# Artículo de Investigación / Research Article

# Determinación del estatus de cópula en *Lobesia botrana* (Denis y Shiffermüller, 1776) (Lepidoptera: Tortricidae) usando la técnica de la hembra centinela

Determination of mating status of *Lobesia botrana* (Denis & Shiffermüller, 1776) (Lepidoptera: Tortricidae) using the sentinel female technique



<sup>1</sup>Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Santa Rosa 11315, Santiago, Chile. ♠ \*dsarrazt@ uchile.cl

ZooBank: urn:lsid:zoobank.org:pub:D226858E-AEA4-45B6-8293-3697D3886AE6 https://doi.org/10.35249/rche.49.2.23.22

**Resumen.** En Chile, *Lobesia botrana* es una plaga sometida a una campaña de erradicación / contención. Su manejo emplea la confusión sexual (CS) como una herramienta de control fundamental, la cual es habitualmente evaluada indirectamente por la supresión de capturas de machos en trampas y/o por la evaluación de la disminución del daño en fruta, en campos tratados. Sin embargo, el objetivo de la CS es la disrupción (evitación) de la cópula. El presente estudio proporciona bases para el uso de la técnica de la "hembra centinela" como método alternativo y directo para la evaluación de la eficacia de la CS midiendo el porcentaje de cópulas en hembras. En estudios conducidos en laboratorio se evaluó en hembras adultas la edad a la copula post emergencia desde la pupa y las dimensiones de la bursa copulatrix en hembras vírgenes y copuladas. Adicionalmente, se evaluaron dos métodos de confinamiento de hembras vírgenes (con un ala amarrada a una plataforma versus jaulas de acceso restringido), midiendo los respectivos % de cópula al exponerlas a machos vírgenes, lo que se contrastó con las hembras vírgenes no confinadas. Se determinó que las hembras copulan antes de las 48 horas desde el emparejamiento con un macho. La bursa copulatrix de una hembra virgen mide  $0.9 \pm 0.03$  mm de largo x  $0.2 \pm 0.01$  mm de ancho, mientras que en una hembra copulada mide 1.1 $\pm$  0,5 x 0,5  $\pm$  0,3 mm, lo que constituye un criterio objetivo para determinar el estatus de cópula de una hembra. Las hembras vírgenes fueron capaces de copular en todos los tratamientos; 100% de las hembras no confinadas copularon, 92% copularon con un ala amarrada y 64% en jaulas. Se concluye que el método de confinamiento en jaulas funciona para evaluar de forma directa la eficacia de la CS.

Palabras clave: Bursa copulatrix; comportamiento sexual; confinamiento de insectos.

**Abstract.** In Chile, *Lobesia botrana* is a pest submitted to a campaign of eradication/contention. Its management uses mating disruption (CS) as a fundamental control tool which is usually indirectly evaluated by the suppression of male captures in traps and/or by the fruit damage reduction in treated fields. However, the goal of mating disruption technique is to avoid mating. The current study provides the bases to use the "sentinel female" technique as a direct and alternative method to evaluate CS efficacy by measuring the percentage of mating in females. In studies conducted in laboratory, the age at post-emergence copulation from the pupa and the dimensions of the *bursa copulatrix* in virgin and mated females were evaluated in adult females. Additionally, two methods

Recibido 12 diciembre 2022 / Aceptado 2 junio 2023 / Publicado online 30 junio 2023 Editor Responsable: José Mondaca E.



of virgin females' confinement (females with a tied wing or females in cages with restricted access) were evaluated, measuring the respective % copulation when exposed to virgin males, which was contrasted with unconfined virgin females. It was determined that the females mate before 48 hours after mating with a male. The *bursa copulatrix* of a virgin female measures  $0.9 \pm 0.03$  mm long x  $0.2 \pm 0.01$  mm wide, while in a mated female it measures  $1.1 \pm 0.5$  x  $0.5 \pm 0.3$  mm, which constitutes an objective criterion to determine the female mating status. Virgin females were able to mate in all treatments; 100% of the unconfined females copulated, 92% copulated with a tethered wing and 64% in cages. It is concluded that the method of confinement in cages works to directly evaluate the efficacy of CS.

