

REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

Volumen 37 • Número 1 • Enero - Junio 2011

Tarifa Postal Reducida No. 476 - Vence Dic. 31 / 2011



CONTENIDO

Sección Agrícola / Agriculture

- Respuesta de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) a compuestos volátiles de papa, *Solanum tuberosum*
Carlos Felipe Bosa, Andrea Clavijo Mc, Miriam Frida Karlsson, Alba Marina Cotes y Peter Witzgall 1
- Resistencia genética al Virus del Arrugamiento Foliar del Frijol transmitido por *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)
María Elena Cuéllar J., Francisco J. Morales y James Montoya Lerma 8
- Effect of sugarcane varieties on the development of *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae)
José F. García, Simone S. Prado, José D. Vendramim and Paulo S. M. Botelho 16

Continúa en la contraportada

Publicación oficial de la Sociedad Colombiana de Entomología

Tabla de vida de <i>Tetranychus cinnabarinus</i> (Acari: Tetranychidae) sobre tres variedades de melón, <i>Cucumis melo</i>	Osman Peralta C. y Víctor Tello M.	21
Estabilidad de formulaciones a base de granulovirus para controlar <i>Tecia solanivora</i> (Lepidoptera: Gelechiidae) en campo	Isabel Quiroga, Martha Gómez A. y Laura Villamizar R.	27
Patogenicidad de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Deuteromycota: Hyphomycetes) sobre <i>Heterotermes tenuis</i> (Isoptera: Rhinotermitidae) en <i>Hevea brasiliensis</i>	Armando Sterling C., Carlos A. Gómez M. y Ary A. Campo J.	36
Ciclo de vida y patogenicidad del aislamiento nativo <i>Heterorhabditis</i> sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae)	Adriana Sáenz A. y Juan Carlos López N.	43
Avances en la biología de <i>Corthylus zulmae</i> (Coleoptera: Curculionidae) en plantaciones de <i>Alnus acuminata</i> (Betulaceae)	Jorge L. Jaramillo, Carlos M. Ospina, Zulma Nancy Gil, Esther C. Montoya y Pablo Benavides	48
Composición y clasificación de daño de insectos en <i>Nothofagus glauca</i> (Fagaceae), Región del Maule, Chile	Amanda Huerta Fuentes, Wilson Navarrete Valdivia, Jaime Araya Clericus y Francisco Muñoz Alegría	56
Parámetros biológicos de <i>Proprioseiopsis iorgius</i> sobre <i>Tetranychus desertorum</i> (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae)	Víctor Tello Mercado, Romina Briceño Valdivia y Pamela Castillo Martínez	62
Effects of aging and polygamy on the reproductive performance of <i>Grapholita molesta</i> (Lepidoptera: Tortricidae)	Rosana M. De Moraes, Josué Sant'Ana, Luiza R. Redaelli and Rafael Lorscheiter	67
Distribución geográfica de <i>Neoleucinodes elegantalis</i> (Lepidoptera: Crambidae) en Colombia	Ana Elizabeth Díaz M., Alma Solís y Helena L. Brochero	71
Transmisión del Virus del Mosaico Suave del Ñame a <i>Dioscorea rotundata</i> (Dioscoreaceae) por <i>Oncometopia</i> sp. (Cicadellidae)	Deivys Álvarez G., Antonio Pérez H., Juan Díaz S., Mario Maestre H. y Javier Beltrán H.	77
Occurrence of <i>Poekilloptera phalaenoides</i> (Hemiptera: Flatidae) on <i>Acacia podalyriaefolia</i> (Mimosoideae) in Viçosa, Minas Gerais, Brazil	Evaldo Martins Pires, Isabel Moreira Da Silva, Adriano Elias Pereira and José Cola Zanuncio	80
<i>Oxymerus aculeatus</i> (Coleoptera: Cerambycidae) causing damage on corn plants (<i>Zea mays</i>) in Brazil	Evaldo Martins Pires, Isabel Moreira, Marcus Alvarenga Soares, João Alfredo Marinho, Rosenilson Pinto and José Cola Zanuncio	82
Sección Médica / Medical		
Establecimiento de elementos predictivos acerca de la ocurrencia de mosquitos culícidos (Diptera: Culicidae)	Rubén Bueno Mari y Ricardo Jiménez Peydró	84
Evaluación del regulador de crecimiento Pyriproxyfen en poblaciones de <i>Aedes aegypti</i> de Trujillo, Venezuela	Jorge Suárez, Milagros Oviedo, Leslie Álvarez, Adalberto González y Audrey Lenhart	91
Molecular identification of forensically significant beetles (Coleoptera) in China based on COI gene	Quan Zhuang, Jifeng Cai, Mengqi Zhang, Hua Feng, Yadong Guo, Lingmei Lan and Yaoqing Chen	95
Coleópteros necrócolos (Histeridae, Silphidae y Scarabaeidae) en dos localidades de Gómez Farías, Jalisco, México	Alma Gabriela Naranjo-López y José Luis Navarrete-Heredia	103
Sección Básica / Basic		
Galling arthropod diversity in the subtropical neotropics: espinillo savannah and riparian forests compared	Milton de S. Mendonça, Jr.	111
Factibilidad de cría de <i>Pteronymia zerlina</i> y <i>P. medellina</i> (Lepidoptera: Danainae: Ithomiini)	Ivón Andrea Bolaños-Martínez y Giselle Zambrano-González	117
Forrajeo en colonias de <i>Melipona eburnea</i> (Hymenoptera: Apidae) en el piedemonte llanero (Meta, Colombia)	Guiomar Nates-Parra y Ángela Rodríguez C.	121
Géneros de Myodochini (Hemiptera: Lygaeoidea: Rhyparochromidae) en Colombia y clave con ilustraciones	Laura Alexandra Rengifo-Correa y Ranulfo González Obando	128
Primer registro de un himenóptero thrasorino para la fauna colombiana y descripción de una especie nueva	Juli Pujade-Villar	137
Una vibrante y luminosa combinación: nuevas especies de saltamontes payaso <i>Paramastax</i> (Orthoptera: Eumastacidae)	Mitzy F. Porras	140
Tres especies nuevas de <i>Enicospilus</i> (Ichneumonidae: Ophioninae) de Colombia	Alexander García García	145
Descripción de larva y pupa de <i>Dyscinetus dubius</i> (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae: Cyclocephalini)	Jhon César Neita-Moreno y Francisco Yepes	152
Primer registro de Oncopoduridae (Collembola: Entomobryomorpha) para Colombia	Daniel Ávila A. y Yenda Jaramillo C.	157
The first record of the genus <i>Gracilidris</i> (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae) from Colombia	Roberto J. Guerrero y Catalina Sanabria	159
<i>Monopelopia tillandsia</i> , (Diptera: Chironomidae, Tanypodinae), primer registro para Cuba y el Neotrópico	Orestes C. Bello G. y Yúsdier Torres C.	162
First record of the damselfly genus <i>Anisagrion</i> (Odonata: Coenagrionidae) from Colombia	Nancy Carolina Rojas-Riaño	164



Sección Agrícola

Respuesta de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) a compuestos volátiles de papa, *Solanum tuberosum*

Response of *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) to volatile compounds of potato, *Solanum tuberosum*

CARLOS FELIPE BOSA¹, ANDREA CLAVIJO MC¹, MIRIAM FRIDA KARLSSON², ALBA MARINA COTES³
y PETER WITZGALL⁴

Resumen: Trampas cebadas con volátiles de plantas como fuente de atrayente pueden ser una herramienta importante para el monitoreo o control de insectos plaga. La polilla guatemalteca, *Tecia solanivora*, es una plaga limitante en el cultivo de la papa y aún se desconoce su relación con su planta hospedera, la papa. Se estudió el efecto que producen olores de las diferentes estructuras de la planta hospedera en el comportamiento del insecto. También se estudiaron los compuestos metilfenilacetato y sulcatón, dos compuestos volátiles de la planta identificados previamente que son emitidos por las flores y los tubérculos, además de producir respuestas antenales de *T. solanivora*. Se realizaron ensayos en olfatómetro y en una jaula recubierta con tul con la utilización de trampas de captura. En olfatómetro la estructura que más atrajo a las hembras fue la flor. En la jaula se registró una mayor captura de hembras en trampas cebadas con el compuesto metilfenilacetato a 100µg, y no se observó un efecto sinérgico al combinar los dos compuestos. Los resultados sugieren la evaluación de otros compuestos sintéticos de la planta de papa y sus mezclas para profundizar en el comportamiento de este insecto.

Palabras clave: Polilla guatemalteca. Semioquímicos. Kairomonas. Olfatómetro.

Abstract: Traps baited with plant volatiles as an attraction source might be an important tool for the monitoring or control of insect pests. The Guatemalan potato moth, *Tecia solanivora*, is a limiting pest of potato crops, and its relation with the host plant, potato, is still unknown. The effect that odours of different plant structures produce on the insect's behaviour was studied. The compounds methyl phenyl acetate and sulcatone were also studied, two previously identified plant volatile compounds that are released from flowers and tubers and also produce *T. solanivora* antennal responses. Assays were conducted with an olfactometer and in a mesh-covered cage using capture traps. In the olfactometer the plant structure that most attracted females was the flower. In the mesh cage, a higher female capture was obtained in traps with the compound methyl phenyl acetate at 100µg, and no synergistic effect was observed by combining both compounds. Results suggest the evaluation of additional synthetic compounds from the potato plant and their blends to get a better understanding of behaviour in this insect.

Key words: Guatemalan moth. Semiochemicals. Kairomones. Olfactometer.

Introducción

La polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* (Povolny, 1973), es uno de los insectos plaga más limitantes en la producción del cultivo de la papa en algunos países de Centro y Sur América. En Colombia este insecto afecta más del 80% de las áreas productoras de papa de los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Nariño y Antioquia, provocando pérdidas significativas en la producción con una disminución en los rendimientos anuales superior al 30%. Este insecto afecta tanto los tubérculos destinados para semilla en condiciones de almacenamiento como aquellos presentes en el campo (Bosa *et al.* 2008). Los estados larvales se desarrollan dentro de los tubérculos de papa, lo que les confiere una protección física y los hace menos susceptibles a las aplicaciones de insecticidas químicos, hecho que dificulta su manejo.

Sólo unos pocos insecticidas químicos han sido aprobados con registro de uso para su manejo por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Sin embargo, las aplicaciones frecuentes de estos productos pueden generar riesgos para la

salud por exposición aguda y crónica (Liñan 1997). A diferencia de los insecticidas químicos, el uso de semioquímicos incluidas feromonas y kairomonas no representa riesgo toxicológico, ambiental o para la salud humana y están clasificados en la categoría toxicológica IV, según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA 2009).

Los semioquímicos juegan un papel importante en la colonia y en el reconocimiento del hospedero por los insectos herbívoros como en el caso de las polillas (Bruce *et al.* 2005). Hasta el momento se han realizado más trabajos sobre feromonas que sobre kairomonas. Principalmente, las feromonas han sido utilizadas como cebos en trampas para atraer a los machos de diferentes especies para su control o para el monitoreo. La feromona de *T. solanivora* atrae a machos en trampas en campo (Bosa *et al.* 2005), pero para el caso de las hembras no existen hasta ahora desarrollos de atrayentes con compuestos volátiles de su planta hospedera para su captura en trampas, que puedan ser utilizados en el sistema de producción de papa. Las kairomonas facilitan la búsqueda de las plantas hospederas por parte de las hembras de insectos

¹ Candidatos a Doctorado, Investigadores Laboratorio de Control Biológico del Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corpoica, Mosquera. mcitita@yahoo.com, carlosfelipeb@yahoo.es, Autor para correspondencia. ² Candidata a Doctorado Laboratorio de Ecología Química de Insectos, Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas, SLU. Alnarp.miriam.karlsson@slu.se. ³ Ph. D. Laboratorio de Control Biológico del Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corpoica, Mosquera amcotes@corpoica.org.co. ⁴ Ph.D. Investigador Laboratorio de Ecología Química de Insectos, Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas, SLU, Alnarp. peter.witzgall@phero.net

tos fitófagos, para llevar a cabo la oviposición y la alimentación (Ehrlich y Raven 1964; Murlis *et al.* 1992; Ramaswamy 1988; Renwick y Chew 1994). Las hembras de varias especies reconocen el hábitat adecuado e inician la búsqueda y posterior orientación hacia la planta guiadas por estímulos olfativos y de fototaxis, o por la combinación de ambos (Ramaswamy 1988; Renwick y Chew 1994).

Con respecto a las kairomonas existen ejemplos donde la evaluación de compuestos volátiles de una planta hospedera, ha dado lugar a seleccionar atrayentes en condiciones de campo (Hern y Dorn 2004). La búsqueda de kairomonas de plantas ha arrojado resultados promisorios para el manejo de diferentes especies de lepidópteros plaga. Es el caso de Hughes *et al.* (2003), quienes obtuvieron resultados para el control de *Cydia pomonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Tortricidae), con la aplicación de kairomonas sintéticas que compiten con las naturales en campo, para interrumpir la localización de la planta hospedera por parte de las larvas y las hembras de esta especie.

En el caso de los estudios llevados a cabo con insectos plaga como el escarabajo de la papa, *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824) (Coleoptera: Crysomelidae), representan un proceso exitoso que condujo a la identificación de compuestos químicos de plantas de papa altamente atrayentes de machos y hembras de esta plaga. Las primeras observaciones fueron realizadas por McIndoo (1926), quien comprobó la atracción de *L. decemlineata* a volátiles emitidos por plantas de papa y posteriormente estas observaciones fueron verificadas por otros autores (De Wilde *et al.* 1969; Landolt *et al.* 1999a). Actualmente se tienen identificadas al menos tres mezclas de compuestos sintéticos que sirven como atrayentes de adultos de *L. decemlineata* (Dickens 1999, 2000). Dichas mezclas corresponden a la combinación en diferentes proporciones de los compuestos volátiles (Z)-3-acetato de hexenilo, ($\pm$)-linalol y salicilato de metilo. Con el hallazgo de estas sustancias, se han propuesto algunas estrategias promisorias para el control del escarabajo de la papa, como el establecimiento de cultivos trampa (Martel *et al.* 2005) y la captura masiva de hembras y machos (Dickens 2002).

La polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (Lepidoptera: Gelechiidae), otra plaga de la papa, ha sido objeto de estudios con el fin de dilucidar los mecanismos que intervienen en la localización y selección de su planta hospedera (Arab *et al.* 2007; Fenimore 1988; De Cristofaro *et al.* 2003). Todos estos hallazgos demuestran, que los compuestos volátiles atrayentes son una alternativa para investigar y explotar en el control de los insectos, con el mejoramiento de la productividad de los cultivos.

Estudios de oviposición han demostrado que las hembras de la polilla guatemalteca *T. solanivora* colocan sus huevos en el suelo con presencia de plantas en floración completa, y en el suelo en plantas que se encuentran en proceso de maduración de tubérculos (Karlsson *et al.* 2009). Estos autores reportaron que las hembras ovipositan en el suelo y no en los tallos de las plantas o en el follaje, posiblemente debido a un efecto repelente de compuestos terpenoides liberados por el follaje de las plantas (Karlsson *et al.* 2009). Así mismo, estudios de identificación y caracterización de compuestos volátiles de la papa, han demostrado que varios compuestos emitidos por la papa, entre éstos el metilfenilacetato y sulcatón, originaron respuesta antenal en adultos de *T. solanivora* conjuntamente al ser emitidos de la planta en floración y de los tubérculos (tasa de liberación de 160ng/g/hora y de 3,2ng/

kg/hora, respectivamente) (Karlsson *et al.* 2009). Estos estudios sugieren que determinados compuestos volátiles, facilitan la atracción de las hembras hacia las plantas durante la tuberización y maduración en campo, y también posiblemente favorecen la atracción hacia los tubérculos en condiciones de almacenamiento (Karlsson *et al.* 2009). Es por ello que el presente estudio tuvo como finalidad evaluar el efecto que producen compuestos volátiles de la planta, sobre el comportamiento de *T. solanivora* en condiciones de olfatómetro y en jaula de tul.

Materiales y Métodos

Las investigaciones se desarrollaron durante 2008 y 2009 en el Laboratorio de Entomología y en el de Control Biológico del Centro de Investigación Tibaitatá de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Mosquera, Cundinamarca). Los insectos provinieron de una cría de laboratorio mantenida a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ y 60% de HR y las larvas del insecto se alimentaron con tubérculos de papa. Para los ensayos se utilizó un fotoperiodo artificial de 12:12 horas luz-oscuridad.

