

Tesis Doctoral

# Bioecología de *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lep: Pyralidae) en Argentina: bases para su manejo integrado

Varone, Laura

2013-11-15

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

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

Cita tipo APA:

Varone, Laura. (2013-11-15). Bioecología de *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lep: Pyralidae) en Argentina: bases para su manejo integrado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Varone, Laura. "Bioecología de *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lep: Pyralidae) en Argentina: bases para su manejo integrado". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2013-11-15.

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**

**Bioecología de *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lep: Pyralidae) en  
Argentina: bases para su manejo integrado**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en  
el área Ciencias Biológicas

**Laura Varone**

Director de tesis: Dr. Guillermo Logarzo

Consejero de Estudios: Dr. Ricardo Gürtler

Lugar de trabajo: FuEDEI – Fundación para el Estudio de Especies Invasivas

Buenos Aires, 2013

## **Bioecología de *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lep: Pyralidae) en Argentina: bases para su manejo integrado**

A partir de la amenaza que constituye *Cactoblastis cactorum* para la industria de la tuna y la biodiversidad de cactus de México y Estados Unidos, se está desarrollando un enfoque integrado de control de esta plaga. Las investigaciones básicas sobre esta especie invasora y sus enemigos naturales son imprescindibles para minimizar los efectos nocivos en áreas invadidas. El objetivo principal de este trabajo es estudiar la bioecología de *C. cactorum* en Argentina para favorecer la implementación de una estrategia de manejo integrado que incluya al control biológico. A partir de la estructura genética descrita de *C. cactorum* y la existencia de cuatro clados en Argentina, se determinó su distribución geográfica, se estudió el patrón de uso de plantas hospedadoras (*Opuntia* spp. nativas y exóticas), la preferencia de oviposición (en campo y laboratorio), el rendimiento en el desarrollo y adaptación local a sus hospedadoras, y el grado de compatibilidad reproductiva. Además, se realizaron relevamientos de enemigos naturales y se seleccionó un nuevo candidato del que se estudió su biología, especificidad y se diseñó un método de cría. Se encontró que la utilización de las especies de *Opuntia* en el campo fue proporcional a su abundancia para todos los clados. En laboratorio, *C. cactorum* utilizó casi todas las *Opuntia* spp. ofrecidas para oviponer, aunque algunas especies fueron preferidas. El rendimiento en el desarrollo fue mejor sobre algunas *Opuntia* spp., no coincidiendo con la preferencia de oviposición. No se observó ningún patrón de adaptación local a sus plantas hospedadoras ni incompatibilidad reproductiva entre los clados. Ninguno de estos dos factores estarían determinando la estructura genética de *C. cactorum*. Las rutas y dinámica de la invasión se verán influidas por la calidad y disponibilidad de hospedadoras encontradas que ofrecerán espacios libres de defensa antiherbívoro. *Apanteles opuntiarum* fue el parasitoide más común sobre *C. cactorum* y estuvo restringido a dos especies del género. Se desarrolló una técnica de cría en laboratorio que maximiza su éxito reproductivo y se realizó su primera exportación a una cuarentena en Florida, EE. UU.

Palabras claves: *Cactoblastis cactorum*, *Opuntia*, patrón de uso de hospedadores, preferencia, rendimiento larval, adaptación local, compatibilidad reproductiva, enemigos naturales, control biológico.

## **Bioecology of *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lep: Pyralidae) in Argentina: basis for its integrated management**

An integrated control approach is being developed for *Cactoblastis cactorum*, a threat for the prickly pear industry and the biodiversity of cactus of Mexico and the United States. The basic investigations on this invading species and its natural enemies are essential to minimize harmful effects on invaded areas. The primary goal of this work is to study the bioecology of *C. cactorum* in Argentina to favor the implementation of an integrated management strategy that includes the biological control. Based on the genetic structure described for *C. cactorum* and the existence of four clades, their geographic distribution in Argentina, the host use pattern (native and exotic *Opuntia* spp.), oviposition preference (in the field and the laboratory), the larval performance and the local adaptation to their host plants, and the reproductive compatibility were studied. In addition, natural enemies were identified and biology and specificity were studied, and a rearing technique developed. For all the clades, the use of *Opuntia* spp. in the field was proportional to the hosts abundance. In the laboratory, *C. cactorum* used almost all the *Opuntia* spp. offered to oviposit, although some species were preferred. The larval performance was higher on some *Opuntia* spp., but not in concordance with the oviposition preference. Pattern of local adaptation to the host plants or reproductive incompatibility between the clades were not observed. None of the latter factors studied seemed to determine the genetic structure of *C. cactorum*. The rates, routes and dynamics of the invasion will be influenced by the quality and availability of hosts found that would offer antiherbivore defense-free space. *Apanteles opuntiarum* was the most common parasitoid on *C. cactorum* and was restricted to two species of the genus. A rearing technique was developed that maximized the reproductive success; the first export of the parasitoid was conducted to quarantine in FL, United States.

Key words: *Cactoblastis cactorum*, *Opuntia*, host use pattern, preference, larval performance, local adaptation, reproductive compatibility, natural enemies, biological control.

## **Agradecimientos**

\* Quiero agradecer especialmente a estas personas que estuvieron directamente relacionadas con la realización de este trabajo:

A mi director, Guillermo Logarzo, por su intuición e insistencia en que éste iba a ser mi tema de doctorado, y por ayudarme a hacerlo realidad. Por estar siempre que lo necesité, y acompañarme y guiarme durante mi formación profesional todos estos años.

A los señores miembros del jurado por el tiempo dedicado.

Al laboratorio, que ahora es Fundación (FuEDEI), y que me da la posibilidad de trabajar de bióloga además de ser bióloga desde el 2001.

A Juan Briano, director de FuEDEI, quien confió en mi y me hizo un lugar para que formara parte del “staff”, allá por el 2005. Sobre todo por haber trabajado tan duro para lograr la continuidad del laboratorio en épocas adversas y complejas. Le agradezco además sus valiosas sugerencias para mejorar este trabajo.

Al resto de mis compañeros del laboratorio (Fernando McKay, Alejandro Sosa, Cristina Hernández, Luis Calcaterra, Willie Cabrera, Arabella Peard y Emilia Seal) por colaborar en generar el ambiente de armonía, tranquilidad y buen humor que se vive a diario.

A mi ex asistente Carolina Mengoni Goñalons, por comprometerse de lleno con el proyecto y ayudarme tan eficientemente. A Sonia Cabrera por ayudarme en el campo y a Mariel Guala por volver.

\* Y además quiero agradecer a muchas personas que me acompañaron en algún momento de este camino:

A mis amigas biólogas de siempre (Mercedes Fuertes, Victoria Criado, Virginia Pasquinelli y Lucía Rossi) por ser incondicionales, apoyarme, criticarme, acompañarme y quererme durante todos estos años.

A mis ex compañeros de pasantía, mis amigos grosos: Jimena Dorado, Joaquín Sacco, Juan Pablo Livore y Cynthia Cagnotti por los maravillosos momentos compartidos mientras todos éramos pasantes del lab.

A Mariana Manteca Acosta, mi ex asistente, ex tesista, actual amiga, socia y mi otro yo, por ocupar ese lugar tan especial en mi vida, por su amor y alegría constantes.

A Paula Pampin, mi amiga de trapecio, por ser tan directa y transparente y estar siempre ahí para compartir las pequeñas y grandes cosas que nos suceden a diario.

A mi familia, porque si los hubiera podido elegir, los hubiera elegido sin dudas. En especial a mis viejos Estela Pettinari y Vicente Varone, por apoyar y alegrarse siempre con mis elecciones. A mis hermanos Nicolás y Luciano por ser tan divertidos, y a mi abuela Nana por recordarme siempre cuáles son las cosas importantes de la vida.

Y por último, a quienes más amo en este mundo: Fabián Benítez y Felipe Benítez Varone. A Fabi por llegar a mi vida tan casualmente y quedarse para compartir esta etapa tan especial y única, ya más maduros y con ganas de seguir creciendo juntos. Y a los dos por darme la posibilidad de atravesar la maternidad con tanto amor y alegría.

Dedico este trabajo a mi nueva familia: Fabián y Felipe

# Índice

<b>Capítulo 1. Introducción al problema: <i>Cactoblastis cactorum</i></b> .....	11
1.1. Antecedentes.....	13
1.1.1. Control biológico.....	13
1.1.2 Biología de <i>Cactoblastis cactorum</i> .....	14
1.1.3. Plantas hospedadoras de <i>Cactoblastis cactorum</i> : <i>Opuntia</i> spp.....	15
1.2. Objetivos .....	18
<b>Capítulo 2. Patrón de uso, preferencia y rendimiento en el desarrollo de <i>C. cactorum</i> sobre plantas hospedadoras del género <i>Opuntia</i> en Argentina.</b> .....	19
2.1. Introducción .....	19
2.2. Materiales y métodos .....	23
2.2.1. Patrón de uso de plantas hospedadoras en el campo .....	23
2.2.2. Preferencia de las hembras: experimento de elección múltiple.....	25
2.2.3. Rendimiento en el desarrollo: Experimento de no-elección .....	26
2.2.4. Análisis estadístico .....	27
2.2.4.1. Patrón de uso de plantas hospedadoras .....	28
2.2.4.2. Preferencia de las hembras: Experimento de elección múltiple .....	29
2.2.4.3. Rendimiento en el desarrollo: Experimento de no-elección .....	29
2.2.5. Identificación de insectos y plantas hospedadoras .....	29
2.3. Resultados.....	30
2.3.1. Patrón de uso de plantas hospedadoras en el campo .....	30
2.3.2. Preferencia de las hembras: Experimento de elección múltiple .....	34
2.3.3. Rendimiento en el desarrollo: Experimento de no-elección .....	37
2.4. Discusión.....	38
<b>Capítulo 3. Adaptación local de <i>C. cactorum</i> a sus plantas hospedadoras y compatibilidad reproductiva entre clados de diferentes regiones</b> .....	45



3.1. Introducción .....	45
3.2. Materiales y métodos .....	47
3.2.1. Adaptación local: prueba de rendimiento en el desarrollo con alimentación recíproca.....	47
3.2.2. Compatibilidad reproductiva: prueba de apareamiento cruzado .....	48
3.2.3. Análisis estadístico .....	49
3.3. Resultados.....	49
3.3.1. Adaptación local: prueba de rendimiento en el desarrollo con alimentación recíproca.....	49
3.3.2. Compatibilidad reproductiva: prueba de apareamiento cruzado .....	52
3.4. Discusión.....	53
<b>Capítulo 4. Enemigos naturales de <i>Cactoblastis cactorum</i>: su distribución y especificidad, y protocolo de cría de <i>Apanteles opuntiarum</i>.....</b>	<b>57</b>
4.1. Introducción .....	57
4.2. Materiales y métodos .....	59
4.2.1 Relevamiento de enemigos naturales de <i>Cactoblastis cactorum</i> .....	59
4.2.2. Identificación taxonómica .....	60
4.2.3. Estudios en laboratorio de <i>Apanteles opuntiarum</i> .....	60
4.2.4. Análisis estadístico .....	62
4.3. Resultados.....	63
4.3.1. Relevamiento de enemigos naturales de <i>Cactoblastis cactorum</i> .....	63
4.3.2. Estudios en laboratorio de <i>Apanteles opuntiarum</i> .....	68
4.4. Discusión.....	70
<b>5. Discusión general y conclusiones .....</b>	<b>74</b>
<b>6. Referencias .....</b>	<b>78</b>

- **Publicaciones generadas a partir de este trabajo:**

**Varone, L., Manteca Acosta, M., Logarzo, G. A., Briano, J. A., Hight, S. D. & Carpenter, J. E. 2012.** Laboratory performance of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) on South and North American *Opuntia* species occurring in Argentina. Florida Entomologist 95 (4): 1163-1173.

**Briano, J. A., Varone, L., Logarzo, G. A. & Villamil, C. 2012.** Extended geographical distribution and host range of the cactus moth, *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae), in Argentina. Florida Entomologist 95(1): 233-237.

**Varone, L., Logarzo, G. A., Briano, J. A., Hight, S. D. & Carpenter, J. E.** *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae) use of *Opuntia* host species in Argentina. Enviado a la revista Biological Invasions.

**Mengoni Goñalons, C., Logarzo, G. A. , Guala, M., Hight, S. D. & Carpenter, J. E. and Varone, L.** Geographical range and laboratory studies of *Apanteles opuntiarum* (Hym: Braconidae) in Argentina, a candidate for the biological control of *Cactoblastis cactorum* (Lep: Pyralidae) in North America. En preparación.

**Varone, L., Logarzo, G. A., Martínez, J. J., Hight, S. D. & Carpenter, J. E.** Field host range of *Apanteles opuntiarum* Martínez & Berta (Hym: Braconidae) in Argentina, a candidate for the biological control of *Cactoblastis cactorum* Berg (Lep: Pyralidae) in North America. En preparación.

- **Publicaciones generadas en colaboración con otros grupos de trabajo:**

**Martínez, J. J., Berta, C., Varone, L., Logarzo, G. A., Zamudio, P., Zaldívar-Riverón, A. & Aguilar-Velasco. R. G. 2012.** DNA barcodes and morphological identification of the southern South American species of *Apanteles* (Hymenoptera: Braconidae) parasitoids

of cactus feeding moths (Lepidoptera: Pyralidae: Phycitinae). *Invertebrate Systematics* 26: 435-444.

**Brooks, C. P., Ervin, G. N., Varone L. & Logarzo, G. A. 2012.** Native ecotypic variation and the role of host identity in the spread of an invasive herbivore, *Cactoblastis cactorum*. *Ecology* 93(2): 402–410.

**Brooks, C.P., B.H. Lambert, K.E. Sauby, G.N. Ervin, L. Varone and G.A. Logarzo. 2013.** Larval morphology and host use confirms ecotypic variation in *Cactoblastis cactorum* (Berg). *Biological Invasions* 15:xxx-xxx. doi: 10.1007/s10530-013-0497-9. En prensa.

## Capítulo 1. Introducción al problema: *Cactoblastis cactorum*.

Las especies del género *Cactoblastis* son lepidópteros nativos de Sudamérica (Mann, 1969) que pertenecen a la familia Pyralidae, subfamilia Phycitinae. *Cactoblastis cactorum* (Berg), también conocida como la “polilla de la tuna”, se encuentra en forma natural en Argentina, Uruguay, Paraguay y el sur de Brasil (Mann, 1969). Los adultos son de hábitos nocturnos; las larvas son oligófagas y se alimentan de manera gregaria y exclusivamente de cactus del género *Opuntia* en Sudamérica, pero atacan también otros géneros de cactáceas en zonas invadidas de Norteamérica (Zimmermann et al., 2000). Las hembras oviponen sobre las pencas de los cactus, y las larvas que emergen penetran la penca y se alimentan internamente de los tejidos, causando decaimiento de la planta (Zimmermann et al., 2007) y generando a menudo la introducción de infecciones secundarias causadas por patógenos que conducen a la muerte de la planta (Starmer et al., 1988).

*Cactoblastis cactorum* es uno de los agentes de control biológico más utilizados contra distintas especies de *Opuntia* invasoras en todo el mundo (Zimmermann et al., 2007). Desde la década de 1920, ha sido utilizado con éxito en Australia y Sudáfrica, donde no hay cactus nativos (Dodd, 1940; Julien & Griffiths, 1998; Moran & Zimmermann, 1984; Pettey, 1948). En 1957, *C. cactorum* fue introducida intencionalmente en la isla caribeña de Nevis y luego en otras islas cercanas donde controló efectivamente especies de *Opuntia* nativas (Simmonds & Bennett, 1966). Posteriormente la polilla se dispersó por el Caribe (García-Turudi et al., 1971) y fue encontrada en los Cayos de Florida, Estados Unidos, en 1989 (Habeck & Bennet, 1990).

En los Estados Unidos, la distribución de la polilla se extendió hacia el oeste a lo largo de la costa del Golfo de México hasta el estado de Louisiana (USDA-APHIS-PPQ, 2009) y hacia el norte a lo largo de la costa Atlántica hasta Bull Island, Carolina del Sur (Hight & Carpenter, 2009). Además, dos poblaciones de *C. cactorum* encontradas en Isla Mujeres e Isla Contoy, México, en 2006 y 2007, respectivamente (Bloem et al., 2007; Hight & Carpenter, 2009) fueron erradicadas eliminando plantas infestadas en combinación con la técnica de insecto estéril (su sigla en Inglés, SIT: Sterile Insect

Technique) (NAPPO, 2009). En los Estados Unidos, un intenso plan de manejo integrado combina diversas técnicas, tales como el desarrollo y aplicación del SIT, desarrollo de una feromona sintética para la detección temprana de las polillas en áreas de alto riesgo, campañas de comunicación de riesgo y saneamiento por remoción de plantas atacadas (Hight et al., 2008). A pesar de que este programa ha tenido éxito parcial desde Pensacola, Florida, hasta las islas de Mississippi, la polilla sigue dispersándose hacia el oeste de Estados Unidos y amenaza la biodiversidad de cactus nativos, especialmente a especies de *Opuntia* raras y en peligro de extinción (Jezorek et al., 2010). Muchas especies en los Estados Unidos y México son de interés ornamental y económico, particularmente *Opuntia ficus-indica* L. Miller lo es para la industria de la tuna, ampliamente utilizada para forrajeo y alimentación (Perez-Sandi C., 2001; Soberón et al., 2001; Strong & Pemberton, 2000).

Hasta el momento, ningún método ha sido totalmente satisfactorio para controlar a *C. cactorum* en los Estados Unidos (Stiling, 2002). El control químico no ha sido recomendado por su costo, la sensibilidad ecológica de muchas áreas donde sería aplicado, y porque dada la alimentación interna del insecto, las aplicaciones aéreas probablemente no serían eficaces (Vigueras & Portillo, 2001). Otro enfoque integrado de control sería reducir primero las densidades de las poblaciones con agentes de control biológico y luego aplicar el SIT. Las técnicas actuales de control biológico implementadas con alto rigor científico evitarían los efectos no deseados como los ocasionados en el pasado por la liberación y propagación de *C. cactorum* (Pemberton, 2000), como es la llegada accidental a América del Norte amenazando la industria y biodiversidad de cactus nativos. Además, aumentarían la eficiencia del control biológico y su confiabilidad. Las investigaciones básicas sobre la biología y la ecología tanto de la especie invasora como de sus enemigos naturales son imprescindibles para entender y manejar la invasibilidad de una plaga (Sakai et al., 2001). El mayor desafío es caracterizar apropiadamente a las poblaciones de las especies introducidas para entender su dinámica y dispersión en el rango invadido. En el caso de *C. cactorum*, conocer la gama de hospedadoras y los factores que determinan su distribución en el área nativa ayudará a determinar el espectro de posibles hospedadoras en las áreas

donde es invasora, y evaluar el riesgo de su futura expansión. Por otro lado, identificar enemigos naturales de *C. cactorum* efectivos para su control biológico contribuirá al desarrollo de una herramienta más para un proyecto de control integrado exitoso.

## **1.1. Antecedentes**

### **1.1.1. Control biológico**

Las especies invasoras, una vez establecidas, generan un daño que es difícil de revertir, a menudo persisten indefinidamente, y suelen extender sus límites de distribución. La reducción del daño en pequeñas áreas mediante control químico o físico-mecánico es posible para sistemas de alto rendimiento económico si se dispone de fondos y personal. Pero a nivel de paisaje, estas herramientas funcionan solamente en áreas pequeñas o aisladas, evitando la re-infestación rápida. En áreas continentales de mayor extensión, las especies invasoras no son erradicadas fácilmente (Mohan & Sathiamma, 2007). Para estos casos, el control biológico (CB) es una herramienta a ser considerada, porque si es exitoso, trae un cambio ecológico permanente (Van Driesche et al., 2008).

En el CB se utilizan enemigos naturales de un insecto plaga o maleza para reducir su densidad poblacional, cobertura, etc. (Beddington et al., 1978; Van den Bosch, 1971). En la práctica, se distinguen varios tipos de CB (Roderich & Navajas, 2003): 1) el *conservativo* protege el hábitat para aumentar la abundancia, diversidad y efectividad del enemigo natural ya presente; y 2) el *augmentativo* se basa en la cría masiva del enemigo natural para su posterior liberación. Este último tipo de CB puede ser a) inoculativo (o control biológico clásico), en donde organismos exóticos se importan, crían y liberan para el control de una plaga exótica y que evolucionó en asociación; se reproducen y perpetúan en el ambiente por sí mismos; o b) inundativo, cuando los organismos liberados se reproducen pobremente y deben volver a liberarse periódicamente. Una variante en el CB inoculativo puede ser la “nueva asociación”, que se refiere al uso de un organismo para el CB de otro con el que no tuvo conexión evolutiva previa. Pimentel (1963) fue quien introdujo este concepto, que reúne nuevas combinaciones de enemigos naturales y plagas. Por ejemplo, cuando las plagas son

especies nativas pueden ser controladas con enemigos naturales recolectados de especies emparentadas con dicha plaga presentes en otras regiones biogeográficas. Para tales proyectos, la fuente potencial de enemigos naturales serían especies cercanamente relacionadas (del mismo género o tribu) o ecológicamente similares a la plaga a controlar pero que se encuentran en áreas biogeográficas separadas con climas similares.

### **1.1.2 Biología de *Cactoblastis cactorum***

El ciclo de vida de *C. cactorum* fue descrito en detalle por Dodd (1940), Pettey (1948) y Mann (1969). Las larvas de esta polilla se alimentan de manera gregaria dentro de las pencas de cactus, consumiendo su interior, y evitando generalmente los troncos leñosos. El amarillamiento y la transparencia de las pencas infestadas, así como el excremento que es empujado al exterior a través de pequeños orificios, son señales de infestación (Figura 1.2). *Cactoblastis cactorum* se desarrolla a través de cinco o seis estadios larvales dentro de la planta. Las larvas maduras son de color naranja brillante con bandas negras transversales (continuas o interrumpidas) y alcanzan unos 3 cm de longitud. Cuando llegan al último estadio larval, salen de las pencas, se dirigen al suelo y tejen capullos de seda en lugares protegidos (Figura 1.3), principalmente debajo de las pencas secas o en putrefacción en la base de la planta infestada.

Las polillas adultas (Figura 1.3) emergen durante el crepúsculo, se aparean temprano en la mañana y las hembras comienzan a oviponer a la mañana siguiente. Los huevos tienen forma de moneda, y son colocados uno encima del otro, formando un pequeño bastón que se asemeja a una espina de cactus (en inglés "eggstick") y que es adherido a la planta hospedadora, frecuentemente a la punta de una espina (Dodd, 1940; Mann, 1969; Pettey, 1948). Los adultos no se alimentan y viven unos pocos días. Generalmente, *C. cactorum* tiene dos o tres generaciones por año, dependiendo de la latitud y de la planta hospedadora (Mann, 1969). La habilidad dispersiva de una hembra fue estimada en Australia en 24 kilómetros (Dodd, 1940) y se calculó que la dispersión de la población hacia el oeste en las costas del Golfo de México fue de 160 km/año (Hight et al., 2002; Solis et al., 2004).

Hay cinco especies descritas pertenecientes al género *Cactoblastis*: *C. cactorum*, *C. bucyrus* Dyar, *C. mundelli* Heinrich, *C. doddi* Heinrich y *C. ronnai* (Brèthes), aunque esta última tiene una validez taxonómica dudosa. Las especies son distinguibles por su genitalia (Heinrich, 1939) y el patrón de coloración de las larvas (McFadyen, 1985), y todas ellas están confinadas al sur de Sudamérica. Recientemente se han identificado y caracterizado genéticamente las poblaciones de *C. cactorum* de Argentina, y se distinguieron al menos cuatro clados aislados (Marsico et al., 2011), basándose en la estructura de los datos de la secuencia del gen mitocondrial "COI". También demostraron que todas las poblaciones introducidas en el resto del mundo se originaron de una única colección hecha en Entre Ríos.