Key words: Bursa copulatrix; insect confinement; sexual behavior.

## Introducción

Lobesia botrana (Denis & Shiffermüller, 1776) (Lepidoptera: Tortricidae), conocida como polilla europea del racimo de la vid, está ampliamente distribuida en Europa y en algunos países de Asia y África (CABI 2018). En la última década se ha reportado su introducción en tres países de América: Argentina, Chile y Estados Unidos, aunque se considera erradicada de este último (Gutiérrez et al. 2018). Si bien la literatura señala diversos hospedantes frutales (Gilligan et al. 2011; Rocca y Brown 2013), en el mundo y en Chile L. botrana afecta principalmente a la vid, tanto por su daño directo en los rendimientos, como por su daño indirecto al producir pudriciones y rechazos por su presencia en fruta fresca de exportación destinada a mercados donde se le considera cuarentenaria (Ioratti et al. 2011; Herrera et al. 2017).

El control de L. botrana se centra en el uso de la técnica de la confusión sexual (CS). La CS ha adquirido especial importancia debido a que es un método efectivo, con nulo impacto adverso en el medioambiente y altamente específico para la especie (Witzgall et al. 2008). Este método funciona instalando un determinado número de fuentes (emisoresconfusores) de feromona sintética que es liberada en altas concentraciones al ambiente en el campo, lo que genera una "nube invisible" que impide a los machos encontrar a las hembras y copular, reduciendo las poblaciones y el daño de la especie plaga (Sanders 1997). La adopción de la CS para el control de L. botrana ha ido aumentando de manera significativa en los últimos años. En Chile, la CS es la principal herramienta en el manejo y erradicación de esta plaga, con la que se manejaron 110.000 ha, principalmente de vides, y también de ciruelos y arándanos en la última temporada, más algunas zonas urbanas (Ceballos et al. 2022; SAG 2022a). La evaluación de la eficacia de esta técnica (incluyendo los estudios necesarios para la autorización o registro del uso de emisores de feromona para CS) se hace midiendo las capturas de machos en trampas cebadas con feromona en parcelas tratadas con CS en contraste con un control negativo (sitio sin tratar con CS) o positivo (tratado con insecticidas residuales); cuando la técnica funciona eficientemente, las capturas cesan o se reducen significativamente en los sectores tratados con CS, mientras que prosiguen en los controles (Curkovic et al. 2005). Sin embargo, a medida que aumenta la superficie de vides u otros frutales tratados con CS, es necesario usar otros indicadores para evaluar la eficacia de esta técnica, pues la población silvestre de L. botrana en los campos se reduce, dificultando juzgar la eficacia sólo por las capturas en trampas. Más recientemente, se han usado jaulas de grandes dimensiones dispuestas en campo (SAG 2022b), en el interior de las cuales se liberan machos vírgenes y se evalúa la recaptura en trampas tipo delta que contienen hembras vírgenes en pequeños contenedores, siendo en teoría la recaptura muy superior en el tratamiento control (sin aplicación de CS), pero este método presenta limitantes como su alto costo y dificultad de instalación en campo (Hoffmann y Doye 2017). Por ello, en este aporte se propone usar la técnica de la hembra centinela para testear la eficacia de la CS de forma directa y práctica en campo. Esta técnica se aplica exponiendo hembras vírgenes confinadas por un tiempo acotado donde exista población silvestre, o liberando machos criados artificialmente en una condición controlada (en casos de baja población silvestre) y luego, recuperando las hembras para evaluar su estatus de cópula (según cambios morfométricos en la *bursa copulatrix*), y se ha utilizado en otras especies de polillas plaga en la agricultura (Curkovic 2004; Stelinski *et al.* 2007; Briand *et al.* 2012; Harari *et al.* 2014; Soopaya *et al.* 2015).