Ensayos en condiciones de olfatómetro

Preferencia de hembras por estructuras de la planta de papa. Se evaluaron las estructuras de la planta de papa *Solanum tuberosum* variedad parda pastusa en un olfatómetro de flujo de aire de cuatro brazos según los procedimientos establecidos por López-Ávila y Rincón (2006). Este olfatómetro fue diseñado para la evaluación de respuestas olfativas de microlepidópteros; está constituido por una cámara central de la que se derivan cuatro brazos de elección, cada uno conectado a una columna colectora en la cual se colocan las fuentes de olor. Contiene además un filtro de carbón activado, una bomba o compresor para la circulación del aire y un rotámetro para la medición del flujo de aire. Inicialmente el flujo de aire originado por la bomba es circulado hacia el filtro de carbón para limpiarlo de impurezas provenientes del exterior, luego mediante el rotámetro se regula la presión de este flujo a 5psi, para dirigirlo hacia cada columna colectora y de allí hacia cada brazo de elección de la cámara central. Mediante este funcionamiento se observa y registra el desplazamiento de cada insecto dentro de la cámara central y en los brazos del olfatómetro. Para este ensayo las estructuras evaluadas por columna fueron: tres tubérculos con un peso aproximado de 80g cada uno; una planta completa de tres meses de edad dispuesta en materia con flores y cubierta con bolsa de celofán pero solamente sus flores expuestas; y la planta completa con flores pero sin cubrir con bolsa. Las plantas de papa utilizadas fueron fertilizadas orgánicamente únicamente al inicio de su desarrollo para evitar interferencias químicas en los ensayos.

Este ensayo se desarrolló mediante un diseño completamente al azar con cinco repeticiones en el tiempo. Se utilizaron seis hembras vírgenes de dos a tres días de emergidas en cada repetición para un total de 30 individuos. Cada sesión diaria de evaluación se realizó tres horas antes del inicio del período de luz, ya que en ensayos previos se observó que las hembras del insecto presentaron la mayor actividad comportamental. En cada sesión una sola hembra de *T. solanivora* se colocó en la parte central de la cámara principal del olfatómetro y se evaluó su desplazamiento hasta los 30 minutos frente a las diferentes estructuras de la planta dispuestas en las diferentes columnas y la columna con el brazo restante cons-

tituyó el control por el cual únicamente circulaba aire limpio. Cada día se varió la posición de las estructuras en las columnas con el fin de minimizar el error experimental. En estudios previos de estandarización de las condiciones, se observó que las hembras de *T. solanivora* no presentaron un desplazamiento antes de los primeros cinco minutos de observación, por el contrario su respuesta fue tardía, es por ello que se evaluó cada hembra por un tiempo mayor hasta los 30 minutos.

Se registraron dos parámetros: a) la elección inicial de la hembra por alguno de los brazos de la cámara principal del olfatómetro, y b) el tiempo de permanencia de las hembras en cada brazo (Pivnick *et al.* 1990). Debido a que los resultados para la elección inicial no se distribuyeron normalmente, éstos fueron analizados mediante una prueba de Kruskal Wallis y para el tiempo de permanencia mediante un ANAVA (Análisis de Varianza) con un nivel de significancia de 0,05 mediante el uso del software Statgraphics Plus 2004®. Después de cada sesión diaria, se desodorizaron las columnas del olfatómetro con una solución de Extran-MA 01 alcalino (Merck®) para evitar contaminación cruzada según recomendaciones de Vilela y Della Lucia (2002).

Evaluación de los compuestos volátiles sintéticos de la planta de papa. Los compuestos volátiles previamente identificados y evaluados por Karlsson *et al.* (2009) por producir respuestas en antenas del insecto correspondientes al metilfenilacetato y sulcatón, se evaluaron mediante ensayos en el olfatómetro de cuatro brazos utilizando hembras de *T. solanivora*.

Los compuestos se evaluaron en forma individual o combinada en el olfatómetro; para ello se realizaron tres ensayos, cada uno bajo un diseño completamente al azar con cinco repeticiones y utilizando seis hembras vírgenes por repetición para un total de 30 individuos por ensayo. En cada sesión experimental, se colocó solamente una hembra en la parte central de la cámara principal del olfatómetro y se evaluó su comportamiento hasta los 30 minutos, frente a la fuente emisora presente en ese momento: 1) el compuesto respectivo, 2) o la combinación de éstos a 10 nanogramos contenidos en un caucho que se colocó en el interior de una de las columnas seleccionada al azar para cada repetición. Los tres brazos restantes constituyeron el control por los cuales solamente circulaba aire limpio. Se registraron dos parámetros de medición: a) la elección inicial de cada hembra por alguno de los brazos del olfatómetro, y b) el tiempo de permanencia de las hembras en cada brazo. Estos parámetros fueron analizados estadísticamente mediante una prueba de Kruskal Wallis para la elección inicial, y un Análisis de Varianza (ANAVA) para el tiempo de permanencia con un nivel de significancia de 0,05. Las condiciones metodológicas fueron similares a las descritas anteriormente.

Ensayos en jaula. Se realizaron dos ensayos fueron en una jaula recubierta con tul de dimensiones 4m x 8m x 2m ubicada en el Centro de Investigación Tibaitatá (Mosquera, Cundinamarca). Las condiciones para la realización de los ensayos fueron de 15°C $\pm$ 3, y 52% $\pm$ 6 de humedad relativa.

El primer ensayo en la jaula tenía el propósito de seleccionar la dosis adecuada del principal compuesto metilfenilacetato que produjera una respuesta de atracción de adultos del insecto. Se evaluaron 100µg, 1mg y 10mg de dicho compuesto por septo de caucho como material liberador respectivamente. Como tratamiento control se utilizó un septo de

caucho con el solvente de dilución (hexano reactivo analítico al 99% de pureza).

Dentro de la jaula se colocaron los cuatro tratamientos con tres trampas por cada uno, consistentes en recipientes plásticos con aberturas a ambos lados y en su fondo agua con detergente (Fig. 1). Las trampas se dispusieron en un diseño de bloques completos al azar, manteniendo 2m de distancia entre cada trampa. Semanalmente dentro de la jaula se realizó una liberación controlada de 150 adultos vírgenes (75 hembras y 75 machos) y las trampas se revisaron semanalmente para el registro de adultos capturados en cada trampa por tratamiento. Cada semana se varió la posición de las trampas dentro de la jaula y para evitar pérdidas por evaporación o degradación de las muestras, los cauchos con las dosis fueron renovados con nuevas preparaciones. En total se realizaron cuatro repeticiones en el tiempo y los datos fueron analizados mediante un ANAVA.

En el segundo ensayo en jaula se evaluó el efecto de la combinación de los dos compuestos volátiles, para ello se registró el número de adultos capturados en trampas plásticas cebadas con septos de caucho, que contenían la dosis seleccionada del metilfenilacetato y su combinación con el compuesto sulcatón en las dosis de 100µg, 1mg y 10mg, respectivamente. También se evaluó el sulcatón en forma individual a la dosis de 100µg. Se utilizaron tres trampas por cada combinación y el control. Las condiciones metodológicas fueron similares a las descritas anteriormente y los resultados fueron analizados por un ANAVA y un modelo lineal general MLG para las diferencias entre machos y hembras.

Resultados y Discusión

Preferencia de hembras por estructuras de la planta de papa. Un 44% de las hembras vírgenes de *T. solanivora* prefirieron el brazo del olfatómetro conteniendo las flores con respecto a las demás estructuras evaluadas y al control, aunque estas preferencias no mostraron diferencias estadísticas (Tabla 1). Para el tiempo de permanencia de las hembras en cada uno de los brazos del olfatómetro, sí se observaron diferencias estadísticas donde hubo una preferencia mayor de las hembras por permanecer en el brazo tratado con tubérculos de papa (Tabla 1).



Figura 1. Trampa plástica blanca cebada con volátiles y con agua jabonosa en el fondo.

Tabla 1. Respuesta de hembras a estructuras de la planta de papa en olfatómetro.

	Promedio de hembras* en el brazo tratado (desviación estándar) (%)	Permanencia en el brazo** tratado (min)
Planta Completa	0,8 ± 0,37 (17)	13,8 ± 5,9 ab***
Tubérculo	0,8 ± 0,37 (17)	22 ± 2,0 a
Flores	2,2 ± 0,20 (44)	9,5 ± 1,6 b
Control	1 ± 0,45 (22)	9,5 ± 2,2 b

* Para porcentaje $F_{3,16} = 1,27$; $P = 0,32$. ** Para tiempo de permanencia $F_{3,16} = 4,631$; $P = 0,01$. *** Letras diferentes en la columna señalan diferencias estadísticas al 5%.

En las plantas una de las estructuras que emite mayor número de volátiles son las flores, las cuales presentan un papel crucial en la atracción de los insectos polinizadores (Faegri y van der Pijl 1980; Metcalf y Metcalf 1992). Sin embargo a lo largo de la evolución, se han convertido también en señales que atraen a insectos plaga de las plantas, indicándoles que éstas se encuentran en un estado fenológico óptimo para la herbivoría (Metcalf y Metcalf 1992).

La detección de estímulos químicos por el órgano del olfato en los insectos favorece la localización de recursos indispensables como el alimento, la búsqueda de pareja y los sitios de oviposición (Whittaker y Feeny 1971; Tumlinson *et al.* 1993). En el caso de *T. solanivora*, las hembras localizan su planta hospedera para la obtención de recursos alimenticios y para llevar a cabo la oviposición gracias a las señales químicas que ésta emite (López-Ávila y Rincón 2006). También se ha reportado que el extracto etanólico de la cáscara de los tubérculos de papa, tiene un efecto atrayente en hembras de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Meisner *et al.* 1974).

Evaluación de compuestos sintéticos en olfatómetro. El metilfenilacetato no arrojó diferencias significativas con respecto al tratamiento control ni con la cámara central. En cambio sí hubo diferencias estadísticas cuando se evaluó el sulcatón y la combinación de estos volátiles, donde un mayor número de hembras prefirieron desplazarse hacia los brazos control sin tratar o hacia el brazo tratado con el sulcatón y lo mismo para su combinación, que hacia la cámara central (Tabla 2). Esto posiblemente se debió a que en la cámara central del olfatómetro (punto de liberación) convergen los volátiles procedentes de los brazos, lo cual ocasionó el desplazamiento de las hembras fuera de esta cámara.

Para el tiempo de permanencia no se encontraron diferencias significativas con los compuestos evaluados individualmente y en combinación con respecto a los brazos tratados

con aire limpio (control) Metilfenilacetato Promedio y d.e. (control) = $7,83 \pm 2,17$ ($5,166 \pm 6,13$); $F_{1,8} = 0,84$; $P = 0,38$. Sulcatón Promedio y d.e. (control) = $13,33 \pm 3,68$ ($9,83 \pm 5,25$); $F_{1,8} = 1,49$; $P = 0,25$. Mezcla Promedio y d.e. (control) = $9,99 \pm 6,99$ ($10,99 \pm 6,16$); $F_{1,8} = 0,06$; $P = 0,81$. Sin embargo cabe destacar que las hembras permanecieron un mayor tiempo en el brazo tratado con el sulcatón en comparación con los demás tratamientos, esto conlleva a plantear que posiblemente este compuesto tenga un rol importante en el comportamiento de desplazamiento de las hembras.

Durante los experimentos se observó que algunas hembras permanecieron en la cámara central o en el brazo control, en este sentido es importante tener en cuenta que otros estímulos táctiles o visuales podrían también estar asociados a la respuesta de atracción de una especie. Se sabe que algunos insectos usan y mejoran su búsqueda del hospedero con señales visuales (Rowe 1999; Balkenius *et al.* 2006). También es posible que debido a la complejidad de compuestos volátiles emitidos por la planta de papa (Karlsson *et al.* 2009), la hembra requiera una mayor cantidad de señales para generar respuestas del comportamiento. Otro factor que puede incidir en el tipo de respuesta obtenida es la utilización de insectos provenientes de una cría en laboratorio, ya que se ha reportado que hembras de diferentes especies de Lepidópteros criadas en laboratorio pueden presentar una menor respuesta frente a un estímulo proveniente de su planta hospedera (Rojas-León 1997; Bali *et al.* 1996).

Keiichi *et al.* (1998) también identificaron el compuesto metilfenilacetato, además del 2-feniletanol y un alcohol benzoico como los principales constituyentes volátiles emitidos de flores de *Ligustrum japonicum* Thunb., 1780 de la familia Oleaceae. En este estudio el metilfenilacetato produjo respuestas intermedias del comportamiento en *Pieris rapae* L., 1758 (Lepidoptera: Pieridae), medidas como respuestas en antenas de adultos por la técnica de la electroantenografía y como extensión de la probóscide, concluyéndose que proba-

Tabla 2. Respuesta de hembras a volátiles sintéticos de la planta de papa en olfatómetro.

	Metilfenilacetato	Control	Cámara central
Promedio (d.e.)	2,4±0,498	2±0,449	1,6±0,449
	<u>Sulcatón</u>	Control	Cámara central
Promedio (d.e.)	2,6±0,504	2,8±0,507	0,6±0,305*
	<u>Mezcla</u>	Control	Cámara central
Promedio (d.e.)	2,2±1,095	3,8±1,095	1±0,707*

* Indica diferencias significativas dentro de cada fila. Metilfenilacetato: K-W_{2,87} = 1,64; $P = 0,44$. Sulcatón: K-W_{2,87} = 10,97; $P = 0,004$. Mezcla metil+sulc: K-W_{2,87} = 9,05; $P = 0,010$.

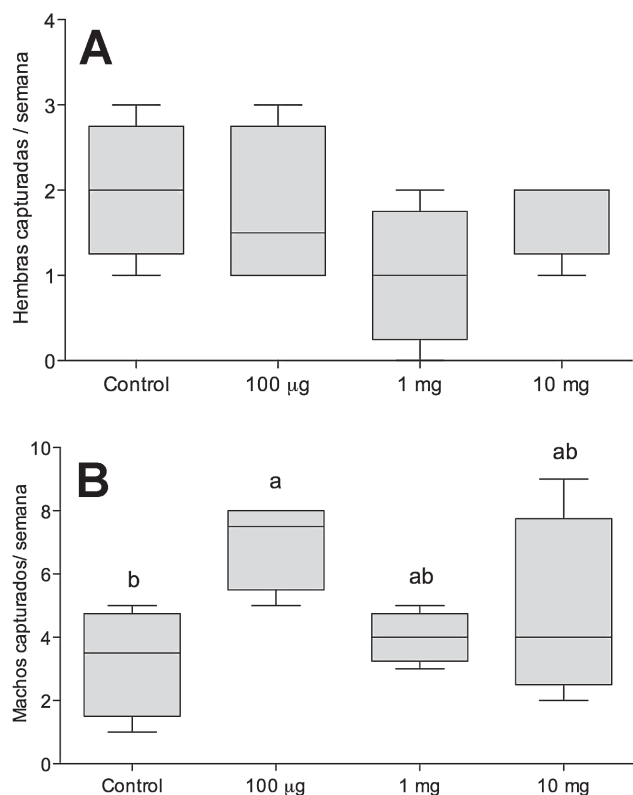


Figura 2. Promedio de capturas de hembras y machos de *T. solanivora* en trampas cebadas con el compuesto metilfenilacetato en jaula. **A.** Para hembras F_4 : 1,080; $P = 0,26$. **B.** Para machos F_4 : 4,5; $P = 0,034$. La línea horizontal dentro de cada caja representa la mediana de los datos y sus dos cuartiles ubicados a los extremos de la caja. Las líneas externas superior e inferior de cada caja representan la desviación estándar.

blemente este compuesto floral en adición con otros cuatro, son los que contribuyen en un radio de acción corta a la atracción del insecto hacia la planta hospedera para la búsqueda de fuentes de alimento. La utilización de hembras vírgenes en experimentos de olfatometría, se debe a que con frecuencia éstas utilizan las plantas hospederas para diversos propósitos (Rojas-León 1997). Por ejemplo, las hembras pueden utilizar a las plantas hospederas como lugares de encuentro para la cópula. Así mismo Landolt *et al.* (1999b) encontraron que hembras de *Trichoplusia ni* (Hübner, 1800-1803) (Lepidoptera: Noctuidae), fueron atraídas significativamente por el sexo opuesto en presencia de algodón que es su planta hospedera.