### **1.1.3. Plantas hospedadoras de *Cactoblastis cactorum*: *Opuntia* spp.**

La familia Cactaceae está muy diversificada en morfología, adaptaciones al medio ambiente y en sistemas de reproducción. Esta familia está formada por 1600-1800 especies y 125 géneros restringidos a América (Anderson, 2001; Barthlott & Hunt, 1993), de los cuales *Opuntia* es el que presenta el mayor número de especies. La taxonomía dentro del género es altamente confusa debido a tres factores: a) sus fenotipos varían de acuerdo con las condiciones ecológicas y el grado de poliploidía, b) su reproducción, es tanto vegetativa como sexual; y c) la existencia de numerosos híbridos interespecíficos (Kiesling 1999; Anderson 2001). Dentro de las cactáceas, las especies del género *Opuntia* poseen una amplia distribución geográfica y ocupan una gran diversidad de hábitats. Son originarias de América tropical y subtropical y en la actualidad se encuentran en forma silvestre o cultivada en todo el continente americano. Además han sido introducidas a África, Asia, Europa, y Oceanía, donde también se cultivan o se encuentran de forma silvestre (Anderson, 2001; Bravo-Hollis, 1991; Griffith, 2004; Kiesling, 1999).

En nuestro país, este género está representado por aproximadamente 20 especies distribuidas desde Río Negro hasta el límite con Paraguay y Bolivia (Kiesling, 1999). Algunas especies fueron introducidas, como ocurre con *O. ficus-indica*, que es cultivada desde hace más de 500 años. Los hábitos de crecimiento son muy variables. Por ejemplo,



entre las especies nativas de Argentina, *O. arechavaletae* Speg. tiene un tronco erecto muy ramificado (1-3 m de altura) con segmentos de tallo alargado y espinas ampliamente separadas (2.5-5 cm); *O. elata* var. *elata* Link & Otto ex Salm-Dyck es una especie arbustiva con pencas gruesas y a veces sin espinas, que se la diferencia de la variedad *O. elata* var. *cardiosperma* (K. Schum.) R. Kiesling por sus artejos más estrechos y elípticos y mayor cantidad de espinas y de mayor longitud; *O. megapotamica* Arechav. es un cactus arbustivo de pencas redondeadas, espinas largas y mucílago denso característico; *O. anacantha* Speg. es una especie generalmente postrada, con artejos alargados y poco espinosos, muy ramificada y que forma matas intrincadas; *O. quimilo* K. Schum. es una especie muy común y es el cactus arbóreo nativo más grande de Argentina (4 m) con espinas largas (7-15 cm) y grandes areolas prominentes; y *O. sulphurea* G. Don in Loudon es rastrera y forma especies con numerosas espinas irregulares (2-6 cm de largo) (Kiesling, 2005). Esta última especie crece dentro de la distribución de *C. cactorum* pero se la observa frecuentemente atacada por la especie hermana *Cactoblastis doddi* (Zimmermann et al., 1979).

Estudios de campo indican que *C. cactorum* utiliza varias especies de *Opuntia* como hospedadoras, y que algunas especies nativas, como *O. quimilo*, serían resistentes a su ataque (Zimmermann et al., 2007; Zimmermann et al., 1979). Sin embargo, estos estudios son imprecisos y no se realizaron con muestreos ni de manera sistemática. Es común encontrar la afirmación que *C. cactorum* utiliza todas las especies de *Opuntia* presentes en Argentina, sin especificar la identidad de las especies. Además se sabe poco sobre los factores que determinan la selección y aceptación de las plantas hospedadoras.

Relevamientos preliminares realizados por Logarzo y Varone indican que *C. cactorum* es una especie común y ampliamente distribuida en Argentina, que ataca con distinta intensidad a varias especies de *Opuntia*. Además, se observaron diferentes patrones geográficos de utilización de las especies de *Opuntia* (Brooks et al., 2012) basados en la estructura genética encontrada por Marsico et al. 2010 (Figura 1.1).

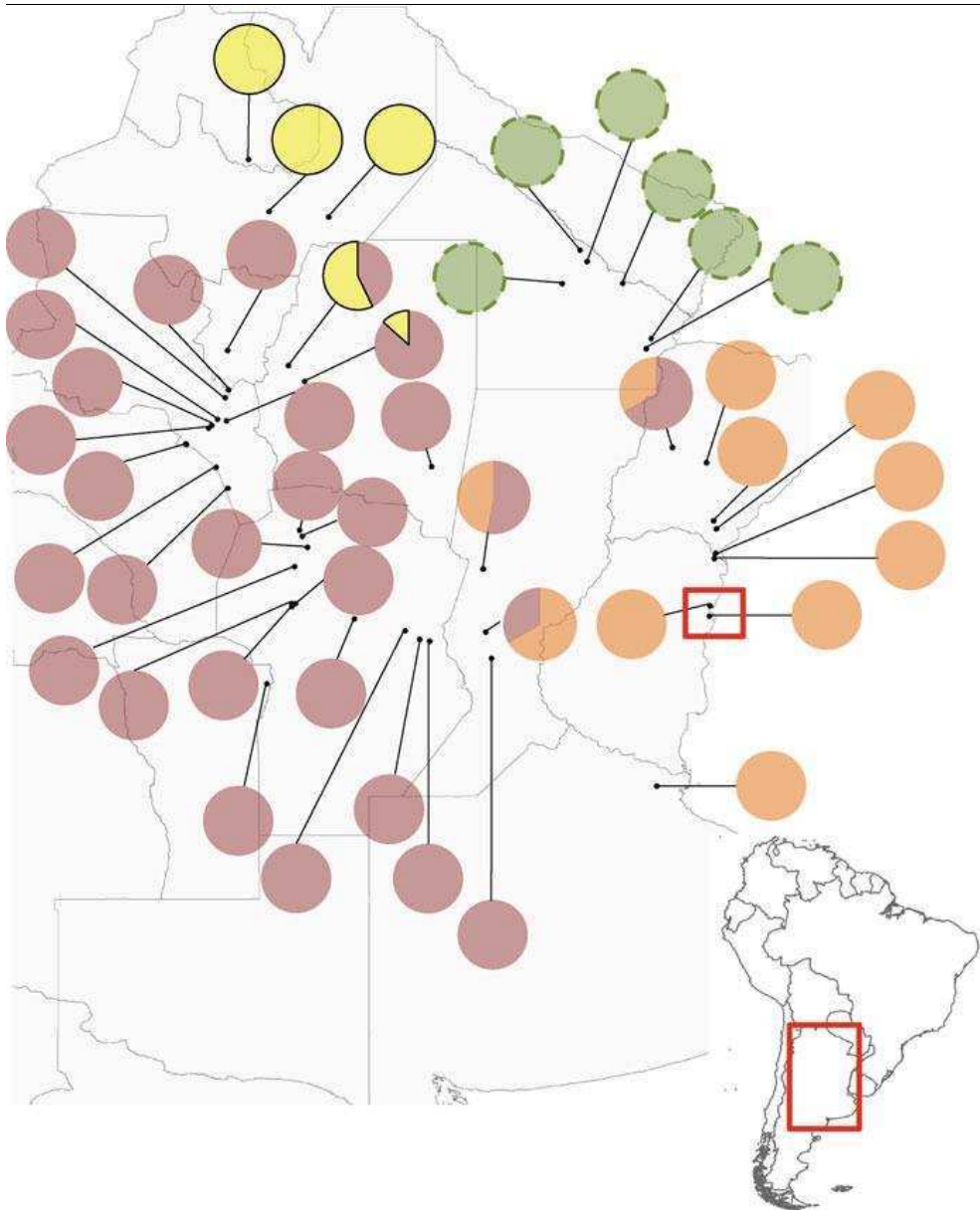


Figura 1.1. Distribución geográfica de clados de *C. cactorum* en Argentina, su área de distribución nativa. Los círculos morados corresponden al grupo geográfico del oeste, los naranjas al grupo del este, los verdes al grupo de noroeste y los amarillos al grupo del noroeste. Mapa tomado de Marsico et al. 2010.



Figura 1.2. Larvas de *Cactoblastis cactorum* de último estadio alimentándose de manera gregaria de una *Opuntia* sp. (izquierda) y signos externos de alimentación (derecha).



Figura 1.3. Puparios (izquierda) y adulto hembra (derecha) de *Cactoblastis cactorum*.

## 1.2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es estudiar la bioecología de *C. cactorum* en Argentina para proveer la información necesaria para la elaboración de estrategias de manejo integrado que incluyan al control biológico. Para ello, se propusieron los siguientes objetivos particulares:

- 1) Establecer el patrón de uso de hospedadores y su distribución geográfica.
- 2) Estudiar la preferencia de oviposición y el rendimiento en desarrollo sobre las plantas hospedadoras de *Opuntia* comúnmente encontradas en Argentina.
- 3) Estudiar la adaptación local a sus plantas hospedadoras y la compatibilidad reproductiva entre poblaciones de *C. cactorum*.
- 4) Identificar enemigos naturales y sus espectros de hospedadores mediante relevamientos de estadios inmaduros de *C. cactorum*.
- 5) Diseñar métodos de cría para los enemigos naturales seleccionados.

## **Capítulo 2. Patrón de uso, preferencia y rendimiento en el desarrollo de *C. cactorum* sobre plantas hospedadoras del género *Opuntia* en Argentina.**

### **2.1. Introducción**

Un aspecto teórico central en biología y ecología es conocer la combinación de factores que determinan la distribución de especies (Darwin, 1859; von Humboldt, 1805); y en el contexto de las interacciones insecto-planta, la elección de hospedadores por parte de las hembras es considerado un tema central (Bernays & Chapman, 1994).

Los insectos herbívoros están necesariamente asociados con sus plantas hospedadoras, y la distribución de los individuos entre las especies de plantas a nivel de paisaje puede describirse como “patrón de uso de hospedadores”. Las poblaciones de insectos fitófagos de una misma especie exhiben frecuentemente diferencias geográficas en el uso de plantas hospedadoras, como han demostrado muchos estudios ecológicos y evolutivos (Fox & Morrow, 1981; Logarzo et al., 2011; Singer, 1983; Thomas et al., 1990; Thompson, 1988b; Wiklund, 1974).

Estas diferencias geográficas en el uso de hospedadores se han atribuido generalmente a uno de dos factores: 1) la variación espacial en la abundancia de las plantas hospedadoras en el ambiente geográfico (Courtney & Forsberg, 1988; Wiklund, 1974), o 2) las diferencias en las preferencias de las hembras entre las poblaciones de insectos de una misma especie (Forister, 2004; Singer, 1983; Singer et al., 1991; Thompson, 1988b).

La preferencia es considerada como un rasgo comportamental cuando la alimentación y/o la oviposición es más probable que ocurra sobre alguna especie particular de planta, que sobre especies alternativas (Singer, 2000). Convencionalmente, la preferencia de las hembras se evalúa ofreciendo varios hospedadores simultáneamente y esperando que ella siga un orden jerárquico de elección sobre los mismos (Thompson, 1988a). Otro método para evaluar la existencia de selectividad de las hembras entre poblaciones de diferentes áreas geográficas es comparar la proporción de recursos en la dieta de los herbívoros en función de su disponibilidad

(Singer, 2000). Si los insectos encuentran hospedadores en proporción a su abundancia, y la probabilidad de aceptación de cada tipo de hospedador no cambia con la abundancia, la selectividad será similar a través de un paisaje con diferentes abundancias relativas de los diferentes tipos de hospedadores (Kuussaari et al., 2000). Si las hembras tienen la misma selectividad, las diferencias en el uso de hospedadores en poblaciones distantes podrían simplemente reflejar la variación geográfica en la disponibilidad de especies de plantas aceptables (Thompson, 1988b; Wiklund, 1974).

Alternativamente, se encontraron patrones de uso de hospedadores donde las hembras difirieron en sus preferencias y se formularon varias teorías que moldean la relación entre la preferencia y el rendimiento de su descendencia (revisiones en Thompson 1988a, Jaenike 1990 y Mayhew 1997). La premisa básica de la mayoría de las teorías establece que la preferencia de las hembras se ve reflejada en el rendimiento de su descendencia. La selección natural debiera favorecer a las hembras que tengan una habilidad para discriminar entre hospedadores que confieren diferentes ventajas para el desarrollo larval (Jaenike, 1978; Levins & MacArthur, 1969; Mayhew, 1997). Estas teorías fueron denominadas indistintamente como “teoría de oviposición óptima” (*optimal oviposition theory*), “hipótesis de preferencia-rendimiento” (*preference-performance hypothesis*) o “la madre sabe mejor” (*mother-knows-best-hypothesis*). De estas teorías se deriva la predicción que establece que la descendencia se desempeñará mejor en las plantas elegidas por las madres, sin considerar los efectos de los competidores ni los enemigos naturales.

Para los insectos herbívoros invasores, el uso de hospedadores en áreas nuevas pueden ser diferentes de los patrones en su área nativa, porque frecuentemente encuentran nuevas hospedadoras en las zonas invadidas. Como todos los eventos de colonización son iniciados por una hembra que acepta o no una planta como sustrato de oviposición (Renwick & Chew, 1994; Stefanescu et al., 2006), los patrones de uso de hospedadores son determinados por las hembras a través de los comportamientos de selección de hospedador y preferencia. Pero en última instancia, la supervivencia de la descendencia se verá afectada por la planta elegida (Van Nouhuys et al., 2003).

En el caso de la invasión de *C. cactorum*, a pesar de que se identificaron cuatro clados en Argentina, todas las poblaciones exóticas parecen derivar de un solo clado perteneciente a la población ubicada en el este de su área de distribución nativa (Marsico et al., 2011). Esto sugirió que la exportación de un único ecotipo de la polilla impondría fuertes limitaciones bióticas en su distribución exótica. Se propuso que si la preferencia y espectro de hospedadoras del genotipo exportado fueran limitados y distintos del resto de los ecotipos, las consecuencias en la dinámica de la invasión serían diferentes de, por ejemplo, una invasión generada por varios genotipos simultáneamente, o de una generada por una especie con la misma preferencia para todos sus genotipos (Brooks et al., 2012). Este último estudio demostró que el uso de hospedadoras en el área de distribución nativa difiere entre grupos genéticos y proporcionaron algunas evidencias de que estos patrones reflejarían la variación ecotípica. Sin embargo, la falta de datos regionales sobre la abundancia relativa de las hospedadoras impidió identificar si el patrón observado se relacionaba con la disponibilidad de hospedadoras o reflejaba selectividad de las hembras.

Si bien se realizaron estudios sobre preferencia de oviposición de *C. cactorum* y desarrollo larval sobre especies de *Opuntia*, se utilizaron especies nativas o naturalizadas comunes en México y el suroeste de Estados Unidos que representan nuevas asociaciones para *C. cactorum* (Jezorek et al., 2010). En dicho trabajo, se demostraron ciertas jerarquías en la preferencia de oviposición, pero no se correlacionaron con el desempeño larval esperado por la teoría de oviposición óptima.

Por otro lado, se ha identificado una lista de hospedadoras nativas y exóticas de *C. cactorum* en Argentina (Dodd, 1940; Mann, 1969; Zimmermann et al., 1979), pero no se han realizado estudios sistemáticos de uso de hospedadoras en Argentina. Estos relevamientos se concentraron en la búsqueda de agentes de control biológico para especies de *Opuntia* invasoras, y no en determinar específicamente su espectro de plantas hospedadoras.

Además, la sistemática de *Opuntia* es compleja, confusa y cambiante, debido en parte al fenómeno de hibridación, muy común en este género (Anderson, 2001; Kiesling, 1999). La larga lista de *Opuntia* spp. registradas como hospedadoras de *C. cactorum* en

América del Sur preparada por Mann (1969), basándose en Dodd (1940), incluye identificaciones erróneas de varias especies. Por ejemplo, *O. delaetiana* F.A.C. Weber y *O. monacantha* Haworth (Willdenow) fueron inicialmente identificadas como las hospedadoras nativas de Argentina donde *C. cactorum* fue originalmente recolectada y enviada a Australia para el control biológico de *Opuntia* spp. invasoras. Hoy, *O. delaetiana* es considerada *O. elata* var. *cardiosperma* (Kiesling, 2005), y *O. monacantha* pudo haber sido *O. elata* var. *elata* u *O. megapotamica*, ya que *O. monacantha* es nativa de Brasil (Lenzi, 2008; Taylor et al., 2002), y se la encuentra actualmente en Argentina, pero sólo como especie ornamental y no de forma silvestre (Kiesling, 2005). Por lo tanto, sigue siendo incierta la especie hospedadora original de las polillas exportadas a Australia.

El presente capítulo investiga aspectos pendientes en la determinación de los patrones de uso de hospedadoras de varios clados de *C. cactorum* sobre especies de *Opuntia* nativas y exóticas comúnmente encontradas en Argentina, así como el éxito en el desarrollo larval en dichas especies. Los datos obtenidos complementarán los estudios previos y proporcionarán información sobre el impacto potencial y la dispersión de la polilla de la tuna en América del Norte. En la primera parte de este capítulo se estableció el patrón de utilización de hospedadoras de *C. cactorum* basado en la disponibilidad y uso de especies de *Opuntia* presentes en Argentina. Se consideró la abundancia de cada especie hospedadora y presencia de *C. cactorum* cubriendo el área de distribución geográfica de los cuatro clados identificados, y la ampliación del registro hacia el sur de su distribución recientemente documentada (Briano et al., 2012). En la segunda parte, se evaluó en laboratorio la preferencia de las hembras de *C. cactorum* sobre especies de *Opuntia*, nativas y exóticas de Argentina y se determinó posteriormente el éxito en el desarrollo. Para cada especie de planta hospedadora, se estimó la supervivencia y el tiempo de desarrollo larval, y la proporción de hembras y fecundidad potencial de los adultos de *C. cactorum* de la descendencia. Se hipotetizó que el patrón de uso de hospedadoras de *C. cactorum* en las distintas áreas geográficas es producto de la preferencia de las hembras. En caso de existir dicha preferencia, ésta se correspondería con el éxito en el desarrollo de su descendencia.

## 2.2. Materiales y métodos

### 2.2.1. Patrón de uso de plantas hospedadoras en el campo

Los relevamientos para determinar la disponibilidad y utilización de plantas hospedadoras se realizaron entre enero de 2008 y mayo de 2011 siguiendo la distribución registrada de *C. cactorum* en Argentina (Zimmermann et al., 1979) y expandiéndola hacia el sur. Los sitios de muestreo incluyeron cultivos de *O. ficus-indica* y parches de otras *Opuntia* nativas y exóticas en las banquinas de las rutas y áreas naturales. El área total relevada se dividió en seis regiones (Figura 2.1), a saber: Regiones Oeste (O; entre 26-32° S y 62-67° O), Este (E; entre 28-33° S y 57-60° O), Noreste (NE; entre 23 y 26° S y 62-66° O) y Noroeste (NO; entre 23-27° S y 58-61° O), que correspondieron a los diferentes clados de *C. cactorum* identificados por Marsico et al. (2011); Región Híbrida (H; entre las regiones Oeste y Este), con presencia de varios clados; y Región Sur (S; entre 32-40° S y 58-64° O), que correspondió a poblaciones genéticamente no analizadas.

Dentro de cada región se recorrieron rutas nacionales y provinciales, y algunos caminos secundarios para cubrir la mayor área posible. En la región oeste se recorrió la provincia de Córdoba por las rutas nacionales n° 8, 9, 38 y 60, y la ruta provincial n° 13; la provincia de Catamarca por las rutas nacionales n° 38, 40, 60 y 157; la provincia de La Rioja por las rutas nacionales n° 38, 40, 74, 79 y 150; y la provincia de Tucumán por las rutas nacionales n° 9, 38 y 157. En la región este se transitó por la provincia de Entre Ríos por las rutas nacionales n° 12, 14, 18 y 127, y las rutas provinciales n° 2 y 39; y la provincia de Corrientes por las rutas nacionales n° 14, 119, 123 y la ruta provincial n° 27. En la región noreste se recorrió la provincia de Formosa por las rutas nacionales n° 11, 81 y 95, y la provincia de Chaco por las rutas nacionales n° 11, 16, 89, 95, y la ruta provincial n° 3. En la región noroeste se transitó por la provincia de Salta por las rutas nacionales n° 9, 16, 34, 68 y 81; y la provincia de Jujuy por las rutas nacionales n° 9, 34 y 52. En la región híbrida se recorrió la provincia de Santa Fe por las rutas nacionales n° 9, 33 y 34; y la provincia de Santiago del Estero por las rutas nacionales n° 9, 34 y 64.



Finalmente, en la región sur se recorrió la provincia de Buenos Aires por las rutas nacionales n° 3, 5, 7 y 8; el sector norte de la provincia de Río Negro por las rutas nacionales n° 3, 22 y 250; la provincia de Mendoza por las rutas provinciales n° 7, 40, 143 y 188; y la provincia de La Pampa por la ruta nacional n° 5, 35 y 151, y la ruta provincial n° 10.

Los sitios de muestreo fueron seleccionados sistemáticamente cada 30 km aproximadamente, al transitar por las rutas y visualizar un parche de *Opuntia*. Se consideró como un parche a un grupo compuesto por más de 5 plantas de una misma especie de *Opuntia*. Se relevó un total de 228 sitios conteniendo 359 parches de alguna especie de *Opuntia*. En cada sitio se registraron: la disponibilidad de *Opuntia* spp. y la utilización de *C. cactorum*, contabilizando la cantidad de parches de cada especie de *Opuntia*, la cantidad de plantas en cada parche y la presencia de *C. cactorum*. Los parches con menos de cinco plantas y las especies de *Opuntia* encontradas en menos de cinco parches fueron excluidos del análisis.

En cada una de las seis regiones se determinó la disponibilidad de plantas hospedadoras como el número de parches de cada especie de *Opuntia*, y el uso de *C. cactorum* sobre dichas plantas como el número de parches con huevos o larvas. La presencia de larvas fue confirmada con la apertura de las pencas que mostraron externamente signos de alimentación interna (Figura 1.2). Tanto larvas como huevos fueron transportados al laboratorio para que continuaran su desarrollo sobre la misma planta donde fueron colectados y su posterior identificación. En parches compuestos por 5-30 individuos, todas las plantas fueron inspeccionadas visualmente; en parches más grandes se inspeccionaron sólo 30 plantas seleccionadas al azar.

### 2.2.2. Preferencia de las hembras: experimento de elección múltiple

La preferencia de oviposición de *C. cactorum* se evaluó con dos experimentos de elección múltiple realizados en jaulas de tela (1.7 x 1.7 x 1,7 m) ubicadas en el jardín del laboratorio. En el primer experimento se incluyeron 10 especies de *Opuntia* en maceta, las 7 especies nativas más frecuentemente encontradas en forma silvestre durante los relevamientos: *O. elata* var. *cardiosperma*, *O. elata* var. *elata*, *O. megapotamica*, *O. quimilo*, *O. anacantha*, *O. arechavaletae* y *O. sulphurea*; y 3 especies nativas de México: *O. ficus-indica*, *O. robusta* y *O. leucotricha*, halladas de manera silvestre o en cultivos. El segundo experimento se llevó a cabo con un subconjunto de seis especies para reducir un eventual factor de confusión de las hembras al tener tantos sustratos de oviposición disponibles. La situación de encontrar seis hospedadoras simultáneamente se observó varias veces durante los relevamientos a campo. Para este segundo experimento, las plantas hospedadoras fueron seleccionadas de la siguiente manera: la dos especies mexicanas atacadas más de lo esperado por azar en el experimento anterior (*O. ficus-indica* y *O. leucotricha*); y cuatro especies de América del Sur, dos especies de *Opuntia* menos elegidas en el primer experimento (*O. megapotamica* y *O. elata* var. *elata*); y las dos especies registradas en la literatura como no hospedadoras de *C. cactorum*, *O. quimilo* y *O. sulphurea* (Mann, 1969; Zimmermann et al., 2007).

