en gran medida en su elevado nivel de especialización y en su estrategia de vida la cual consiste en la búsqueda activa y dirigida de sus huéspedes.

En esta tesis se propuso generar información sobre los mecanismos involucrados en el proceso de búsqueda y localización de huéspedes endofíticos, así como el papel que desempeñan el aprendizaje asociativo y las señales visuales forma y color durante dicho proceso.

Para determinar los mecanismos involucrados en el proceso de búsqueda y localización de huéspedes, se estudio el proceso de oviposición de *C. hunteri*, el cual fue descrito mediante la elaboración de un etograma. El etograma mostró siete patrones comportamentales (acicalamiento, anteneo tipo 1, exhibición del ovipositor, anteneo tipo 2, doblamiento del abdomen, picadura, y oviposición) los cuales involucraron a las antenas y el ovipositor implicando la presencia de sénsulos en dichos apéndices. Se registró la presencia de siete tipos morfológicos de sénsulos en antenas y seis en ovipositor. La morfología externa de los sénsulos y su frecuencia sugirieron que *C. hunteri* probablemente utiliza señales químicas olfativas y de contacto proveniente del hábitat del huésped, así como señales mecánicas y térmicas o de infrarrojo (SBC) para localizar a sus huéspedes endofíticos.

Se confirmó la discriminación entre colores y formas por el parasitoide *C. hunteri* en el proceso de búsqueda y localización de su huésped o de su hábitat. Durante dicho proceso se determinó que el color parece ser un estímulo

importante a distancia para este parasitoide, lo cual quedo demostrado con la atracción por el color rojo. Por otro lado mientras que la combinación de forma y color podría determinar la selección del huésped a una escala más corta. Se determinó la existencia de la atracción innata del parasitoide generalista *C. hunteri* a la combinación de señales visuales forma/color, la cual pudiera estar relacionada con las características del microhábitat donde se desarrolla uno de sus huéspedes naturales. Por otro lado, en ese caso en particular, se descartó el desarrollo de aprendizaje asociativo mediante la sensibilización a una nueva señal en esta especie. Parece ser que el periodo de adiestramiento debe llevarse generacionalmente para poder equilibrar su respuesta de atracción con el de la respuesta innata o que esa respuesta innata tiene una relevancia particular para la elección de este parasitoide cuando se desarrolla unas generaciones sobre huéspedes facticios (dentro de granos de garbanzo), pero que se recolectaron de huéspedes desarrollados en frutos de chile.

Considerando la complejidad de los sénsulos encontrados en esta especie, se proponen la realización de estudios electrofisiológicos, de microscopia electrónica de transmisión y estudios manipulativo experimentales (amputación o interferencia de estructuras) que sustente la funcionalidad e importancia de los sénsulos olfativos en antenas y ovipositor del parasitoide *C. hunteri*. Tambien posibles trabajos que permitan determinar la capacidad de detección de calor o infrarrojo que proporcionen mayor información sobre los sénsulos SBC descritos en este estudio.

El conocimiento de la atracción innata y del uso del aprendizaje asociado a estímulos visuales en especies generalistas como *C. hunteri* podría ser utilizado en protocolos de cría masiva. No obstante es necesario continuar trabajando para

determinar el papel y la importancia de señales químicas, sonidos y vibraciones que se encuentran involucrados en la asociación entre huéspedes endofíticos y sus parasitoides. Este conocimiento podría favorecer la explotación de parasitoides con mejores características para usarse en estrategias de control biológico dentro del proceso de búsqueda y localización de huéspedes endofíticos, que permitan desarrollar programas de manejo integrado basados en estrategias de control biológico.