En muchos lepidópteros, el aparato reproductor masculino produce espermios que se transfieren a la hembra en una cápsula llamada espermatóforo (Chapman 2013). En Tortricidae, el espermatóforo termina su formación dentro de los ductos femeninos una vez iniciada la cópula, y finalmente es depositado en la bursa copulatrix (Van deer Geest 1991; Chapman 2013), una estructura anexa del aparato reproductor femenino que está compuesta de dos partes: un ducto delgado llamado "ductus bursae" y un saco más amplio llamado "corpus bursae", el cual tiene una o dos espinas (signum) (Van deer Geest 1991). Las signae desgastan el espermatóforo de forma gradual hasta que este se rompe y libera los espermios, los cuales posteriormente se desplazarán a la espermateca. La disposición del espermatóforo en la bursa provoca cambios notables incluyendo su expansión, lo que permitiría verificar el estatus de cópula de una hembra (copulada o no copulada) en situaciones donde, por ejemplo, se desea evaluar la CS contra L. botrana. Ello motivó el presente estudio para sentar las bases de la evaluación de esta técnica para L. botrana en Chile.

# Materiales y Métodos

# Insectos y sexado

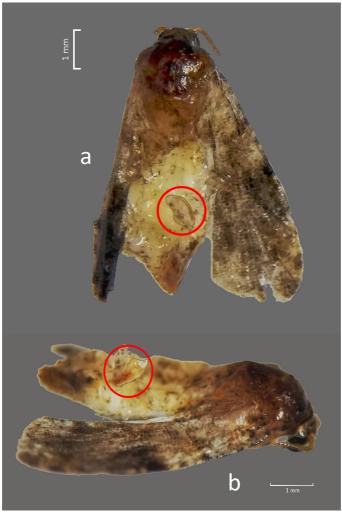
Se obtuvieron pupas de 0 días de machos y hembras de *L. botrana* obtenidas desde una crianza controlada bajo bioseguridad, manejada por la Fundación de Desarrollo Frutícola de la Asociación de Exportadores de Chile, que está autorizada por el Servicio Agrícola y Ganadero de Chile, mantenida a 23±1 °C, 50±5% de humedad, 16 horas de luz (condiciones que se mantuvieron en los experimentos informados a continuación), y una dieta artificial (receta protegida). Previo a los estudios, se realizaron observaciones periódicas de los estadios larvarios y, cuando comenzó la pupación, se separaron los individuos para asegurar la homogeneidad de la edad inicial. Una vez esclerotizado y pigmentado el integumento de las pupas, se realizó el sexado.

#### Estimación de edad a la cópula

Para estimar el tiempo desde la emergencia del adulto a la cópula, se utilizaron "arenas de cópula" que consistieron en vasos de polipropileno cilíndricos y transparentes de 14,5 cm de alto x 10,6 cm de diámetro y 946 ml de capacidad c/tapa. Se removió una sección central de la tapa del vaso la que se cubrió con una malla de tul para permitir aireación. Se seleccionaron pupas de 20 machos y 20 hembras y se dispuso 1 pareja por vaso, las que se revisaron cada 15 minutos entre las 17 y las 21 horas (siguiendo a Torres 2014), durante tres tardes consecutivas luego de la emergencia de los adultos. Se midió el periodo de tiempo transcurrido hasta la emergencia y la ovipostura, mientras que la verificación de la cópula fue posible sólo en algunos casos, y cuando no fue observado el acople, la ovipostura de huevos fertilizados (se verificó que posteriormente dieron origen a larvas) fue el indicador del tiempo a la cópula.