Las plantas en maceta se prepararon 18 meses antes de las pruebas. Los cladodios (pencas) de cada especie hospedadora fueron recolectados en el campo, transportados al laboratorio y plantados en macetas con tierra para la regeneración de las plantas. Antes de los experimentos, se estimó el tamaño de cada planta sumando el área de cada una de las pencas utilizando la fórmula de una elipse ( $\pi \cdot r^1 \cdot r^2$ ).

En los dos experimentos con 10 y 6 hospedadoras, las macetas con las diferentes *Opuntia* fueron colocadas al azar en disposición circular dentro de las jaulas y se liberaron en el centro 10 parejas de adultos recién emergidos de *C. cactorum*. Después de cuatro días (supervivencia estimada de adultos), las plantas fueron inspeccionadas individualmente y se registraron el número de bastones de huevos y la cantidad de huevos/bastón. Se realizaron 10 réplicas de cada experimento.

Los individuos de *C. cactorum* utilizados en este estudio provinieron de una colonia establecida a partir de huevos recolectados en *O. ficus-indica*, en una plantación en Villa Quilino, provincia de Córdoba, Argentina (S 30 ° 12' 16.4 "W 64 ° 28' 30,9"). La colonia fue mantenida bajo condiciones controladas de temperatura y luz, en cámaras de cría ( $25 \pm 2$  ° C y 14/10 L/O). El protocolo general de cría de *C. cactorum* fue el siguiente: 1) Recolección de bastones de huevos en Villa Quilino y traslado al laboratorio; 2) Colocación de los bastones en cajas de Petri pequeñas y cubiertas con film para impedir su deshidratación hasta su maduración (color oscuro); 3) Colocación de cada bastón maduro sobre una penca de *O. ficus-indica* (para evitar la manipulación de las larvas de primer estadio que emergen y penetran en forma gregaria); 4) Colocación de las pencas con los huevos en un contenedor plástico ventilado con arcilla granulada libre de agregados químicos (Absorsol®) en la parte inferior para absorber los exudados de la penca y de las larvas durante el desarrollo, reemplazada periódicamente; 5) Inspección periódica de los contenedores para suministrar alimento adicional según fuera necesario, hasta pupación; 6) Traspaso de los capullos a vasitos de plástico de 20 ml hasta la emergencia de las polillas; 7) Confinamiento de los adultos emergidos en jaulas cilíndricas de tul con soporte interno de alambre (10 x 15 x 40 cm) para su apareamiento y posterior oviposición.

### **2.2.3. Rendimiento en el desarrollo: Experimento de no-elección**

El rendimiento en el desarrollo larval (del inglés "*larval performance*") fue considerado como un término combinado entre las variables supervivencia y desarrollo larval, tiempo de desarrollo de huevo a pupa, y fecundidad potencial y proporción de hembras de los adultos resultantes, ya que los componentes no siempre están correlacionados (Thompson, 1988a). El rendimiento en el desarrollo de las larvas obtenidas de los huevos depositados durante los experimentos de elección múltiple fue comparado entre las especies de *Opuntia*, permitiendo el desarrollo de las larvas hasta alcanzar el estado pupal en las mismas plantas en maceta donde fueron ovipuestas, y su posterior desarrollo hasta adulto fuera de la planta.

Para obtener datos de rendimiento en al menos tres repeticiones de cada especie de *Opuntia*, se adicionaron manualmente bastones de huevos (secciones de 30 huevos) sobre aquellas especies que fueron poco o no elegidas para oviponer durante los experimentos de elección múltiple.

Luego de la eclosión de los huevos, se registró el número de larvas emergidas y se cubrieron las macetas individualmente con mangas de tela voile para evitar el escape de las larvas, así como para restringir el acceso de enemigos naturales. Como las larvas de *C. cactorum* se alimentan del tejido interno de la penca dejando intacta sólo la cutícula, cuando se quedan sin alimento en una penca se desplazan a otra utilizando los internudos. Por lo tanto, cuando las larvas consumían completamente casi todas las pencas de una planta, la última penca con larvas alimentándose dentro era transferida a una nueva planta en maceta de la misma especie y colocada en su base sobre la tierra. Cuando esta última penca era consumida íntegramente, las larvas salían al exterior y penetraban en una penca de la nueva planta ofrecida. Una vez completado el desarrollo larval, se recolectaron cuidadosamente los capullos del suelo de la maceta o de las paredes de la jaula y se los colocó en vasitos de plástico de 20 ml hasta la emergencia de los adultos, que se fijaron en etanol 96% y se almacenaron refrigerados a -12°C.

Para estimar el rendimiento en el desarrollo se analizaron las variables respuesta de supervivencia y desarrollo larval, tiempo de desarrollo de huevo a pupa, y fecundidad potencial y proporción de hembras de los adultos resultantes. La supervivencia y desarrollo larval se estimó como la proporción de larvas que alcanzaron el estado pupal. Se registraron las fechas de oviposición y las subsecuentes fechas de pupación para calcular el tiempo de desarrollo desde huevo a pupa. Se registró la proporción de hembras y se estimó la fecundidad potencial como el número de folículos de huevos maduros visibles después de disecar el abdomen de las hembras.

#### **2.2.4. Análisis estadístico**

Se utilizó el software DIVA-GIS 7.5.0.0 (Hijmans, 2012) para mapear los sitios muestreados en Argentina. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa InfoStat (Di Rienzo et al., 2008). Se reporta media  $\pm$  error estándar (EE).

#### 2.2.4.1. Patrón de uso de plantas hospedadoras

La preferencia de *C. cactorum* por alguna planta hospedadora fue analizada según el método de Neu et al. (1974), comparando la disponibilidad de las plantas con la proporción de su uso mediante una prueba de bondad de ajuste de Chi-cuadrado. La disponibilidad fue considerada como el número de parches con una especie de *Opuntia* y el uso como la proporción de parches donde se encontró ataque de *C. cactorum* (con huevos o larvas). Se compararon ambas variables en cada región por separado y en todas las regiones agrupadas.

Los supuestos del modelo son que todas las observaciones de los insectos son independientes y que la disponibilidad de cada planta hospedadora es la misma para todas las polillas. Se pusieron a prueba dos hipótesis nulas: 1) *C. cactorum* utiliza las especies de plantas en proporción a su disponibilidad, teniendo en cuenta todas las especies de plantas hospedadoras simultáneamente; 2) *C. cactorum* utiliza la especies de plantas en proporción a su disponibilidad relativa, teniendo en cuenta todas las especies de plantas por separado. La prueba de bondad de ajuste Chi-cuadrado fue utilizada para probar la hipótesis 1. Cuando se detectó una diferencia en el uso de alguna planta, se calcularon intervalos de confianza (IC) simultáneos utilizando una prueba de *t* de utilizando una prueba de *t* de Bonferroni para probar la segunda hipótesis,

$$IC = \hat{p}_j \pm t_{\alpha/2k, n-1} \sqrt{\hat{p}_j(1 - \hat{p}_j/n)}$$

donde  $\hat{p}_j$  es la proporción de plantas utilizadas por *C. cactorum* y  $\alpha/2k$  es utilizado para asegurar que los *k* (número de parches analizados) ICs simultáneos tienen un valor total de  $\alpha = 0,05$ . De esta manera, se establecieron tres categorías: 1) preferencia, si la utilización de la hospedadora fue mayor que su disponibilidad (la disponibilidad de la planta fue menor que el límite inferior del IC); 2) uso en proporción, si la utilización de la hospedadora fue proporcional a su disponibilidad (la disponibilidad de la planta cayó dentro del IC); y 3) evitación, si el uso de la hospedadora fue menor que la disponibilidad (la disponibilidad de la planta fue mayor que el límite superior del IC).

#### 2.2.4.2. Preferencia de las hembras: Experimento de elección múltiple

La preferencia de las hembras de *C. cactorum* también fue analizada con el método de Neu, comparando la disponibilidad de hospedadoras (igual a 1 para todas las opciones) con la proporción relativa de huevos totales puestos en cada especie de planta. La cantidad de huevos puestos por planta se comparó entre las especies de *Opuntia* con una prueba de Friedman. La cantidad total de huevos puestos por especie en función del tamaño de la planta se analizó con una prueba de Kruskal-Wallis. Se consideraron siete categorías de tamaños de planta.

#### 2.2.4.3. Rendimiento en el desarrollo: Experimento de no-elección

Las proporciones de larvas que sobrevivieron fueron transformadas a arcoseno de la raíz cuadrada y comparadas entre las especies de *Opuntia* mediante un ANOVA de un factor. El tiempo de desarrollo de huevo a pupa y la fecundidad potencial fueron transformadas a raíz cuadrada y comparadas con un ANOVA de un factor anidado, siendo la planta individual el factor anidado dentro de las especies de *Opuntia*. Para estimar el tiempo de desarrollo y la fecundidad potencial sólo se utilizaron las especies de *Opuntia* donde dos o más repeticiones produjeron pupas o hembras, respectivamente. La proporción de hembras de la descendencia fue comparada entre especies de *Opuntia* utilizando una prueba de Kruskal-Wallis.

#### 2.2.5. Identificación de insectos y plantas hospedadoras

Los individuos de *Cactoblastis* fueron identificados en estado larval según McFadyen (1985) y confirmados mediante análisis moleculares realizados por T. Marsico de la Universidad Estatal de Mississippi, Mississippi, EE.UU. Las especies de *Opuntia* y otras cactáceas fueron identificadas por F. Font (Facultad de Farmacia y Bioquímica, Herbario Museo de Farmacobotánica Juan Domínguez, Buenos Aires, Argentina), basándose en el sistema de clasificación presentado por Kiesling (2005) y Kiesling y Meglioli (2003). Tanto especímenes de insectos como de plantas se encuentran depositados en la colección de FuEDEI.

## 2.3. Resultados

### 2.3.1. Patrón de uso de plantas hospedadoras en el campo

Las especies de *Opuntia* más utilizadas como plantas hospedadoras fueron las más abundantes en cada región. De los 228 sitios relevados, en 123 (53,9%) estuvo presente *C. cactorum*. Como se encontraron entre 1-6 especies de *Opuntia* por sitio, se registró un total de 334 parches, de los cuales *C. cactorum* atacó 119 (35,6%) (Tabla 2.1).

De las 16 especies de *Opuntia* encontradas, 8 fueron comúnmente halladas y 8 fueron consideradas especies raras dada su baja frecuencia de aparición (menor a 5 parches en Argentina), y fueron excluidas del análisis. La tabla 2.2 muestra la disponibilidad y utilización de *Opuntia* spp. por *C. cactorum* tanto de las especies raras como de las especies comunes pero registradas en menos de 5 parches en algunas regiones.

La disponibilidad de especies de *Opuntia* varió entre las seis regiones, tanto en abundancia de parches como en riqueza y prevalencia de especies. La región oeste concentró la mayor abundancia de parches, con un total de 92, seguida por las regiones noreste y sur, con 59 y 57 parches, respectivamente. La especie exótica *Opuntia ficus-indica* fue la única encontrada en las seis regiones. En las regiones oeste, este y sur se registraron las mayores riquezas de especies, con cuatro especies de plantas hospedadoras en cada una, mientras que en las restantes regiones (noreste, noroeste e híbrida) se hallaron sólo tres especies (Tabla 2.1).

La utilización de parches de *Opuntia* por *C. cactorum* también varió entre regiones. *Cactoblastis cactorum* fue hallada en mayor cantidad de parches en las regiones oeste y este, estando presente en 34 y 30 parches, respectivamente, y en menor cantidad en la región sur, en 9 parches, y en la noroeste, en 7 parches (Tabla 2.1, Figura 2.1). En las regiones oeste, noroeste e híbrida, *O. ficus-indica* fue la especie hospedadora más utilizada por *C. cactorum*, en las regiones este y noreste fue *O. elata* var. *cardiosperma*, y en la región sur *O. megapotamica* (Tabla 2.1). *Opuntia sulphurea* fue la única de las 8 especies comúnmente encontradas que no estuvo atacada por *C. cactorum*,

sin embargo, sí fue atacada por la congénérica *C. doddi* en el 14,3% de los parches disponibles con dicha especie.

Agrupando las regiones, el patrón de utilización mostró nuevamente que las *Opuntia* más abundantes fueron las más utilizadas, siendo *Opuntia ficus-indica* la de mayor abundancia con 114 parches, seguida por *O. elata* var. *cardiosperma* con 48 parches y luego por *O. megapotamica* con 44 parches. Contrariamente, en *O. bonaerensis* se registró la menor abundancia, con sólo 15 parches. Lo mismo ocurrió con la utilización de *C. cactorum*, siendo máxima y atacando 47 parches de *O. ficus-indica*, seguida por 27 parches de *O. elata* var. *cardiosperma* y 18 parches de *O. megapotamica*, y mínima sobre *O. bonaerensis*, con sólo 1 parche atacado (Tabla 2.1).

El análisis estadístico de Neu no mostró ninguna preferencia de *C. cactorum* sobre las especies de *Opuntia* hospedadoras disponibles en todas las regiones juntas. Casi todas las especies fueron utilizadas en proporción a su disponibilidad, con la excepción de *O. bonaerensis* y *O. sulphurea* que fueron evitadas ( $X^2 = 25,1$ ;  $P = 0,0007$ ;  $gl = 7$ ; proporción de plantas disponibles 0,04, intervalo de confianza de la proporción uso CI = 0,03/-0,02 para *O. bonaerensis*; proporción de plantas disponibles 0,08; proporción de uso = 0 para *O. sulphurea*). Cuando se analizó la disponibilidad y el uso dentro de cada región, tampoco se encontró una interacción positiva en ninguna de ellas. En la mayoría de las regiones, *C. cactorum* utilizó las especies de *Opuntia* proporcionalmente a su disponibilidad (este:  $X^2 = 0,23$ ;  $P = 0,97$ ;  $gl = 3$ ; noreste:  $X^2 = 7,36$ ;  $P = 0,06$ ,  $gl = 3$ ; noroeste:  $X^2 = 0,43$ ;  $P = 0,56$ ;  $gl = 1$ ; híbrida:  $X^2 = 1,77$ ;  $P = 0,44$ ;  $gl = 2$  y sur:  $X^2 = 4,42$ ;  $P = 0,22$ ;  $gl = 3$ ); con excepción de la región oeste ( $X^2 = 7,98$ ;  $P = 0,0018$ ,  $gl = 2$ ) donde *O. ficus-indica* y *O. megapotamica* fueron atacadas al azar, pero *O. quimilo* y *O. sulphurea* fueron evitadas (proporción de plantas disponibles 0,28 y 0,13; intervalo de confianza de la proporción de uso CI = 0,12/-0,06 y 0/0 para *O. quimilo* y *O. sulphurea* respectivamente).



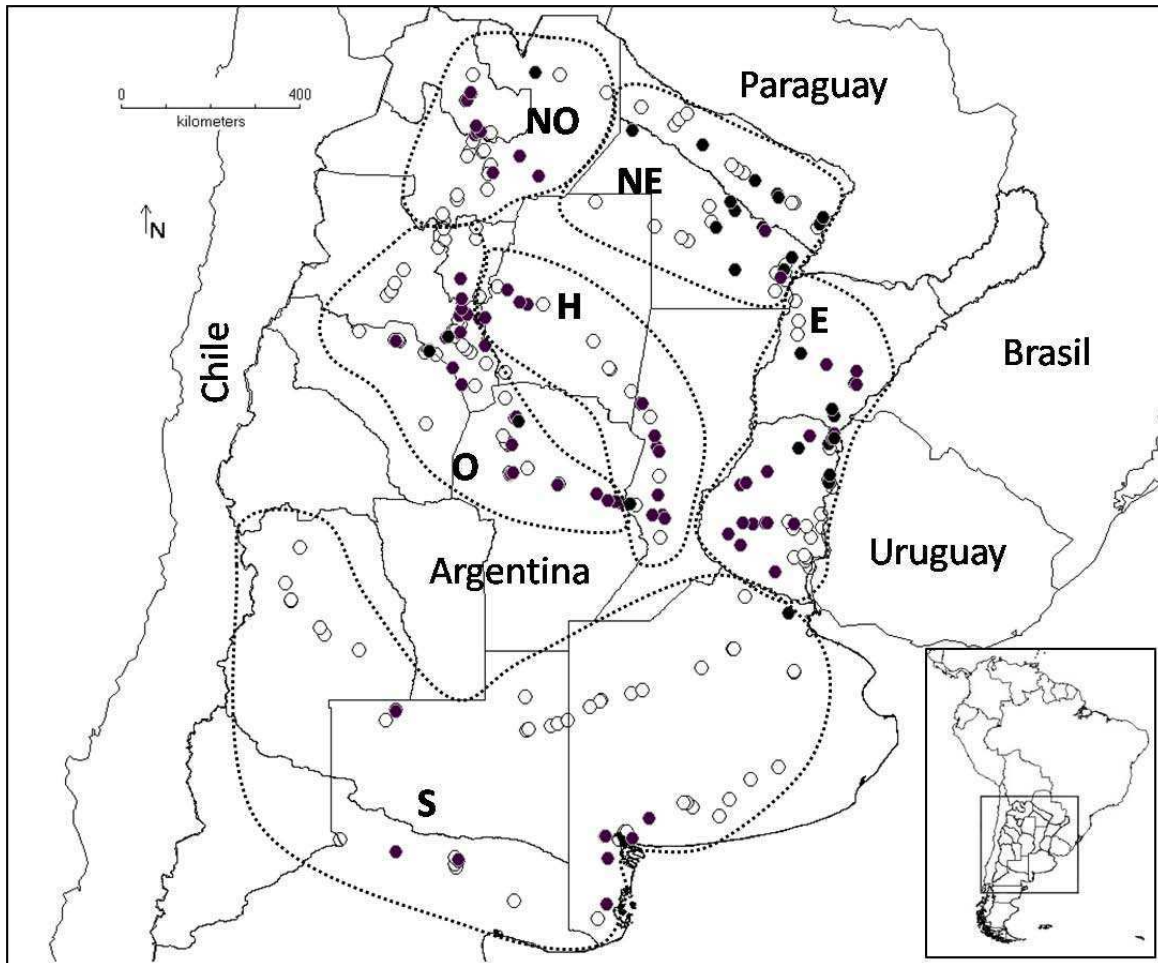


Figura 2.1. Distribución de *Cactoblastis cactorum* sobre especies de *Opuntia* hospedadoras en Argentina. Las áreas punteadas corresponden a regiones geográficas con diferentes clados de *C. cactorum* según Marsico et al. (2011): oeste (O), noroeste (NO), noreste (NE), este (E), una región híbrida con clados superpuestos (H), y poblaciones del sur (S) que no fueron genéticamente analizadas. Los círculos negros indican sitios con parches positivos con huevos o larvas de *C. cactorum*, y los círculos blancos corresponden a sitios con parches de *Opuntia* libres de ataque.

Tabla 2.1. Disponibilidad de plantas hospedadoras del género *Opuntia* comúnmente encontradas en seis regiones de Argentina y su utilización por diferentes clados de *Cactoblastis cactorum*.

Especie/variedad	Número de parches disponibles (% de frecuencia relativa) por región						
	Oeste	Este	Noreste	Noroeste	Híbrida	Sur	Total
<i>O. ficus-indica</i> <sup>1</sup>	45 (48,9)	7 (14,0)	10 (17,0)	24 (61,5)	15 (40,5)	13 (22,8)	<b>114 (34,1)</b>
<i>O. el. var. cardiosperma</i>	Ψ	18 (36,0)	30 (50,8)	Ψ	Ψ	Ψ	<b>48(14,4)</b>
<i>O. megapotamica</i>	13 (14,2)	11 (22,0)	0	0	Ψ	20 (35,1)	<b>44(13,2)</b>
<i>O. quimilo</i>	22 (23,9)	0	Ψ	8 (20,5)	9 (24,3)	0	<b>39(11,6)</b>
<i>O. el. var. elata</i>	Ψ	14 (28,0)	0	0	13 (31,7)	Ψ	<b>27 (8,1)</b>
<i>O. sulphurea</i>	12 (13,0)	0	0	7 (17,9)	Ψ	9 (15,8)	<b>28 (8,4)</b>
<i>O. anacantha</i>	Ψ	Ψ	19 (32,2)	Ψ	0	0	<b>19(5,7)</b>
<i>O. bonaerensis</i>	0	0	0	0	0	15 (26,3)	<b>15 (4,5)</b>
<b>Total</b>	<b>92 (27,5)</b>	<b>50 (15,0)</b>	<b>59 (17,6)</b>	<b>39 (11,7)</b>	<b>37 (11,1)</b>	<b>57 (17,1)</b>	<b>334 (100)</b>

Especie/variedad	Número de parches utilizados (% de frecuencia relativa)						
	Oeste	Este	Noreste	Noroeste	Híbrida	Sur	Total
<i>O. ficus-indica</i> <sup>1</sup>	22 (64,7)	5 (16,6)	2 (8,0)	6 (85,7)	8 (57,1)	4 (44,4)	<b>47 (39,5)</b>
<i>O. el. var. cardiosperma</i>	-	11 (36,7)	16 (64,0)	0	-	-	<b>27 (22,7)</b>
<i>O. megapotamica</i>	8 (23,6)	6 (20,0)	-	-	-	4 (44,4)	<b>18 (15,1)</b>
<i>O. quimilo</i>	4 (11,7)	-	-	1 (14,3)	2 (14,3)	-	<b>7 (5,9)</b>
<i>O. el. var. elata</i>	-	8 (26,7)	-	-	4 (28,6)	-	<b>12 (10,1)</b>
<i>O. sulphurea</i>	0	-	-	0	-	0	<b>0</b>
<i>O. anacantha</i>	-	-	7 (28,0)	0	-	-	<b>7 (5,9)</b>
<i>O. bonaerensis</i>	-	-	-	-	-	1 (11,2)	<b>1 (0,8)</b>
<b>Total</b>	<b>34 (28,6)</b>	<b>30 (25,2)</b>	<b>25 (21,0)</b>	<b>7 (5,9)</b>	<b>14 (11,7)</b>	<b>9 (7,6)</b>	<b>119 (100)</b>

Porcentaje de parches utilizados/disponibles							
	Oeste	Este	Noreste	Noroeste	Híbrida	Sur	Total
	36,9	60,0	42,4	17,9	37,8	15,8	35,6

Ψ Especies presentes en la región pero excluidas del análisis estadístico (método de Neu) dadas sus bajas frecuencias (< 5 parches).

<sup>1</sup>Origen México.

Tabla 2.2. Disponibilidad y utilización de *Opuntia* spp. por *Cactoblastis cactorum* excluidas del análisis. Las especies raras fueron encontradas en menos de cinco parches en total en Argentina, y las comunes en menos de cinco parches en algunas regiones. El área relevada fue dividida en seis regiones de acuerdo a la existencia de clados de *C. cactorum*.

<i>Opuntia</i> spp.	Parches utilizados/disponibles por región						<b>Total</b>
	Oeste	Este	Noreste	Noroeste	Híbrida	Sur	
<b><u>Especies raras</u></b>							
<i>O. leucotricha</i> DC. <sup>1</sup>	1/1	0/2			0/1	1/1	<b>2/5</b>
<i>O. robusta</i> H. L. Wendl. ex Pfeiff. <sup>1</sup>					1/1	1/4	<b>5/5</b>
<i>O. arechavaletae</i> Speg.						0/4	<b>0/4</b>
<i>O. monacantha</i> (Willdenow) Haworth				0/1		0/2	<b>0/3</b>
<i>O. penicilligera</i> Speg.				0/1		1/2	<b>1/3</b>
<i>O. salmiana</i> Parmentier ex Pfeiffer		0/2					<b>0/2</b>
<i>O. auriantica</i> Gilles ex Lindleyand		1/2					<b>1/2</b>
<i>O. microdasys</i> (Lehm.) Pfeiffer <sup>1</sup>						0/1	<b>0/1</b>
<b>Subtotal</b>	<b>1/1</b>	<b>1/6</b>	<b>0/0</b>	<b>0/2</b>	<b>1/2</b>	<b>3/14</b>	<b>6/25</b>
<b><u>Especies comunes</u></b>							
<i>O. elata</i> var. <i>cardiosperma</i>	0/1			0/1	1/1	0/1	<b>1/4</b>
<i>O. megapotamica</i>					1/2		<b>1/2</b>
<i>O. quimilo</i>			0/3				<b>0/3</b>
<i>O. elata</i> var. <i>elata</i>	1/2					0/3	<b>1/5</b>
<i>O. sulphurea</i>					0/1		<b>0/1</b>
<i>O. anacantha</i>	0/3	1/3		0/3			<b>1/9</b>
<b>Subtotal</b>	<b>1/6</b>	<b>1/3</b>	<b>0/3</b>	<b>0/4</b>	<b>2/4</b>	<b>0/4</b>	<b>4/24</b>
<b>Total</b>	<b>2/7</b>	<b>2/9</b>	<b>0/3</b>	<b>0/6</b>	<b>3/6</b>	<b>3/18</b>	<b>9/49</b>

<sup>1</sup>Origen México.