Evaluación de los compuestos sintéticos en jaula. Para las capturas de hembras por semana con el compuesto metilfenilacetato no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados indican que las menores capturas de hembras fueron obtenidas con 1mg de este compuesto, y al incrementarse la dosis de 100mg a 10mg no se observó un incremento en las capturas de hembras (Fig. 2A). Por otra parte con las trampas control sin cebar, se obtuvieron también capturas de hembras y machos, esto posiblemente se debió a la corta distancia entre cada trampa (2m), y al color blanco de las trampas que podría funcionar como un atrayente visual. Para las capturas de machos por semana con el metilfenilacetato se observaron diferencias estadísticas a la dosis de 100mg con respecto a los demás tratamientos, e igualmente

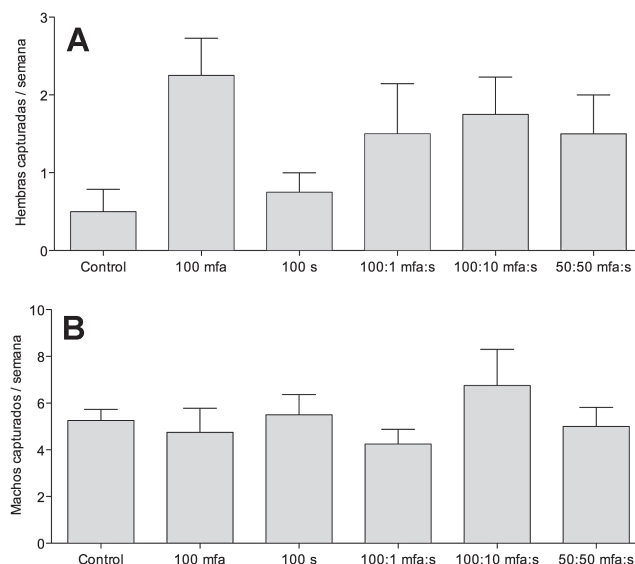


Figura 3. Promedio de capturas de hembras y machos de *T. solanivora* en trampas cebadas con los compuestos metilfenilacetato (mfa) y sulcatón (s) en jaula, y desviación estándar. **A.** Para hembras F_4 : 2,481; $P = 0,08$. **B.** Para machos F_6 : 1,563; $P = 0,23$.

se evidencia que no existe un efecto sinérgico en las capturas, cuando se incrementó la dosis a 1 y 10mg del compuesto. De acuerdo con estos resultados se decidió continuar utilizando la dosis de 100mg para los posteriores ensayos (Fig. 2B).

No se observaron diferencias significativas en las capturas de adultos durante la evaluación de las diferentes combinaciones de los dos compuestos volátiles en trampas ni un efecto sinérgico al combinarlos (Figs. 3 A-B). Sin embargo, al comparar entre sexos las capturas, se observó una diferencia significativa ($F=109,19$; $P < 0,001$) donde un mayor número de hembras fueron capturadas por el compuesto metilfenilacetato a la dosis de 100mg (Fig. 3A). Estudios previos de electroantenografía utilizando hembras y machos de *T. solanivora*, indicaron que las antenas responden a varios sesquiterpenos y monoterpenos, entre éstos al metilfenilacetato, que fue evaluado en la presente investigación y que corresponde a un compuesto floral que es liberado en altas cantidades por las plantas en floración y también es liberado por los tubérculos de papa según Karlsson *et al.* (2009). Estos autores sugieren que posiblemente este compuesto facilita una mayor atracción de las hembras hacia las plantas en tuberización en campo, y posiblemente favorece la atracción hacia los tubérculos en condiciones de almacenamiento.

Los resultados con la dosis de 100mg del metilfenilacetato para el caso de los machos (Fig. 2B) y para las hembras (Fig. 3A), podrían estar asociados con los receptores nerviosos de las antenas ya que éstos requieren de muy bajas concentraciones de un compuesto (umbral de respuesta) para generar un potencial de acción, como es el caso de las feromonas que generalmente se liberan en cantidades del orden de nanogramos (Witzgall *et al.* 2008). Para el caso de las feromonas sexuales de muchas especies de lepidópteros, se sabe que altas concentraciones sintéticas de los compuestos pueden generar inhibición de su comportamiento por mecanismos de saturación (Miller *et al.* 2006), y es posible que lo mismo ocurra con la utilización de compuestos volátiles sintéticos de las plantas hospederas.

El metilfenilacetato también ha sido reportado como atrayente de hembras en otros insectos como el escarabajo de cuernos largos *Anaglyptus subfasciatus* Pic, 1906 (Coleoptera: Cerambycidae), ya que en trampas cebadas con una mezcla de los compuestos (R)-3-hidroxi-2-hexanona, (R)-3-hidroxi-2-octanol y metilfenilacetato, se capturó mayor número de hembras del insecto que en trampas cebadas con los compuestos sin combinar (Kiyoshi *et al.* 1997). Así mismo Sakakibara *et al.* (1998) encontraron capturas significativas en trampas utilizando este compuesto para este insecto en bosques de *Fagus crenata* Blume (Fagaceae).

La polilla guatemalteca de la papa es una especie monófaga, por lo que se puede sugerir que presenta una relación estrecha con su planta hospedera. Esto posiblemente se debe a que el insecto desde sus estados inmaduros se alimenta de los tubérculos de la planta. El comportamiento de las hembras en la localización de su planta hospedera, ha sido objeto de estudio con el fin de desarrollar metodologías para interrumpir el proceso de oviposición, que es vital para la permanencia del insecto en el cultivo y en sitios de almacenamiento de papa. En este sentido, la identificación química y la caracterización biológica de un mayor número de sustancias implicadas en la localización de su hospedero, permitirá avanzar en el estudio del comportamiento de las hembras con miras al desarrollo de nuevas tecnologías de manejo de la plaga.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural MADR y del Fondo Nacional de Fomento Hortifrutícola Asohfrucol por la financiación de la presente investigación.

Literatura citada

- ARAB, A.; TRIGO, J. R.; LOURENÇÃO, A. L.; PEIXOTO, A. M.; RAMOS, F.; BENTO, J. M. S. 2007. Differential attractiveness of potato tuber volatiles 524 to *Phthorimaea operculella* (Gelechiidae) and the predator *Orius insidiosus* (Anthoridae). *Journal of Chemical Ecology* 33: 1845-1855.
- BALI, G.; RAINA, T.; KINGAN, T.; LÓPEZ, J. 1996. Ovipositional behavior of newly colonized corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) females and evidence for an oviposition stimulating factor of male origin. *Annals of the Entomological Society of America* 89: 475-480.
- BALKENIUS, A.; ROSÉN, W.; KELBER, A.W. 2006. The relative importance of olfaction and vision in a diurnal and a nocturnal hawkmoth. *Journal of Comparative Physiology A* 192: 431-437.
- BOSA, F.; WITZGALL, P.; COTES, A.M.; FUKUMOTO, T. 2005. Evaluación de la técnica de la interrupción de la copula de *Tecia solanivora* (Lep:Gelechiidae). *Revista Colombiana de Entomología* 31 (2): 145-150.
- BOSA, C.F.; OSORIO, P.; COTES, A.M.; BENGTSSON, M.; WITZGALL, P.; FUKUMOTO, T. 2008. Control de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) mediante su feromona para la interrupción del apareamiento. *Revista Colombiana de Entomología* 34 (1): 68-75.
- BRUCE, J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. 2005. Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science* 10: 269-274.
- DE CRISTOFARO, A.; ANFORA, G.; GERMINARA, G.S.; CRISTOFARO, M.; ROTUNDO, G. 2003. Olfactory and behavioural responses of *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) adults to volatile compounds of *Solanum tuberosum* L. *Phytophaga* 13: 53-61.
- DE WILDE, J.; HILLE RIS LAMBERS-SUVERKROPP, K.; VAN TOL, A. 1969. Response to airflow and airborne plant odor in Colorado beetle. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 75: 53-57.
- DICKENS, J. 1999. Predator-prey interactions: olfactory adaptations of generalist and specialist predators. *Agricultural and Forest Entomology* 1: 47-54.
- DICKENS, J. 2000. Orientation of Colorado potato beetle to natural and synthetic blends of volatiles emitted by potato plants. *Agricultural and Forest Entomology* 2: 167-172.
- DICKENS, J. 2002. Behavioral responses of larvae of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Cryomelidae), to host plant volatiles blends attractive to adults. *Agricultural and Forest Entomology* 4: 309-314.
- EHRLICH, P.; RAVEN, P. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). 2009. Plaguicidas registrados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América. Bioplaguicidas: atrayentes de insectos plaga. Disponible en: <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/>. Fecha de consulta: 22 octubre, 2009.
- FAEEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. 1980. The principles of pollination ecology. Ed. Pergamon. Oxford. pp 291.
- FENEMORE, P. 1988. Host-plant location and selection by adult potato moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae): a review. *Journal of Insect Physiology* 34: 175-177.
- HERN, A.; DORN, S. 2004. A female-specific attractant for the codling moth, *Cydia pomonella*, from apple fruit volatiles. *Naturwissenschaften* 26: 77-88.
- HUGHES, W.; GAILEY, D.; KNAPP, J. 2003. Host location by adult and larval codling moth and the potential for its disruption by application of kairomones. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 106: 147-153.
- KARLSSON, M.; BIRGERSSON, G.; COTES, A.; BOSA, F.; BENGTSSON, M.; WITZGALL, P. 2009. Plant odor analysis of potato: Response of Guatemalan moth to above and below-ground potato volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 5903-5909.
- KEIICHI, H.; HISASHI, O.; NANA, H. 1998. Identification of floral volatiles from *Ligustrum japonicum* that stimulate flower visiting by cabbage butterfly, *Pieris rapae*. *Journal of Chemical Ecology* 24: 2167-2180.
- KIYOSHI, N.; WALTER, S.; LEAL, T.; MASAHICO, T.; MIKIO, O.; & MICHITAKA, N. 1997. Increase of trap catches by a combination of male sex pheromones and floral attractant in longhorn beetle, *Anaglyptus subfasciatus*. *Journal of Chemical Ecology* 23: 1635-1640.
- LANDOLT, P.; TUMLINSON, J.; ALBORN, D. 1999a. Attraction of Colorado potato beetle (Coleoptera: Cryomelidae) to damaged and chemically induced potato plants. *Environmental Entomology* 28: 973-978.
- LANDOLT, P.; HEATH, J.; MILLAR, J.; DAVIS-HERNANDEZ, K.; DUEBEN, B.; WARD, K. 1999b. Effects of host plant *Gossypium hirsutum* L. on sexual attraction of cabbage looper moths, *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Chemical Ecology* 20: 2959-2974.
- LIÑAN, C. 1997. Farmacología vegetal. Ediciones aerotécnicas. S.L. Madrid. pp. 1187.
- LÓPEZ-ÁVILA, A.; RINCÓN, D. 2006. Diseño de un olfatómetro de flujo de aire para medir respuestas olfativas de insectos de tamaño mediano y pequeño. *Revista Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 7 (1): 61-65.
- MARTEL, W.; ALFORD, A.; DICKENS, J. 2005. Synthetic host volatiles increase efficacy of trap cropping for management of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Agricultural and Forest Entomology* 7: 79-86.
- MCINDOO, N. 1926. An insect olfactometer. *Journal of Economic Entomology* 19: 545-571.

- MEISNER, J.; ASCHER, K.; LAVIE, D. 1974. Factors influencing the attraction to oviposition of the potato tuber moth, *Gnorimoschema operculella* Zell. Zeitschrift fuer Angewandte Zoologie 77: 179-189.
- METCALF, R.; METCALF, E. 1992. Plant kairomones in insect ecology and control. New York Chapman and Hall. 1992. Contemporary Topics in Entomology pp. 168.
- MILLER, J.; GUT, L.; LAME, F.; STELINSKI, L. 2006. Differentiation of competitive vs. non-competitive mechanisms mediating disruption of moth sexual communication by point sources of sex pheromone (Part I): Theory. Journal of Chemical Ecology 32: 2089-2114.
- MURLIS, J.; ELKINTON, J.; CARDÉ, R. 1992. Odor plumes and how insects use them. Annual Review of Entomology 37: 505-532.
- PIVNICK, K.; JARVIS, B.; SLATER, G.; GILLOT, C.; UNDERHILL, E. 1990. Attraction of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to volatiles of oriental mustard: the influence of age, sex, and prior exposure to mates and host plants. Environmental Entomology 19: 704-709.
- RAMASWAMY, S. 1988. Host finding by moths: sensory modalities and behaviors. Journal of Insect Physiology 34 (3): 235-249.
- RAYMOND, B.; DARBY, A.; DOUGLAS, A. 2000. The olfactory responses of coccinellids to aphids on plants. Entomologia Experimentalis et Applicata 95: 113-117.
- RENWICK, J.; CHEW, F. 1994. Oviposition behavior in Lepidoptera. Annual Review of Entomology 39: 377-400.
- RINCÓN, D. F. 2005. Detección y evaluación de volátiles atra-yentes para la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). Trabajo de grado para optar al título de Biólogo. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 74pp.
- ROJAS-LEÓN, J. 1997. Host finding and oviposition behavior of the cabbage moth, *Mamestra brassicae* (L.) (Lepidoptera: Noctuidae). PhD dissertation. Oxford University, Oxford. International Society of Chemical Ecology. Vancouver, Canada.
- ROWE, C. 1999. Receiver psychology and the evolution of multi-component signals. Animal Behaviour 58: 921-931.
- SAKAKIBARA, Y.; AKIRA, K.; AKIOMI, Y. 1998. Performances of four chemicals with floral scents as attractants for Longicorn beetles in a Broadleaved forest. Journal Forest Research 3: 221-224.
- TUMLINSON, J.; TURLINGS, T.; LEWIS, W. 1993. Semiochemically mediated foraging behavior in beneficial parasitic insects. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 22: 385-391.
- VILELA, E.; DELLA LUCIA, T. 2002. Introdução à ecologia química dos insetos. Feromonios de insetos: biologia, química e aplicação no manejo de pragas. Universidad Federal de Vinosa. 2ª Edição. Viçosa, Brasil, 153pp.
- WHITTAKER, R.; FEENY, P. 1971. Allelochemicals-chemical interactions between species. Science 171: 757-770.
- WITZGALL, P.; STELINSKI, L.; GUT, L.; THOMSON, D. 2008. Codling moth management and chemical ecology. Annual Review of Entomology 53: 503-22.

Recibido: 2-abr-2010 • Aceptado: 5-ene-2011

Resistencia genética al Virus del Arrugamiento Foliar del Fríjol transmitido por *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)

Genetic resistance to Bean Leaf Crumple Virus transmitted by *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)

MARÍA ELENA CUÉLLAR J.¹, FRANCISCO J. MORALES² y JAMES MONTTOYA LERMA³

Resumen: Desde 2002, los cultivos de frijol habichuela (*Phaseolus vulgaris*) de la parte plana del Valle del Cauca han sido afectados por el Virus del Arrugamiento Foliar del Fríjol (*Begomovirus*: Geminiviridae) agente causal de una nueva y severa enfermedad, transmitido por el biotipo B de la mosca blanca, *Bemisia tabaci*. Se investigó la relación virus-vector utilizando genotipos de frijol común seleccionados como posibles fuentes de resistencia. Se determinó la eficiencia de transmisión del virus usando diferente número de insectos adultos, hembras y machos, por planta. En la variedad susceptible Top Crop, se logró la transmisión del virus a partir de un adulto por planta y el porcentaje de plantas infectadas aumentó con el número de adultos por planta. Sin embargo, a partir de 15 individuos, el incremento en la incidencia del virus no fue significativo. Las hembras y machos del biotipo A fueron más eficientes en la transmisión del virus que los del biotipo B. Los genotipos evaluados exhibieron diferentes niveles de resistencia, siendo los materiales de frijol negro los más resistentes. Se confirma la existencia de fuentes de resistencia al Virus del Arrugamiento Foliar del Fríjol lo que permitiría introducir resistencia genética a este virus en el frijol habichuela cultivado en el Valle del Cauca.

Palabras clave: Mosca blanca. *Begomovirus*. Biotipos. Colombia. Eficiencia de transmisión.