5. LITERATURA CITADA

- van Alphen, J.J.M, G. Nordlander, and I. Ejis. 1991.** Host hábitat finding and host selection of the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina austrialis* (Hymenoptera, Eucoilidae), with a comparison of the niche of European *Leptopilina* species. *Oecologia*. 87: 324-329.
- Altner, H., and L. Prillinger. 1980.** Ultrastructure of invertebrate chemo-, thermo-, and hygroreceptors and its functional significance. *Inter. Rev. Cytol.* 67: 69-139.
- Altner, H., L. Schaller-Selzer., H. Stetter, and I. Wohlrab. 1983.** Poreless sensilla with inflexible sockets: A comparative study of a fundamental type of insect sensilla probably comprising thermos and hygroreceptors. *Cell Tiss Res.* 234: 279-307.
- Amornsak, W., B. Cribb, and G. Gordh. 1998.** External morphology of antennal sensilla of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 27 (2): 67-82.
- Analytical Software. 1996.** Statistix for windows: user's manual. Analytical Software.
- van Baaren, J., R. Barbier, and J.P. Neson. 1996.** Females antennal sensilla of *Epidinocarsis lopezi* and *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoids of pseudococcid mealybugs. *Can. J. Zool.* 74: 710–720.
- van Baaren, J., G. Boivin., J.L. Lannic, and J.P. Neson. 1999.** Comparison of antennal sensilla of *Anaphes victus* and *Anaphes listronoti* (Hymenoptera: Mymaridae), egg parasitoids of Curculionidae). *Zoomorphology* 119: 1-8.

- van Baaren, J., G. Boivin, D. Bourdais, and O. Roux. 2007.** Antennal sensilla of hymenopteran parasitic wasps: variations linked to host exploitation behavior. *Can. J. Zool.* 74: 710-720.
- Barlin, M.R., and S.B. Vinson. 1981.** Multiporous plate sensilla in antennae of Chalcidoidea (Hymenoptera). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 10(1): 29-42.
- Battaglia, D., N. Isidoro, R. Romani, F. BIN, and F. Pennachio, F. 2013.** Mating behaviour of *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae): the role of antennae. *Eur. J. Entomol.* 99(4): 451-456.
- Begon, M., C.R. Townsend, and J.L. Harper. 2006.** Ecology: From Individuals to Ecosystems. Blackwell Publishing, USA.
- Benelli, G., and A. Canale. 2012.** Learning of visual cues in the fruit fly parasitoid *Psytalia concolor* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control.* 57: 767-777.
- Bernal, J. S. 2007.** Biología, ecología y etología de parasitoides, pp. 61-74. *En:* L. A. Rodríguez-del-Bosque y H. C. Arredondo-Bernal (eds.), Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303 p.
- Bernays, E. A., and R. F. Chapman. 2007.** *Host-plant selection by phytophagous insects* (Vol. 2). Springer Science and Business Media.
- Bleeker, M.A.K., H.M. Smid, A.C. Aelst, J.J. A van Loon, and L.E.M. Vet. 2004.** Antennal sensilla of two parasitoids wasp: a comparative scanning electron microscopy study. *Microsc. Res. Tech.* 63: 266-273.
- Bora, D., and B. Deka. 2014.** Role of Visual Cues in Host Searching Behaviour of *Exorista sorbillans* Widemann, a Parasitoid of Muga Silk Worm, *Antheraea assama* Westwood. *J. Insect. Behav.* 27(1): 92-104.
- Borden, J.H., G.E. Miller, and J.V. Richerson. 1973.** A possible new sensillum on the antennae of *Itopectis conquisitor* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Can. Entomol.* 105: 1363–1367.
- Briscoe, A.D., and L. Chittka. 2001.** The evolution of color vision in insects. *Ann. Rev. Entomol.* 46: 471–510.
- Brodeur, J., and G. Boivin. 2004.** Functional ecology of immature parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* 49 (1): 27-49.
- Brown P.E. and M. Anderson. 1999.** Factors effecting ovipositor probing in *Trybliographa rapae*, a parasitoid of the cabbage root fly. *Entomol. Exp. Appl.* 93: 217- 225.
- Cardé, R. T., T. C. Baker., and W. L. Roelofs, 1975.** Behavioural role of individual components of a multichemical attractant system in the Oriental fruit moth. *Nature*, 253(5490), 348-349.