### 2.3.2. Preferencia de las hembras: Experimento de elección múltiple

*Cactoblastis cactorum* utilizó todas las *Opuntia* spp. ofrecidas como sustratos de oviposición, con la única excepción de *O. anacantha*. Sin embargo, algunas especies fueron preferidas y recibieron más huevos que otras. En el experimento de elección múltiple con 10 opciones, las hembras ovipusieron un total de 3.290 huevos repartidos en 97 bastones. El número total de bastones de huevos puestos en cada especie de

*Opuntia* osciló entre 0 y 24 (considerando las 10 réplicas). Según el método de Neu, *Opuntia quimilo*, *O. leucotricha*, *O. ficus-indica* y *O. elata* var. *cardiosperma* fueron las especies que recibieron la mayor cantidad de huevos totales (rango 402-624 huevos), siendo las preferidas y utilizadas como sustratos de oviposición más de lo esperado por azar ( $X^2 = 44,59$ ;  $gl = 9$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabla 2.3). Por otro lado, *O. sulphurea* y *O. arechavaletae* fueron seleccionadas para oviponer según lo esperado por azar, y las restantes *O. robusta*, *O. megapotamica*, *O. elata* var. *elata* y *O. anacantha* fueron evitadas. Asimismo, *O. quimilo* y *O. leucotricha* recibieron las mayores cantidades de huevos por planta,  $62,4 \pm 26,7$  y  $50,0 \pm 16,9$ , respectivamente, seguidas por *O. ficus-indica* con  $49,3 \pm 24,7$  huevos; siendo todas atacadas en 6 de las 10 réplicas. Estas cantidades de huevos fueron significativamente diferentes sólo de los  $6,0 \pm 4,1$  huevos puestos en *O. elata* var. *elata*, con 2 plantas atacadas (Friedman  $T = 1,32$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0,03$ ).

Cuando se utilizó un subconjunto de seis plantas hospedadoras, las hembras colocaron un total de 2.916 huevos en 96 bastones, entre 3 y 29 bastones por especie de *Opuntia*. *Opuntia ficus-indica*, *O. leucotricha* y *O. quimilo* fueron las especies que nuevamente recibieron más huevos de los esperado por azar, junto con *O. megapotamica* ( $X^2 = 28,89$ ;  $gl = 5$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabla 2.3). Las restantes *O. elata* var. *elata* y *O. sulphurea* fueron evitadas. *Opuntia quimilo* recibió  $80,7 \pm 23,5$  huevos, siendo ésta la mayor cantidad, con plantas atacadas en 7 oportunidades. Esta cantidad de huevos sólo fue significativamente diferente de los  $7,5 \pm 5,0$  huevos puestos en *O. elata* var. *elata* y los  $23,8 \pm 12,7$  huevos en *O. sulphurea* (Friedman  $T = 2,96$ ;  $gl = 5$ ;  $P = 0,02$ ), con 2 y 4 plantas atacadas, respectivamente (Tabla 2.3). El tamaño de la planta no estuvo relacionado a la cantidad total de huevos puestos (Kruskall-Wallis  $H = 21,36$ ;  $gl = 9, 7$ ;  $P = 0,55$ ).

Tabla 2.3. Experimentos de elección múltiple con 10 (prueba 1) y 6 (prueba 2) especies de *Opuntia* ofrecidas a hembras de *Cactoblastis cactorum*.

Especie/variedad	Huevos totales (bastones)		Preferencia de oviposición <sup>1</sup>		Huevos/planta (media ± EE)		Plantas atacadas totales	
	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 1	Prueba 2
<u>Origen México</u>								
<i>O. ficus-indica</i>	493 (13)	694 (23)	+	+	49,3 ± 24,7 <sup>ab</sup>	69,4 ± 28,9 <sup>bc</sup>	6	6
<i>O. leucotricha</i>	500 (16)	353 (11)	+	+	50,0 ± 16,9 <sup>b</sup>	35,3 ± 7,0 <sup>abc</sup>	6	8
<i>O. robusta</i>	333 (7)		-		33,2 ± 21,2 <sup>ab</sup>		3	
<u>Origen América del Sur</u>								
<i>O. megapotamica</i>	251 (6)	749 (24)	-	+	25,1 ± 11,5 <sup>ab</sup>	74,9 ± 24,2 <sup>bc</sup>	4	6
<i>O. el. var. elata</i>	60 (3)	75 (3)	-	-	6,0 ± 4,1 <sup>a</sup>	7,5 ± 5,0 <sup>a</sup>	2	2
<i>O. el. var. cardiosperma</i>	402 (8)		+		40,2 ± 24,4 <sup>ab</sup>		4	
<i>O. quimilo</i>	624 (24)	807 (29)	+	+	62,4 ± 26,7 <sup>b</sup>	80,7 ± 23,5 <sup>c</sup>	6	7
<i>O. arechavaletae</i>	246 (9)		r		24,6 ± 16,2 <sup>ab</sup>		3	
<i>O. anacantha</i>	0		-		0		0	
<i>O. sulphurea</i>	382 (11)	238 (6)	r	-	38,2 ± 16,7 <sup>ab</sup>	23,8 ± 12,7 <sup>ab</sup>	5	4
Total	3290 (97)	2916 (96)						

Medias con letras distintas son significativamente diferentes (P < 0,05).

<sup>1</sup>Según el método de Neu:

+: especies utilizadas para oviponer más de lo esperado por azar.

-: especies utilizadas menos de lo esperado por azar.

r: especies utilizadas al azar.

### 2.3.3. Rendimiento en el desarrollo: Experimento de no-elección

La supervivencia y desarrollo larval fue diferente entre las especies de *Opuntia*. Las mayores proporciones fueron alcanzadas en las tres especies mexicanas. En *O. robusta* sobrevivió una proporción de  $0,86 \pm 0,05$  larvas, seguida por  $0,45 \pm 0,14$  en *O. ficus-indica*, y  $0,34 \pm 0,14$  en *O. leucotricha*. Sólo la proporción de larvas sobrevivientes en *O. robusta* fue significativamente diferente de las proporciones obtenidas en las especies sudamericanas (Tabla 2.4;  $F = 4,64$ ;  $gl = 8, 59$ ;  $P = 0,002$ ), siendo extremadamente bajas en las dos variedades de *O. elata*. *Opuntia sulphurea* fue excluida del análisis porque todas las larvas murieron en todas las repeticiones. Los tiempos de desarrollo de huevo a pupa también fueron diferentes entre las *Opuntia* spp. ( $F = 26,33$ ;  $gl = 6, 818$ ;  $P < 0,0001$ ), siendo más cortos en *O. robusta* y *O. ficus-indica*, con duraciones de  $84,57 \pm 0,82$  y  $84,19 \pm 1,20$  días respectivamente, y más largos en *O. elata* var. *cardiosperma*, siendo  $107,59 \pm 1,91$  días y en *O. megapotamica*  $106,33 \pm 1,02$  días. Además, el análisis anidado indicó diferencias en la duración de la etapa huevo-pupa entre las plantas individuales de *Opuntia* dentro de cada especie ( $P < 0,0001$ ). Las fecundidades potenciales fueron significativamente diferentes entre las hospedadoras de *Opuntia* ( $F = 25,0$ ;  $gl = 5, 241$ ;  $P < 0,001$ ), siendo más alta en *O. ficus-indica* con  $166,24 \pm 7,71$  huevos/hembra, seguida de *O. robusta* con  $135,61 \pm 3,48$ , y *O. leucotricha* con  $122,17 \pm 11,77$  huevos/hembra y significativamente diferentes de la menor fecundidad obtenida en *O. anacantha*, con  $53,90 \pm 0,50$  huevos/hembra (Tabla 2.4). El análisis anidado nuevamente indicó diferencias entre las repeticiones dentro de cada especie ( $P < 0,0031$ ). La proporción de hembras de la descendencia no fue significativamente diferente entre las hospedadoras (Kruskall-Wallis  $H = 12,65$ ;  $gl = 8$ ;  $P = 0,08$ ), encontrándose entre 0,14 y 0,58 (Tabla 2.4).

Tabla 2.4. Rendimiento larval de *Cactoblastis cactorum* en *Opuntia* spp. mexicanas y sudamericanas encontradas en Argentina. Se reporta media  $\pm$  EE.

Especie/variedad	Proporción supervivencia larval (n)	Días de desarrollo huevo – pupa (n)	Número de huevos/hembra (n)	Proporción de hembras (n)
<u>Origen México</u>				
<i>O. ficus-indica</i>	0,45 $\pm$ 0,14 <sup>ab</sup> (9)	84,19 $\pm$ 1,20 <sup>a</sup> (153)	166,24 $\pm$ 7,71 <sup>b</sup> (66)	0,57 $\pm$ 0,07 (6)
<i>O. leucotricha</i>	0,34 $\pm$ 0,14 <sup>ab</sup> (9)	96,11 $\pm$ 2,39 <sup>b</sup> (108)	122,17 $\pm$ 11,77 <sup>b</sup> (43)	0,58 $\pm$ 0,13 (6)
<i>O. robusta</i>	0,86 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup> (6)	84,57 $\pm$ 0,82 <sup>a</sup> (292)	135,61 $\pm$ 3,48 <sup>b</sup> (94)	0,51 $\pm$ 0,03 (6)
<u>Origen América del Sur</u>				
<i>O. megapotamica</i>	0,13 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup> (6)	106,33 $\pm$ 1,02 <sup>c</sup> (60)	75,68 $\pm$ 5,24 <sup>ab</sup> (19)	0,54 $\pm$ 0,12 (2)
<i>O. el. var. elata*</i>	0,09 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup> (5)	--	--	--
<i>O. el. var. cardiosperma</i>	0,07 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup> (7)	107,59 $\pm$ 1,91 <sup>c</sup> (22)	100,17 $\pm$ 11,77 <sup>ab</sup> (6)	0,45 $\pm$ 0,05 (2)
<i>O. quimilo</i>	0,23 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup> (9)	99,60 $\pm$ 1,25 <sup>bc</sup> (126)	80,68 $\pm$ 6,43 <sup>ab</sup> (31)	0,40 $\pm$ 0,10 (6)
<i>O. arechavaletae*</i>	0,15 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup> (6)	95,36 $\pm$ 1,22 <sup>b</sup> (58)	--	--
<i>O. anacantha</i>	0,22 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup> (8)	96,54 $\pm$ 4,95 <sup>b</sup> (54)	53,90 $\pm$ 5,02 <sup>a</sup> (15)	0,30 $\pm$ 0,13 (8)

Medias con letras distintas son significativamente diferentes (P < 0,05).

\* Especies donde sobrevivieron pupas y/o hembras en menos de dos repeticiones y fueron excluidas del análisis.

## 2.4. Discusión

En Argentina, *C. cactorum* mostró un patrón geográfico de utilización de plantas hospedadoras relacionado con la oferta de plantas en cada región y no con la preferencia de las hembras. Las especies más utilizadas fueron las más abundantes (Tabla 2.1).

Previamente, se sugirió que la estructura genética de las poblaciones de *C. cactorum* correspondía a los patrones de uso de hospedadoras, ya que se observó una asociación positiva entre la presencia de larvas en las regiones este y noreste con la especie *O. elata* var. *cardiosperma*, y de larvas de las regiones oeste y noroeste con *O. ficus-indica*

(Brooks et al., 2012). Sin embargo, nuestro relevamiento extendido destacó que la alta frecuencia de ataques contra dichas especies fue consecuencia de su gran abundancia.

Como tendencia general, la especie mexicana *O. ficus-indica* fue la planta hospedadora más comúnmente encontrada y utilizada por *C. cactorum* en Argentina. Esto se debe, probablemente, al buen desempeño larval sobre esta especie y a la gran disponibilidad de *O. ficus-indica* ya que es utilizada como cultivo para la obtención de fruta, y es muy frecuente encontrar grandes plantaciones de hasta 30 hectáreas y/o pequeños parches en las inmediaciones de viviendas familiares. Contrariamente, el resto de las *Opuntia* nativas fueron encontradas solamente en estado silvestre y en parches pequeños o medianos, y el éxito en el desarrollo larval fue inferior.

El espectro de hospedadoras de *C. cactorum* incluyó a la mayoría de las *Opuntia* spp. encontradas en Argentina y fue proporcional a su abundancia, con excepción de *O. sulphurea*, *O. bonaerensis* y *O. quimilo*. De estas últimas especies, *O. sulphurea* es la única que no pertenece al espectro de hospedadoras ya que nunca fue encontrada atacada por *C. cactorum*. Con respecto a las otras dos especies, el ataque fue menor a lo esperado por su abundancia. En ambientes exóticos principalmente del Caribe, Sudáfrica y Estados Unidos, *C. cactorum* ha sido encontrada atacando también cactáceas de los géneros *Consolea* y *Nopalea*, (Jezorek et al., 2010; Zimmermann et al., 2007) que, al no estar presentes en Argentina, representarían nuevas asociaciones insecto-planta a nivel de género. Sin embargo, la ubicación filogenética de los géneros *Consolea* y *Nopalea* es problemática y un estudio realizado recientemente ubica a *Nopalea* dentro del clado *Opuntia*, mientras que se sugiere que *Consolea* no debe considerarse dentro del mismo clado (Majure et al., 2012). Estos resultados continúan reforzando la estrecha asociación entre *Cactoblastis* y cactus del género *Opuntia* como plantas hospedadoras.

En los experimentos de elección múltiple en laboratorio para investigar la preferencia de las hembras se observó que todas las hospedadoras expuestas fueron seleccionadas como sustratos de oviposición, con la única excepción de *O. anacantha*, a pesar de ser una hospedadora natural de *C. cactorum* en la región NE. Algunas especies fueron preferidas para oviposición, registrándose más huevos de lo esperado por azar en *O. quimilo*, *O. leucotricha*, *O. ficus-indica* en ambos experimentos, y además *O. elata*



*var. cardiosperma* y *O. megapotamica* cuando había disponibles 10 y 6 opciones, respectivamente. Las restantes especies fueron elegidas según lo esperado por azar o fueron evitadas en ambos experimentos. La cantidad total de bastones de huevos puestos fue similar y muy consistente en ambos experimentos (97 y 96 con 10 y 6 opciones, respectivamente). Sin embargo, cuando la oferta era de 10 especies diferentes, la cantidad total de huevos fue bastante mayor, indicando que los bastones de huevos fueron, en promedio, más grandes. La reducción en el número de opciones no parece alterar la preferencia de las hembras.

El patrón de uso de hospedadoras de *Opuntia* encontrado en el campo no coincide totalmente con los resultados obtenidos a partir de los experimentos de elección múltiple de laboratorio. En el campo *C. cactorum* utiliza las plantas hospedadoras en función de la disponibilidad, y en laboratorio se encontró consistentemente en dos experimentos que las hembras prefirieron algunas especies de *Opuntia* sobre otras. Sin embargo, casi todas las especies ofrecidas durante las pruebas de laboratorio fueron utilizadas como sustratos de oviposición, indicando que las hembras de *C. cactorum* seleccionan un amplio espectro de hospedadores de *Opuntia*. Esta falta de coincidencia parcial entre el uso de hospedadoras en el campo (proporcional a la disponibilidad) y la preferencia de oviposición por algunas especies encontrada en el laboratorio podría explicarse si las hembras fallan en encontrar en el campo las especies preferidas. Dado que el tiempo de vida de los adultos es corto, cuando las hospedadoras de mayor calidad son raras o están ausentes, las hembras podrían oviponer sobre otras especies menos favorables al acortarse su tiempo de vida. De esta manera, la experiencia previa puede aumentar la aceptabilidad de un hospedador particular (Jaenike, 1978; Kareiva, 1982; Rausher, 1985). Los modelos desarrollados por estos últimos autores muestran varios mecanismos que favorecerían a los individuos que desvían sus jerarquías de preferencia hacia las especies hospedadoras más abundantes, ya que es más probable que las hayan experimentado en el pasado. En particular, como las especies hospedadoras más abundantes son encontradas con más frecuencia, el comportamiento de aprendizaje puede conducir a una mayor preferencia por dichas especies, independientemente de sus preferencias innatas y el desempeño larval, e ignorar cualquier especie rara (aunque

de mayor calidad) incluso cuando la hembra se posa en ella (West & Cunningham, 2002). Esto se ha demostrado, por ejemplo, con el comportamiento del lepidóptero *Helicoverpa armigera* (Hübner), como resultado del aprendizaje previo de la hembra (Cunningham et al., 1998).

Estudios previos sobre *C. cactorum* demostraron que las hembras son atraídas a ovipositar en plantas de *Opuntia* previamente atacadas (Myers et al., 1981; Robertson, 1987), generando agregación de huevos en una planta, fenómeno también observado en nuestro estudio en una oportunidad, con una planta de *O. quimilo* que recibió 12 bastones de huevos, valor superior a la tasa promedio de ataque de 2,5 bastones de huevos/planta.

Según la hipótesis de preferencia-rendimiento, se espera que las hembras ovipongan más en las hospedadoras que representen una mejor supervivencia para su descendencia (Jaenike, 1978). Sin embargo, nuestros resultados de laboratorio de preferencia y desarrollo larval mostraron que no hubo una correspondencia entre la selección de hospedadores y el éxito en el desarrollo larval. Estudios previos realizados para evaluar el desempeño larval de *C. cactorum* con cladodios cortados de algunas de las mismas especies de *Opuntia* utilizadas en los experimentos aquí presentados mostraron resultados similares. La supervivencia y desarrollo larval sobre las especies exóticas *O. ficus-indica* y *O. robusta* fueron las mejores, y sobre las especies nativas fueron más pobres, con ninguna larva sobreviviente en *O. sulphurea* (Varone et al., 2012). Algunas evidencias sugirieron que cortar la planta puede alterar la alimentación de los insectos (Palmer, 1999), sin embargo, los resultados de ambos experimentos son similares y avalarían el uso de cladodios cortados para comparar el rendimiento larval de *C. cactorum* entre especies de *Opuntia*.

Las hembras de *C. cactorum* ovipositaron las mayores cantidades de huevos en *O. quimilo*, *O. leucotricha* y *O. ficus-indica*. Sin embargo, la supervivencia larval en *O. quimilo* fue una de las más bajas, y en *O. ficus-indica* y *O. leucotricha* fueron intermedias. Curiosamente, las observaciones de campo indican que *O. quimilo* fue una de las hospedadoras menos utilizadas, pero la aparente pobre selección de esta especie podría ser un reflejo del mal rendimiento y muerte temprana de las larvas, impidiendo

encontrar un mayor uso de esta hospedadora. Este idea es apoyada por la numerosa cantidad de veces que se encontraron durante los relevamientos signos de ataque sobre *O. quimilo*, en particular pequeños agujeros característicos de intentos de entrada fallidos de las larvas de primer estadio.

Otros dos casos contradictorios son *O. robusta*, que fue evitada como sustrato de oviposición, pero la supervivencia larval fue una de las mejores; y *O. sulphurea* que si bien recibió huevos en laboratorio, no es una hospedadora natural de *C. cactorum* y todas las larvas murieron.

En general, el rendimiento en el desarrollo larval sobre las especies mexicanas (*O. ficus-indica*, *O. leucotricha* y *O. robusta*) fue mejor que sobre las especies sudamericanas. Las especies nativas de Argentina tienen una historia evolutiva más larga en asociación con *C. cactorum* y probablemente hayan desarrollado defensas contra los herbívoros, tanto físicas como químicas, especialmente el alto contenido de mucílago producido en respuesta al inicio de la alimentación de las larvas, mayor densidad de espinas, o menor contenido nutricional. Estos factores convierten a las especies nativas en hospedadoras de menor calidad para *C. cactorum*. Por otro lado, se ha documentado con anterioridad que *O. ficus-indica* es una muy buena hospedadora de *C. cactorum* (Jezorek et al., 2010; Mafokoane et al., 2007) y posee una calidad nutricional superior (Guzmán Loayza & Chávez, 2007). Además, es posible que tanto esta especie como las otras mexicanas provean un espacio libre de defensas anti-herbívoro, por ser hospedadoras de nueva asociación. Sin embargo, es necesario examinar la composición química de las hospedadoras para confirmar la presencia de defensas químicas variables o diferentes calidades nutricionales. Un alto contenido nutricional en *O. robusta* y *O. ficus-indica* puede ser predicho por la extensa selección artificial de estas dos especies para consumo humano y forrajeo.

La inconsistencia encontrada entre el rendimiento larval y la preferencia de oviposición se ha registrado para otras especies (Forister, 2004; Mayhew, 1998; Thompson, 1988a) y ha sido tentativamente explicado por diversos mecanismos. Por ejemplo, la “hipótesis del tiempo” propone un tiempo insuficiente para la adaptación, y la “hipótesis de espacio libre de enemigos” postula que el rendimiento puede verse

influenciado por las características de la planta y los enemigos naturales (Thompson, 1988a). En el caso de *C. cactorum*, la primera hipótesis fue propuesta por Jezorek et al. (2010) cuando realizaron pruebas con cactus norteamericanos argumentando que la falta de coincidencia entre la preferencia y el rendimiento larval se debía a la falta de una historia evolutiva previa entre *C. cactorum* y su conjunto creciente de hospedadoras de nueva asociación. Jezorek et al. (2010) postularon que cuando se enfrentan a nuevas hospedadoras, las hembras de *C. cactorum* no siempre “saben” qué es mejor para su descendencia. Sin embargo, nuestros resultados muestran que incluso entre las especies nativas, las hembras de *C. cactorum* no seleccionan a las hospedadoras más apropiadas para su descendencia. En cuanto a la segunda hipótesis, tablas de vida construidas sobre poblaciones contiguas de *O. quimilo* y *O. ficus-indica* mostraron un similar impacto de la mortalidad por enemigos naturales en ambas hospedadoras (Logarzo et al., 2010), por lo tanto el impacto de los enemigos naturales no sería diferente y no afectaría el desempeño larval según la planta hospedadora.

El tamaño de la planta es también uno de los factores que podría afectar la preferencia de oviposición (Thompson & Pellmyr, 1991), y si bien en el presente trabajo no se encontró ninguna relación entre el tamaño de planta con la oviposición, otros estudios han demostrado diferentes respuestas al tamaño de la planta (Jezorek et al., 2010; Johnson & Stiling, 1998; Robertson, 1987; Tate et al., 2009). En particular, Myers et al. (1981) encontraron algún grado de preferencia de las hembras de *C. cactorum* para oviponer en plantas más grandes, que podría ser explicado por la mayor predación de huevos en plantas pequeñas (Robertson & Hoffmann, 1989). Como tendencia general, se ha encontrado que la supervivencia de *C. cactorum* difiere significativamente entre las especies de plantas hospedadoras (Johnson & Stiling, 1996; Mafokoane et al., 2007; Pettey, 1948; Robertson, 1987), pero cuando se han identificado preferencias de la oviposición, la calidad de la hospedadora no se correspondió con dichas preferencias.