Abstract: Since 2002, snap bean (*Phaseolus vulgaris*) plantings in the Cauca Valley department of Colombia have been severely affected by Bean Leaf Crumple Virus (*Begomovirus*: Geminiviridae) transmitted by the biotype B whitefly, *Bemisia tabaci*. The virus-vector relationship was studied using common bean genotypes selected as potential sources of resistance. Transmission efficiency of the virus was determined using different numbers of adult insects, males and females, per plant. In the susceptible variety Top Crop, virus transmission was achieved by a single adult per plant and the proportion of infected plants increased with the number of adults per plant. Above 15 adults per plant, however, increase in the incidence of the virus was not significant. Males and females of *B. tabaci* biotype A were more efficient in transmission of the virus than those of biotype B. The genotypes evaluated exhibited different levels of resistance, with the black bean materials being the most resistant. The existence of sources of resistance to Bean Leaf Crumple Virus is confirmed, which will permit the introduction of genetic resistance to this virus in snap bean varieties grown in the Cauca Valley.

Key words: Whitefly. *Begomovirus*. Biotypes. Colombia. Transmission efficiency.

Introducción

La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) es una plaga importante que causa grandes daños directos e indirectos en varios cultivos (Brown 1990). Los daños directos obedecen principalmente a desórdenes fisiológicos causados por su alimentación a expensas de los nutrimentos de la planta, y de manera indirecta al crecimiento de hongos sobre la excreción de melaza de la mosca blanca y, más importante aún, debido a su habilidad de transmitir virus (Byrne *et al.* 1990; Oliveira *et al.* 2001; Perring 2001).

América Latina es la región del mundo más afectada por la transmisión de begomovirus por *B. tabaci*, así como por el número de cultivos atacados, las pérdidas en rendimiento y área agrícola devastada por estos patógenos. Las situaciones más críticas se han presentado en México, Centro América, el Caribe, Venezuela, Argentina y Brasil (Morales y Anderson 2001). No obstante, debido al rango de adaptación climática del insecto vector, los begomovirus son también importantes en regiones agrícolas tropicales y subtropicales de África y sudeste de Asia (Brown 1994).

En Colombia los begomovirus se habían presentado en brotes aislados y esporádicos en melón (*Cucumis melo* L.,

1753) y badea (*Passiflora quadrangularis* L., 1759) en los departamentos de Atlántico y Córdoba, respectivamente; además en tabaco en el Huila y en frijol y soya en el Valle del Cauca (Morales *et al.* 2000; Morales y Anderson 2001) sin alcanzar niveles críticos para la producción. Sin embargo, en 2002, se presentaron brotes de begomovirus, con carácter epidémico, en frijol habichuela en los municipios de Bugalagrande, Pradera, Roza y Roldanillo del Valle del Cauca. A este último, se dio el nombre de Virus del Arrugamiento Foliar del Fríjol (VAFF) debido a que las hojas presentan un arrugamiento foliar severo y amarillamiento moderado (Morales *et al.* 2002). Según estos autores, este virus se presentó con características epidémicas y una alta incidencia (superior al 80%), sin precedentes en la historia del país hecho que fue asociado con la aparición del biotipo B de *B. tabaci* en esta región y a factores que favorecen su reproducción, como la sequía, acompañados por altas temperaturas diurnas. Además, se ha puesto en evidencia que el biotipo B presenta una mayor ventaja reproductiva con respecto al biotipo A nativo (Bethke *et al.* 1991; Costa y Brown 1991; Romberg 1998), al punto de desplazarlo (Idris *et al.* 2001; Rodríguez *et al.* 2005).

¹ M.Sc. Centro Internacional de Agricultura Tropical, km 17 recta Cali-Palmira, Palmira, Colombia. Dirección actual, Laboratorio de Salud Pública Departamental, carrera 76 No. 4-30, Cali, Colombia. mariaelenacuellar@graffiti.net. Autor para correspondencia. ² Ph.D. Centro Internacional de Agricultura Tropical, km 17 recta Cali-Palmira, Palmira, Colombia. fmorales@cgiar.org ³ Ph.D. Universidad del Valle, carrera 100 No. 13-00 Cali, Colombia. james.montoya@correounivalle.edu.co

Ante la incidencia de estas nuevas enfermedades, el manejo dado al problema de los begomovirus en frijol y otros cultivos ha enfatizado principalmente el desarrollo de variedades resistentes (Morales 2001). En este sentido, las fuentes de resistencia desarrolladas contra el Virus del Mosaico Dorado y el Virus del Mosaico Dorado Amarillo del Frijol e identificadas en *P. vulgaris* han resultado efectivas contra otros begomovirus de frijol común (Morales 2000a). Consecuentemente, estas fuentes de resistencia se evaluaron por su reacción al nuevo Virus del Arrugamiento Foliar del Frijol.

En el presente estudio también se determinó la eficiencia relativa de la transmisión del VAFF en la variedad susceptible "Top Crop" por los biotipos A y B de *B. tabaci* usando diferente número de adultos por planta. Igualmente, se investigó si existían diferencias entre hembras y machos de los dos biotipos, en cuanto a su capacidad vectorial y, finalmente, se determinó la reacción de diferentes genotipos de frijol al VAFF transmitido por los biotipos A y B de *B. tabaci*.

Materiales y Métodos

***Bemisia tabaci*.** Los biotipos A y B de *B. tabaci* se obtuvieron de las crías masivas de la Sección de Entomología del Proyecto Frijol del CIAT. Los adultos utilizados en los ensayos se criaron en cabinas separadas en plantas de frijol de la variedad ICA-Pijao en jaulas de tul (1 x 1 x 1 cm) en condiciones controladas de $25\pm 2^\circ\text{C}$, $65\pm 5\%$ HR y 12 horas de fotoperiodo, según la metodología propuesta por Eichelkraut y Cardona (1989).

Adquisición e inoculación del Virus por los insectos. El VAFF se aisló en julio de 2003 de plantas de frijol habichuela de la variedad Lago Azul procedentes del corregimiento de Roza ($3^\circ 34' 23,8\text{N}$ $76^\circ 24' 6,2\text{W}$) a 963 msnm, perteneciente al municipio de Palmira (Valle del Cauca) y fue mantenido en plantas de frijol de la variedad "Top Crop", material susceptible a varias especies de virus que infectan frijol (Morales y Singh 1993). Las plantas fuentes de inóculo se infectaron 13 días antes de los ensayos. Para esto, se dispusieron en los trifolios jaulas pinza (2,5 cm de diámetro y 2 cm de profundidad) que contenían cada una 60 adultos sin discriminar por sexo de *B. tabaci* de máximo ocho días de edad. (Figs. 1A, B). Pasadas 48 horas, tiempo para adquirir el virus, los insectos se transfirieron a jaulas pinza colocadas en plantas sanas por otras 48 horas para garantizar la transmisión (Figs. 1C, D). Finalmente, los adultos se retiraron y eliminaron.

Con el fin de evitar escapes de adultos infectados, durante los procesos de adquisición y transmisión, las plantas se mantuvieron al interior de jaulas (1,10 x 1,0 x 0,80m) forradas en tul a prueba del escape de moscas blancas. A excepción de las plantas fuente del virus, las de los diferentes tratamientos se retiraron de las jaulas y se distribuyeron en mesas del invernadero de la Unidad de Virología del CIAT para su posterior evaluación. Todos los ensayos se realizaron en el invernadero donde permanecieron a $27^\circ\text{C}\pm 5$ y $75\pm 5\%$ de humedad relativa.

Efecto del número de adultos y eficiencia de transmisión del virus. Siguiendo el método descrito, las plantas se expusieron al ataque de adultos, sin sexar, putativamente infectivos en un número de uno, tres, cinco, 10, 15, 20 y 25 insectos por planta; para un total de 14 tratamientos. La unidad expe-

rimental consistió de cinco plantas por tratamiento. Se evaluó el porcentaje de plantas infectadas hasta un mes después de inoculación. Se realizaron seis repeticiones, con un diseño de parcelas divididas, donde el biotipo fue el bloque principal y el bloque secundario fue el número de adultos.

Se calculó la eficiencia o probabilidad de transmisión de un insecto (p) para cada uno de los tratamientos mediante la fórmula:

$$\text{Probabilidad de plantas enfermas} = 1 - (1 - p)^n$$

donde,

p = probabilidad o eficiencia de transmisión

n = número de adultos utilizados para realizar la infección

Esta fórmula, basada en la distribución binomial y propuesta originalmente por Morales y Zattler (1977) para estimar la eficiencia de transmisión de virus por áfidos fue adaptada, en este estudio, para virus transmitidos por *B. tabaci* por Myriam Cristina Duque, de la Unidad de Biotecnología y Biodiversidad del CIAT (com. pers.).

Transmisión del VAFF por hembras y machos de *B. tabaci*

Los adultos que habían adquirido el virus, se sexaron bajo el estereoscopio y se individualizaron hembras y machos en jaulas pinza ubicando un individuo por planta de los dos biotipos para un total de cuatro tratamientos. La unidad expe-

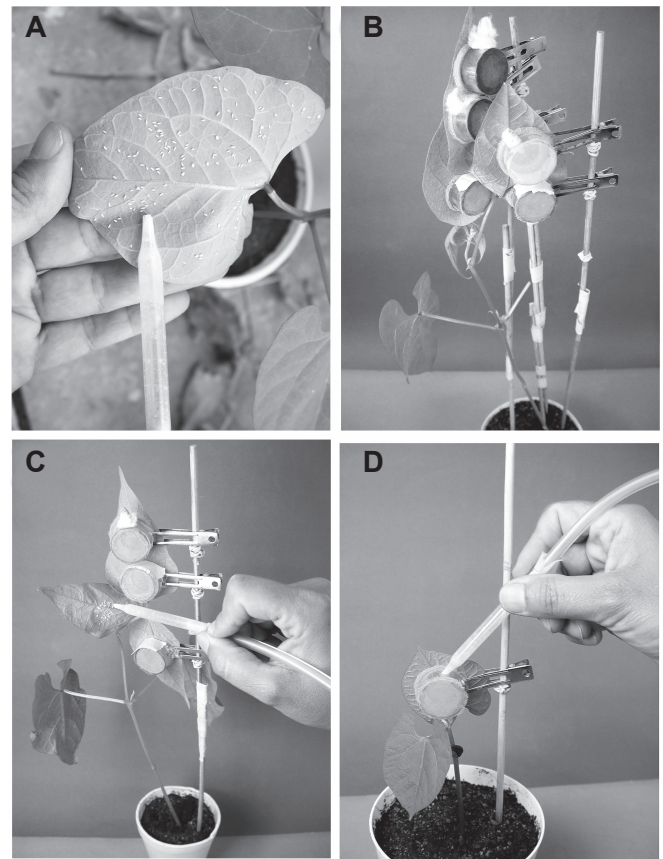


Figura 1. Proceso de adquisición y transmisión del Virus del arrugamiento foliar del frijol. **A.** toma de adultos de las crías, **B.** adquisición del virus de una planta infectada, **C.** y **D.** transferencia de adultos infectados para inocular el virus en plantas sanas (Fotografías Oscar Escobar, CIAT).

perimental consistió de 20 plantas y se realizaron cinco repeticiones con un diseño de parcelas divididas. Se registró el número de plantas infectadas hasta un mes después de realizado el proceso de inoculación y se calculó el porcentaje de infección.

Reacción de genotipos a la infección viral. Con el objeto de evaluar la respuesta de diferentes genotipos del frijol al VAFF se emplearon los genotipos: Porrillo Sintético, ICTA Ligero, EAP 9510-77, Red Kloud, BAT 304, Rojo Brasil, Garrapato, Red Mexican 35 (RM-35), Redlands Greenleaf C (RGLC) y Great Northern 31 (GN-31). Estos genotipos fueron desarrollados previamente en la búsqueda de fuentes de resistencia al Virus del Mosaico Dorado y al Virus del Mosaico Dorado Amarillo del Frijol (Morales 2000b). Algunos de ellos representan la base genética del mejoramiento de las variedades que han sido exitosas para el control de los begomovirus en frijol (Morales 2000b).

Los tratamientos consistieron en la inoculación de los genotipos con un número determinado de insectos previamente expuestos al virus. Se realizaron cuatro experimentos, iniciando con 25 insectos por planta para el biotipo A para infectar los 11 genotipos, seguidamente se realizaron dos ensayos con todos los genotipos, disminuyendo a ocho y 15 insectos por planta para el biotipo A y B respectivamente. El último ensayo se realizó con todos los genotipos utilizando seis moscas de los dos biotipos por planta. En todos los casos se usó como material susceptible o control a la variedad Top Crop. La unidad experimental consistió de entre 10 a 12 plantas y se realizaron tres repeticiones para un diseño de parcelas divididas donde el biotipo fue el bloque principal y el secundario el genotipo. Se registró el número de plantas infectadas hasta un mes después de realizado el proceso de inoculación y se calculó el porcentaje de infección.

Análisis de datos. Los datos de porcentaje de infección de virus de ambos biotipos se transformaron con el arcoseno de la raíz cuadrada del porcentaje de infección dividido por cien (Steel y Torrie 1992). Una vez transformados se realizó un análisis de varianza y cuando se presentaron diferencias significativas, la separación de medias se realizó con la prueba de Rayan-Einot-Gabriel-Welsh (SAS Institute 2002).

Resultados y Discusión

Efecto del número de adultos y eficiencia de transmisión del virus. Aunque los resultados muestran que un individuo de *B. tabaci*, independiente del biotipo, está en capacidad de transmitir el VAFF a un genotipo susceptible de frijol, como la variedad Top Crop, el porcentaje de transmisión o incidencia de la enfermedad fue significativamente diferente dependiendo del biotipo de *B. tabaci*, siendo del 27 y 6% para los biotipos A y B, respectivamente (Tabla 1). Esta diferencia se mantuvo hasta que el aumento de individuos alcanzó 15 y 20 moscas blancas por planta para los biotipos A y B, respectivamente, momento en el cual, independiente del incremento en el número de individuos potencialmente virulíferos, la incidencia del virus no siguió una relación lineal. Al comparar los promedios de los porcentajes de infección (Tabla 1), se encontró que difieren significativamente ($P < 0,0001$), donde el biotipo A es más eficiente que el B al transmitir el VAFF a plantas de frijol de la variedad Top Crop. Este resultado coincide con aquellos obtenidos por Idris *et al.* (2001) quienes re-

Tabla 1. Efecto del número de adultos de los biotipos A y B de *Bemisia tabaci* sobre el porcentaje promedio de plantas de frijol de la variedad Top Crop infectadas con el Virus del Arrugamiento Foliar del Frijol ($n = 6$).

Moscas blancas por planta (No.)	Porcentaje de plantas infectadas	
	Biotipo A	Biotipo B
1	26,6 e*	5,6 e
3	48,3 d	12,2 d
5	63,9 c	27,8 c
10	83,3 b	35,0 b
15	94,4 ab	51,1 a
20	94,4 ab	52,2 a
25	97,2 a	55,0 a
Promedio total	72,6 A [†]	34,1 B

* Promedios entre filas seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5%, [†] Promedios entre columnas seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5%, (Prueba de rangos múltiples de Ryan-Einot-Gabriel-Welsh).

gistran una mayor eficiencia del biotipo A con respecto del B en la transmisión del Virus del Chino del Tomate, empleando un adulto por planta y, además, da soporte a las observaciones de otros investigadores quienes hacen referencia al biotipo B como un vector menos competente en la transmisión de begomovirus (Duffus *et al.* 1992; Duffus y Cohen 1992).

Los valores estimados de p o eficiencia de transmisión del VAFF por un individuo de los biotipos A y B de *B. tabaci* (Tabla 1), permiten establecer que el biotipo A es por lo menos cuatro veces más eficiente que el B como vector del VAFF (Tabla 2). A pesar de que el cálculo de p en este caso corresponde a un valor observado (e.g. 0,27 para el biotipo A), su estimación a partir de los valores obtenidos con un número mayor (>1) de individuos, muestra una tendencia a subestimar la eficiencia de transmisión p a medida que aumenta el número de vectores potenciales colocados en una planta sana. Este comportamiento sugiere que la incidencia de un virus como el VAFF no es lineal, y que a partir de un cierto número de moscas blancas por planta se genera una curva con una pendiente positiva pero decreciente. Una posible explicación a este resultado recae en el estrés por confinamiento generado

Tabla 2. Efecto del número de vectores potenciales del Virus del arrugamiento foliar del frijol en el cálculo de la eficiencia de transmisión p^* del virus por los biotipos A y B de *Bemisia tabaci*.