- Chapman, R.F. 1982.** Chemoreception: The significance of receptor number, pp. 247-257. *In*: M.J. Berridge, and J.E. Treherne (eds.), *Advances in Insect Physiology*, vol.16. Academic Press Inc., London.
- Chapman, R.F. 1998.** Communication: Perception of the environment, pp. 585-654. *In*: *The insect: structure and function*. University Press, Cambridge. United Kingdom.
- Chittka, L. and H. Wells. 2004.** Color vision in bees: mechanisms, ecology, and evolution. *In*: Prete, F.R. (Ed.), *Complex Worlds from Simpler Nervous Systems*. The MIT Press, London, pp. 165–193.
- Colazza S., M.C. Rosi., P. Sebastiani., and M. Ursini. 1996.** Host acceptance behavior in the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). *Acta. Oecol.* 17: 109-125.
- Cross, W. H., and H. C. Mitchell. 1969.** Distribution and importance of *Heterolaccus grandis* as parasite of the boll weevil. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 62: 235-236.
- Cross, W.H., and T.L. Chesnut 1971.** Arthropod parasites of the boll weevil, *Anthonomus grandis*: 1. An. annotated list. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 64: 516-527.
- von Dahl, C.C. and I.T. Baldwin. 2007.** Deciphering the role of ethylrnr in plant-hervivore interactions. *J. Plant. Growth. Regul.* 26: 201-209.
- Dukas, R. 2008.** Evolutionary biology of insect learning. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 145-160.
- Dukas, R., and J.J Duan. 2000.** Potential fitness consequences of associative learning in a parasitoid wasp. *Behav. Ecol.* 11(5): 536-543.
- (EPPO) European and Mediterranean Plant Protection Organization. 2011.** EPPO-PQR database on quarantine pests (available online) version 2011-11-25. <http://www.eppo.org>.
- Fenner D.H., J. R., Jacobs, L. F., and J. O. Schmidt. 1996.** Specialized parasitoid attracted to a pheromone of ants. *Anim. Behav.* 51(1), 61-66.
- Fischer, S., J. Samietz, F.L. Wäckers, and S. Dorn. 2004.** Perception of chromatic cues during host location by the pupal parasitoid *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Environ. Entomol.* 33(1): 81–87.
- Geervliet, J.B.F., A.I. Vreugdenhil, M. Dicke, and E.M. Vet. 1998.** Learning to discriminate between infochemicals from different plant-host complexes by the parasitoids *Cotesia glomerata* and *C. rubecula*. *Entomol. Exp. App.* 86: 241-252.

- Godfray, H.C.J. 1994.** Parasitoids: behavior and evolutionary ecology. Princeton University Press, Princeton, N.J. 473 pp.
- Goff C.C., and J. W. Wilson. 1937.** The pepper weevil. Florida Agricultural Experimental Station Bulletin 310.
- Gonzaga Segura, A. J. 2015.** Comportamiento sexual, descripción morfológica de la glándula metatorácica e identificación de los sénsulos antenales de *Leptoglossus zonatus* Dallas (HETEROPTERA: COREIDAE). Tesis de Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos IPN, Yautepec, Morelos.
- Goubault, M., J. Fourrier, L. Krespi, D. Poinso, and A.M. Cortesero. 2004.** Selection strategies of parasitized hosts in a generalist parasitoid depend on patch quality but also on host size. *J. Insect. Behav.* 17: 99–113.
- Goubault, M., A.M. Cortesero, C. Paty, J. Fourrier, S. Dourlot, and A.L. Ralec. 2011.** Abdominal sensory equipment involved in external host discrimination in a solitary parasitoid wasp. *Microsc. Res. Techniq.* 74: 1145-1153.
- Hallberg, E. 1979.** The fine structure and function of the antennale sense organs of *Melittobio australica* (Hymenoptera: Eulophidae) with the discovery of a large dermal gland in the male scape. *Men. Queensl. Mus.* 21. 361-385.
- Hanson, P.E., and I.D. Gauld. 2006.** Hymenoptera de la región Neotropical. American Entomological Institute.
- Hansson, B.S., J.N.C. Van Der Pers., H.E. Högberg., E. Hedenström, O. Anderbrant, and J. Löfqvist. 1991.** Sex pheromone perception in male pine sawflies. *Neodiprion setifer* (Hymenoptera: Diprionidae). *J. Comp. Physiol.* 168: 523-538.
- Henneman, M.L. 1998.** Maximization of host encounters by parasitoids foraging in the field: females can use a simple rule. *Oecologia.* 116: 467-474.
- Hoffmeister, T.S., and B.D. Roitberg. 1997.** To mark the host or the patch: decisions of a parasitoid searching for concealed host larvae. *Evol. Ecol.* 11(2): 145-168.
- Ichiki, R. T., Y. Kainoh., Y. Yamawaki., and S. Nakamura. 2011.** The parasitoid fly *Exorista japonica* uses visual and olfactory cues to locate herbivore-infested plants. *Entomo. Expe. Applicata.* 138(3): 175-183.
- Isidoro, N., F. Bin, S. Colazza, and S.B. Vinson. 1996.** Morphology of antennal gustatory sensilla and glands in some parasitoids hymenoptera with hypothesis on their role in sex and host recognition. *J. Hymen. Res.* 5: 206-239.
- Jervis, M. A., Heimpel, G. E., Ferns, P. N., Harvey, J. A., and Kidd, N. A. C. 2001.** Life-History Strategies in Parasitoid Wasps: A Comparative Analysis of 'Ovigeny'. *J. Animal Ecol.*, 70(3): 442-458.