En cualquiera de los escenarios planteados, es clara la oligofagia de *C. cactorum* dentro del género *Opuntia*; su establecimiento y expansión del área de distribución geográfica dependerá más del éxito en el desarrollo larval que de la elección de las hembras. Las tasas, rutas y dinámica de la invasión se verán influidas por la calidad y

disponibilidad de hospedadoras encontradas durante la dispersión, y que ofrecerán “espacios libres de defensa”. *Cactoblastis cactorum* podría ampliar su espectro de hospedadoras en áreas introducidas debido a su baja selectividad por especies de *Opuntia*; y la expansión de dicho espectro estará determinada por la capacidad de las larvas para desarrollarse en el hospedador seleccionado.

A pesar de que la preferencia en laboratorio de las hembras sólo se evaluó con el clado del oeste, los datos de campo indicaron que todos los demás clados poseen el mismo patrón de uso de hospedadoras, relacionado con la disponibilidad de plantas y no con la preferencia de las hembras. Se sugiere que todos los clados de *C. cactorum*, tanto el exportado (clado de la región este) como los otros tres tienen el mismo patrón de uso de hospedadoras. Si el clado exportado hubiera divergido de los otros clados en el uso de hospedadoras en el rango nativo, este hallazgo tendría consecuencias diferentes para la invasión. Dado que las poblaciones exóticas de *C. cactorum* exhibirán el espectro completo de hospedadoras en las zonas invadidas, la gama de plantas hospedadoras adecuadas para el desarrollo será mucho más amplia y acorde a la disponibilidad que si el clado exportado tuviera una preferencia de hospedadoras más limitada.

Estos resultados contribuyen a comprender la dinámica del uso de hospedadoras de *C. cactorum* en el rango nativo y proporcionan información útil para evaluar el riesgo y la futura propagación de la polilla de la tuna, tanto en su área de distribución exótica como nativa.

## **Capítulo 3. Adaptación local de *C. cactorum* a sus plantas hospedadoras y compatibilidad reproductiva entre clados de diferentes regiones.**

### **3.1. Introducción**

Las poblaciones de plantas hospedadoras son a menudo altamente heterogéneas y, regionalmente, pueden presentarse de manera continua o en parches, con áreas de alta abundancia separadas por otras de presencia escasa o nula (Slatkin, 1987). Frecuentemente, las poblaciones de insectos aparecen estructuradas en grupos genéticos discretos debido a la presencia de parches (Speight et al., 1999). La estructura genética espacial es una consecuencia de la deriva y el aislamiento reproductivo, que ocurren cuando el flujo génico entre poblaciones es restringido. Dichas restricciones pueden ocurrir por muchas razones, incluyendo eventos estocásticos que aíslan algunos individuos de otros en la población, factores ambientales que aíslan unas poblaciones de otras, o selección en contra de los individuos resultantes de cruzamientos entre poblaciones. En los insectos fitófagos, la adaptación local a diferentes plantas hospedadoras puede conducir al aislamiento reproductivo, promoviendo la estructuración genética, e incluso conducir a la especiación (Restoux et al., 2010).

La formación de grupos genéticos discretos puede resultar de eventos estocásticos (modelo neutral no adaptativo) o de la adaptación a las condiciones ambientales locales (estructura genética adaptativa). Bajo condiciones ambientales locales, una población debería evolucionar rasgos que le suministren ventajas adaptativas, independientemente de las consecuencias de esos caracteres para el rendimiento en otros ambientes (Mopper, 1996). En el caso de los insectos fitófagos, las plantas hospedadoras son considerados componentes importantes de su ambiente. La mayoría de los estudios empíricos sobre este tema se focalizan en detectar un patrón de adaptación local en el fitness mostrado por dos o más poblaciones que se desarrollan en diferentes hábitats en un experimento de trasplante o cría recíproca (Kawecki & Ebert, 2004). Uno de los criterios utilizados para analizar este tipo de experimentos es

conocido como “local vs. extranjero”, y compara diferencias entre los genotipos dentro de cada hábitat, esperando que la población local muestre un mejor desempeño en su planta hospedadora local que las que provienen de otros hábitats (Kawecki & Ebert, 2004; Williams, 1966).

La heterogeneidad ambiental y la existencia de parches también ocasionan frecuentemente diferentes niveles de compatibilidad reproductiva entre poblaciones de diferentes regiones geográficas. Suelen exhibir distintas características biológicas y gran variabilidad genética porque han estado geográficamente aisladas, han experimentado presiones de selección diferente y/o se han adaptado a ambientes locales distintos (Hopper et al., 1993; Logarzo et al., 2011; Pinto et al., 1991). La compatibilidad reproductiva se define como el grado en que dos poblaciones de la misma especie se aparean al azar sin importar su origen, y puede ser evaluada mediante la observación del grado de apareamiento de insectos de dos poblaciones cuando se las confina juntas. Por ejemplo, diferentes grados de aislamiento sexual podrían surgir por divergencia en el comportamiento de cortejo desarrollado como consecuencia de la adaptación a las diferentes hospedadoras.

La existencia de clados confirmada para *C. cactorum* (Marsico et al., 2011), con cuatro grupos filogenéticos aislados pertenecientes a áreas geográficas bien diferenciadas, son consecuencia de la deriva génica y la restricción en el flujo génico. Además, los diferentes patrones de uso de hospedadoras podrían derivar en razas, que son poblaciones parcialmente reproductivas y aisladas entre sí como consecuencia directa de la adaptación a un hospedador específico (Diehl & Bush, 1984).

El primer objetivo de este capítulo es investigar si los clados de *C. cactorum* de Argentina se encuentran localmente adaptados a sus plantas hospedadoras donde fueron originalmente colectados. Para ello se llevó a cabo un experimento de rendimiento en el desarrollo recíproco con insectos provenientes de tres clados de *C. cactorum* recolectados sobre tres especies de *Opuntia*; dos nativas y una exótica de Argentina, y criados sobre las mismas tres especies. Como medidas del rendimiento en el desarrollo se determinó la supervivencia larval y se estimó la longitud alar y el tiempo de desarrollo de los inmaduros. El segundo objetivo es explorar las compatibilidades

reproductivas entre los mismos tres clados confinando pares de adultos para evaluar el éxito en el apareamiento y la producción de descendencia viable. Las hipótesis de trabajo son que los clados de *C. cactorum* no presentan adaptaciones locales a sus plantas hospedadoras y que poseen compatibilidad reproductiva entre ellos. Las predicciones que se derivan establecen que el desempeño larval de los diferentes clados de *C. cactorum* será similar en cualquiera de las plantas hospedadoras y que el éxito en el apareamiento será también similar entre parejas compuestas por individuos de un mismo o de distinto clado.

## **3.2. Materiales y métodos**

### **3.2.1. Adaptación local: prueba de rendimiento en el desarrollo con alimentación recíproca**

Se realizó un experimento de rendimiento larval recíproco con individuos pertenecientes a tres clados de *C. cactorum*, de las regiones noreste, oeste y este. Los individuos de cada clado fueron recolectados en una de las especies de *Opuntia* más abundantes en cada región: los de la región noreste fueron recolectados sobre *O. elata* var. *cardiosperma* en la Ruta 11, 12 km al sur de la ciudad de Formosa (26° 15' 58.9" S, 58° 16' 03.7" O); los de la región oeste sobre *O. ficus-indica* en Quilino, Córdoba (ver capítulo 2); y los de la región este sobre *O. megapotamica* en Nogoyá, Entre Ríos (32° 22' 14.3" S, 59° 50' 10,1" O). En todos los casos se recolectaron larvas, se las transportó al laboratorio y se las crió sobre sus plantas hospedadoras originales hasta la obtención de huevos de la siguiente generación (F<sub>1</sub>), siguiendo el protocolo descrito en el capítulo 2. No se utilizaron insectos del clado de la región noroeste debido a su baja densidad poblacional.

Para evaluar el desempeño larval, se criaron larvas de los tres clados sobre sus especies hospedadoras originales y sobre las otras dos especies. Se utilizaron plantas en maceta de *O. elata* var. *cardiosperma*, *O. ficus-indica* y *O. megapotamica* originadas de cladodios 24 meses antes del inicio de los experimentos, y se realizaron 9-13 réplicas de cada combinación de clado x hospedadora.



Para estimar la supervivencia larval, se pegó al cladodio terminal de una planta una porción de un bastón de huevos F<sub>1</sub> conteniendo 30 huevos maduros de cada clado y se cubrió la maceta con una manga de voile. Si la planta era consumida totalmente por las larvas, era reemplazada por otra nueva de la misma especie. Una vez completado el desarrollo larval, se removieron las pupas y se las colocó en vasitos para la emergencia de los adultos, que fueron fijados en etanol 96% y luego congelados a -12°C para su posterior disección y medición de las alas. El largo del ala se midió bajo lupa con un micrómetro, desde la inserción torácica hasta la punta distal. Se midió un ala por individuo. Para cada combinación de clado x hospedadora se estimaron y compararon la proporción de larvas que completaron su desarrollo hasta pupa, la longitud alar de los adultos, y el tiempo de desarrollo de larva a adulto como medidas del rendimiento. Como en el capítulo anterior, el rendimiento en el desarrollo larval fue considerado como un término combinado entre las variables mencionadas, ya que los componentes no siempre están correlacionados (Thompson, 1988a).

### **3.2.2. Compatibilidad reproductiva: prueba de apareamiento cruzado**

Se realizó un experimento de apareamiento cruzado entre los mismos tres clados de la prueba anterior. Los individuos del clado de la región noreste fueron recolectados sobre *O. ficus-indica* en Puerto Tirol, Chaco (27° 21' 36.4" S, 59° 03' 48.7" O); los de la región oeste sobre *O. ficus-indica* en Quilino, Córdoba; y los de la región este sobre *O. megapotamica* en Nogoyá, Entre Ríos. Todos los individuos fueron recolectados en estado larval y se los crió hasta pupa (ver capítulo 2), pero esta vez colocando cada una en un vasito de 20 ml hasta la emergencia del adulto. A medida que emergieron, se armaron parejas de adultos vírgenes (un macho y una hembra) y se las confinó en jaulas de tul cilíndricas con soporte interno de alambre (10 x 15 x 40 cm) para apareamiento y oviposición, hasta la muerte de la hembra. Se realizaron todas las posibles combinaciones de apareamientos con su respectiva retrocruza: ♀E x ♂NE, ♀NE x ♂E, ♀E x ♂O, ♀O x ♂E, ♀NE x ♂O and ♀O x ♂NE, y los controles: E x E, NE x NE y O x O. Cada combinación fue replicada 5-10 veces.

Una vez muerta la hembra (usualmente al 2°-3° día de iniciado el experimento), se registraron los bastones de huevos y se los colocó en pequeñas cajas de petri cubiertas con film para su maduración y eclosión. Apareamiento exitoso fue aquel que produjo al menos un bastón de huevos con emergencia de larvas. A su vez, se contó el número de huevos eclosionados de los bastones para estimar la descendencia fértil de cada pareja.

### **3.2.3. Análisis estadístico**

En el experimento de alimentación recíproca se analizó la supervivencia larval, la longitud alar de hembras y machos, y el tiempo de desarrollo larva-adulto mediante ANOVAs de dos factores, con hospedadora de cría y clado como fuentes de variación. El éxito en el apareamiento se analizó mediante una prueba de chi-cuadrado con corrección de Yates debido a las bajas frecuencias de apareamientos. Las proporciones de huevos eclosionados se analizaron con una prueba de Kruskal-Wallis. Los análisis se realizaron con el programa InfoStat (Di Rienzo et al., 2008). Se reporta media  $\pm$  EE.

## **3.3. Resultados**

### **3.3.1. Adaptación local: prueba de rendimiento en el desarrollo con alimentación recíproca**

Según el criterio de identificación de adaptación local denominado “local vs. extranjero”, que compara el rendimiento de las poblaciones en cada “hospedadora de cría”, ningún clado de *C. cactorum* mostró un patrón de adaptación local a su planta hospedadora, que se evidenciaría por una mayor supervivencia del genotipo local. Se encontraron diferencias según la planta hospedadora donde fueron criados los individuos, pero no según la identidad del clado (hospedadora de cría  $F_{2,76} = 16,53$ ;  $P < 0,0001$ ; clado  $F_{2,76} = 2,43$ ;  $P = 0,09$ ; interacción  $P = 0,31$ ). Las proporciones de larvas que sobrevivieron no fueron diferentes entre clados cuando fueron criadas sobre cualquiera de las tres especies de *Opuntia*. Sin embargo, cuando las tres poblaciones fueron alimentadas con *O. ficus-indica* como hospedadora de cría, las proporciones de larvas

sobrevivientes fueron mayores, entre 0,46-0,79; cuando se utilizó *O. megapotamica* fueron intermedias, entre 0,2-0,52; y con *O. elata* var. *cardiosperma* sobrevivieron las menores proporciones de larvas, entre 0,07-0,18 (Figura 3.1).

Según los otros parámetros medidos (longitud alar de machos y hembras, y tiempo de desarrollo larva-adulto), no se evidenció nuevamente ningún patrón de adaptación local de los clados a sus plantas hospedadoras. La longitud alar de las hembras de *C. cactorum* varió según la hospedadora de cría donde fueron alimentadas ( $F_{2,44} = 8,18$ ,  $P < 0,0011$ ), pero no según el clado al que pertenecían ( $F_{2,44} = 1,93$ ,  $P < 0,16$ ; interacción  $P = 0,12$ ). Para cada hospedadora de cría, las longitudes alares de las hembras fueron similares: cuando *O. elata* var. *cardiosperma* fue la hospedadora, el rango de longitudes alares fue 10,22-12,53 mm; cuando fue *O. megapotamica* 11,89-13,89 mm; y en *O. ficus-indica* 13,75-13,81 mm (Tabla 3.1). En el caso de los machos, la longitud alar varió según el clado ( $F_{2,49} = 7,3$ ;  $P < 0,002$ ) y la hospedadora de cría ( $F_{2,49} = 12,3$ ;  $P < 0,0001$ , interacción  $P = 0,08$ ). Sin embargo, en ninguna hospedadora de cría los machos del clado local fueron más grandes que los provenientes de los otros clados. Los machos provenientes del clado oeste midieron entre 8,95-11,84 mm y fueron más pequeños que los de los clados este y noreste, que midieron entre 10,08-12,39 mm. Las alas de los machos de los tres clados criados en *O. megapotamica* midieron entre 10,24-12,17 mm, en *O. elata* var. *cardiosperma* midieron entre 8,95-11,01 mm, siendo más pequeños que cuando fueron criados en *O. ficus-indica*, con longitudes alares entre 11,84-12,39 mm (Tabla 3.1).

Por el contrario, los tiempos de desarrollo de larva-adulto de *C. cactorum* fueron diferentes entre los clados ( $F_{2,48} = 26,66$ ;  $P < 0,0001$ ) pero no entre las hospedadoras donde fueron criados ( $F_{2,48} = 2,48$ ;  $P < 0,09$ , interacción  $P = 0,78$ ). Los insectos provenientes del clado oeste desarrollaron más rápido en todas las hospedadoras de cría, entre 44,40-49,03 días, que los provenientes de los clados este y noreste, entre 90,44-118,65 días (Tabla 3.1).

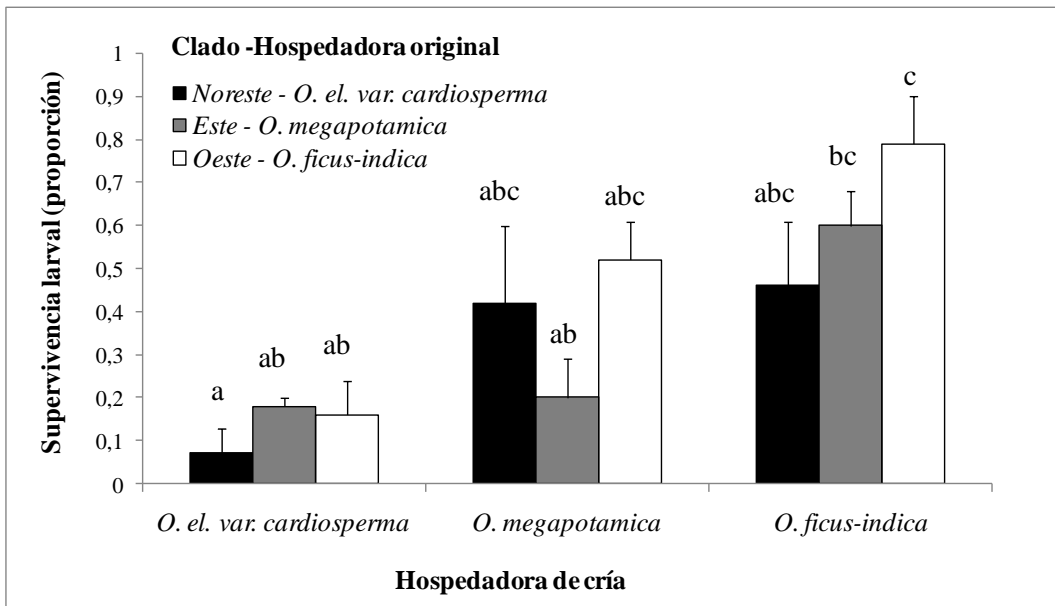


Figura 3.1. Proporción de larvas de *Cactoblastis cactorum* que alcanzaron el estado de pupa, pertenecientes a tres clados de diferentes regiones de Argentina originariamente colectados sobre tres plantas hospedadoras de *Opuntia* (hospedadora original) y criados sobre dichas especies en maceta (hospedadoras de cría): *O. elata* var. *cardiosperma* del noreste, *O. megapotamica* del este y *O. ficus-indica* del oeste. Se reporta media  $\pm$  EE. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

Tabla 3.1. Longitud alar de hembras y machos de *Cactoblastis cactorum* pertenecientes a tres clados de diferentes regiones de Argentina (noreste, este y oeste), recolectados sobre distintas especies de *Opuntia* (hospedadora original) y criados sobre las mismas tres especies (hospedadora de cría). Se reporta media  $\pm$  EE.

Hospedadora de cría Clado - Hospedadora original	Longitud de ala (mm)		Tiempo de desarrollo larva-adulto (días)
	Hembras	Machos	
<b><i>O. el. var. cardiosperma</i></b>			
Noreste - <i>O. el. var. cardiosperma</i>	--	10,08 $\pm$ 0,32 <sup>ab</sup>	DF
Este - <i>O. megapotamica</i>	12,53 $\pm$ 0,59 <sup>ab</sup>	11,01 $\pm$ 0,40 <sup>bc</sup>	118,65 $\pm$ 11,87 <sup>c</sup>
Oeste - <i>O. ficus-indica</i> <sup>1</sup>	10,22 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>	8,95 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	49,03 $\pm$ 3,68 <sup>ab</sup>
<b><i>O. megapotamica</i></b>			
Noreste - <i>O. el. var. cardiosperma</i>	13,89 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>	12,17 $\pm$ 0,62 <sup>cd</sup>	102,36 $\pm$ 5,90 <sup>c</sup>
Este - <i>O. megapotamica</i>	12,24 $\pm$ 0,54 <sup>ab</sup>	11,12 $\pm$ 0,43 <sup>bcd</sup>	102,70 $\pm$ 11,44 <sup>c</sup>
Oeste - <i>O. ficus-indica</i> <sup>1</sup>	11,89 $\pm$ 0,64 <sup>ab</sup>	10,24 $\pm$ 0,28 <sup>abc</sup>	54,39 $\pm$ 2,66 <sup>ab</sup>
<b><i>O. ficus-indica</i><sup>1</sup></b>			
Noreste - <i>O. el. var. cardiosperma</i>	13,75 $\pm$ 0,51 <sup>b</sup>	11,93 $\pm$ 0,71 <sup>cd</sup>	90,77 $\pm$ 7,89 <sup>bc</sup>
Este - <i>O. megapotamica</i>	13,76 $\pm$ 0,46 <sup>b</sup>	12,39 $\pm$ 0,21 <sup>d</sup>	90,44 $\pm$ 7,25 <sup>bc</sup>
Oeste - <i>O. ficus-indica</i> <sup>1</sup>	13,81 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	11,54 $\pm$ 0,19 <sup>bcd</sup>	44,40 $\pm$ 0,73 <sup>a</sup>

Medias con letras distintas son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Origen México.

DF: datos faltantes.

### 3.3.2. Compatibilidad reproductiva: prueba de apareamiento cruzado

Las proporciones de apareamientos exitosos (presencia de bastones de huevos) entre los individuos cruzados provenientes de diferentes clados con respecto a los individuos del mismo clado fueron similares, evidenciando compatibilidad reproductiva entre ellos. Los apareamientos exitosos sólo alcanzaron valores entre 0,14 y 0,25, tanto para parejas control de individuos de la misma región, como en parejas mixtas compuestas por individuos de diferentes regiones ( $X^2 = 1,57$ ; g.l = 4;  $P = 0,97$ , Figura 3.2). La proporción de huevos que desarrolló exitosamente y eclosionó no fue diferente entre los huevos ovipuestos por parejas compuestas por individuos de la misma región o de diferentes ( $H = 7,14$ ;  $P = 0,21$ , Figura 3.3), con un rango de  $0,29 \pm 0,28$  y  $0,87 \pm 0,10$ . A

pesar de la falta de diferencias significativas, hubo una tendencia a la mayor eclosión de huevos ovipuestos por parejas mixtas, cuya proporción de huevos eclosionados osciló entre 0,39 y 0,87, respecto de las parejas control, con proporciones de entre 0,29 y 0,47.

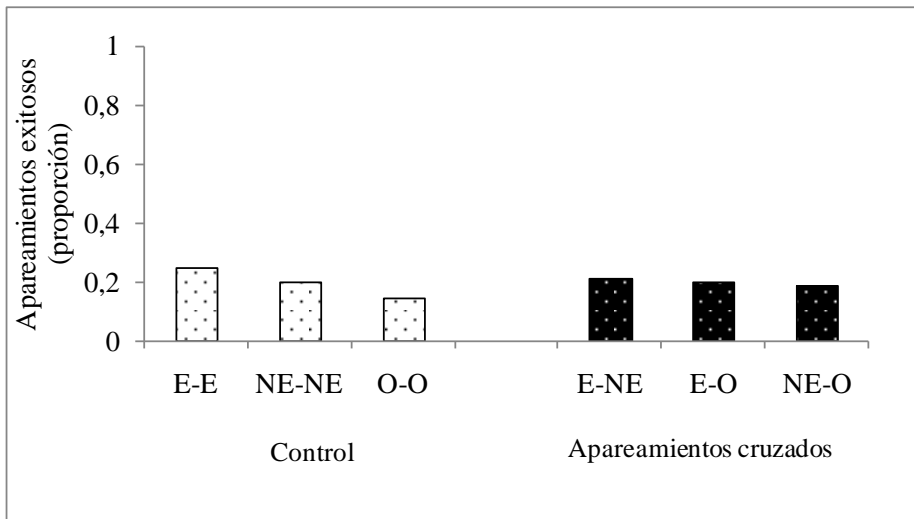


Figura 3.2. Proporción de apareamientos exitosos de parejas de *Cactoblastis cactorum* provenientes de tres clados recolectados en tres regiones de Argentina (NE: noreste, E: este y O: oeste). No se encontraron diferencias significativas ( $P = 0,97$ ).