### Mediciones de bursa copulatrix

Para evaluar las *bursae coplulatrix*, se colocó una pareja de pupas por vaso como lo descrito anteriormente (n = 20) y, en otros 20 vasos se dispusieron pupas de hembras (1 por vaso, sin machos), por 48 horas (según resultados del tiempo a la cópula). Luego fueron inmovilizadas con  $\mathrm{CO}_2$  y conservadas en alcohol 70%. La disección de los abdómenes de las hembras se realizó inmediatamente después de fijarlas en alcohol, con una incisión longitudinal realizada en la línea media del dorso de los segmentos centrales del abdomen para que, dada la posición de la *bursa* (ventral y centrada), el corte no dañara el *corpus* y *ductus bursae* (Fig. 1). Para esto se usó un bisturí fino y pinzas de baja presión de punta fina, bajo estereomicroscopio Mod. BLZTX-EC2 con aumentos de 40x. Las *bursae copulatrix* fueron medidas (largo y ancho en el plano ecuatorial) con pie de metro digital hasta  $\pm$  0,01 cm, fotografiadas (Canon PowerShot SX210 IS) y mantenidas en etanol 70%. Las *bursae* extraídas (contraídas y expandidas) se observaron diariamente por 30 días para verificar posibles cambios morfológicos.



**Figura 1.** Bursa copulatrix (en círculo rojo) expuesta luego del corte longitudinal del abdomen, en vista dorsal (a) y lateral (b). Escala: 1 mm. / Bursa copulatrix (within the red circle) exposed after the longitudinal incision on dorsal abdomen, dorsal (a) and lateral view (b). Scale: 1 mm.

#### Métodos de confinamiento de adultos

Se evaluaron dos métodos de confinamiento de hembras vírgenes. En el primero, se usaron individuos previamente inmovilizados con CO<sub>2</sub> y dispuestos en una placa Petri que estaba sobre un gel refrigerante a 0 °C, logrando mantenerlas quietas por 1 a 2 minutos, tiempo durante el cual se amarró el ala anterior derecha con un hilo estándar de algodón de 5 cm de largo. El nudo se hizo primero alrededor de una pinza de baja presión, con la que se tomó el ala y se deslizó el hilo hasta su base. Este se fijó por el otro extremo a un clip en el centro de una plataforma circular de cartón de 10 cm de diámetro. Se dispuso una hembra/plataforma. El segundo método usó sujetadores cilíndricos de plástico para cabello (rizador plástico con tapa), de 6,5 cm de largo y 1,7 cm de diámetro interno, los cuales fueron cubiertos con una malla antiáfidos, disponiendo una hembra virgen en su interior. Uno de los extremos del cilindro se cubrió con la malla y el otro se dejó abierto para insertarle un cono de PVC con diámetro externo de 25-30 mm e interno de 7-8 mm, para permitir, posteriormente, la entrada de los machos y dificultar la salida de los individuos que se encontraban adentro (12 hembras de L. botrana confinadas de manera similar en un estudio de campo demostraron todas ser capaces de atraer a machos conspecíficos, datos no publicados, DA y TC, por tanto este procedimiento no limita la capacidad de llamado de los individuos). Se consideró también un tercer tratamiento (control) con hembras libres, expuestas a los machos vírgenes. Cinco machos y 5 hembras vírgenes, en los 3 tratamientos (hembras con alas amarradas, en jaulas y libres), se colocaron en baterías Flanders de 50 x 30 x 30 cm, considerando un método de confinamiento (o tratamiento) en cada batería. Todos los individuos dispusieron de mechas de algodón con una solución azucarada (20%) en la batería, plataforma o jaula. Luego de 48 horas de exposición, se recolectaron las hembras, fijándolas en alcohol para disectarlas como se describió anteriormente y así estimar el estatus de cópula en función de las dimensiones de la bursa.