No. de insectos	Valor de p		pA/pB
	Biotipo A	Biotipo B	
1	0,266	0,056	4,8
3	0,197	0,042	4,7
5	0,184	0,063	2,9
10	0,164	0,042	3,9
15	0,175	0,047	3,8
20	0,175	0,036	4,8
25	0,133	0,031	4,2

* Probabilidad o eficiencia de transmisión de cada insecto en cada uno de los tratamientos (calculado a partir de la fórmula: Probabilidad de plantas enfermas = $1 (1-p)^n$).

por las condiciones experimentales que, posiblemente, incide en la alimentación de las moscas blancas y, en consecuencia, en la transmisión. Por el contrario, en condiciones de campo, los eventos de transmisión del virus serían relativamente independientes, lo que permitiría la inoculación del virus por diferentes individuos en un tiempo relativamente corto.

Transmisión del VAFF por hembras y machos de *B. tabaci*. Los análisis estadísticos revelaron una interacción biotipo por sexo ($P = 0,028$), lo cual indica, en primer lugar, que la capacidad de infectar un mayor o menor número de plantas con hembras o con machos puede depender del biotipo y, en segunda instancia, que la eficiencia de transmisión de un biotipo puede depender del sexo (Tabla 3). Al respecto, tanto hembras como machos del biotipo A de *B. tabaci* transmitieron el VAFF a plantas de Top Crop con la misma eficiencia. Los porcentajes de infección no variaron significativamente y fueron más eficientes para transmitir el patógeno que el biotipo B. Por el contrario, en el caso de este biotipo, el porcentaje de plantas infectadas por las hembras fue significativamente mayor que el causado por los machos (Tabla 3). De otra parte, debido a que por cada planta se utilizó un adulto, el porcentaje de plantas infectadas es equivalente al porcentaje de individuos que infectaron plantas. De este modo, el 92 y 69% de hembras de los biotipos A y B, respectivamente, lograron transmitir el VAFF. En contraste, el 85% de los machos del biotipo A transmitieron el virus, frente a solo el 34% de los machos del B. En ambos casos se presentaron diferencias significativas (Tabla 3).

Aunque en la literatura se reporta que las hembras de *B. tabaci* son vectores más eficientes que los machos (Cohen y Nitzany 1966; Costa y Bennett 1950; Czosnek *et al.* 2001; Muniyapa *et al.* 2000; Nateshan *et al.* 1996) en nuestro estudio, esto fue válido solo para el biotipo B, en cuanto que no se presentaron diferencias en los porcentajes de transmisión del VAFF entre hembras y machos del biotipo A (Tabla 3). Esto coincide en cierta forma con los estudios de Polston *et al.* (1990) quienes mostraron que las tasas de detección de ADN (número de insectos con cantidad detectable de ácido nucleico viral/ número de insectos evaluados) no fueron diferentes entre hembras y machos de *B. tabaci* después de la ingestión con el Virus del encrespamiento de la hoja de la calabaza, aunque los machos contenían mayor cantidad de ADN/mg del peso del cuerpo que las hembras. Sin embargo, Costa (1969) sugiere que cuando hay diferencias, la mayor habilidad de las hembras de transmitir virus respecto de los machos se debe a que ellas tienen una mayor actividad metabólica debido a la producción de huevos, lo que conduce a una mayor tasa de adquisición y, por tanto, de transmisión de virus durante el proceso de alimentación en las plantas.

Tabla 3. Transmisión del Virus del arrugamiento foliar del frijol en plantas de la variedad Top Crop discriminando por sexo de los biotipos A y B de *B. tabaci* ($n = 5$)*.

Biotipo	Sexo	Plantas infectadas (%)
A	Hembras	92 a*
A	Machos	85 a
B	Hembras	69 b
B	Machos	34 c

* Se utilizó un individuo por planta. * Promedios entre filas seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Prueba de rangos múltiples de Ryan-Einot-Gabriel-Welsh).

Reacción de genotipos a la infección viral. Con el número de moscas blancas empleadas se logró obtener infección en todos los materiales (Tabla 4) demostrando que ninguno de ellos posee inmunidad. Sin embargo, se presentaron diferencias significativas en el porcentaje de plantas infectadas de acuerdo con el genotipo ($P < 0,0001$), siendo Top Crop y Red Kloud los más susceptibles mientras que los materiales de frijol negro BAT-304 y Porrillo Sintético fueron los más resistentes. Sin embargo, estos últimos no presentaron diferencias significativas con respecto a ICTA Ligero y Red Mexican-35. Esto sugiere la existencia de diferentes niveles de resistencia al virus en diversos genotipos de frijol común. Es de destacar que los porcentajes de infección en RGLC y Garrapato no difieren significativamente de otro grupo de genotipos con respuesta moderada o intermedia a la infección como EAP-951077, Rojo Brasil y GN-31, lo que está indicando que todos estos materiales presentan escapes a la infección del VAFF (Tabla 4).

Cuando los genotipos se sometieron a la infección con el virus utilizando ocho adultos por planta del biotipo A y 15 del B, se presentaron diferencias significativas en el porcentaje de infección de acuerdo con el genotipo ($P < 0,0001$). Los porcentajes más altos se obtuvieron con el material susceptible Top Crop, seguido de Red Kloud. A diferencia del ensayo con 25 moscas por planta, con ocho y 15 moscas de los biotipos A y B no se obtuvo infección en los genotipos de frijol negro ICTA Ligero, BAT-304 y Porrillo Sintético y, además, con Red Mexican-35 para el biotipo B (Tablas 5 y 6). Los valores más bajos de incidencia (29,0-3,0%) en estos ensayos se presentaron para GN 31, EAP-951077, Rojo Brasil con los dos biotipos y Red Mexican-35 para el biotipo A.

En los resultados de infección de los once genotipos con el VAFF por los biotipos A y B, usando seis moscas por planta, se presentó interacción biotipo por genotipo ($P < 0,0002$) (Tabla 7). Lo anterior significa que los diferentes niveles de resistencia de los genotipos afectan la capacidad de infección de los biotipos. A su vez, dependiendo del biotipo, las plantas de un genotipo dado tienen mayor o menor probabilidad de ser infectadas. Es así como Top Crop por ser un material susceptible, fue infectado por los dos biotipos contrastando con los genotipos de frijol negro que no se infectaron con

Tabla 4. Transmisión del Virus del Arrugamiento Foliar del Frijol en diferentes genotipos de frijol por el biotipo A de *B. tabaci* con 25 individuos por planta ($n = 3$).

Genotipo	Plantas infectadas (%)
Top Crop	100 a*
Red Kloud	100 a
RGL-C	84,1 ab
Garrapato	78,7 ab
EAP-951077	69,1 b
Rojo Brasil	58,3 bc
GN-31	47,5 bc
ICTA Ligero	24,2 cd
Red Mexican 35	23,4 cd
BAT-304	5,0 d
Porrillo Sintético	3,3 d

* Promedios entre filas seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5%. (Prueba de rangos múltiples de Ryan-Einot-Gabriel-Welsh).

el mismo número de moscas blancas utilizadas. Sin embargo, materiales como Red Kloud, RGLC, Garrapato y GN-31 presentaron valores de infección significativamente más altos con el biotipo A que con el B.

Teniendo en cuenta que la totalidad de las plantas de Top Crop fueron infectadas por el VAFF transmitido por los dos biotipos, al igual que la variedad Red Kloud utilizando el biotipo A, estos materiales se constituyeron en los genotipos de frijol más susceptibles entre los seleccionados en esta investigación, presentando diferencias significativas con respecto de los otros materiales ($P < 0,0001$). Los valores más bajos de infección fueron para EAP-951077 y RM-35 inoculados con los dos biotipos, y RGL-C y GN-31 inoculados mediante el biotipo B. Se obtuvieron valores desde intermedios a altos de infección en los genotipos Rojo Brasil, Garrapato y RGLC infectados con el biotipo A y Red Kloud con el biotipo B. Los resultados con el resto de materiales se pueden ubicar en un nivel de infección bajo (Tabla 5).

Considerando que EAP-951077 es un cultivar que combina diferentes fuentes de resistencia (MD3075 x DICTA 105) contra el Virus del Mosaico Dorado Amarillo del Frijol, a diferencia de otros evaluados en esta investigación y que se constituyen por sí mismos en fuentes de resistencia (Morales y Niessen 1988), se decidió establecer la eficiencia de transmisión p de un individuo y el número de insectos requeridos para obtener valores esperados del 25, 50, 75 y 95% de plantas infectadas con los biotipos A y B de *B. tabaci* con esta variedad. Es necesario aclarar que los ensayos con genotipos no fueron diseñados para poner en ejercicio la fórmula de probabilidad. Los resultados de este ensayo se presentan en el anexo 1. En contraste con lo ocurrido con Top Crop (Tabla 2), la eficiencia de transmisión p de un individuo de ambos biotipos fue proporcional al aumento en número de moscas empleadas para inocular las plantas (Anexo). En este caso particular, parece ser que el aumento de individuos por planta no afectó la transmisión del VAFF, lo que pone en duda la hipótesis del estrés inducido en las moscas blancas a medida que se aumenta el número de individuos por planta. De otra parte, haciendo una proyección a partir de la fórmula de probabilidad, se observa que los adultos requeridos para lograr valores esperados del 25 y 50% de plantas infectadas

de EAP-951077, están dentro de un rango más estrecho para los dos biotipos, en relación con los requeridos para alcanzar un 75 y 95%. Lo que significa que es más factible acercarse al número requerido de insectos que puede infectar el 50% de las plantas o menos. Es interesante observar cómo, a diferencia de lo que ocurre con un genotipo altamente susceptible como Top Crop, EAP-951077 se ubica entre los materiales que responden con una infección baja al VAFF y, por la misma razón, el número de moscas blancas que podrían requerirse para lograr porcentajes de infección del 75 y 95% son bastante altos, lo que demuestra la existencia de un nivel importante de resistencia en este material (Anexo).

Vale la pena reiterar que cuando se habla de “resistencia” a los begomovirus que afectan el frijol en América Latina, se hace en el sentido amplio de la palabra e incluye un rango de niveles de resistencia (Morales 2000b). En este sentido, los materiales que se usaron en este trabajo, habían sido evaluados previamente en condiciones de campo para el VAFF en el corregimiento de La Tupia, municipio de Pradera, Valle del Cauca, Colombia (CIAT 2004). Dichos ensayos revelaron que genotipos como ICTA Ligero, Porrillo Sintético y BAT-304 presentaban niveles altos de resistencia al virus, mientras que, EAP-951077 presentó un nivel de resistencia intermedia y que materiales como Garrapato, Rojo Brasil y RM-35 registraron niveles bajos. RGLC fue catalogado como un material susceptible y Red Kloud y GN-31 se evaluaron una sola vez pues no presentaron una respuesta aceptable en el campo.

Para el Virus del Arrugamiento Foliar del Frijol, es evidente que, con excepción del genotipo susceptible Top Crop, y en el caso particular de Red Kloud cuando es infectado con el biotipo A, todos los materiales evaluados exhibieron diferentes niveles de resistencia contra el patógeno. Estos resultados corroboran aquellos obtenidos en La Tupia (CIAT 2004), en los cuales los materiales de frijol negro como ICTA Ligero, BAT-304 y Porrillo Sintético presentaron los más altos niveles de resistencia. Aunque, en el caso de esta investigación, no solamente EAP-951077 presentó niveles de resistencia intermedia, sino también Rojo Brasil, GN-31 y RM-35. Interesantemente, RGLC no se comportó como un material susceptible, sino de baja resistencia a la infección.

Tabla 5. Transmisión del Virus del Arrugamiento Foliar en diferentes genotipos de frijol por el biotipo A de *B. tabaci* con ocho moscas por planta ($n = 3$).

Genotipo	Plantas infectadas (%)
Top Crop	100 a*
Red Kloud	97,2 ab
RGL-C	75,0 bc
Garrapato	50,0 cd
GN-31	27,7 de
EAP-951077	27,7 def
Rojo Brasil	11,1 ef
Red Mexican 35	3,0 ef
ICTA Ligero	0 f
BAT-304	0 f
Porrillo Sintético	0 f

* Promedios entre filas seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5%. (Prueba de rangos múltiples de Ryan-Einot-Gabriel-Welsh).

Tabla 6. Transmisión del Virus del Arrugamiento Foliar del Frijol en genotipos de frijol por el biotipo B de *B. tabaci* con 15 moscas por planta ($n = 3$).

Genotipo	Plantas infectadas (%)
Top Crop	97,2 a*
Red Kloud	97,2 a
RGL-C	52,8 b
Garrapato	36,1 bc
EAP-951077	29,0 bcd
GN-31	11,1 cde
Rojo Brasil	8,3 de
Red Mexican 35	0 e
ICTA Ligero	0 e
BAT-304	0 e
Porrillo Sintético	0 e

* Promedios entre filas seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5%. (Prueba de rangos múltiples de Ryan-Einot-Gabriel-Welsh).

Garrapato fue ambivalente en su respuesta a la infección con el virus, presentando bajos niveles de resistencia cuando se evaluó con el biotipo A y niveles intermedios con el B. Según Morales y Niessen (1988) y Morales (2000b) Porrillo sintético ha sido la fuente de resistencia más usada en América Latina para el desarrollo del 95% de las líneas de resistencia al mosaico dorado. Es en este tipo de materiales negros que se encuentra típicamente un porcentaje relativamente bajo de plantas infectadas por el virus y otro porcentaje que ha escapado a la infección especialmente cuando ésta se retrasa bajo condiciones de incidencia tardía o moderada de mosca blanca. En la presente investigación, la infección de los materiales negros solo se logró con el biotipo A, lo que sugiere un mejor desempeño de estos materiales cuando son expuestos a la infección con el biotipo B. No obstante, de acuerdo con lo mencionado por Morales (2000b), la presión de las poblaciones de la mosca blanca en el campo determinan la incidencia del virus.

Morales y Niessen (1988) y Singh (1989), indican que genotipos como GN-31, RGLC y RM-35 fueron desarrollados para zonas de climas templados y crecen mejor en condiciones de invernadero (Morales y Niessen 1988). En este estudio, estos materiales presentaron un mejor desempeño en su respuesta al virus, que lo presentado antes en condiciones de campo (CIAT 2004). Lo anterior es importante en cuanto que estos genotipos presentan resistencia a otros virus de frijol común que han sido empleados en el mejo-

ramiento de materiales contra el Virus del Mosaico Dorado y el Virus del Mosaico Dorado Amarillo (Morales 2000b). Además porque, al igual que los genotipos de frijol negro, GN-31 y RM-35 presentan una tendencia al escape especialmente cuando se retrasa la infección con el virus (Morales y Niessen 1988; Morales 2000b). En el caso de RGLC a pesar infectarse sistémicamente, produce vainas con poca deformación (Morales y Niessen 1988), a este material se le ha descubierto el gen *Bgp* asociado a esta característica (Blair y Beaver 1993).

De otra parte, Morales y Niessen (1988) indican que Garrapato y Red Kloud son genotipos que se infectan sistémicamente con el Virus del Mosaico Dorado Amarillo del Frijol. Sin embargo, los autores mencionan que cuando estos materiales fueron usados como parentales incluyendo a Porrillo Sintético, los descendientes presentaron niveles de resistencia más altos que sus padres. Este es el caso de A429, un material con color de semilla diferente al negro, que demostró poseer un alto nivel de resistencia al Virus del Mosaico Dorado Amarillo en condiciones de campo y en el cual uno de sus parentales es Garrapato. En consecuencia, así Garrapato presente niveles bajos e intermedios de resistencia continúa, según Morales (2000b), es una de las mejores fuentes de resistencia descubiertas hasta el presente. Se ha descrito el gen recesivo *bgm-1* como responsable de la resistencia al amarillamiento de este genotipo y sus descendientes (Blair y Beaver 1993; Singh *et al.* 2000).

Individuos de *B. tabaci* del biotipo B fueron colectados en campos de frijol infectados con el VAFF, en el corregimiento de La Tupia (municipio de Candelaria, Valle del Cauca) y determinados por RAPDs (PCR) (Unidad de Virología- CIAT, datos sin publicar). Esto sugiere que el virus es transmitido en condiciones naturales por el biotipo B, ya que el biotipo A aparentemente fue desplazado (Rodríguez *et al.* 2005). Es posible que como vector, el biotipo B no sea tan eficiente como el A en transmitir begomovirus (Duffus *et al.* 1992; Idris *et al.* 2001; Markham y Bedford 1993), tal como se pone en evidencia en la presente investigación. Sin embargo, la alta fecundidad de este biotipo (Cuellar *et al.* en preparación), se refleja en las grandes poblaciones del biotipo B en campo. Según Morales (2006), se han encontrado poblaciones que exceden 2000 individuos de mosca blanca por planta en frijol común, hecho que compensa lejos las diferencias en la eficiencia de transmisión presentada en los biotipos. Adicionalmente, en este trabajo se demostró que en condiciones experimentales cuando el biotipo B comienza a adquirir y a transmitir begomovirus, su capacidad de infectar un mayor número de plantas incrementa con el tiempo.