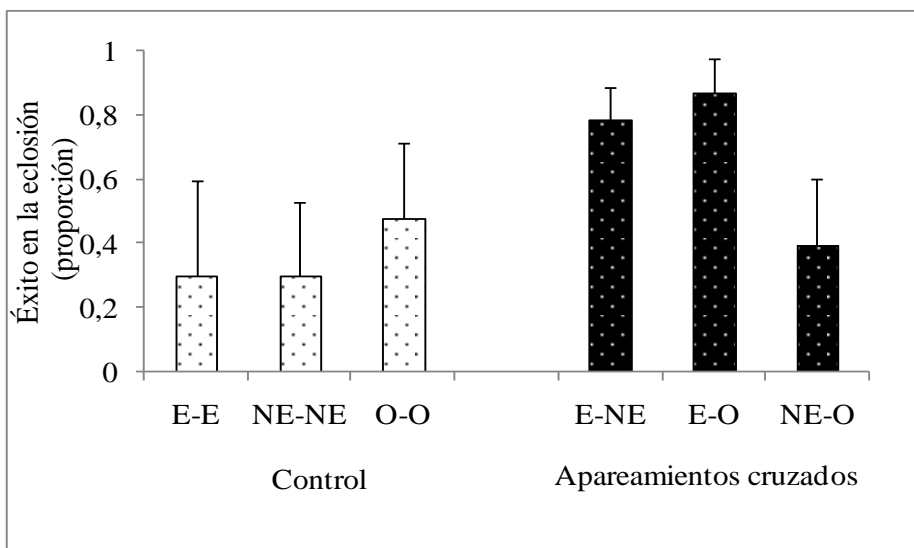


Figura 3.3. Proporción de huevos eclosionados de apareamientos entre individuos de *Cactoblastis cactorum* provenientes de tres clados recolectados en tres regiones de Argentina (NE: noreste, E: este y O: oeste). Se reporta media  $\pm$  EE. No se encontraron diferencias significativas ( $P = 0,21$ ).

### 3.4. Discusión

Uno de los criterios para analizar experimentos de cría recíproca es el conocido como “local vs. extranjero”, y se relaciona directamente con la adaptación local porque evalúa las diferencias genéticas en el fitness de los individuos dentro de cada hábitat (Kawecki & Ebert, 2004). A partir de los resultados del experimento de cría recíproca se sugiere que ninguno de los clados de *C. cactorum* está adaptado localmente a sus especies hospedadoras. El rendimiento (medido como mayor supervivencia, mayor tamaño de los adultos y menor tiempo de desarrollo larva-adulto de las larvas criadas en sus hospedadoras originales) fue similar, o incluso inferior, que el rendimiento de los individuos que provenían de otros clados (Figura 3.1). Se evidenció una tendencia a un mejor rendimiento de todas las poblaciones de *C. cactorum* cuando fueron criadas en la especie exótica *O. ficus-indica* con respecto a las hospedadoras de cría nativas, como fue observado también en el capítulo anterior. Los espacios libre de defensas anti-herbívoro que suelen proveer las especies hospedadoras de nueva asociación han sido observados en muchas otras plagas en relación con sus nuevas hospedadoras (Gandhi & Herms, 2010).

Otro ejemplo de especie hospedadora de nueva asociación para *C. cactorum* es la hospedadora norteamericana *Opuntia stricta* (Haw.) Haw, cuya falta de historia coevolutiva con la polilla pudo haber sido la causa del exitoso control de esta planta invasora en Australia (Dodd 1940; Woodard et al 2012). La fuerte preferencia de *C. cactorum* por *O. stricta* en el sudeste de los Estados Unidos y el Caribe (Baker & Stiling, 2009; Pemberton & Liu, 2007) sugiere que esta hospedadora es más adecuada que otras hospedadoras potenciales. Se ha sugerido también que el limitado éxito del control biológico de nopales en Sudáfrica habría sido ocasionado por la falta de hospedadoras más adecuadas para *C. cactorum* (Annecke & Moran, 1978). El encuentro con nuevos hospedadores podría ser un factor importante que explicaría la rápida propagación de *C. cactorum* en áreas invadidas, y se estarían hallando evidencias de que las pobres defensas que poseen *O. stricta* y *O. humifusa* colaborarían con la rápida expansión de la polilla de la tuna en Florida, EE. UU. (Marsico et al., 2011).

En general, las especies de plantas que carecen de una historia evolutiva en asociación con herbívoros invasores han demostrado poseer menos defensas contra

ellos y favorecen al herbívoro en su éxito en la invasión (Desurmont et al., 2011; Gandhi & Herms, 2010; Parker et al., 2006; Woodard et al., 2012).

La adaptación local de un herbívoro a las defensas de las plantas puede facilitar o impedir las asociaciones con nuevas hospedadoras, y así afectar su éxito potencial de invasión en ambientes nuevos. El éxito en la invasión puede depender de las interacciones evolutivas pasadas. Las consecuencias del proceso de invasión de *C. cactorum* en América del Norte frente a especies norteamericanas de *Opuntia* sin la capacidad de defenderse contra *C. cactorum* puede acelerar la expansión hacia el oeste y la destrucción de especies hospedadoras.

Con respecto a la compatibilidad reproductiva, a pesar de haber obtenido en general un bajo éxito en el apareamiento en condiciones de laboratorio, hasta el momento no se evidencia incompatibilidad entre individuos de *C. cactorum* provenientes de diferentes regiones geográficas y pertenecientes a diferentes clados. Estudios previos sobre el comportamiento de apareamiento de *C. cactorum* en el campo encontraron que el cortejo no es elaborado, que casi el 100% de las hembras que fueron vistas copular contenían un espermátforo en su bolsa copuladora cuando eran disecadas posteriormente, y que oviponían siempre que hubieran sido copuladas (Hight et al., 2003). Estas observaciones indicarían que el fracaso en los apareamientos en laboratorio encontrado en el presente trabajo y medido como parejas que no ovipusieron, serían consecuencia de falta de cópula y no de falta de motivación para oviponer. Es probable que las bajas tasas de apareamiento se deban a las condiciones artificiales utilizadas para los experimentos. Estos resultados se podrían complementar con réplicas adicionales y/o con experimentos en condiciones más naturales para incrementar el éxito en el apareamiento.

Si se evalúan los resultados de estas dos pruebas en conjunto se puede sugerir que ni la adaptación local o la incompatibilidad reproductiva estarían generando las barreras al flujo génico que determinan la estructura genética de las poblaciones de *C. cactorum*. Una explicación alternativa sería que las poblaciones estuvieran estructuradas producto de eventos estocásticos o en relación a la proximidad geográfica y no en relación a la asociación y uso de sus plantas hospedadoras. Este mismo fenómeno se ha



observado en el escarabajo *Acanthoscelides obtectus* Say, donde la diversidad genética de sus poblaciones también estaba principalmente estructurada geográficamente (Restoux et al., 2010).

Una explicación alternativa es que las variaciones en los tiempos de desarrollo sobre las distintas plantas hospedadoras podrían generar la estructuración genética. Por ejemplo, se sabe que las poblaciones de *C. cactorum* que se alimentan de *O. quimilo* tienen sólo dos generaciones anuales, mientras que sobre *O. ficus-indica* poseen tres (Logarzo et al., 2010; Mann, 1969); y los resultados sobre las diferencias en los tiempos de desarrollo encontrados en este trabajo también apoyan esta idea (Tabla 2.4). Dadas estas diferencias en la fenología y el corto tiempo de vida de los adultos de *C. cactorum*, la probabilidad de encuentro entre adultos de diferentes poblaciones disminuiría evitando el cruzamiento entre diferentes clados y generando una falta de sincronización. El hallazgo de pareja es esencial para el intercambio de genes, e implica componentes tanto espaciales como temporales. Se han identificado muchos ejemplos empíricos en los cuales dichos componentes son importantes, y se han estudiado algunas cuestiones subyacentes en mariposas y polillas (Dennis & Shreeve, 2008; Robinet et al., 2008; Roland et al., 2000). En particular, a pesar de que para los insectos fitófagos la planta hospedadora puede ejercer un profundo efecto sobre la tasa de crecimiento de los inmaduros y en consecuencia, en la dinámica de la emergencia (Nylín et al., 1996; Scriber & Slansky, 1981), el efecto de la planta hospedadora en el patrón de emergencia de la descendencia ha sido poco estudiado. Uno de los pocos trabajos publicados en este tema, investigó recientemente la fenología de emergencia de la polilla *Lobesia botrana* Denis & Schiffermueller en una población salvaje y estimó que difiere entre las plantas hospedadoras (Thiéry et al., 2013).

Estudios futuros podrían incluir la evaluación y comparación de los períodos de emergencia de los adultos de *C. cactorum* y sus respectivos vuelos entre los diferentes clados y en relación a diferentes plantas hospedadoras. Hasta el momento, los resultados obtenidos para *C. cactorum* indican que los factores que determinan la estructura genética de sus poblaciones siguen estando poco claros.

## **Capítulo 4. Enemigos naturales de *Cactoblastis cactorum*: su distribución y especificidad, y protocolo de cría de *Apanteles opuntiarum*.**

### **4.1. Introducción**

A partir de la amenaza que constituye *C. cactorum* para la industria de la tuna y la biodiversidad de cactus de México y Estados Unidos, se han empleado tácticas de manejo que incluyen restricciones al movimiento de plantas, remoción y saneamiento de plantas (remoción y destrucción de *C. cactorum*), desarrollo de una feromona sintética para la detección temprana de las polillas en áreas de alto riesgo, campañas de comunicación de riesgo y la técnica del macho estéril (Hight et al., 2008). Estas técnicas de control han sido utilizadas frente a explosiones demográficas o contra poblaciones en los bordes de la distribución geográfica de la polilla. Por ejemplo, la remoción de plantas, el saneamiento y la liberación de machos estériles fueron utilizados exitosamente en Isla Mujeres e Isla Contoy, México, cuando se detectó la presencia de *C. cactorum* en 2006 y 2007, respectivamente (NAPPO, 2009). Si bien la técnica de liberación de machos estériles ha logrado disminuir las densidades poblacionales de *C. cactorum* en algunas zonas de Estados Unidos, no fue efectiva para frenar su dispersión hacia el oeste, probablemente debido a las altas densidades de la polilla (Stiling, 2002); además, es una técnica que sólo funciona en áreas restringidas como valles o islas, o en bordes de la distribución poblacional, pero que no logrará controlar a la plaga en grandes extensiones (J. Carpenter, comunicación personal). Por lo tanto, se están investigando tácticas de manejo adicionales y biológicamente racionales como el control biológico a fin de reducir el impacto de *C. cactorum* sobre *Opuntia* spp. Si bien la utilización de control biológico contra *C. cactorum* incluye algunos riesgos, éstos pueden ser mitigados si se selecciona como agente de control un enemigo natural exótico proveniente del área nativa de la polilla y específico del género *Cactoblastis* para ser introducido en las áreas invadidas (Pemberton & Cordo, 2001). Los pasos más importantes para la implementación de un programa de control biológico clásico incluyen: identificación precisa de la especie plaga, relevamientos de enemigos naturales (insectos, nematodos,

patógenos, etc.) en el área de origen de la plaga, y determinación de la especificidad de hospedadores para evaluar el impacto potencial tanto sobre la especie blanco como sobre las no blanco (Bellows & Fisher, 1999; Driesche & Hoddle, 2000).

Una revisión bibliográfica de enemigos naturales de *C. cactorum* (Pemberton & Cordo, 2001) reveló que posee al menos 8 o 9 parasitoides asociados, entre los cuales se destacaron el braconido *Apanteles alexanderi* Bréthes, y el ichneumonido *Telemucha* sp., ambos con tasas de ataques de hasta el 30% de las larvas en el campo.

En un principio, el parasitoide larval gregario *A. alexanderi* fue identificado como el candidato más importante para el control de *C. cactorum* por su frecuencia de aparición, prevalencia e impacto sobre la polilla de la tuna. Sin embargo, este parasitoide demostró tener hábitos polífagos sobre otras polillas de cactus (Pyralidae) en Argentina (De Santis, 1979; Pemberton & Cordo, 2001), por lo que fue posteriormente considerado inadecuado para el control biológico de *C. cactorum*.

A partir de los relevamientos de estadios inmaduros de *C. cactorum* y otros lepidópteros cactófagos realizados en Argentina desde agosto de 2007 y luego de un minucioso examen morfológico de los especímenes, se sospechó la presencia de más de una especie. Se diferenciaron dos morfotipos sobre los cuales se realizaron estudios moleculares y taxonómicos que confirmaron la presencia de dos especies: *A. alexanderi* y *Apanteles opuntiarum* Martínez & Berta (Martínez et al., 2012), distinguibles principalmente por el largo del ovipositor, mucho más corto en *A. opuntiarum* (Figura 4.1) y aparentemente, por su espectro de hospedadores.

En este capítulo se describe la distribución y espectro de hospedadores en el campo de ambas especies de *Apanteles* en Argentina, así como algunos aspectos de la biología de *A. opuntiarum*, proporcionando información sobre la técnica de cría en laboratorio, tasas de ataque, proporción de sexos, e información bionómica básica (fecundidad y longevidad), para identificar su potencial como agente de control biológico de *C. cactorum*.



Figura 4.1. Diferencias morfológicas en el largo del ovipositor de *Apanteles alexanderi* (izquierda) y *Apanteles opuntiarum* (derecha). Fotos: Juan José Martínez.

## 4.2. Materiales y métodos

### 4.2.1 Relevamiento de enemigos naturales de *Cactoblastis cactorum*

El relevamiento de enemigos naturales se realizó a partir de los muestreos intensivos de estadios inmaduros de *C. cactorum* encontrados durante los estudios de patrones de utilización de plantas hospedadoras (Capítulo 2). Además, se recolectaron otros lepidópteros cactófagos sobre las especies de *Opuntia* revisadas y sobre otras especies de cactus simpátricas. Todas las muestras de larvas fueron transportadas al laboratorio, confinadas en recipientes plásticos con trozos del cactus hospedador original, y revisadas cada 2-3 días hasta el completo desarrollo de las larvas de *C. cactorum* u otras polillas, o la aparición de los capullos de los parasitoides. Larvas parasitadas o pupas de las polillas fueron colocadas individualmente en vasitos de plástico de 20 ml hasta la emergencia del adulto parasitoide o de la polilla. Los parasitoides fueron fijados en etanol 96% y las polillas conservadas en freezer a  $-12^{\circ}\text{C}$  para su posterior identificación.

#### 4.2.2. Identificación taxonómica

La identificación de *C. cactorum* fue realizada de acuerdo con lo descripto en la sección 2.2.5. Otros lepidópteros fueron identificados por Fernando Navarro y Paula Zamudio (Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán). Los parasitoides del género *Apanteles* fueron identificados por Juan José Martínez (Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”).

#### 4.2.3. Estudios en laboratorio de *Apanteles opuntiarum*

Para establecer una colonia de *A. opuntiarum*, se utilizaron larvas de *C. cactorum* de la colonia de laboratorio y larvas parasitadas provenientes de Quilino (ver sección 2.2.2). Las larvas parasitadas se detectaron por la presencia de capullos pupales gregarios fuera del cuerpo de la larva hospedadora muerta (Figura 4.2). Cada grupo de capullos (provenientes de una larva lepidóptera parasitada) fue colocado individualmente en un vasito de 20 ml con un hilo de miel para alimentar a los adultos emergentes. Una vez emergidos los parasitoides, se los colocó para apareamiento en frascos de 3 l con miel y algodón húmedo, en una proporción de 2:1, macho: hembra (máximo 30 individuos). Cuando fue posible, se colocaron machos y hembras que no fueran hermanos (emergentes de diferentes larvas parasitadas). Luego de 24-48 horas, las hembras potencialmente fertilizadas de *A. opuntiarum* fueron confinadas individualmente en recipientes transparentes de 500 ml con 10-50 larvas hospedadoras de *C. cactorum* de segundo o tercer estadio, con alimento para ambas especies: miel para los parasitoides y *O. ficus-indica* para las larvas, cortada en finas rodajas para evitar que se escondieran del ataque del parasitoide. Luego de la muerte de las hembras de *A. opuntiarum* (24-72 horas), las larvas de *C. cactorum* fueron transferidas cuidadosamente a contenedores plásticos ventilados junto con trozos de cladodios de *O. ficus-indica* hasta completar su desarrollo o hasta la muerte provocada por el parasitoide.

Para determinar las condiciones de cría que optimizaron el éxito reproductivo de *A. opuntiarum*, se desarrollaron una serie de experimentos de parasitación donde se determinó el efecto del origen de la hembra parasitoide, de la presencia de una segunda hembra parasitoide y de la densidad de hospedadores de *C. cactorum* ofrecida.

En el primer experimento se utilizaron dos orígenes de hembras parasitoides, definidos como “hembras de campo” cuando eran emergidas de larvas parasitadas recolectadas en el campo, y “hembras de laboratorio” cuando pertenecían a una F<sub>1</sub> obtenidas de larvas parasitadas con anterioridad en condiciones de laboratorio. En ambos casos, las hembras adultas eran confinadas para apareamiento con machos de su mismo origen. Se utilizó una sola hembra para parasitar a 30 larvas de segundo estadio, con 10-12 réplicas. En el segundo experimento, para determinar el efecto de la presencia de una segunda hembra durante la parasitación, se colocaron 1 o 2 hembras de *A. opuntiarum* en el recipiente para que atacaran 30 larvas de segundo estadio, con 5-10 réplicas. En el tercer experimento, se evaluó la densidad de hospedadores variando el número de larvas expuestas: 10, 30 y 50 larvas de segundo estadio, con 5-10 réplicas. Para todos los experimentos se registraron cuatro variables como medida de éxito reproductivo de *A. opuntiarum*: cantidad de larvas parasitadas de *C. cactorum*, tamaño de la descendencia de parasitoides como cantidad de capullos y de adultos de la avispa emergidos, y proporción de sexos de la descendencia de parasitoides.

Además, se estimó la longevidad de los adultos y la fecundidad potencial de *A. opuntiarum*. En el primer caso se colocaron adultos recién emergidos en cajas de Petri conteniendo algodón húmedo e hilos de miel. Los adultos fueron revisados diariamente y las fuentes de alimento y humedad fueron reemplazadas cuando fue necesario. Se registraron las fechas de emergencia y muerte de los adultos. La fecundidad potencial fue estimada disecando 10 hembras de la avispa inmediatamente después de su emergencia y contando bajo microscopio (400x) los oocitos en las ovariolas. Previamente se utilizó detergente para separar los conglomerados de oocitos y facilitar el conteo.



Figura 4.2. Larvas del último estadio de *Apanteles opuntiarum* antes (izquierda) y después (derecha) de formar sus capullos sobre una larva muerta de *Cactoblastis cactorum*.

#### 4.2.4. Análisis estadístico

El efecto del origen de la hembra parasitoide sobre la cantidad de larvas parasitadas de *C. cactorum* por hembra, y capullos, avispas emergidas y proporción de hembras parasitoides de la descendencia fue analizado mediante pruebas U de Mann-Whitney. El efecto de la cantidad de hembras de *A. opuntiarum* utilizadas para parasitar sobre la cantidad de larvas parasitadas y capullos del parasitoide obtenidos en la descendencia fue analizado mediante pruebas de T; y sobre la cantidad de avispas y proporción de sexos con pruebas U de Mann-Whitney. Finalmente, el efecto de la densidad de hospedadores sobre larvas parasitadas, capullos, avispas emergidas y proporción de hembras de la descendencia se analizaron mediante Kruskal-Wallis y pruebas de Duncan para comparaciones post-hoc; y sobre la proporción de larvas atacadas con un ANOVA de un factor. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa InfoStat (Di Rienzo et al., 2008). Se reporta media  $\pm$  EE.

## 4.3. Resultados

### 4.3.1. Relevamiento de enemigos naturales de *Cactoblastis cactorum*

*Apanteles opuntiarum* fue el parasitoide más común sobre *C. cactorum* y estuvo restringido a dos especies del género *Cactoblastis*. Se obtuvieron capullos de *A. opuntiarum* en 42 (44,2%) de los 95 sitios con presencia de *C. cactorum*. Las restantes 7 especies parasitoides encontradas pertenecieron a las familias Trichogrammatidae, Tachinidae, Braconidae e Ichneumonidae y se encontraron en 18 sitios (Tabla 4.1).

*Apanteles opuntiarum* fue encontrado atacando larvas de *C. cactorum* en todas las regiones muestreadas, en todas las provincias con excepción de Mendoza, y sobre todos los clados (Figura 4.3). De las 10 *Opuntia* spp. donde se encontraron larvas de *C. cactorum*, en 6 (60%) especies emergieron parasitoides de *A. opuntiarum* (Tabla 4.2). *Opuntia ficus-indica*, *O. elata* var. *elata* y *O. megapotamica* fueron las hospedadoras más frecuentemente encontradas con larvas de *C. cactorum* atacadas con *A. opuntiarum*, en 55,6-60,5% de los sitios. *Apanteles opuntiarum* también fue hallado en dos sitios parasitando larvas de *Cactoblastis doddi*, sobre *O. sulphurea* y *O. penicilligera* (Tabla 4.2). La especie congénérica *A. alexanderi* no fue encontrada sobre *C. cactorum* pero sí sobre otras especies de lepidópteros pyrálidos en 6 provincias: en 5 sitios parasitando a *Tucumania* sp. sobre *O. megapotamica* y *O. elata* var. *cardiosperma*, en 2 sitios a *Cactoblastis bucyrus* sobre *Trichocereus terscheckii* (Parm. ex Pfeiff.) Britton & Rose y *T. pasacana* (F. A. C. Weber ex Rumlper) Britton & Rose, y en un sitio posiblemente a *Zophodia* sp. sobre *T. terscheckii* (Tabla 4.3).





Figura 4.3. Distribución de *Apanteles opuntiarum* (círculos grises) emergidos de larvas de *Cactoblastis cactorum* recolectadas en Argentina. Las áreas punteadas corresponden a regiones geográficas con diferentes clados de *C. cactorum* según Marsico et al. (2011): oeste (O), noroeste (NO), noreste (NE), este (E), una región híbrida con clados superpuestos (H), y poblaciones del sur (S) que no fueron genéticamente analizadas.

Tabla 4.1. Enemigos naturales de *Cactoblastis cactorum* encontrados durante los relevamientos en Argentina.

Especie de parasitoide	Familia	Estado atacado	Emergido de	Sitios con ataque (%)
<i>Apanteles opuntiarum</i>	Braconidae	larva	pre-pupa	42 (44,2)
<i>Trichogramma pretiosum</i>	Trichogrammatidae	huevo	huevo	5 (5,3)
<i>Pseudochaeta</i> sp.	Tachinidae	larva	larva	4 (4,2)
<i>Podogaster</i> sp.	Ichneumonidae	larva	pre-pupa?	4 (4,2)
<i>Epicoronimyia mundeei</i>	Tachinidae	larva	pupa	2 (2,1)
Sin identificar	Ichneumonidae	larva	pre-pupa?	1 (1,1)
Sin identificar	Braconidae	larva	larva	1 (1,1)
<i>Trichogramma</i> sp.	Trichogrammatidae	huevo	huevo	1 (1,1)

Tabla 4.2. Presencia de *Apanteles opuntiarum* en larvas de *Cactoblastis cactorum* y *C. doddi* sobre *Opuntia* spp. en centro y norte de Argentina.

Espece de <i>Opuntia</i> *	Sitios con <i>Apanteles opuntiarum</i> / <i>Cactoblastis</i>	Prevalencia (%)	Espece de <i>Cactoblastis</i>
<i>O. anacantha</i>	1/7	14,3	<i>C. cactorum</i>
<i>O. auriantica</i>	0/1	0	<i>C. cactorum</i>
<i>O. elata</i> var. <i>cardiosperma</i>	6/21	28,6	<i>C. cactorum</i>
<i>O. elata</i> var. <i>elata</i>	3/5	60,0	<i>C. cactorum</i>
<i>O. ficus indica</i> <sup>1</sup>	26/43	60,5	<i>C. cactorum</i>
<i>O. leucotricha</i> <sup>1</sup>	0/2	0	<i>C. cactorum</i>
<i>O. megapotamica</i>	5/9	55,6	<i>C. cactorum</i>
<i>O. penicilligera</i>	0/1	0	<i>C. cactorum</i>
<i>O. quimilo</i>	1/4	25,0	<i>C. cactorum</i>
<i>O. robusta</i> <sup>1</sup>	0/2	0	<i>C. cactorum</i>
<b>Subtotal</b>	<b>42/95</b>	<b>44,2</b>	
<i>O. sulphurea</i>	1/4	25,0	<i>C. doddi</i>
<i>O. penicilligera</i>	1/1	100,0	<i>C. doddi</i>
<b>Subtotal</b>	<b>2/6</b>	<b>33,3</b>	

\* No se encontraron larvas de *C. cactorum* en las especies *O. arechavaletae*, *O. bonaerensis*, *O. monacantha*<sup>2</sup>, *O. microdasys*<sup>1</sup>, y *O. salmiana* también halladas durante los relevamientos.