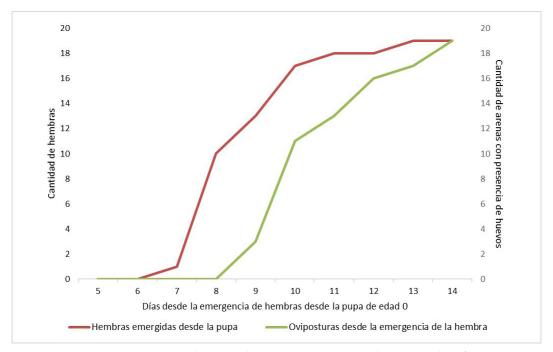
#### Análisis estadístico

Se realizó una prueba t de Student para contrastar los tratamientos (copuladas vs. sin copular; ver "Mediciones de la *bursa copulatrix*") respecto del largo y ancho ecuatorial. Se midieron 20 *bursae copulatrix* por tratamiento y se midieron los *corpus bursae*. Para comparar los métodos de confinamiento, se realizó un DBCA donde cada bloque (n = 5; criterio de bloqueo fue la fecha de montaje) fue conformado por 3 baterías Flanders. Debido a la naturaleza binomial del análisis de las cópulas, ya que las respuestas son "hembra copulada" o "hembra no copulada", el análisis se basó en un modelo lineal generalizado de respuesta binomial con función de enlace logit, con una prueba de verosimilitud de Wald. Cuando se detectaron diferencias estadísticas, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple DGC con significación del 5% (Di Rienzo *et al.* 2002).

# Resultados y Discusión

El 85% de las hembras y el 80% de los machos emergió desde las pupas en un plazo máximo de 10 días y el 64,7% de estas hembras puso huevos fertilizados dentro de ese mismo periodo. A los 14 días, emergió el 95% de las hembras y el 100% de estas había realizado oviposturas viables dentro de las arenas de cópula (Fig. 2). A partir del octavo día se alcanzó el máximo diario de emergencias, y la mayor cantidad de oviposturas viables (confirmadas luego por la eclosión de los huevos, lo que ocurrió en todos los individuos testeados) se alcanzó al décimo día desde la pupación, 2 días después de la máxima emergencia de hembras adultas. Esto se corresponde con los resultados de Ferro y Akre (1975) quienes observaron que los huevos aparecen en el ovario 24 horas después

de la emergencia de la hembra en *Cydia pomonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Tortricidae), periodo que debe transcurrir para que ocurran oviposturas viables. Por otra parte, Van deer Geest (1991) y Chapman (2013) mencionan que, en otros grupos de Lepidoptera, el traspaso de la esperma de la *bursa* a la espermateca puede tomar entre 12-18 horas. El 25% de las hembras de *L. botrana* en nuestro estudio puso huevos viables a las 24 horas de vida como adultos. El 70% de las hembras que no habían ovipuesto a esa fecha, lo hizo entre las 24 y las 48 horas desde la emergencia desde la pupa y un individuo murió antes de la emergencia del adulto. En los casos en que el macho emergió después que la hembra (20% de los machos), se observó la ocurrencia de la cópula al día siguiente. Según esto, la hembra y el macho copulan entre las 0 y, máximo, 48 horas después de la emergencia desde la pupa, comportamiento que es coincidente con lo reportado por Nansen *et al.* (2007), que se consideró como el plazo para estimar la ocurrencia de las cópulas en los sucesivos experimentos.

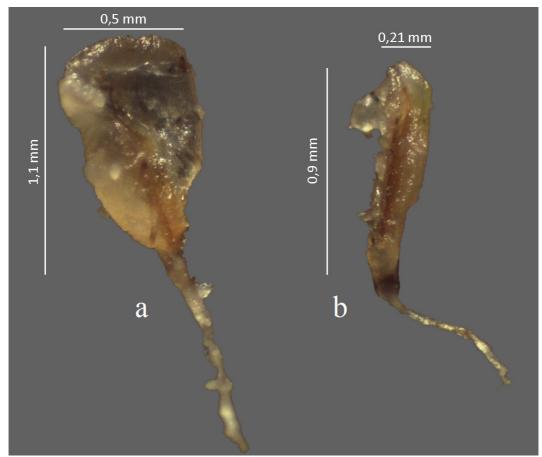


**Figura 2.** Emergencia de adultos (línea roja) y oviposturas viables (línea verde) de hembras de *L. botrana* desde la pupación en las arenas de cópula. / *L. botrana* female adult emergence (red line) and viable eggs (green line) laid after pupation inside mating arenas.