Este trabajo permite concluir que existen fuentes de resistencia al Virus del Arrugamiento Foliar del Frijol que pueden ser usadas para implementar un programa de mejoramiento genético de frijol habichuela por su resistencia a este virus en el Valle del Cauca.

Agradecimientos

Al Proyecto de Mosca Blanca Tropical por la financiación del trabajo; a Myriam Cristina Duque, Unidad de Biotecnología y Biodiversidad del CIAT, por el análisis estadístico; al personal del Proyecto Frijol del CIAT por el suministro de los insectos procedentes de las crías para los ensayos.

Tabla 7. Transmisión del Virus del arrugamiento foliar en diferentes genotipos de frijol por los biotipos A y B de *B. tabaci* con seis moscas por planta (n = 3).

Biotipo	Genotipo	Plantas infectadas (%)
A	Top Crop	100 a*
B	Top Crop	100 a
A	Red Kloud	100 a
A	RGL-C	76,7 b
A	Garrapato	76,7 b
B	Red Kloud	73,3 b
A	Rojo Brasil	53,3 bc
B	Garrapato	36,7 cd
A	GN -31	33,3 cde
B	Rojo Brasil	23,3 chf
B	RGL-C	20,0 def
A	Red Mexican 35	16,7 def
A	EAP-951077	16,7 def
B	EAP-951077	10,0 efg
B	Red Mexican 35	10,0 efg
B	GN -31	6,7 fg
A	BAT-304	0 g
B	BAT-304	0 g
A	ICTA Ligero	0 g
B	ICTA Ligero	0 g
A	Porrillo Sintético	0 g
B	Porrillo Sintético	0 g

* Promedios entre filas seguidos por la misma letra no difieren significativamente al nivel del 5% (Prueba de rangos múltiples de Ryan-Einot-Gabriel-Welsh).

Literatura citada

- BETHKE, J. A.; PAINE, T. D.; NUESSLY, G. S. 1991. Comparative biology, morphometrics and development of two populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. *Annals of the Entomological Society of America* 84: 407-411.
- BLAIR, M.W.; BEAVER, J.S. 1993. Inheritance of bean golden mosaic resistance from bean genotype A429. Pag. 143 *en*: Annual Report Bean Improvement. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia.
- BROWN, J. K. 1990. An update on the whitefly-transmitted geminivirus in the Americas and the Caribbean basin. *FAO Plant Protection Bulletin* 39: 5-23.
- BROWN, J. K. 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. *FAO Plant Protection Bulletin* 42: 3-32.
- BYRNE, D.; BELLOWS, T.; PARRELLA, M. 1990. Whiteflies in agricultural systems. Págs. 227-251 *en*: D. Gerling (ed.). *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. Intercept, Andover UK.
- CIAT, 2004. Annual Report Project IP-1 Bean Improvement for the tropics. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia.
- COHEN, S.; NITZANY, F.E. 1966. Transmission and host range of the tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology* 56(10): 1127-1131.
- COSTA, A.S.; BENNETT, C.W. 1950. White-fly-transmitted mosaic of *Euphorbia prunifolia*. *Phytopathology* 40(3): 266-283.
- COSTA, A.S. 1969. Whiteflies as virus vectors. Págs. 95-119. *En* K. Maramorosch: *Viruses, Vectors and Vegetation*. Interscience Press. New York.
- COSTA, H.S.; BROWN, J. K. 1991. Variation in biological characteristics and esterase patterns among populations of *Bemisia tabaci*, and the association of one population with silverleaf symptom induction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 61: 211-219.
- CZOSNEK, H.; GHANIM, M.; GHANIM, M. 2001. The circulative pathway of begomoviruses in the whitefly vector *Bemisia tabaci* – insights from studies with *Tomato yellow leaf curl virus*. *Annals of Applied Biology* 140: 215-231.
- DUFFUS, J.E. 1992. Whitefly vectors: increasing threat to world agriculture. *Proceedings XIX International Congress of Entomology*, Beijing, China. 352 p.
- DUFFUS, J.E.; COHEN, S. 1992. Whitefly-borne viruses and their vectors in the sub-tropical environment. *Proceedings 5th International Plants Virus Epidemiology Symposium: Viruses, Vectors and the Environment*. Valenzano (Bari). Italia. Pp. 7-8.
- EICHELKRAUT, K.; CARDONA, C. 1989. Biología, cría masal y aspectos ecológicos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), como plaga de frijol común. *Turrialba* 39(1): 51-55.
- IDRIS, A. M.; SMITH S. E.; BROWN J. K. 2001. Ingestion, transmission, and persistence of Chino del tomate virus (CdTV), a New World begomovirus, by Old and New World biotypes of the whitefly vector *Bemisia tabaci*. *Annals of Applied Biology* 139(1):145-154.
- MORALES, F.J.; ZETTLER, F.W. 1977. Aphid transmission characteristics of dasheen mosaic virus. *Revista Colombiana de Fitopatología* 6(2):141.
- MARKHAM, P. G.; BEDFORD, I. D. 1993. Comportamiento y modos de acción de *Bemisia tabaci* (Gennadius): capacidad de transmitir virosis. 4º Symposium, Las Virosis en los Cultivos Hortícolas Mediterráneos. *Phytoma España* 50: 47-52.
- MORALES, F. J.; SINGH., S. P. 1993. Breeding for resistance to bean golden mosaic virus in an interracial population of *Phaseolus vulgaris* L. *Euphytica* 67: 59-63.
- MORALES, F.J.; NIESSEN, A. 1988. Comparative responses of selected *Phaseolus vulgaris* germplasm inoculated artificially and naturally with bean golden mosaic virus. *Plant Disease* 72(12): 1020-1023.
- MORALES, F. J. 2000a. El Mosaico Dorado y otras enfermedades del frijol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. Palmira, Valle del Cauca, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 169 p.
- MORALES, F. J. 2000b. Métodos de control de begomovirus del frijol. Págs. 133-154 *en* F. J. Morales (ed.). *El Mosaico Dorado y otras enfermedades del frijol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina*. Palmira, Valle del Cauca, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 169 p.
- MORALES, F. J.; MUÑOZ, C.; CASTAÑO, M.; VELASCO, A. C. 2000. Geminivirus transmitidos por mosca blanca en Colombia. *Fitopatología Colombiana* 24(2): 95-98.
- MORALES, F.J. 2001. Conventional breeding for resistance to *Bemisia tabaci*-transmitted geminiviruses. *Crop Protection* 20: 825-834.
- MUNIYAPPA V.; VENKATESH, H.M.; RAMAPPA, H.K.; KULKARNI, R.S.; ZEIDAN, M.; TARBA C.Y.; GHANIM, M.; CZOSNEK H. 2000. Tomato leaf curl virus from Bangalore (ToLCV-Ban4): sequence comparison with Indian ToLCV isolates, detection in plants and insects, and vector relationships. *Archives of Virology* 145: 1583-1598.
- NATESHAN, H.M.; MUNIYAPPA, V.; SWANSON, M.M.; HARRISON, B.D. 1996. Host range, vector relations and serological relationships of cotton leaf curl virus from southern India. *Annals of Applied Biology* 128: 233-244.
- OLIVEIRA, M. R.V.; HENNEBERRY, T. J.; ANDERSON, P. 2001. History, current status, and collaborative research projects. *Crop Protection* 20: 709-723.
- PERRING, T. M. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection* 20: 725-737.
- POLSTON, J.E.; AL-MUSA, A.; PERRING, T.M.; DODDS, J.A. 1990. Association of the nucleic acid of squash leaf curl geminivirus with the whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytopathology* 80: 850-856.
- RODRIGUEZ, I.; MORALES, H.; BUENO, J. M.; CARDONA, C. 2005. El biotipo B de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) adquiere mayor importancia en el Valle del Cauca. *Revista Colombiana de Entomología* 31(1): 21-28.
- ROMBERG, M. 1998. Caracterización biológica de dos biotipos de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Genn) (Homoptera: Aleyrodidae). Tesis de Grado en Biología. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. 80 p.
- SAS (Statistical Analytical Institute). 2002. Version 8.2. SAS Institute Inc. Cary, N.C.
- SINGH, S.P. 1989. Patterns of variation in cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany* 43: 39-57.
- SINGH, S.P.; MORALES, F.J.; MIKLAS, P.N.; TERAN, H. 2000. Selection for bean golden mosaic resistance in intra and interracial bean populations. *Crop Science* 40: 1565-1572.
- STEEL R.G.D.; TORRIE J.H. 1992. *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. McGraw-Hill. México. 622 p.

Recibido: 9-dic- 2009 • Aceptado: 21- ene-2011

Anexo

Cálculo del número de adultos (n) de los biotipos A y B de *Bemisia tabaci* requeridos para infectar un porcentaje esperado de plantas de frijol común de la variedad EAP- 951077 con el Virus del Arrugamiento Foliar del Frijol a partir de valores observados de la eficiencia o probabilidad de transmisión (p) del virus por un individuo vector.

Biotipo	Adultos utilizados por planta (No.)	Valores observados de plantas infectadas (%)	Eficiencia de transmisión (p)*	Probabilidad de no transmisión (q)	Log (q)	Valores esperados de plantas infectadas (%) / número (n)* calculado de adultos requeridos			
						25	50	75	95
A	6	16,7	0,030	0,97	-0,0132	9,4	22,8	45,5	98,4
A	8	27,7	0,040	0,9603	-0,0176	7,1	17,1	34,2	74,0
A	25	69,1	0,045	0,9541	-0,0204	6,1	14,8	29,5	63,8
B	6	10,0	0,017	0,9826	-0,0076	16,39	39,49	78,98	170,67
B	15	29,0	0,023	0,9774	-0,0099	12,58	30,32	60,64	131,05

* Probabilidad o eficiencia de transmisión de cada insecto en cada uno de los tratamientos y número de moscas requeridas para lograr diferentes porcentajes de infección calculados a partir de la fórmula: Probabilidad de plantas enfermas = $1 - (1-p)^n$.

Effect of sugarcane varieties on the development of *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae)

Efecto de variedades de caña de azúcar en el desarrollo de *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae)

JOSÉ F. GARCÍA¹, SIMONE S. PRADO², JOSÉ D. VENDRAMIM³ and PAULO S. M. BOTELHO⁴

Abstract: The sugarcane spittlebug, *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae), is considered the most important pest of sugarcane harvested without the burning of trash, or green cane, in Brazil. The objective of this work was to compare the biology of *M. fimbriolata* on six sugarcane varieties: SP79-1011, SP80-1816, SP80-1842, SP81-3250, RB72454, and RB835486. The experiments were conducted at a temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$, RH of $70 \pm 10\%$, and a photoperiod of 14:10 [L:D]. Variety RB72454 outperformed the rest, reducing the nymphal population that fed on its roots by 50%. With regard to adults, variety SP81-3250 allowed greater mean longevity of males (38 days) and females (51 days), greater mean oviposition period (46 days), and higher mean fecundity (1215 eggs/female); these parameters were statistically different from those obtained with other varieties. For the eggs, there was no significant effect of variety on developmental time or viability. Consequently, the variety SP81-3250 should be avoided in areas predisposed to the occurrence of *M. fimbriolata*.

Key words: Plant resistance. Antibiosis. Tolerance. *Saccharum*.

Resumen: El salivazo, *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae), es considerada la principal plaga de la caña de azúcar cosechada sin previa limpieza a fuego, o caña verde, en el Brasil. El objetivo de este trabajo fue comparar la biología de *M. fimbriolata* sobre seis variedades de caña de azúcar: SP79-1011, SP80-1816, SP80-1842, SP81-3250, RB72454 y RB835486. Los experimentos se llevaron a cabo a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ y un fotoperiodo de 14:10 [L:O]. La variedad RB72454 superó las demás, reduciendo en 50% la población de ninfas alimentadas en sus raíces. En relación con los adultos, la variedad SP81-3250 permitió mayor longevidad promedio de machos (38 días) y de hembras (51 días), mayor periodo promedio de oviposición (46 días) y elevada fecundidad promedio (1215 huevos/hembra); estos parámetros fueron estadísticamente diferentes de los obtenidos en las otras variedades. Para los huevos, no hubo efecto significativo de variedad sobre el periodo de desarrollo o la viabilidad. Siendo así, la variedad SP81-3250 debe ser evitada en áreas propicias para la presencia de *M. fimbriolata*.

Palabras clave: Resistencia de plantas. Antibiosis. Tolerancia. *Saccharum*.

Introduction

Mechanized harvesting in sugarcane areas has substantially increased in Brazil, particularly in the State of São Paulo, where currently one third of the planted area is mechanically harvested. In this system, the trash is not burned and the dry leaves, top shoots, and green leaves that have been chopped are thrown on the soil surface, forming a covering layer of plant material near the base of ratoon stalks and tillers. Because of this practice, crop management changes have been observed and as a consequence, there have been population increases of sugarcane spittlebug, *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) in many regions (Dinardo-Miranda *et al.* 2006). This pest was being controlled mainly by burning the sugarcane crops prior to harvesting, which was especially helpful in the destruction of diapausing eggs, and changing the local microclimate (Dinardo-Miranda *et al.* 2001a).

Nymphs of *M. fimbriolata* cause physiological disorders as a result of feeding injuries that reach the roots' phloem vessels, deteriorating them and slowing or preventing the flow of water and nutrients (Gallo *et al.* 2002). The adults cause "froghopper burn" in sugarcane leaves (Guagliumi 1972) and their saliva, injected upon feeding, also cause a re-

duction in the size and diameter of internodes, which become short and fibrous (Dinardo-Miranda *et al.* 2000; Gonçalves *et al.* 2003). One of the most important control methods against this pest has been the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., 1976 at a concentration of 2.6×10^{12} viable conidia/hectare (Leite *et al.* 2005). However, the use of insecticides to control the sugarcane spittlebug is also recommended mainly in situations that require a quick control response, decreasing the high risk of not preventing the potential damage that can be caused by *M. fimbriolata* (Dinardo-Miranda *et al.* 2001b, 2004, 2006).

While studies involving sugarcane have been made for a long time in Brazil, little is known about the use of resistant varieties as an alternative control of the sugarcane spittlebug (Dinardo-Miranda 2001b). Therefore, the objective of this work was to evaluate the biological development of *M. fimbriolata*, a recent pest of sugarcane, on diverse and popular sugarcane varieties currently grown in the State of São Paulo.

Material and Methods

We used insects of the laboratory stock colony, reared according to a technique described by Garcia *et al.* (2007). We use

¹ Dr. Global Cana - Soluções Entomológicas Ltda. Rua Coronel Medeiros, 38 - Centro. CEP: 15.910-000 - Monte Alto - São Paulo - Brazil. Corresponding author: Fax: +55 16 9275-4556. jfgarcia@globalcana.com.br ² Ph. D. Departamento de Entomologia e Acarologia - ESALQ / USP - Caixa Postal: 09. CEP: 13418-900 - Piracicaba - São Paulo - Brasil. ³ Dr. Prof. Departamento de Entomologia e Acarologia - ESALQ / USP - Caixa Postal: 09. CEP: 13418-900 - Piracicaba - São Paulo - Brasil. ⁴ Dr. Prof. Departamento de Biotecnologia Vegetal - CCA - UFSCar - Caixa Postal: 153. CEP: 13600-970 - Araras - São Paulo - Brasil.

Table 1. Mean duration and viability $\pm$ standard error (S.E.) for the nymphal stage of the sugarcane spittlebug *M. fimbriolata*, on different sugarcane varieties. Temperature: $25\pm 1^\circ\text{C}$, RH: $70\pm 10\%$, photophase: 14 hours.