<sup>1</sup> Origen México.

<sup>2</sup> Origen Brasil.

Tabla 4.3. Lepidópteros parasitados por *Apanteles alexanderi* y sus cactáceas hospedadoras en Argentina.

Provincia Sitio	Coordenadas		Lepidóptero parasitado	Cactáceas hospedadoras
	S	O		
<b>Catamarca</b>				
Cuesta de la Cébila	28° 44' 27,9"	66° 21' 34,4"	<i>Zophodia?</i>	<i>Trichocereus terscheckii</i>
<b>Chaco</b>				
Puerto Tirol	27° 21' 49,7"	59° 03' 59,2"	<i>Tucumania</i> sp.	<i>Opuntia elata</i> var. <i>cardiosperma</i>
<b>Corrientes</b>				
4 Bocas	30° 03' 22,5"	58° 00' 28,5"	<i>Tucumania</i> sp.	<i>Opuntia megapotamica</i>
<b>Entre Ríos</b>				
Lucas González	32° 24' 24,8"	59° 37' 47,9"	<i>Tucumania</i> sp.	<i>Opuntia megapotamica</i>
<b>Formosa</b>				
Pozo del Mortero	24° 21' 42,2"	62° 05' 32,8"	<i>Tucumania</i> sp.	<i>Opuntia elata</i> var. <i>cardiosperma</i>
Laguna Yema	24° 14' 47,5"	61° 14' 01,2"	<i>Tucumania</i> sp.	<i>Opuntia elata</i> var. <i>cardiosperma</i>
<b>Jujuy</b>				
Pucará Tilcara	23° 35' 06,6"	65° 24' 03,7"	<i>Cactoblastis bucyrus</i>	<i>Trichocereus pasacana</i>
Rt. 9 km. 1821	23° 10' 17,1"	65° 22' 17,8"	<i>Cactoblastis bucyrus</i>	<i>Trichocereus pasacana</i>

### 4.3.2. Estudios en laboratorio de *Apanteles opuntiarum*

El éxito reproductivo de *A. opuntiarum* medido por la cantidad de descendencia producida y su proporción de hembras aumentó principalmente cuando el origen de las hembras fue el campo y cuando se expusieron 2 hembras a larvas de *C. cactorum*, mientras que el aumento en la densidad de larvas hospedadoras no produjo cambios significativos (Tabla 4.4).

El origen de las hembras de *A. opuntiarum* utilizadas para parasitar larvas de *C. cactorum* no tuvo ningún efecto sobre la cantidad de larvas parasitadas obtenidas ( $U = 96,5$ ;  $P = 0,21$ ) (Tabla 4.4). En contraste, la descendencia de las hembras de campo fue más numerosa que la de laboratorio, obteniéndose  $77,17 \pm 16,79$  pupas y  $65,08 \pm 13,82$  avispas adultas emergidas, y significativamente diferentes de las  $29,70 \pm 7,29$  pupas ( $U = 85$ ;  $P = 0,048$ ) y  $20,0 \pm 5,7$  adultos ( $U = 77$ ;  $P = 0,012$ ) producidos por las hembras de laboratorio. La proporción de hembras de la progenie fue  $0,37 \pm 0,13$  para hembras de campo, y 0 (cero) para las hembras de laboratorio ( $U = 88$ ;  $P = 0,031$ ) (Tabla 4.4). La presencia de una segunda hembra en la misma arena de parasitación no generó diferencias significativas en la cantidad de larvas parasitadas ( $T = -0,35$ ;  $P = 0,735$ ), cantidad de capullos ( $T = -1,23$ ;  $P = 0,24$ ), ni cantidad de adultos producidos por hembra ( $U = 38$ ;  $P = 0,29$ ). Sin embargo, cuando se utilizó una sola hembra, ésta siempre generó una descendencia compuesta exclusivamente por machos, mientras que la presencia de una segunda hembra generó una progenie mixta con una proporción de hembras de  $0,38 \pm 0,14$  ( $U = 45$ ;  $P = 0,02$ ) (Tabla 4.4).

La densidad de larvas hospedadoras afectó la cantidad de larvas parasitadas, que si bien no fue diferente cuando se ofrecieron 30 o 50 larvas, con un rango de 4,5-6,75 larvas parasitadas, fueron mayores a las  $1,89 \pm 0,54$  larvas parasitadas cuando se ofrecieron 10 larvas ( $H = 8,92$ ;  $P = 0,01$ ). Sin embargo, la cantidad de 30 larvas expuestas fue más efectiva porque en el 100% de las réplicas se obtuvieron larvas parasitadas. Por el contrario, con la menor densidad (10 larvas), sólo el 34% de las réplicas tuvo al menos una larva parasitada, y con la mayor (50), el 29%. Adicionalmente, la proporción de larvas atacadas no fue significativamente diferente ( $F_{2,2} = 0,9$ ;  $P = 0,42$ ), siendo 0,20; 0,15 y 0,13 para las densidades de 10, 30 y 50 larvas, respectivamente. A pesar de que el

incremento de la densidad de larvas hospedadoras generó un aumento en el tamaño de la descendencia (capullos y adultos), las diferencias no fueron significativas ( $H = 4,53$ ;  $P = 0,10$  y  $H = 3,18$ ;  $P = 0,10$  para capullos y adultos, respectivamente). La proporción de hembras de la descendencia tampoco varió según la abundancia de larvas hospedadoras ofrecidas, con un rango de 0,05-0,39 ( $H = 1,38$ ;  $P = 0,41$ ) (Tabla 4.4).

La longevidad de los adultos fue diferente entre los sexos ( $U = 56,50$ ;  $P = 0,0044$ ). Los machos vivieron  $12,71 \pm 0,89$  días, aproximadamente un 40% más que las hembras, cuya duración promedio de su vida adulta fue  $8,92 \pm 0,56$  días. Las hembras que no estuvieron en contacto con larvas hospedadoras vivieron entre 6 y 13 días, mientras que las utilizadas para parasitar en general morían al tercer día. La fecundidad potencial, medida como cantidad de oocitos maduros en las ovariolas al momento de la emergencia fue estimada en  $396,20 \pm 35,77$ , con un rango de 346-450 oocitos. Al momento de la disección, la mayoría de los oocitos estaban desarrollados y su forma era elongada con un fino pedicelo (Figura 4.4). También se observó una cantidad adicional de oocitos, más pequeños e inmaduros que no fueron contados, lo que sugiere que las hembras de *A. opuntiarum* son sinovigénicas.

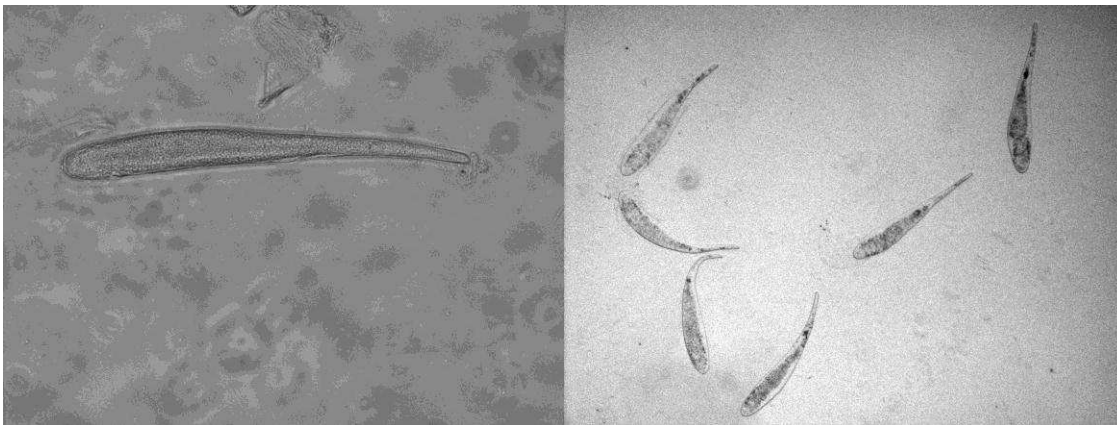


Figura 4.4. Oocitos de *Apanteles opuntiarum* (izquierda: 400 x, derecha: 100x) de una hembra recién emergida y disecada.

Tabla 4.4. Éxito reproductivo de *Apanteles opuntiarum* frente a larvas hospedadoras de *Cactoblastis cactorum*, bajo diferentes condiciones experimentales de cría en laboratorio. Se reporta media  $\pm$  EE.

Variable	Larvas parasitadas <i>C. cactorum</i>	<i>Apanteles opuntiarum</i>		
		Capullos	Adultos emergidos	Proporción de hembras
Origen de la hembra parasitoide				
Campo	4,42 $\pm$ 0,83 <sup>a</sup>	77,17 $\pm$ 16,79 <sup>a</sup>	65,08 $\pm$ 13,82 <sup>a</sup>	0,37 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
Laboratorio	3,00 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>	29,70 $\pm$ 7,29 <sup>b</sup>	20,0 $\pm$ 5,7 <sup>b</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>b</sup>
Hembras parasitoides expuestas				
1	2,91 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	30,30 $\pm$ 7,11 <sup>a</sup>	20,50 $\pm$ 5,6 <sup>a</sup>	0 $\pm$ 0 <sup>a</sup>
2*	3,25 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>	49,88 $\pm$ 18,43 <sup>a</sup>	33,25 $\pm$ 10,69 <sup>a</sup>	0,38 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>
Densidad de larvas hospedadoras				
10	1,89 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	33,00 $\pm$ 9,46 <sup>a</sup>	29,78 $\pm$ 9,33 <sup>a</sup>	0,20 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>
30	4,50 $\pm$ 0,96 <sup>b</sup>	77,00 $\pm$ 20,07 <sup>a</sup>	63,20 $\pm$ 16,44 <sup>a</sup>	0,39 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>
50	6,75 $\pm$ 1,75 <sup>b</sup>	85,75 $\pm$ 20,52 <sup>a</sup>	63,25 $\pm$ 20,79 <sup>a</sup>	0,05 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>

\* Los valores de las variables medidas están expresados por hembra. Medias con letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

#### 4.4. Discusión

La distribución de *A. opuntiarum* se extendió casi tanto como la de sus insectos hospedadores, siendo su prevalencia del 44% de los sitios con *C. cactorum*. Además, según los datos de especificidad de hospedadores obtenidos en el campo, *A. opuntiarum* está restringido a *C. cactorum* y *C. doddi* que se alimentan de cactus del género *Opuntia*. Registros de colecciones adicionales de *A. opuntiarum* hechas por otros autores también lo restringen a estas dos especies de *Cactoblastis* (Martínez et al., 2012).

Hasta el momento, *A. alexanderi* demostró tener un espectro de hospedadores más amplio que incluye al menos *Tucumania*, *Cactoblastis* y posiblemente *Zophodia* (larva azul). Un registro previo similar a este último describe también una oruga azul alimentándose de *T. pasacana* en Jujuy, y de donde también emergió posteriormente *A. alexanderi* (Martínez et al., 2012). Si bien se ha citado a esta especie de *Apanteles* atacando a *C. doddi*, *Salambona analamprella* (Dyar), *Plutella xylostella* (Linné), *Argyrotaenia loxonephes* (Meyrick) y *Argyrotaenia spheropa* (Meyrick) (Pemberton &

Cordo, 2001), las identificaciones de los ejemplares de *Apanteles* recolectados deben ser revisadas en función de la descripción de la nueva especie *A. opuntiarum*, porque durante las últimas décadas, todos los parasitoides de lepidópteros cactófagos del género *Apanteles* fueron considerados como *A. alexanderi*.

En los ensayos de laboratorio, el mayor éxito reproductivo de *A. opuntiarum* se logró ofreciendo 30 larvas hospedadoras, exponiendo 2 hembras del parasitoide y utilizando hembras de campo. Incrementar de 30 a 50 hospedadoras no generó más larvas parasitadas, ni mayor proporción, ni mayor cantidad de adultos de la descendencia, y la misma proporción de hembras. La utilización de 10 larvas hospedadoras ha demostrado ser muy ineficaz en términos de éxito reproductivo para *A. opuntiarum* y muchas de las larvas mueren en los primeros estadios, probablemente porque los parasitoides las atacan e insertan el ovipositor numerosas veces. A pesar de que las hembras de campo tuvieron una tasa de ataque similar a las de laboratorio, produjeron una descendencia más grande y con presencia de ambos sexos, fundamental para la continuidad de la colonia en laboratorio. A su vez, considerando que la proporción de sexos 1:1 o desviada hacia hembras es una de las variables más importantes para el éxito de cría de himenópteros en laboratorio, la presencia de otra hembra de *A. opuntiarum* parece revertir la escasez de hembras de la descendencia en condiciones de laboratorio. A pesar de que la teoría predice que la presencia de una segunda hembra en el parche puede disminuir la proporción de sexos sesgada hacia hembras (Hamilton, 1967), se esperaba que un aumento en la cantidad de larvas parasitadas compensara dicho efecto. Sin embargo, se encontró que la presencia de una segunda hembra aumentó la proporción de sexos de la descendencia sesgada hacia hembras y también aumentó el tamaño de la descendencia, aunque no significativamente. Por otro lado, se ha sugerido que la presencia de huevos en los hospedadores puede ser una clave más confiable que la presencia de otra hembra simultáneamente (Shuker & West, 2004).

La menor supervivencia de las hembras utilizadas para parasitar larvas en comparación con hembras no expuestas podría deberse a la reabsorción de huevos, a que las larvas de *C. cactorum* se defienden de los ataques del parasitoide con sus



mandíbulas y/o a que la actividad de parasitar consume más energía y acorta sus tiempos de vida. La fecundidad potencial de las hembras (396 oocitos) fue 2,4 veces mayor a la fecundidad máxima registrada durante los experimentos (166 adultos producidos/hembra), indicando un mayor potencial reproductivo que el obtenido en las condiciones experimentales utilizadas.

En general, la literatura sobre estudios de recría y biología de especies de *Apanteles* es escasa, y está especialmente focalizada a especies de parasitoides solitarios. Los valores de longevidad reportados en el presente trabajo son similares a los encontrados para *Apanteles machaeralis* Wilkison (Peter & David, 1990), y menores a los hallados para *Apanteles taragamae* Viereck (Mohan & Sathiamma, 2007), ambos parasitoides solitarios. Sin embargo, la fecundidad máxima real de *A. opuntiarum* fue superior a la hallada para *A. machaeralis* y mucho mayor que la reportada para *A. taragamae*. La alta proporción de machos de la descendencia suele ser una característica comúnmente hallada para otras especies del género en condiciones de cría de laboratorio (Kishani Farahani et al., 2012; Kulkarni, 1965). Se sospecha que se debió a la falta de apareamiento en condiciones de laboratorio ya que probablemente sea una especie arrenotóquica, como ocurre con muchas especies de insectos himenópteros, particularmente en *Apanteles* (Allen & Smith, 1958; Tagawa et al., 1987).

La alta prevalencia en el campo, el restringido espectro de hospedadores y el conocimiento de un buen protocolo de cría en laboratorio para *A. opuntiarum* convierten este parasitoide en un buen agente potencial de control biológico de *C. cactorum* en Estados Unidos. Por esta razón, ha sido recientemente exportado a la cuarentena del 'Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry' de Florida, Estados Unidos. Los permisos de exportación fueron otorgados por la Dirección de Fauna Silvestre y la Dirección Nacional de Ordenamiento Ambiental y Conservación de la Biodiversidad (Permiso N° 4612/13), y el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (DNPV Permiso N° 87). El permiso de importación a Estados Unidos fue emitido por el USDA-APHIS (Permiso N° P526P-13-00380). Los parasitoides se están utilizando para establecer una colonia según el método de cría

presentado en este trabajo. Posteriormente, se realizarán estudios de especificidad con especies de polillas cactófagas nativas de Estados Unidos.

Sin embargo, el método de recría debe ser mejorado para asegurar una producción continua de hembras en la descendencia que garanticen la perpetuación de la colonia sin la necesidad de introducciones periódicas de insectos de campo. Se están realizando ensayos adicionales sobre comportamiento de apareamiento, capacidad reproductiva, condición gregaria y biología general del parasitoide para determinar mejores condiciones de cría. Hasta el momento, ensayos preliminares indican que *A. opuntiarum* no es poliembriónica (modo de desarrollo que involucra la producción de embriones múltiples genéticamente idénticos a partir de un solo huevo por división clonal), sino que deposita una gran cantidad de huevos con una sola inserción del ovipositor en una larva hospedadora (que dura aproximadamente un segundo).

Los resultados obtenidos en este capítulo contribuyen a comprender la interacción parasitoide-hospedador y a optimizar los procedimientos de cría en laboratorio de *A. opuntiarum*. Esto facilitará los estudios de especificidad en Estados Unidos, una eventual producción en masa y liberaciones a campo.

## 5. Discusión general y conclusiones

Los estudios sobre cómo las interacciones bióticas influyen en las tasas de crecimiento y rutas de invasión son cada vez más frecuentes para plantas exóticas, no así para insectos invasivos. La invasión de *C. cactorum* en América del Norte y la amenaza que constituye para la industria de la tuna y la biodiversidad de cactus produjeron numerosos interrogantes para desarrollar un buen caso de estudio.

El presente estudio se focalizó en aspectos pendientes de la bioecología de la polilla de la tuna en su área nativa, incluyendo su distribución y patrón de uso de hospedadores y evaluando posibles causas para la restricción al flujo genético y estructuración génica de las poblaciones. Se estudió la gama de plantas hospedadoras, la preferencia de oviposición de las hembras, los patrones de utilización en relación a la disponibilidad de hospedadoras y la adaptación a dichas hospedadoras, y el aislamiento reproductivo entre las poblaciones. Hasta la fecha no se contaba con estudios sistemáticos ni de interacción de *C. cactorum* con sus hospedadoras en el extenso área de su distribución nativa que caracterizaran el uso de hospedadoras en Argentina. Si bien recientemente se intentó identificar el patrón geográfico de uso de plantas en Argentina (Brooks et al., 2012), la falta de datos sobre la abundancia relativa de las plantas impidió determinar si el patrón observado era consecuencia de la disponibilidad de plantas o de la preferencia de las hembras. Además se sugirió que la estructura genética de *C. cactorum* descrita por Marsico et al. (2011) representaba ecotipos dentro de la especie generados por la utilización de diferentes hospedadoras. La hipótesis de Brooks et al. (2012) indicaba que la invasión de un único ecotipo de *C. cactorum* impondría limitaciones bióticas a su distribución exótica. Si la preferencia y espectro de hospedadoras del genotipo invasor fueran limitados y distintos del resto de los genotipos, las consecuencias en la dinámica de la invasión serían diferentes comparado con una especie con la misma preferencia para todos sus genotipos.

Los principales resultados de campo del presente estudio indicaron que ninguno de los clados de *C. cactorum* mostró preferencias de oviposición sobre sus hospedadoras naturales, sino que utilizó a las plantas en función de la disponibilidad. Los ensayos de

preferencia en laboratorio mostraron oviposición en casi todas las especies de *Opuntia* expuestas, aunque con preferencia por varias especies (*O. ficus-indica*, *O. quimilo*, *O. leucotricha*, *O. elata* var. *cardiosperma* y *O. megapotamica*). Sin embargo, esta preferencia no se correspondió con un mejor rendimiento en el desarrollo de *C. cactorum* sobre estas especies. A pesar de no ser el mejor sustrato para oviposición, *O. robusta* demostró ser la mejor hospedadora, *O. ficus-indica* y *O. leucotricha* fueron intermedias y *O. quimilo* una de las peores. En general, el rendimiento en el desarrollo larval sobre las especies mexicanas (*O. ficus-indica*, *O. leucotricha* y *O. robusta*) fue mejor que sobre las especies sudamericanas. Se puede inferir, entonces, que independientemente de la aparente preferencia de *C. cactorum* por algunas especies, su establecimiento y dispersión en ambientes exóticos dependerá del éxito en el desarrollo larval, que se verá influido, a su vez, por la calidad y disponibilidad de hospedadoras adecuadas que encuentre en las rutas de invasión. Si bien se han realizado otros estudios de preferencia de *C. cactorum* (Jezorek et al., 2010; Mafokoane et al., 2007; Myers et al., 1981; Tate et al., 2009), ninguno se había llevado a cabo en el área de distribución nativa, ni con sus hospedadores naturales.

Por otro lado, se observó que los clados de *C. cactorum* no están adaptados localmente a sus plantas hospedadoras y no poseen incompatibilidad reproductiva. Tanto en el experimento de rendimiento en el desarrollo (Capítulo 2), como en el de adaptación local (Capítulo 3) se encontró que *O. ficus-indica* y las otras especies mexicanas son mejores hospedadoras, presentando espacios libres de defensas anti-herbívoro. Por el contrario, el resto de las especies nativas que tienen una historia de evolución en asociación más larga con *C. cactorum* representan hospedadoras de menor calidad.

A pesar de que en las áreas invadidas esté presente un único clado de *C. cactorum*, se observó que los patrones de utilización de hospedadoras es igual para todos los clados. Estos resultados predicen que podría expresar al máximo su espectro fisiológico de plantas hospedadoras, aumentando el riesgo de ataque a especies de *Opuntia* que representen espacios libres de defensa y nuevas asociaciones, como las especies mexicanas.

Combinando los resultados obtenidos de los relevamientos de campo y los ensayos de laboratorio se descartó la hipótesis de que la variación geográfica en el uso de hospedadoras y la estructuración de las poblaciones se originaron por diferencias en las preferencias, llevando a adaptación local a sus plantas hospedadoras y una consecuente divergencia genética. También se descartó la incompatibilidad reproductiva como fenómeno que podría conducir al aislamiento de las poblaciones.

Los factores que determinan la estructura genética de las poblaciones de *C. cactorum* siguen siendo inciertos. Hasta el momento, dos hipótesis explicarían la existencia de los clados: 1) la proximidad geográfica de las poblaciones, y 2) las diferencias en los tiempos de desarrollo generados por la utilización de diferentes hospedadoras (según la disponibilidad en la zona). A partir de las diferencias en el desempeño larval sobre las distintas especies de *Opuntia*, se infiere que la calidad de las plantas hospedadoras difiere. Además, *C. cactorum* presenta distinta cantidad de generaciones por año, produciendo una eventual desincronización en la emergencia de adultos y generando barreras reproductivas. Sería interesante evaluar la capacidad de dispersión e identificar los períodos de vuelo de los adultos de cada región y algún posible efecto latitudinal para corroborar la hipótesis de la falta de sincronización de los adultos en el campo.

Con respecto al manejo integrado y en particular al control biológico de *C. cactorum*, se relevaron enemigos naturales y se seleccionó a *A. opuntiarum* como agente de control biológico. Asimismo, se desarrolló un protocolo de cría exitoso en laboratorio, maximizando su éxito reproductivo y se determinó el espectro de hospedadores en el campo de dos especies de *Apanteles*. Queda pendiente continuar con los estudios de especificidad de *A. opuntiarum* en laboratorio, tanto sobre especies nativas como norteamericanas. Además, se debe continuar con las investigaciones sobre la biología reproductiva para mejorar aún más la cría en laboratorio, y determinar las causas de la proporción de sexos sesgada hacia machos de la descendencia en condiciones de laboratorio. Se investigará si es debido a falta de apareamiento o a esterilidad de los machos y sus posibles causas.