Respecto de la morfometría de las *bursas* observadas luego de las disecciones, todas presentaban el *corpus bursae* contraído y la parte superior plegada en las hembras no expuestas a machos (vírgenes). El ancho y largo, sin considerar los *ductus bursae*, mostró que, en promedio, la *bursa* contraída mide  $0.21 \pm 0.01$  mm de ancho en el plano ecuatorial y  $0.92 \pm 0.03$  mm de largo. Por otra parte, las hembras copuladas presentaron el *corpus bursae* expandidas y sin los pliegues observados en las hembras vírgenes, aumentando su volumen total. Las *bursae* de hembras copuladas midieron  $0.50 \pm 0.03$  mm de ancho y  $1.1 \pm 0.05$  mm de largo. Como se observa en la Fig. 3, la *bursa* al estar contraída (hembra no cubierta) presenta tejidos que se encuentran plegados. Una vez que la hembra es copulada y el espermatóforo depositado en su interior, la *bursa* se expande y cambia su forma, similar a lo planteado por Van deer Geest (1991) y Chapman (2013). Estos resultados demuestran que ambas dimensiones del *corpus bursae* presentan diferencias significativas (p-valor < 2006).

0,0001; F = 2713,71) para el ancho y para el largo (p-valor < 0,0001; F = 380,61) entre hembras vírgenes y cubiertas, medidas que sirven para discriminar el estatus de cópula, es decir, si ha ocurrido la transferencia del espermatóforo del macho a la hembra. Basándose en las medias y en el carácter morfológico más notable, la mejor forma para definir este estatus de cópula de la hembra es la medición del ancho del plano ecuatorial de la *bursa copulatrix*.

De los análisis realizados durante 30 días sobre las *bursae* mantenidas en alcohol 70%, se observó que las expandidas (copuladas) mantenían su forma durante todo el periodo y, luego de esos 30 días, aún seguían conservándola con mediciones de largo y ancho de 1,0  $\pm$  0,03 mm y 0,48  $\pm$  0,03 mm respectivamente. Lo mismo ocurrió con las *bursas* contraídas con medidas de 0,21  $\pm$  0,01 mm de ancho y 0,92  $\pm$  0,03 mm de largo. Según esto, la forma y dimensiones de la *bursa copulatrix* no cambian al ser extraída y conservada en alcohol, lo que flexibiliza la posibilidad de aplicar esta técnica en muchos sitios, colectar y conservar las genitalias en alcohol y, posteriormente, centralizar el análisis de estas estructuras en laboratorios especializados.



**Figura 3.** Aspecto y dimensiones de la *bursa copulatrix* de hembras de *L. botrana*; copulada expandida (a) y virgen contraída (b). / *Bursa copulatrix* appearance and dimensions in *L. botrana* females; mated and expanded (a) and non-mated and contracted (b).

Respecto del estudio sobre los métodos de exposición de las hembras centinelas, en el tratamiento control (sin confinamiento o amarre de alas), se revisaron 25 hembras y se observó que todas tenían sus *bursae copulatrix* expandidas a las 48 h luego de emergidas las hembras desde la pupa y expuestas a los machos en las baterías Flanders, por lo que se concluye