- Le Ralec, A., J.M. Rabasse, and E. Wajnberg. 1996.** Comparative morphology of the ovipositor of some parasitic Hymenoptera in relation to characteristics of their hosts. *Can. Entomol.* 128: 413-433.
- Mariscal, E., J.L. Leyva y R. Bujanos. 1998.** Parasitoides del picudo del chile, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae) en Nayarit Mexico. *Vedalia* 5: 39-46.
- Matsuda, R. 1976.** The Hymenoptera. pp. 373-396 in R. Matsuda, (eds.), *Morphology and Evolution of the Insect Abdomen*. Pergamon Press, New York, NY. 534pp.
- Mbata, G.N., A. Thomas, and H.F. Fadamiro. 2005.** Parasitism by *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae) o the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (Coleopteran: Bruchiae) host density, temperature effects, and host finding ability. *Biol. Control* 3: 286-292.
- Michaud, J.P., and M. Mackauer. 1994.** The use of visual cues in host evaluation by aphidiid wasps: I. Comparison between three *Aphidius* parasitoids of the pea aphid. *Entomol. Exp. Appl.* 70(3): 273–283.
- Nacro, S., and Nénon, J.P. 2009.** Comparative study of the morphology of the ovipositor of *Platygaster diplosisae* (Hymenoptera: Platygasteridae) and *Aprostocetus procerae* (Hymenoptera: Eulophidae) two parasitoids associated with the African rice gall midge, *Orseolia oryzivora* (Diptera: Cecidomyiidae). *Psyche: A Journal of Entomol.* 2009.
- Norton, W.N. and S.B. Vinson. 1974.** Antennal sensilla of three parasitic hymenoptera. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 3: 305–316.
- Ochieng, S.A., K.C. Park, J.W. Zhu, and T.C. Baker. 2000.** Functional morphology of antennal chemoreceptors of the parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Arthropod Struct. Dev.* 29: 231–240.
- Oliai, S.E., and B.H. King. 2000.** Associative learning in response to color in the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Insect Behav.* 13: 55–69.
- Olson, D.M., and D.A. Andow. 1993.** Antennal sensilla of female *Trichogramma nubilale* (Ertle and Davis) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and comparisons with other parasitic hymenoptera. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 22: 507–520
- Onagbola, E.O., and H.Y. Fadamiro. 2008.** Scanning electron microscopy studies of antennal sensilla of *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Micron.* 39: 526- 535.
- Ovruski, S. M., Schliserman, P. y Aluja, M. 2004.** Indigenous parasitoids (Hymenoptera) attacking *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in native and exotic host plants in Northwestern Argentina. *Bio. Control.* 29: 43-57.