En resumen, la información provista en este trabajo facilitará predecir la dispersión de *C. cactorum* en América del Norte y ayudará a comprender la dinámica de la interacción entre *C. cactorum* y sus plantas hospedadoras, proporcionando información para evaluar el riesgo y la futura propagación. A partir del patrón de uso de hospedadores encontrado en *C. cactorum* basado en la utilización de plantas en función de su disponibilidad, será posible trazar las rutas y la velocidad de la expansión de su distribución geográfica. Conociendo la distribución de las *Opuntia* y la capacidad de desarrollo de la polilla en las distintas especies presentes en las zonas invadidas se podrán efectuar predicciones de su expansión futura. Finalmente, la eventual liberación de *A. opuntiarum* para ser utilizado como agente de control biológico complementará las estrategias actuales de control integrado y sustentable de *C. cactorum*.

## 6. Referencias

- Allen, W.W. & Smith, R.F. 1958. Some factors influencing the efficiency of *Apanteles medicaginis* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae) as a parasite of the alfalfa caterpillar. *Hilgardia* 28 1-42.
- Anderson, E.F. 2001. The cactus family. Timber Press, Portland, Oregon, USA.
- Annecke, D.P. & Moran, V.C. 1978. Critical reviews of biological pest control in South Africa 2. The prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. *Journal of the Entomological Society of Southern Africa* 41, 161-188.
- Baker, A.J. & Stiling, P. 2009. Comparing the effects of the exotic cactus-feeding moth, *Cactiblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae) and the native cactus-feeding moth, *Melitara prodenialis* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) on two species of Florida *Opuntia*. *Biol Invasions* 11, 619-624.
- Barthlott, W. & Hunt, D.R. 1993. Cactaceae. In: Kubitzki, K., Rohwer, J.G., Bittrich, V., (Eds.), *The families and genera of vascular plants. Flowering plants. Dicotyledons. Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid families*. Springer Verlag, Berlín, Germany, pp. 161-197.
- Beddington, J.R., Free, C.A. & Lawton, J.H. 1978. Modeling biological control. On the characteristics of successful natural enemies. *Nature* 273, 513-519.
- Bellows, T.S. & Fisher, T.W. 1999. *Handbook of Biological Control: Principles and Applications*. Academic Press, San Diego, New York.
- Bernays, E.A. & Chapman, R.F. 1994. *Host-plant selection behaviour of phytophagous insects*. Chapman & Hall, New York.
- Bloem, K., Bloem, S., Carpenter, J., Hight, S., Floyd, J. & Zimmerman, H. 2007. Don't let cacto blast us: Development of a bi-national plan to stop the spread of the cactus moth *Cactoblastis cactorum* in North America. In: Vreysen, M.J.B., Robinson, A.S., J., H., (Eds.), *Area-Wide Control of Insect Pests from Research to Field Implementation*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 337-344.
- Bravo-Hollis, H. 1991. *Las cactáceas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Briano, J., Varone, L., Logarzo, G. & Villamil, C. 2012. Extended geographical distribution and host range of the cactus moth, *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae), in Argentina. *Florida Entomologist* 95, 233-237.
- Brooks, C., Ervin, G., Varone, L. & Logarzo, G. 2012. Native ecotypic variation and the role of host identity in the spread of an invasive herbivore, *Cactoblastis cactorum*. *Ecology* 93, 402-410.
- Courtney, S.P. & Forsberg, J. 1988. Host use by two pierid butterflies varies with host density. *Functional Ecology* 2, 67-75.
- Cunningham, J.P., Jallow, M.F.A., Wright, D.J. & Zalucki, M.P. 1998. Learning in host selection in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Animal Behaviour* 55, 227-234.
- Darwin, C. 1859. On the origin of species by natural selection. John Murray, London.
- De Santis, L. 1979. Catálogo de los himenópteros calcidoideos de América al sur de los Estados Unidos. Comisión de Investigación Científica de la Provincia de Buenos Aires, La Plata, Argentina, pp. 488 pp.
- Dennis, R.L.H. & Shreeve, T.G. 2008. Hostplant-habitat structure and the evolution of butterfly mate-locating behaviour. *Zoological Journal of the Linnean Society* 94, 301-318.
- Desurmont, G.A., Donoghue, M.J., Clement, W.L. & Agrawal, A.A. 2011. Evolutionary history predicts plant defense against an invasive pest. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 7070-7074.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2008. InfoStat, versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Diehl, S.R. & Bush, G.L. 1984. An Evolutionary and Applied Perspective of Insect Biotypes. *Annual Review of Entomology* 29, 471-504.
- Dodd, A.P. 1940. The biological campaign against prickly-pear. Commonwealth Prickly Pear Board, Brisbane, Australia.



- Driesche, R.G. & Hoddle, M.S. 2000. Classical Arthropod Biological Control: Measuring Success, Step By Step. In: Gurr, G., Wratten, S., (Eds.), Biological Control: Measures of Success. Springer Netherlands, pp. 39-75.
- Forister, M.L. 2004. Oviposition preference and larval performance within a diverging lineage of lycaenid butterflies. *Ecological Entomology* 29, 264-272.
- Fox, L.R. & Morrow, P.A. 1981. Specialization: species property or local phenomenon? *Science* 211, 887-893.
- Gandhi, K. & Herms, D.A. 2010. Direct and indirect effects of alien insect herbivores on ecological processes and interactions in forests of eastern North America. *Biological Invasions* 12, 389-405.
- García-Turudi, J.C., Martorell, L.F. & Medina Guad, S. 1971. Geographical distribution and host plant list of the cactus moth, *Cactoblastis cactorum* (Berg) in Puerto Rico and the United States Virgin Islands. *Journal of the Agricultural University of Puerto Rico* 55, 130-134.
- Griffith, M.P. 2004. The origins of an important cactus crop, *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae): new molecular evidence. *American Journal of Botany* 91, 1915-1921.
- Guzmán Loayza, D. & Chávez, J. 2007. Estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para el consumo humano. *Revista de la Sociedad Química de Perú* 73, 41-45.
- Habeck, D.H. & Bennet, F.D. 1990. *Cactoblastis cactorum* Berg (Lepidoptera: Pyralidae), a phycitine new to Florida. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. Entomol. Circular 333.
- Hamilton, W.D. 1967. Extraordinary sex ratios. A sex-ratio theory for sex linkage and inbreeding has new implications in cytogenetics and entomology. *Science*. 156, 477-488.
- Heinrich, C. 1939. The cactus-feeding phycitinae: A contribution towards a revision of the American pyralidoid moths of the family Phycitidae. *Proceedings of the United States National Museum* 3053 86, 331-413.

- Hight, S.D., Bloem, S., Bloem, K.A. & Carpenter, J.E. 2003. *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: pyralidae): Observations of courtship and mating behaviors at two locations on the Gulf Coast of Florida. *Florida Entomologist* 86, 400-408.
- Hight, S.D. & Carpenter, J.E. 2009. Flight phenology of male *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) at different latitudes in the southeastern United States. *Florida Entomologist* 92, 208-216.
- Hight, S.D., Carpenter, J.E., Bloem, K.A., Pemberton, R.W. & Stiling, P. 2002. Expanding geographical range of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in North America. *Florida Entomologist* 85, 527-529.
- Hight, S.D., Carpenter, J.E., Bloem, S., Bloem, K.A. & Floyd, J. 2008. Development of control tactics against the invasive cactus moth, *Cactoblastis cactorum*, in North America. XXIII International Congress of Entomology, Durban, South Africa.
- Hijmans, R.J. 2012. DIVA-GIS (version 7.5.0.0). Free mapping program, available from <http://www.diva-gis.org/>.
- Hopper, K.R., Roush, R.T. & Powell, W. 1993. Management of Genetics of Biological-Control Introductions. *Annual Review of Entomology* 38, 27-51.
- Jaenike, J. 1978. On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology* 14, 350-356.
- Jezorek, H.A., Stiling, P.D. & Carpenter, J.E. 2010. Targets of an invasive species: oviposition preference and larval performance of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) on 14 North American opuntoid cacti. *Environmental Entomology* 39, 1884-1892.
- Johnson, D.M. & Stiling, P.D. 1996. Host specificity of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae), an exotic *Opuntia*-feeding moth, in Florida. *Environmental Entomology* 25, 743-748.
- Johnson, D.M. & Stiling, P.D. 1998. Distribution and dispersal of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae), an exotic *Opuntia*-feeding moth, in Florida. *Florida Entomologist* 81, 12-22.
- Julien, M.H. & Griffiths, M.W.E. 1998. Biological control of weeds. A world catalogue of agents and their target weeds. CABI, Wallingford, United Kingdom.

- Kareiva, P. 1982. Experimental and mathematical analysis of herbivore movement: quantifying the influence of plant spacing and quality on foraging discrimination. *Ecological Monographs* 52, 261-282.
- Kawecki, T.J. & Ebert, D. 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* 7, 1225-1241.
- Kiesling, R. 1999. Cactaceae. In: Zuloaga, F.O., Morrone, O., (Eds.), *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, St. Louis, USA*, pp. 423-489.
- Kiesling, R. 2005. Cactaceae, Cactáceas. In: Troncoso, N.S., Bacigalupo, N.M., (Eds.), *Flora Ilustrada de Entre Ríos. Dicotiledoneas Arquiclamídeas. B: Geraniales a Umbelliflorales. Colección Científica INTA, Buenos Aires, Argentina*, pp. 401-444.
- Kishani Farahani, H., Bell, H. & Goldansaz, S.H. 2012. Biology of *Apanteles myeloenta* (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of carob moth *Ectomyelais ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 15, 607-610.
- Kulkarni, S.M. 1965. Studies on the sex-ratio and adult emergence of *Apanteles tachardiae* Cam. in the laboratory culture. *Entomophaga* 10, 319-321.
- Kuussaari, M., Singer, M. & Hanski, I. 2000. Local specialization and landscape-level influence on host use in an herbivorous insect. *Ecology* 81, 2177-2187.
- Lenzi, M. 2008. Biología reproductiva de *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. (Cactaceae) nas restingas da Ilha de Santa Catarina, Sul do Brazil. *Área de Concentração Recursos Genéticos Vegetais. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil*, pp. 95.
- Levins, R. & MacArthur, R. 1969. An hypothesis to explain the incidence of monophagy. *Ecology* 50, 910-911.
- Logarzo, G., Casalnuovo, M., Piccinali, R., Braun, K. & Hasson, E. 2011. Geographic host use variability and host range evolutionary dynamics in the phytophagous insect *Apagomerella versicolor* (Cerambycidae). *Oecologia* 165, 387-402.
- Logarzo, G., Varone, L., Briano, J.A., Hight, S. & Carpenter, J. 2010. Diverse mortality factors for *Cactoblastis cactorum* and the insects' response in its native Argentine range. *ESA Annual Meeting (December 12-15, 2010): Symposia: The Multiple*

“Personalities” of *Cactoblastis cactorum*: a Multi-Disciplinary Response to the Biological Impacts of the Moth’s Geographical Wanderings. San Diego California, US.

- Mafokoane, L.D., Zimmermann, H.G. & Hill, M.P. 2007. Development of *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae) on six North American *Opuntia* species. *African Entomology* 15, 295-299.
- Majure, L.C., Puente, R., Griffith, M.P., Judd, W.S., Soltis, P.S. & Soltis, D.E. 2012. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. *American Journal of Botany* 99, 847-864.
- Mann, J. 1969. Cactus-feeding insects and mites. United States National Museum Bulletin. Smithsonian Institution Press, Washington D. C., USA pp. 158.
- Marsico, T.D., Wallace, L.E., Ervin, G.N., Brooks, C.P., McClure, J.E. & Welch, M.E. 2011. Geographic patterns of genetic diversity from the native range of *Cactoblastis cactorum* (Berg) support the documented history of invasion and multiple introductions for invasive populations. *Biological Invasions* 13, 857-868.
- Martínez, J.J., Berta, C., Varone, L., Logarzo, G.A., Zamudio, P., Zaldívar-Riverón, A. & G., A.-V.R. 2012. DNA barcodes and morphological identification of the southern South American species of *Apanteles* (Hymenoptera: Braconidae) parasitoids of cactus feeding moths (Lepidoptera: Pyralidae: Phycitinae). *Invertebrate Systematics* 26, 435-444.
- Mayhew, P.J. 1997. Adaptive patterns of host plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79, 417-428.
- Mayhew, P.J. 1998. Testing the preference-performance hypothesis in phytophagous insects: lessons from chrysanthemum leafminer (Diptera: Agromyzidae). *Environmental Entomology* 27, 45-52.
- McFadyen, R.E. 1985. Larval characteristics of *Cactoblastis* spp. (Lepidoptera: Pyralidae) and the selection of species for biological control of prickly pears (*Opuntia* spp.). *Bulletin of Entomological Research* 75, 159-168.

- Mohan, C. & Sathiamma, B. 2007. Potential for lab rearing of *Apanteles taragamae*, the larval endoparasitoid of coconut pest *Opisina arenosella*, on the rice moth *Corcyra cephalonica*. *BioControl* 52, 747-752.
- Mopper, S. 1996. Adaptive genetic structure in phytophagous insect populations. *Trends in Ecology and Evolution* 11, 235-238.
- Moran, V.C. & Zimmermann, H.G. 1984. The biological control of cactus weeds: Achievements and prospects. *Biocontrol News and Information* 5, 297-320.
- Myers, J.H., Monro, J. & Murray, N. 1981. Egg clumping, host plant selection and population regulation in *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera). *Oecologia* 51, 7-13.
- NAPPO 2009. Detection and eradication of a cactus moth (*Cactoblastis cactorum* Berg) outbreak in Isla Contoy, municipality of Isla Mujeres, Quintana Roo, Mexico. North American Plant Protection Organization, <http://www.pestalert.org/oprDetail.cfm?oprID=376&keyword=cactoblastis%20cactorum>.
- Neu, C.W., Byers, C.B. & Peek, J.M. 1974. A technique for analysis of utilization-availability data. *Journal of Wildlife Management* 38, 541-545.
- Nylin, S., Janz, N. & Wedell, N. 1996. Oviposition plant preference and offspring performance in the comma butterfly: correlations and conflicts. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80, 141-144.
- Palmer, W.A. 1999. The use of cut foliage instead of whole plants for host specificity testing of weed biocontrol insects—is this acceptable practice? In: Whithers, T.M., Barton Brown, L., Stanley, J., (Eds.), *Host Specificity Testing in Australasia: Towards Improved Assays for Biological Control*. CRC for Tropical Pest Management, Brisbane, Australia, pp. 20-29.
- Parker, J.D., Burkepille, D.E. & Hay, M.E. 2006. Opposing effects of native and exotic herbivores on plant invasions. *Science* 311, 1459-1461.
- Pemberton, R.W. 2000. Predictable risk to native plants in weed biological control. *Oecologia* 125, 489-494.

- Pemberton, R.W. & Cordo, H.A. 2001. Potential and risks of biological control of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in North America. Florida Entomologist 84, 513-526.
- Pemberton, R.W. & Liu, H. 2007. Control and persistence of native *Opuntia* on Nevis and St. Kitts 50 years after the introduction of *Cactoblastis cactorum*. Biological Control 41, 272-282.
- Perez-Sandi C., M. 2001. Addressing the threat of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae), to *Opuntia* in Mexico. Florida Entomologist 84, 499-502.
- Peter, C. & David, B.V. 1990. Biology of *Apanteles machaeralis* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae) a parasite of *Diaphania indica* (Saunders) (Lepidoptera: Pyralidae). Proceedings: Animal Sciences 99, 353-362.
- Petty, F.W. 1948. The biological control of prickly pear in South Africa. Science Bulletin, Department of Agriculture of the Union of South Africa 271, 1-163.
- Pinto, J.D., Stouthamer, R., Platner, G.R. & Oatman, E.R. 1991. Variation in Reproductive Compatibility in *Trichogramma* and Its Taxonomic Significance (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Annals of the Entomological Society of America 84, 37-46.
- Rausher, M.D. 1985. Variability for host preference in insect populations: Mechanistic and evolutionary models. Journal of Insect Physiology 31, 873-889.
- Renwick, J.A.A. & Chew, F.S. 1994. Oviposition behavior in Lepidoptera. Annual Review of Entomology 39, 377-400.
- Restoux, G., Hossaert-McKey, M., Benrey, B. & Alvarez, N. 2010. The effect of host plant and isolation on the genetic structure of phytophagous insects: A preliminary study on a bruchid beetle. European Journal of Entomology 107 299-304.
- Robertson, H.G. 1987. Oviposition site selection in *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera): constraints and compromises. Oecologia 73, 601-608.
- Robertson, H.G. & Hoffmann, J.H. 1989. Mortality and life-tables of *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae) compared on two host-plant species. Bulletin of Entomological Research 79, 7-17.

- Robinet, C., Lance, D.R., Thorpe, K.W., Onufrieva, K.S., Tobin, P.C. & Liebhold, A.M. 2008. Dispersion in time and space affect mating success and Allee effects in invading gypsy moth populations. *Journal of Animal Ecology* 77, 966-973.
- Roderich, G.K. & Navajas, M. 2003. Genes in new environments: Genetics and evolution in biological control. *Nature Reviews* 4, 889-899.
- Roland, J., Keyghobadi, N. & Fownes, S. 2000. Alpine *Parnassius* butterfly dispersal: effects of landscape and population size. *Ecology* 81, 1642-1653.
- Sakai, A.K., Allendorf, F.W., Holt, J.S., Lodge, D.M., Molofsky, J., With, K.A., Baughman, S., Cabin, R.J., Cohen, J.E., Ellstrand, N.C., McCauley, D.E., O'Neil, P., Parker, I.M., Thompson, J.N. & Weller, S.G. 2001. The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32, 305-332.
- Scriber, J.M. & Slansky, F. 1981. The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology* 26, 183-211.
- Shuker, D.M. & West, S.A. 2004. Information constraints and the precision of adaptation: Sex ratio manipulation in wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 10363–10367.
- Simmonds, F.J. & Bennett, F.D. 1966. Biological control of *Opuntia* spp. by *Cactoblastis cactorum* in the Leeward Islands (West Indies). *Entomophaga* 11, 183-189.
- Singer, M.C. 1983. Determinants of multiple host use by a phytophagous insect population. *Evolution* 37, 389-403
- Singer, M.C. 2000. Reducing ambiguity in describing plant–insect interactions: “preference”, “acceptability” and “electivity”. *Ecology Letters* 3, 159-162.
- Singer, M.C., Ng, D. & Moore, R.A. 1991. Genetic variation in oviposition preference between butterfly populations. *Journal of Insect Behavior* 4, 531-535.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236, 787-792.
- Soberón, J., Golubov, J. & Sarukhán, J. 2001. The importance of *Opuntia* in México and routes of invasion and impact of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae). *Florida Entomologist* 84, 486-492.

- Solis, M.A., Hight, S.D. & Gordon, D.R. 2004. Tracking the cactus moth, *Cactoblastis cactorum* Berg., as it flies and eats its way westward in the U.S. *News of the Lepidopterist's Society* 46, 3-4.
- Speight, M.R., Hunter, M.D. & Watt, A.D. 1999. Evolutionary ecology. *Ecology of insects: concepts and applications*. Blackwell Sciences, London, UK, pp. 125-165.
- Starmer, W.T., Aberdeen, V. & Lachance, M.A. 1988. The yeast community associated with decaying *Opuntia stricta* (Haworth) in Florida with regard to the moth, *Cactoblastis cactorum* (Berg). *Florida Scientist* 51, 7-11.
- Stefanescu, C., Jubany, J. & Dantart, J. 2006. Egg-laying by the butterfly *Iphiclidides podalirius* (Lepidoptera, Papilionidae) on alien plants: a broadening of host range or oviposition mistakes? *Animal Biodiversity and Conservation* 29, 83-90.
- Stiling, P. 2002. Potential non-target effects of a biological control agent, prickly pear moth, *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae), in North America, and possible management actions. *Biological Invasions* 4, 273-281.
- Strong, D.R. & Pemberton, R.W. 2000. Biological control of invading species: risk and reform. *Science* 288, 1969-1970.
- Tagawa, J., Yoshida, C., Hashimoto, T. & Sudare, A. 1987. Effects of mating on the oviposition behaviour of the parasitic wasp, *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Ethology* 5, 37-41.
- Tate, C.D., Hight, S.D. & Carpenter, J.E. 2009. Oviposition preference of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in caged choice experiments and the influence on risk assessment of F1 sterility. *Biocontrol Science and Technology*, 1-17.
- Taylor, N.P., Stuppy, W. & Barthlott, W. 2002. Realignment and revision of the Opuntioideae of Eastern Brazil. In: Hunt, D., Taylor, N., (Eds.), *Studies in the Opuntioideae (Cactaceae)*. Succulent Plant Research vol. 6, Milborne Port Sherbone, England, pp. 99-132.
- Thiéry, D., Monceau, K. & Moreau, J. 2013. Different emergence phenology of European grapevine moth (*Lobesia botrana*, Lepidoptera: Tortricidae) on six varieties of grapes. *Bulletin of Entomological Research FirstView*, 1-11.



- Thomas, C., Vasco, D., Singer, M., Ng, D., White, R. & Hinkley, D. 1990. Diet divergence in two sympatric congeneric butterflies: Community or species level phenomenon? *Evolutionary Ecology* 4, 62-74.
- Thompson, J.N. 1988a. Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47, 3-14.
- Thompson, J.N. 1988b. Variation in preference and specificity in monophagous and oligophagous swallowtail butterflies. *Evolution* 42, 118-128.
- Thompson, J.N. & Pellmyr, O. 1991. Evolution of Oviposition Behavior and Host Preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 36, 65-89.
- USDA-APHIS-PPQ 2009. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Plant Protection and Quarantine. 2009. Cactus Moth Program Annual Report. USDA-PPQ Eastern Region, Pensacola, FL.
- Van den Bosch, R. 1971. Biological control of insects. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 2, 45-66.
- Van Driesche, R., Hoddle, M. & Center, T. 2008. Control of pests and weeds by natural enemies: An introduction to biological control. Blackwell, Malden, MA, USA.
- Van Nouhuys, S., Singer, M.C. & Nieminen, M. 2003. Spatial and temporal patterns of caterpillar performance and the suitability of two host plant species. *Ecological Entomology* 28, 193-202.
- Varone, L., Manteca Acosta, M., Logarzo, G.A., Briano, J.A., Hight, S.D. & Carpenter, J.E. 2012. Laboratory performance of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) on South and North American *Opuntia* species occurring in Argentina. *Florida Entomologist* 95, 1163-1173.
- Vigueras, G.A.L. & Portillo, L. 2001. Uses of *Opuntia* species and the potential impact of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in Mexico. *Florida Entomologist* 84, 493-498.
- von Humboldt, A. 1805. *Essai sur la Géographie des Plantes*. Levrault, Paris.
- West, S.A. & Cunningham, J.P. 2002. A general model for host plant selection in phytophagous insects. *Journal of Theoretical Biology* 214, 499-513.

- Wiklund, C. 1974. The concept of oligophagy and the natural habitats and host plants of *Papilio machaon* L. in Fennoscandia. *Insect Systematics and Evolution* 5, 151-1600.
- Williams, G.C. 1966. *Adaptation and natural selection: a critique of some current evolutionary thought*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Woodard, A.M., Ervin, G.N. & Marsico, T.D. 2012. Host plant defense signaling in response to a coevolved herbivore combats introduced herbivore attack. *Ecology and Evolution* 2, 1056-1064.
- Zimmermann, H.G., Bloem, S. & Klein, H. 2007. Biology, history, threat, surveillance and control of the cactus moth, *Cactoblastis cactorum*. IAEA, Austria.
- Zimmermann, H.G., Erb, H.E. & McFadyen, R.E. 1979. Annotated list of some cactus-feeding insects of South America. *Acta Zoologica Lilloana* XXXIII 2, 101-112.
- Zimmermann, H.G., Moran, V.C. & Hoffmann, J.H. 2000. The renowned cactus moth, *Cactoblastis cactorum*: its natural history and threat to native *Opuntia* floras in Mexico and the United States of America. *Diversity and Distributions* 6, 259-269.