que las condiciones en que se expusieron a los machos eran favorables para la cópula y transferencia de espermatóforos, lo que permitió definir el estatus de hembra copulada o bursae copulatrix expandidas. En las hembras centinelas expuestas con un ala amarrada, se observó que 23 de las 25 hembras observadas tenían bursae expandidas, mientras que en las hembras en jaulas ello se observó en 16 ejemplares. El tratamiento de confinamiento en jaulas (64% de hembras copuladas) demuestra diferencias estadísticamente significativas (p-valor = 0,0005, F = 8,46) respecto del testigo (100% de hembras copuladas), el cual no se diferenció de las hembras con un ala amarrada (92% de hembras copuladas). No obstante, el método de las hembras amarradas mostró un mejor desempeño, mientras que el de la jaula resultó ser más práctico, pues el montaje del primero es complejo y lento, y deja a las hembras expuestas a depredadores en campo. Si bien el método de las jaulas fue estadísticamente inferior al del ala amarrada, Briand et al. (2012), Suckling et al. (2012), Harari et al. (2014) y Soopaya et al. (2015), evaluaron jaulas similares con propósitos parecidos en varias especies, obteniendo resultados concluyentes en ensayos de campo. Es importante mencionar que, dentro del tratamiento de hembras centinelas expuestas en jaulas, ninguna hembra fue encontrada fuera de las jaulas por lo que se presume que los individuos, una vez dentro, no pudieron salir. Sin embargo, se encontraron hembras copuladas sin presencia de machos en el interior de la jaula, por otra parte, en los casos que el macho entró a esta, no pudo salir, por lo que se debe mencionar que las parejas son capaces de copular a través de la malla antiáfidos. El uso de estas jaulas aumentaría el periodo en el que las hembras son capaces de emitir feromonas sexuales durante su vida, proceso que usualmente cesa post-cópula.

#### **Conclusiones**

La variable morfométrica más discriminatoria del estatus de cópula de una hembra de *Lobesia botrana* es el ancho ecuatorial de su *bursa copulatrix*.

El método del "ala amarrada" fue más eficaz para evaluar el estatus de cópula, pero el confinamiento en rizadores, aunque menos efectivo, es más práctico en campo.

El método de la hembra centinela se propone como un método para evaluar de forma directa la efectividad técnica de la confusión sexual contra *L. botrana*.

#### Literatura Citada

- **Briand, F., Guerin, P.M., Charmillot, P-J. y Kehrli, P. (2012)** Small cages with insect couples provide a simple method for a preliminary assessment of mating disruption. *The Scientific World Journal*, 2012: 1-8.
- **CABI (2018)** *Lobesia botrana* (European Grape Moth). [Disponible en: https://doi.org/10.1079/cabicompendium.42794 (Consultado: mayo 2023).
- Ceballos, R., Contreras, A., Fujii, T., Nojima, S., Fuentes-Contreras, E., Arraztio, D., Garrido, A. y Curkovic, T. (2022) Successful controlling of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae), using meso-dispensers for mating disruption in urban areas. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 82: 437-447.
- **Chapman, R. (2013)** *The insects: Structure and function.* 5th edition (Simpson, S., Douglas, A). Pp. 269-321.
- Curkovic, T. (2004) Behavioral responses of Choristoneura rosaceana (Harris) and Pandemis pyrusana Kearfott males to attracticide sources. Ph. D. dissertation, Washington State University, Pullman, WA. 175 pp.
- Curkovic, T., Sazo, L., Araya, J.E., Agurto, L. y Polanco, J. (2005) Efecto de feromonas de confusión de cópula en *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) y artrópodos asociados en pomáceas en el centro y sur de Chile. *Boletín de Sanidad Vegetal (Plagas)*, 31: 309-318.