- Pérez, J., J.C. Rojas, P. Montoya, P. Liedo, F.J. González, and A. Castillo. 2011.** Size, shape and hue modulate attraction and landing responses of the braconid parasitoid *Fopius arisanus* to fruit odour-baited visual targets. *Bio. Control* 57(3): 405-414.
- Pettersson, E.M., E. Hallberg, and G. Biggersson. 2001.** Evidence for the importance of odour-reception in the parasitoid *Rhopalicus tutela* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Appl. Entomol.* 125: 293–301.
- Prokopy R.J., and R.P. Webster.1978.** Oviposition-detering pheromone of *Rhagoletis pomonella*: a kairomone for its parasitoid *Opius lectus*. *J. Chem. Ecol.* 4: 481–494.
- Reddy, G.V.P., J.K. Holopainen, and A. Guerrero. 2002.** Olfactory responses of *Plutella xylostella* natural enemies to host pheromone, larval frass, and green leaf cabbage volatiles. *J. Chem. Ecol.* 28: 131-143.
- Riley, D. G., and D. J. Shuster. 1992.** The occurrence of *Catolaccus hunteri*, a parasitoid of *Anthonomus eugenii*, in insecticide treated bell pepper. *Southwest. Entomol.* 17:71-72.
- Rodríguez-Leyva, E., J.L. Leyva, V. Gómez, N.M. Bárcenas, and G.W. Elzen. 2000.** Biology of *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae), parasitoid of pepper weevil and boll weevil. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93: 862-868.
- Rodríguez-Leyva, E., V. Gómez., N.M. Bárcenas, and J.L. Leyva. 2002.** Efecto de diferentes factores sobre la cría de *Callosobruchus macullatus* (Coleoptera: Bruchidae) para la producción de *Catolaccus spp.* (Hymenoptera:Pteromalidae). *Acta. Zool. Mex.* 86: 87-101.
- Rodríguez-Leyva, E., P.A.D Stansly, J. Schuster, and E. Bravo-Mosqueda. 2007.** Diversity and distributions of parasitoids of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) from Mexico and prospects for biological control. *Fla. Entomol.* 90: 693-702.
- Roitberg, B. D., Boivin, G., & Vet, L. E. M. 2001.** Fitness, parasitoids, and biological control: an opinion. *Can. Entomol.* 133(03): 429-438.
- Romani, R., M.C. Rosi, N. Isidoro, and F. Bin. 2008.** The role of the antennae during courtship behaviour in the parasitic wasp *Trichopria drosophilae*. *J. Exp. Biol.* 211: 2486-2491.
- Roux, O., J. van Baaren, C. Gers, L. Arvanitakis, and L. Legal. 2005.** Antennal structure and oviposition behavior of the *Plutella xylostella* specialist parasitoid *Cotesia plutellae*. *Micros. Res. Tech.* 68, 36-44.
- Salmerón Muñiz, N. N. 2015.** Comportamiento sexual de la mosca de la papaya *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker. Tesis de Maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos IPN, Yautepec, Morelos.

- Schmidt, J. M. 1991.** The role of physical factors in tritrophic interactions. *Redia*. 74: 43–93.
- Schowalter T.D. 2006.** *Insect Ecology: An Ecosystem Approach*. Elsevier, San Diego, USA.
- Schuster, D.J. 2007.** Suppression of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) pepper fruits infestation whit releases *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Biocontrol Sci. Techn.* 17: 345-351.
- Schuster, D.J. 2012.** Response of *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae) to colored sticky traps in the laboratory. *Fla. Entomol.* 95: 501-501.
- Schuster, D.J., and S. Thompson. 2011.** Toxicity of selected insecticides to *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae) in the laboratory. *Fla. Entomol.* 94(4):1078-1080.
- Seal, D.R., P.A. Stansly, and D.J. Schuster. 2002.** Influence of temperature and host on life history parameters of *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environ. Entomol.* 31(2): 354-360.
- Segura, D., M. Viscarret, L. Carabajal-Paladino, S. Ovruski, and J Cladera. 2007.** Role of visual information and learning in habitat selection by a generalist parasitoid foraging for concealed hosts. *Anim. Behav.* 74, 131–142.
- Sivinski, J. 1991.** The influence of host fruit morphology on parasitization rates in the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. *Entomophaga*. 36: 447-454.
- Slifer, E.H. 1969.** Sense organs on the antenna of a parasitic wasp, *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera, Pteromalidae). *Biol. Bull* 136: 253-263.
- Snodgrass, R. E.1933.** Morphology of the insect abdomen. II. The genitalia ducts and the ovipositor. *Smithson. Misc. Coll.* 85(6): 1-148.
- Speranza, S., E. Colonnelli, A.P. Garonna, and S. Laudonia. 2014.** First Record of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) in Italy. *Fla. Entomol.* 97(2): 844-845.
- Steidle J.M.L. 1998.** Learning pays off: influence of experince on host finding and parasitism in *Lariophagus distinguendus*. *Ecol. Entomol.* 23: 451- 456.
- Steidle, J.L. and VanLoon J.J. 2003.** Dietary specialization and infochemical use in carnivorous arthropods: testing a concept. *Entomol. Exp. App.* 108: 133-148.
- Stephens D.W., and Krebs J.R. 1986.** *Foraging Theory*. Princeton University Press, New Jersey.