- **Di Rienzo, J.A., Guzmán, A.W. y Casanoves, F. (2002)** A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics, 7*: 129-142.
- **Ferro, D. y Akre, R. (1975)** Reproductive morphology and mechanics of mating of the codling moth, *Laspeyresia pomonella*. *Annals of the Entomological Society of America*, 68: 417-424.
- Gilligan, T.M., Epstein, M.E., Passoa, S.C., Powell, J.A., Sage, O.C. y Brown, J.W. (2011) Discovery of *Lobesia botrana* ([Denis & Schiffermüller]) in California: an invasive species new to North America (Lepidoptera: Tortricidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 113: 14-30.
- Gutiérrez, A.P., Ponti, L., Gilioli, G. y Baumgärtner, J. (2018) Climate warming effects on grape and grapevine moth (*Lobesia botrana*) in the Palearctic region. *Agricultural and Forest Entomology*, 20: 255-271.
- Harari, A., Zahavi, T. y Steinitz, H. (2014) Female detection of the synthetic sex pheromone contributes to the efficacy of mating disruption of the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. *Pest Management Science*, 71: 316-322.
- Herrera, M.E., Dagatti, C.V. y Becerra, V.C. (2017) Tabla de vida y parámetros poblacionales de *Lobesia botrana* (Den.et Schiff.) en condiciones de laboratorio. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 76: 27-32.
- **Hoffmann, C. y Doye, E. (2017)** How to measure mating disruption efficacy of pheromone products for registration purposes in the field? *In*: J. Gross & A. Harari (Eds.), *The Good Sense of Scent–Pheromones and other semiochemicals in integrated Production* (pp. 59-70). Proceedings of the Meeting at Jerusalem (Israel), November 8-13, 2015. IOBC-WPRS Bulletin 126.
- Ioratti, C., Anfora, G., Tasin, M., De Cristofaro, A., Witzgall, P. y Lucchi, A. (2011) Chemical ecology and management of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 104: 1125-1137.
- Nansen, C., MacDonald, K.M., Rogers, C.D., Thomas, M., Poppy, G.M. y Baxter, I.H. (2007) Effects of sex pheromone in electrostatic powder on mating behaviour by *Lobesia botrana* males. *Journal of Applied Entomology*, 131: 303-310.
- **Rocca, M. y Brown, J. (2013)** New host records for four species of tortricid moths (Lepidoptera: Tortricidae) on cultivated blueberries, *Vaccinium corymbosum* (Ericaceae), in Argentina. *Proceedings of the Entomological Society of Washington, 115*: 167-172.
- **SAG [Servicio Agrícola y Ganadero] (2022a)** *Lobesia botrana* o polilla del racimo de la vid. Disponible en: https://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/lobesia-botrana-o-polilla-del-racimo-de-la-vid. Consultado: marzo 2022.
- SAG [Servicio Agrícola y Ganadero] (2022b) Evaluación de la eficacia de feromona sintética de *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) en ensayos de campo en vid, arándanos y ciruelo, con infestación controlada. Disponible en: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/protocolo\_ensayos\_cs\_con\_infestacion\_controlada\_2021.pdf. Consultado: noviembre 2022.
- **Sanders, C.J. (1997)** Mechanisms of mating disruption in moths. *In*: Carde', R.T., Minks, A.K. (Eds.), *Insect Pheromone Research: New Directions*. Chapman and Hall, New York. Pp. 333-346.
- Soopaya, R., Woods, B., Lacey, I., Virdi, V., Mafraneto, A. y Suckling, D.M. (2015) Feasibility of mating disruption for agricultural pest eradication in an urban environment: Light brown apple moth (Lepidoptera: Tortricidae) in perth. *Journal of Economic Entomology*, 108: 1930-1935.
- **Stelinski, L., Miller, J. y Ledebuhr, R. (2007)** Season-long mating disruption of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) by one machine application of pheromone in wax drops (SPLAT-OFM). *Journal of Pest Science, 80*: 109-117.

- Suckling, D.M., Brockerhoff, E.G., Stringer, L.D., Butler, R.C., Campbell, D.M., Mosser, L. y Cooperband, M. (2012) Communication disruption of *Epiphyas postvittana* D. (Lepidoptera: Tortricidae) by using two formulations at four point source densities in vineyards. *Journal of Economic Entomology*, 105: 1694-1701.
- **Torres, L. (2014)** *Un aniversario aciago: dos siglos de historia como plaga de la polilla del racimo de la vid, Lobesia botrana Den. y Schiff.* Disponible en: http://www.seea.es/index.php/seea-informa/divulgacion/15-divulgacion/64-seea-lobesia-botrana
- Van deer Geest, L.P.S. (1991) *Tortricid Pests: Their biology, Natural Enemies and Control*. World Crops Pest, volume 5: 10-13. L.P.S. van der Geest (Editor), H.H. Evenhuis (Editor).
- Witzgall, P., Stelinski, L., Gut, L. y Thomson, D. (2008) Codling moth management and chemical ecology. *Annual Review of Entomology*, 53: 503-522.