- Stireman, J.O. 2002.** Learning in the generalist tachinid parasitoid *Exorista mella* Walker (Diptera: Tachinidae). *J. Insect. Behav.* 15: 689-706.
- Turlings, T.C.J., F.L. Wäckers, L.E.M. Vet, W.J. Lewis, and J.H. Tumlinson. 1993.** Learning of host-finding cues by Hymenopterous parasitoids, pp. 51-78. In (D.R. Papaj and A.C. Lewis (eds.) "Insect Learning. Ecological and Evolutionary Aspects", Chapman and Hall, New York.
- Vásquez, E., D. Dean, D. Schuster, and P. Etten. 2005.** A laboratory method for rearing *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Fla. Entomol.* 88(2): 191-194.
- Vet, L. E. 2001.** Parasitoid searching efficiency links behaviour to population processes. *Appl. Entomol. Zool.*, 36(4): 399-408.
- Vet, L.E.M., and A.W. Groenewold. 1990.** Semiochemicals and learning in parasitoids. *J. Chem. Ecol.* 16: 3119–3135.
- Vet, L.E.M., and M. Dicke. 1992.** Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu. Rev. Entomol.* 3: 141–172.
- Vet, L.E., W.J. Lewis, and R.T. Carde. 1995.** Parasitoid foraging and learning, pp. 65-101. *In* Chemical ecology of insects 2. Springer US.
- Villa, L. 1990.** Morphology of antennal structures of *Gryon boselli* Mineo et. Szabo (Hymenoptera: Scelionidae): A scanning electron microscope study. *Frustrula. Entomol.* 13 (9): 9–17.
- Vinson, S.B. 1976.** Host selection by insect parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* 21: 109-133.
- Vinson, S. B. 1984.** Parasitoid-host relationships. pp. 205–233. In W.J. Bell and R.T. Cardé, (eds.), *Chemical Ecology of Insects*. Chapman and Hall, London.
- Vinson, S. B. 1997.** The general host selection behavior of parasitoid hymenoptera and comparison of initial strategies utilized by Larvaphagous and Oophagous species. *Biol. Control.* 11: 79-9.
- Vinson, S.B. 1998.** The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *Biol. Control.* 11(2): 79-96.
- Wäckers F.L., and W.J. Lewis 1999.** A comparison between color, shape and pattern learning by the hymenopteran parasitoid *Microplitis croceipes*. *J. Comp. Physiol. A.* 184: 387–393.
- Wang X.Y., and Z.Q. Yang. 2008.** Behavioral mechanisms of parasitic wasps for searching concealed insect host. *Acta Ecol Sin.* 28: 1257-1269.

- Wang X.Y., Z.Q. Yang, and J.R. Gould. 2010.** Sensilla on the antennae, legs and ovipositor of *Spathius agrili* Yang (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the emerald ash borer *Agilus planipennis* Fairmaire (Coleoptera: Buprestidae). *Microscop. Res. Techniq.* 73: 560-571.
- Wardle, A.R., Borden, J.H., 1990.** Learning of host microhabitat form by *Exeristes roborator* (F.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Insect. Behav.* 3: 251–263.
- Wibel, R.G., J.D. Cassidy, Jr. Buhse, H.E. Cummings, M.R. Bindokas, V.P. Charlesworth, and D.L. Buumgartner. 1984.** Scanning electron microscopy of antennal sense organs of *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Trans. Am. Microsc. Soc.* 103 (4): 329–340.
- Wilcox, D., B. Dove, D. McDavid, and D. Greer. 2002.** UTHSCSA Image Tool for Windows. 3.0. The University of Texas Health Science Center in San Antonio. U.S.A.