Varieties	Duration (days)		Viability (%)	
	Mean $\pm$ S.E.	V.I. ¹	Mean $\pm$ S.E.	V.I.
SP 79-1011	38.04 ± 0.46 a ²	36.0 - 40.0	64.00 ± 7.84 ab	20.0 - 100.0
SP 80-1816	35.21 ± 0.45 b	34.0 - 38.3	76.00 ± 4.98 ab	60.0 - 100.0
SP 80-1842	35.19 ± 0.35 b	34.0 - 37.3	78.00 ± 6.29 a	40.0 - 100.0
SP 81-3250	37.68 ± 0.53 a	35.0 - 40.3	78.00 ± 5.54 a	40.0 - 100.0
RB72454	36.81 ± 0.59 ab	34.5 - 39.3	50.00 ± 8.56 b	20.0 - 100.0
RB835486	38.35 ± 0.65 a	35.3 - 42.0	58.00 ± 4.67 ab	40.0 - 80.0

¹ V.I. = Variation interval; ² Means followed by the same letter in the column are not statistically different by Tukey test ($P \leq 0.05$).

the varieties SP79-1011, SP80-1816, SP80-1842, SP81-3250, RB72454, and RB835486 that were developed and grown in greenhouses of the Laboratory of Insect Biology of the Departamento de Entomologia e Acarologia at Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), in Piracicaba, SP, Brazil. The studies were conducted at a temperature of $25\pm 1^\circ\text{C}$, relative humidity of $70\pm 10\%$ and a photoperiod of 14:10 [L:D].

The sugarcane spittlebug biological parameters as duration and viability of the eggs, nymphal stages, pre-oviposition and oviposition period, fecundity, and adult longevity were evaluated. Eggs laid on the third day of oviposition were used to determine the duration of the embryonic period and viability. Eggs were distributed on acrylic plates (6 cm diameter x 2 cm height) and lined with autoclaved filter paper moistened with distilled water. The number of nymphs hatched per plate was recorded daily. The experimental design was completely randomized, with five replicates, consisting of 100 eggs each. Sugarcane seedlings of each variety tested were used to evaluate the duration and viability of the nymphal period. Seedlings were placed in 500mL capacity containers and sealed with a plastic lid containing a vent hole in the centre (2cm diameter). Evaluations were performed daily, and the number of emerged adults was recorded. A completely randomized experimental design was used, with 10 replicates, each consisting of 10 nymphs. To calculate fecundity (number of eggs/female) and oviposition rate (mean number of eggs/day), the oviposition period considered was between the first and last observed day that females laid eggs. The numbers of live and dead females were counted in each evaluation. The values of mean mortality/day and the oviposition period were compared. A com-

pletely randomized experimental design was used, with 40 replicates, each consisting of a *M. fimbriolata* pair.

The biological data were subjected to analysis of variance and the means were compared by Tukey test ($P < 0.05$), using the SANEST 2.0 software program (Zonta and Machado 1982). The parameters duration and viability of the egg and nymphal stages, pre-oviposition period, oviposition, fecundity, and adult longevity were used to run a cluster analysis (Scott and Knott 1974). This analysis was performed via the Systat 3.0 software program (Wilkinson 1990).

Results and Discussion

The diverse sugarcane varieties studied here influenced the biological parameters evaluated for *M. fimbriolata* nymphs and adults, but did not alter incubation period and viability of the eggs.

The duration and viability of the nymphal stage were statistically different for individuals exposed to the different varieties, ranging from 35 to 38 days. The shortest nymphal periods were observed for the insects reared on the varieties SP80-1816 and SP80-1842 (35 days), while the longest periods were observed for the insects reared on SP81-3250 (37 days), SP79-1011, and RB835486 (38 days). Although an intermediate duration of the nymphal period occurred on variety RB72454 (36 days) as compared to the others, this variety caused a 50% reduction in nymphal viability, differing from values obtained on varieties SP80-1842 and SP81-3250 (28%) (Table 1).

The longevity of sugarcane spittlebug males and females was strongly influenced by the variety on which they fed (Table 2). Longevities of 38 days for males and 51 days for

Table 2. Mean longevity $\pm$ standard error (S.E.) of males and females of the sugarcane spittlebug *M. fimbriolata*, on different sugarcane varieties. Temperature: $25\pm 1^\circ\text{C}$, RH: $70\pm 10\%$, photophase: 14 hours.

Varieties	Male		Female	
	Mean $\pm$ S.E.	V.I. ¹	Mean $\pm$ S.E.	V.I.
SP 79-1011	15.40 ± 1.49 b ²	6.0 - 26.0	21.47 ± 5.63 b	4.0 - 74.0
SP 80-1816	15.10 ± 1.75 b	9.0 - 28.0	21.46 ± 5.78 b	2.0 - 72.0
SP 80-1842	19.36 ± 2.14 b	11.0 - 37.0	24.43 ± 5.45 b	3.0 - 75.0
SP 81-3250	38.25 ± 7.03 a	11.0 - 68.0	51.13 ± 8.60 a	16.0 - 80.0
RB72454	24.50 ± 3.85 b	12.0 - 45.0	35.00 ± 7.55 ab	7.0 - 72.0
RB835486	11.90 ± 1.46 b	7.0 - 20.0	12.80 ± 1.40 b	8.0 - 22.0

¹ V.I. = Variation interval; ² Means followed by the same letter in the column are not statistically different by Tukey test ($P \leq 0.05$).

Table 3. Mean pre-oviposition and oviposition periods $\pm$ standard error (S.E.) for females of the sugarcane spittlebug *M. fimbriolata*, on different sugarcane varieties. Temperature: $25\pm 1^\circ\text{C}$, RH: $70\pm 10\%$, photophase: 14 hours.

Varieties	Pre-oviposition		Oviposition	
	Mean $\pm$ S.E.	V.I. ¹	Mean $\pm$ S.E.	V.I.
SP 79-1011	4.00 ± 0.35 a ²	0.0 – 5.0	17.60 ± 5.61 b	0.0 – 71.0
SP 80-1816	4.46 ± 0.40 a	0.0 – 6.0	16.92 ± 5.49 b	0.0 – 66.0
SP 80-1842	4.14 ± 0.40 a	0.0 – 7.0	20.43 ± 5.40 ab	0.0 – 71.0
SP 81-3250	5.13 ± 0.30 a	4.0 – 6.0	46.00 ± 8.71 a	10.0 – 76.0
RB72454	5.30 ± 0.30 a	3.0 – 6.0	29.20 ± 7.22 ab	5.0 – 67.0
RB835486	4.10 ± 0.55 a	0.0 – 6.0	7.40 ± 1.23 b	0.0 – 15.0

¹ V.I. = Variation interval; ² Means followed by the same letter in the column are not statistically different by Tukey test ($P \leq 0.05$).

females were verified on variety SP81-3250, which was significantly higher than on the other genotypes. This could lead to an increase in the number of eggs laid, and since the adults live to feed for a longer period, increased crop damage may result. The female pre-oviposition period was not affected by the varieties used to rear the insects. However, the oviposition period showed statistical differences between the varieties. Insects reared on the variety SP81-3250 showed the longest oviposition period (46 days), been statistically different from the period recorded on varieties RB835486 (7 days), SP 79-1011 (17 days), and SP 80-1816 (18 days) (Table 3). Females exposed to the variety SP81-3250 showed the highest mean fecundity of 1,215 eggs, differing statistically from those females maintained on the other varieties (Table 4). Regardless of the variety on which nymphs and adults were reared, the varieties did not significantly influence the mean incubation period (18 days) and egg viability, which varied from 83% for the variety SP79-1011 to 97% for the variety SP81-3250 (Table 5).

The cluster analysis allowed the formation of three groups of different levels of resistance between the varieties, taking into consideration the duration and viability of the egg and nymphal stages, longevity of males and females, pre-oviposition and oviposition periods, and fecundity as parameters (Fig. 1). Fecundity was the most important variable used for the formation of groups; this result was also clear from the cluster analysis ("F"=21.84). Therefore, the first group consisted of varieties SP79-1011, SP80-1816, and RB835486, with mean fecundity values of 254.5; 333.2; and 143 eggs per female, respectively; the second consisted of varieties SP80-1842 and RB72454, with 479.9 and 559.9 eggs/female, respectively; and the third was formed by variety SP81-3250, with the highest mean number of eggs per female, totaling 1,215 eggs.

Here we showed that the variety SP81-3250 supports an increased number of eggs and consequently, a higher number of individuals per generation, which may suggest damage to the crop. Therefore, we concluded that this variety is not indicated for areas which potentially favor the occurrence of the pest. There is little information available in the literature on sugarcane resistance to the pest *M. fimbriolata*. The population of *M. fimbriolata* was evaluated during field observations at 10 sugar/alcohol mills in the State of São Paulo from 1999 to 2002. Nymphs/linear meter of sugarcane were counted over approximately 60,000 hectares. Based on the percentage of areas with infestations higher than 5 nymphs/meter, it was verified that no field planted with variety SP79-1011 reached

a level this high. Varieties RB72454 and RB835486 showed values between 1 and 9%; for SP80-1816 values were between 10 and 19%; while for SP80-1842 and SP81-3250, 20% of the areas showed densities equal to or higher than 5 nymphs/meter (Stingel 2005). Comparing this information with the biological parameters obtained in the laboratory, there is strong evidence that varieties do affect the incidence of sugarcane spittlebug. For example, the variety SP81-3250, which allowed greater longevity of males and females, longer oviposition period, and higher fecundity, was listed as the variety with the highest natural infestation of the pest.

These results emphasize the necessity for detailed studies on the resistance of various sugarcane varieties to the spittlebug *M. fimbriolata* in Brazil. In the past, Guagliumi (1972) verified that varieties POJ 2878, Caianã, Pitú, and Criola (unused nowadays) showed greater susceptibility to the attack of *Mahanarva rubicunda indentata* (Walker, 1858) adults (Hemiptera: Cercopidae). Due to a tight leaf sheath disposition, the varieties Co 331, and CP-5122 made it harder for nymphs to enter and develop on the plants. Conversely, varieties CB-5022, CB-4077, and CB-47355 were more easily exposed not only to nymphs, but also to abiotic factors, and natural enemies, because they possessed a trait by which older leaves were shedded. Based on field observations, other authors, like Pickles (1933, 1942) and Fewkes (1969), reported that some sugarcane varieties are less susceptible to the attack of leafhoppers than others. Dinardo-Miranda *et al.* (2001a) showed that *M. fimbriolata* severely attacked the varieties IAC83-2396, SP80-1842 e RB825336. However, the varieties IAC82-3092, IAC87-3187 e PO86-1107 presented

Table 4. Mean fecundity $\pm$ standard error (S.E.) of the sugarcane spittlebug *M. fimbriolata*, on different sugarcane varieties. Temperature: $25\pm 1^\circ\text{C}$, RH: $70\pm 10\%$, photophase: 14 hours.

Varieties	Fecundity	
	Mean $\pm$ S.E.	V.I. ¹
SP 79-1011	254.47 ± 68.46 b ²	0.0 - 908.0
SP 80-1816	333.15 ± 115.65 b	0.0 - 1,476.0
SP 80-1842	479.93 ± 137.06 b	0.0 - 1,563.0
SP 81-3250	$1,215.00 \pm 200.02$ a	281.0 - 1,732.0
RB72454	559.90 ± 161.78 b	62.0 - 1,621.0
RB835486	143.00 ± 23.84 b	0.0 - 234.0

¹ V.I. = Variation interval; ² Means followed by the same letter in the column are not statistically different by Tukey test ($P \leq 0.05$).

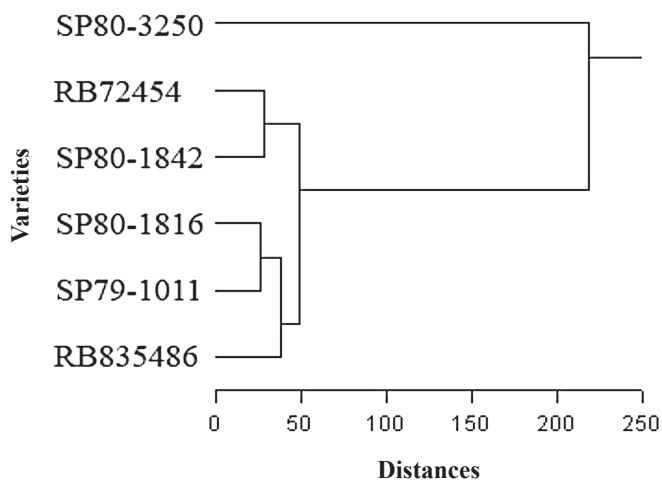
Table 5. Mean duration and viability $\pm$ standard error (S.E.) of eggs of the sugarcane spittlebug *M. fimbriolata*, on different sugarcane varieties. Temperature: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, RH: $70 \pm 10\%$, photophase: 14 hours.

Varieties	Duration (days)		Viability (%)	
	Mean $\pm$ S.E. ¹	V.I. ²	Mean $\pm$ S.E.	V.I.
SP 79-1011	18.73 $\pm$ 0.26	18.1 - 19.3	83.00 $\pm$ 1.73	80.0 - 88.0
SP 80-1816	18.65 $\pm$ 0.30	18.1 - 19.4	86.00 $\pm$ 2.94	80.0 - 92.0
SP 80-1842	18.30 $\pm$ 0.05	18.2 - 18.4	92.50 $\pm$ 4.35	80.0 - 100.0
SP 81-3250	18.15 $\pm$ 0.23	17.7 - 18.8	97.25 $\pm$ 0.95	96.0 - 100.0
RB72454	18.64 $\pm$ 0.35	18.0 - 19.4	91.00 $\pm$ 2.89	84.0 - 98.0
RB835486	18.46 $\pm$ 0.29	17.9 - 19.0	91.00 $\pm$ 4.65	78.0 - 100.0

¹ There were no statistical differences between means; ² V.I. = Variation interval.

lower level of infestation by *M. fimbriolata* (Dinardo-Miranda *et al.* 1999, 2001a).

According to Fennah (1939), the fact that *Aeneolamia varia saccharina* (Distant, 1909) (as *Tomaspis saccharina* Distant, 1909) adults (Hemiptera: Cercopidae) are attracted differently to the odor of leaves from different varieties demonstrates that this factor could be responsible for the resistance of varieties to this leafhopper. Such a resistance mechanism, however, would only be effective when the pest was offered a free choice between varieties, which normally does not occur in commercial plantations in large areas. Ideally, varieties with physiological or morphological resistance factors would be selected; these varieties would be less suitable for the development of nymphs and, survival and oviposition of adults. Some biological parameters, such as longevity of adults, oviposition period, and fecundity, proved to have a potential for use in variety breeding, in order to select materials to be used in regions and/or conditions that are restrictive to sugarcane cultivation due to the attack of this pest. By using the sugarcane gene bank, this information would allow the incorporation of genes that would regulate the production of chemical substances that confer variety resistance by antibiosis; these characters would then be associated with other desirable agronomic parameters.

**Figure 1.** Phenogram representing the similarity between the varieties tested according to their effect on the biology of *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hemiptera: Cercopidae).

Acknowledgements

The authors would like to thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, for the research scholarship granted to the first author. We thank to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, for financial support, through theme project no. 99/08585-9. We also thank to Centro de Tecnologia Canavieira - CTC - Piracicaba/SP, for the indispensable supplying of sugarcane seedlings. We specially thank to Jacqueline Robson, who helped with the manuscript.

Cited Literature

- DINARDO-MIRANDA, L.L.; FIGUEIREDO, P.; LANDELL, M.G.A.; FERREIRA, J.M.G.; CARVALHO, P.A.M. 1999. Danos causados pelas cigarrinhas das raízes (*Mahanarva fimbriolata*) a diversos genótipos de cana-de-açúcar. STAB 17: 48-52.
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; FERREIRA, J.M.G.; CARVALHO, P.A.M. 2000. Influência das cigarrinhas das raízes, *Mahanarva fimbriolata*, sobre a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar. STAB, Açúcar, Alcool e Subprodutos 19: 34-35.
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; FERREIRA, J.M.G.; CARVALHO, P.A.M. 2001a. Influência da época de colheita e do genótipo de cana-de-açúcar sobre a infestação de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae). Neotropical Entomology 30: 145-149.
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; MOSSIM, G.C.; DURIGAN, A.M.P.R.; BARBOSA, V. 2001b. Controle químico de cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata*, em cana-de-açúcar. STAB 19: 20-23.
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; COELHO, A.L.; FERREIRA, J.M.G. 2004. Influência da época de aplicação de inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae), na qualidade e na produtividade da cana-de-açúcar. Neotropical Entomology 33: 91-98.
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; PIVETTA, J.P.; FRACASSO, J.V. 2006. Eficiência de inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) e seus efeitos sobre a qualidade e produtividade da cana-de-açúcar. BioAssay 1:5. Available at: www.bioassay.org.br/articles/1.5.
- FENNAH, R.G. 1939. A summary of experimental work on varietal resistance of sugar-cane to *Tomaspis saccharina*. Tropical Agriculture 16: 233-240.
- FEWKES, D.W. 1969. The control of froghoppers in sugar cane plantations. In: Williams, J.R.; Metcalfe, J.R.; Mungomery, R.W.; Mathes, R. (Ed.), Pests of sugar cane. Elsevier Publishing, Amsterdam, pp. 309-324.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.

- ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. 2002. Entomologia agrícola. FEALQ, Piracicaba, Brasil.
- GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P. 2007. Laboratory rearing technique of *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae). Scientia Agricola 64: 73-76.
- GONÇALVES, T.D.; MUTTON, M.A.; PERECIN, D.; CAMPANHÃO, J.M.; MUTTON, M.J.R. 2003. Qualidade da matéria prima em função de diferentes níveis de danos promovidos pela cigarrinha-das-raízes. STAB, Açúcar, Alcool e Subprodutos 22: 29-33.
- GUAGLIUMI, P. 1972. Pragas da cana-de-açúcar: Nordeste do Brasil. Instituto do Açúcar e do Alcool, V. 10. Rio de Janeiro, Brasil. 69-204.
- LEITE, L.G.; MACHADO, L.A.; GOULART, R.M.; TAVARES, F.M.; BATISTA FILHO, E.A. 2005. Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). Neotropical Entomology 34: 785-790.
- PICKLES, A. 1933. Entomological contributions to the study of sugar-cane froghopper. Tropical Agriculture 10: 286-295.
- PICKLES, A. 1942. Discussion of researches on the sugar-cane froghopper (Homop., Cercopidae). Tropical Agriculture 19: 116-123.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. 1974. A Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. Biometrics 30: 507-512.
- STINGEL, E. 2005. Distribuição espacial e plano de amostragem para a cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stål., 1854), em cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado - ESALQ/USP - Piracicaba. 75 p.
- WILKINSON, L. 1990. SYSTAT: The System for Statistics. Systat Inc., Evanston, Illinois. 822p.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. 1982. SANEST (Sistema de Análise Estatística) para microcomputadores. Reg. Nº 060066, Secr. Esp. Inform. - Categ. A - Pelotas, Brazil.

Recibido: 26-may-2010 • Aceptado: 9-may-2011

Tabla de vida de *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) sobre tres variedades de melón, *Cucumis melo*

Life tables of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) on three varieties of muskmelon, *Cucumis melo*

OSMAN PERALTA C.¹ y VÍCTOR TELLO M.²

Resumen: La araña roja carmín, *Tetranychus cinnabarinus*, es considerada una plaga polífaga y muy dañina en todo el mundo. Se evaluaron los periodos de desarrollo, tasas de reproducción y los parámetros de crecimiento poblacionales de *T. cinnabarinus* sobre tres variedades de melón (Cantaloupe, Galia y Honeydew) bajo condiciones experimentales (28 ±1°C, 56±4 % HR y 14:10 L:O). El periodo de desarrollo de los estados inmaduros fluctuó entre 10,7 días sobre Galia a 12,9 días sobre Honeydew. La supervivencia de inmaduros fue de 74 y 92% en Galia y Cantaloupe, respectivamente. En promedio hubo 61, 48 y 47 huevos producidos por hembra sobre Cantaloupe, Honeydew y Galia, respectivamente. La tasa intrínseca de incremento natural (r_m), la tasa neta de reproducción (R_0), el tiempo de generación (T) y la tasa finita de crecimiento (λ) de la araña roja carmín, indicaron diferencias significativas entre las variedades probadas ($P<0,05$). Los valores de r_m y de R_0 fueron de 0,22 y 29 para Galia, 0,20 y 45 para Cantaloupe y 0,19 y 32 para Honeydew, respectivamente. Los resultados indican que Honeydew fue menos idóneo para el crecimiento poblacional de *T. cinnabarinus*. Esta idoneidad diferencial es un factor importante a considerar y podrían ser utilizados en estrategias MIP.

Palabras clave: Araña roja carmín. Planta hospedera. Cantaloupe. Honeydew.

Abstract: The carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*, is considered a polyphagous and very damaging pest worldwide. Developmental times, reproductive rates, and population growth parameters of *T. cinnabarinus* were evaluated on three muskmelon varieties (Cantaloupe, Galia, and Honeydew) under experimental conditions (28 ±1°C, 56±4% RH and 14:10 L:D). The developmental time of immature stages varied from 10.7 on Galia to 12.9 days on Honeydew. Immature survival was 74 and 92% on Galia and Cantaloupe, respectively. On average, there were 61, 48 and 47 eggs produced per female on Cantaloupe, Honeydew and Galia, respectively. The intrinsic rate of natural increase (r_m), net reproductive rate (R_0), generation time (T) and finite rate of increase (λ) for carmine spider mite, indicated significant differences among tested varieties ($P<0.05$). The values for r_m and R_0 were 0.22 and 29 for Galia, 0.20 and 45 for Cantaloupe and 0.19 and 32 for Honeydew, respectively. The results indicate that Honeydew was least suitable for *T. cinnabarinus* population growth. This differential suitability is an important factor to consider and could be used in IPM strategies.

Key words: Carmine spider mite. Host plant. Cantaloupe. Honeydew.

Introducción

La araña roja carmín, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval 1867) (Acari: Tetranychidae), es una plaga cosmopolita polífaga que ataca alrededor de 120 cultivos de importancia económica (Jeppson *et al.* 1975). En Chile, se distribuye ampliamente y tiene como hospederos a *Cucumis melo* (Linneo, 1753), *Phaseolus vulgaris* (Linneo, 1753), *Medicago sativa* (Linneo, 1753), *Prunus persica* (L. Batsch, 1810), *Prunus cerasus* (Linneo, 1753), *Fragaria x ananassa* (Duchesne, 1766) y *Dianthus caryophyllus* (Linneo, 1753) (Klein y Waterhouse, 2000).

En la zona norte de Chile, el cultivo del melón tiene gran importancia, abarcando una superficie de 3.116 ha cada año (ODEPA 2010). Las principales variedades que se cultivan corresponden a Cantaloupe, Galia Arava y Honeydew. Estas tres variedades son atacadas severamente por arañas rojas, especialmente por *T. cinnabarinus*, que habitan en el envés de las hojas aumentando la población en las épocas de más calor (Giacconi y Escaff 1997). Precisamente, son las condiciones ambientales del norte de Chile, de sequedad y calor, muy influyentes para el desarrollo de esta araña fitófaga.

Los ácaros del género *Tetranychus* rompen el tejido epidérmico, remueven el contenido celular, destruyendo las células del parénquima en empalizada y el esponjoso. Esto destruye los cloroplastos, lo que se traduce en una disminución de la tasa fotosintética, de la conductancia estomática y de la transpiración, afectándose el crecimiento, desarrollo y la producción (Aponte y Aponte 1990; Candolfi *et al.* 1992; Bondada *et al.* 1995; Sadras y Wilson 1997; Reddall *et al.* 2004; Reddall *et al.* 2007; Freitas *et al.* 2009). La severidad del daño ocasionado por los ácaros tetránquidos depende de los hábitos del ácaro, de las condiciones fisiológicas en la que se encuentre la planta huésped y también depende de las condiciones ambientales en las que se desarrollen.

En Chile, al igual que muchos otros países, el control de *T. cinnabarinus* sobre melón es por medio de aplicación de acaricidas. Estas aplicaciones provocan serios problemas de resistencia en las especies del género *Tetranychus* (Guo *et al.* 1998; Herron y Rophail 2002; Stavrinides *et al.* 2010). El problema de resistencia desarrollado por los ácaros tetránquidos ha generado que se busquen estrategias de control basadas en sistemas de Manejo Integrado de Plagas (MIP). Para que esta estrategia sea eficiente, se debe conocer en de-

¹ Ing. Agr. Universidad Arturo Prat, Departamento de Agricultura del Desierto y Biotecnología. Avenida Arturo Prat 2120, Casilla 121, Iquique, Chile. operalta@unap.cl. Autor para correspondencia. ² Ph.D. Universidad Arturo Prat, Departamento de Agricultura del Desierto y Biotecnología. Avenida Arturo Prat 2120, Casilla 121, Iquique, Chile. vtello@unap.cl

talle aspectos como la determinación de hospederos menos susceptibles o parámetros biológicos como el desarrollo post embrionario y las tablas de vidas de tetránquidos.

En consecuencia, existen pocos estudios de los parámetros biológicos de *T. cinnabarinus* y prácticamente no existen trabajos acerca de su biología sobre melón. En este contexto, se determinaron los parámetros poblacionales de *T. cinnabarinus* sobre tres variedades de melón; Cantaloupe Topmark, Honeydew y Galia Arava bajo condiciones experimentales, con el objetivo de determinar la susceptibilidad de las tres variedades y obtener una mejor comprensión de la biología de la araña sobre estas variedades para desarrollar futuros programas de MIP en el norte de Chile.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó en los laboratorios del Departamento de Agricultura del Desierto y Biotecnología, dependiente de la Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile (20°16'S 70°0,7'W), entre el 5 de Octubre 2009 y el 28 de Enero 2010. Todos los experimentos fueron manejados a 28±1°C, 56±4% de humedad relativa y un fotoperiodo de 14:10 (L:O).

Las colonias de *T. cinnabarinus* fueron iniciadas con individuos recolectados sobre plantas comerciales de clavel *D. caryophyllus* L., provenientes de invernaderos de la institución. Estas colonias fueron multiplicadas con secuencias de infestación semanal y mantenidas bajo las condiciones experimentales indicadas, durante cuatro semanas, antes de comenzar los experimentos.

Tres variedades comerciales de melón *C. melo* "Cantaloupe Topmark", "Honeydew" y "Galia Arava", se utilizaron para determinar los parámetros poblacionales. Se cortaron discos de hojas frescas y de madurez estándar, de 3 cm de diámetro cada una de cada variedad de melón, los cuales se depositaron sobre un algodón saturado de agua dentro de placas de Petri de 12 cm de diámetro. Estas placas de Petri fueron colocadas dentro de una bandeja de plástico de 41x31x7 cm con una esponja de poliuretano con agua, para prevenir la desecación de hojas y huevos.

En cada disco de hoja se colocó una hembra grávida para la oviposición. Después de 12 h se sacó la hembra y se dejó un huevo por disco, removiéndose el exceso de huevos. Para el análisis del desarrollo postembrionario se revisó la hoja dos veces por día (8:00 y 20:00). Cuando se obtuvieron hembras adultas se adicionaron dos machos para la fertilización. Posteriormente, se registraron los periodos de preoviposición, oviposición y postoviposición. Para determinar la proporción sexual se sacaron los huevos puestos por cada hembra y se

colocaron en otros discos de hoja de las tres variedades de melón contenidos en placas de Petri.

Se utilizó un diseño completamente al azar con seis repeticiones por cada tratamiento. La unidad experimental fue un grupo de cinco discos de hojas de melón con un huevo cada uno. Para los datos de desarrollo postembrionario y de fases adultas se aplicó un análisis de varianza (ANDEVA) (Zar 2006). Los porcentajes se transformaron a Arcoseno $\sqrt{x\%}$, antes del análisis. Las diferencias significativas entre los valores de la media se determinaron utilizando el test de rango múltiple de Tukey.

Posteriormente, se estimaron la tasa intrínseca de crecimiento (r_m), la tasa neta de reproducción (R_0), la tasa finita de crecimiento natural (λ) y el tiempo generacional (T) (Birch 1948). Los parámetros de la tabla de vida se calcularon a través del programa computacional LIFE 48 escrito en BASIC (About-Setta *et al.* 1986). Para la comparación de los parámetros de tablas de vida de *T. cinnabarinus* sobre las tres variedades de melón se utilizó el método de Jackknife con una confiabilidad del 95% (Maia *et al.* 2000) utilizando el programa SAS System (SAS Institute, Cary, NC, USA) (La Rossa and Kahn 2003; Ansaloni *et al.* 2007).

Resultados y Discusión

Tiempo de desarrollo de estadios inmaduros. No hubo diferencias en el periodo de desarrollo del huevo entre las tres variedades de melón ($F_{2,72}=1,46$; $P=0,24$). Sin embargo, la duración del periodo de larva ($F_{2,72}=24,91$; $P<0,0001$), protoninfa ($F_{2,72}=5,03$; $P=0,009$), deutoninfa ($F_{2,72}=14$; $P<0,0001$) y el tiempo total de desarrollo de los estados desde huevo a adulto ($F_{2,72}=26,34$; $P<0,0001$) fue distinta entre las variedades, obteniéndose los menores tiempos sobre la variedad Galia (Tabla 1). La duración de los estados inmaduros está dentro de los intervalos existentes en la literatura para *T. cinnabarinus* sobre otras plantas hospederas (Biswas *et al.* 2004; Kazak y Kibritçi 2008; Tello *et al.* 2009). Además, se encuentran dentro de los valores obtenidos para otros tetránquidos (Razmjou *et al.* 2009; Silva *et al.* 2009).

La supervivencia de juveniles osciló desde 73,5 hasta 91,9% y la proporción de hembras osciló entre 78 y 85% entre las tres variedades de melón (Tabla 1). Nuestra información concuerda con lo establecido por Tello *et al.* (2009), quienes indican una supervivencia del 80,22% y una proporción sexual de 76,28% en *T. cinnabarinus* sobre *D. caryophyllus* var. Celta a 29,44±1,47°C, 42,35±5,01% HR y 14:10h (L:O). Además, coinciden con los estudios de Cakmak y Demiral

Tabla 1. Duración (días) de varios estados, supervivencia de juveniles (%) y relación sexual de *Tetranychus cinnabarinus* sobre tres variedades de melón (media± error estándar) (n=30).

	Cantaloupe	Honeydew	Galia
Huevo	4,56 ± 0,10 a*	4,68 ± 0,10 a	4,44 ± 0,10 a
Larva	2,76 ± 0,12 b	3,36 ± 0,10 a	2,20 ± 0,13 c
Protoninfa	2,24 ± 0,09 b	2,64 ± 0,10 a	2,16 ± 0,15 b
Deutoninfa	2,60 ± 0,10 a	2,28 ± 0,09 b	1,92 ± 0,08 c
Huevo a Adulto	12,16 ± 0,19 b	12,96 ± 0,20 a	10,72 ± 0,26 c
Supervivencia Juveniles	91,85 a	85,48 b	73,54 c
Razón sexual	0,81 a	0,78 a	0,85 a

* Medias seguidas por distintas letras en la fila son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey, $P < 0,05$).

(2007), quienes encontraron para la proporción sexual de *T. cinnabarinus* sobre *Fragaria x ananassa*, intervalos que van desde 79 a 85% de hembras para el cv. Camarosa y valores de 78 a 82% de hembras para el cv. Sweet Charlie bajo condiciones controladas de $25\pm 1^\circ\text{C}$, $65\pm 10\%$ HR y 16:8h (L:O) y 1760, 2400 y 3040 mg L⁻¹ de NaCl.

Longevidad y fertilidad. La longevidad de las hembras adultas varió entre las tres variedades ($F_{2,72}= 5,69$; $P=0,0051$). Sobre Galia, la araña roja es menos longeva, mientras que en Cantaloupe la longevidad es mayor. La oviposición varió entre los hospederos ($F_{2,72}= 9,92$; $P=0,0002$), el mayor tiempo de oviposición se obtuvo en las variedades Cantaloupe y Honeydew (Tabla 2). Los máximos valores de oviposición se obtienen en el sexto y octavo día para la variedad Cantaloupe, en el sexto día para la variedad Honeydew y en el noveno día en la variedad Galia, después de iniciado el período de oviposición. Posterior a esos días la curva de ovipostura decrece (Figs. 1A-C).

El número total de huevos puestos por cada hembra también difiere entre las variedades de melón ($F_{2,72}= 6$; $P=0,0039$). La mayor fertilidad se alcanzó en la variedad Cantaloupe, mientras que una menor se alcanzó en las variedades Honeydew y Galia (Tabla 2). Estos resultados difieren con los obtenidos por Kazak y Kibritçi (2008) para la misma especie sobre distintos cultivares de *Fragaria x ananassa* a $25\pm 2^\circ\text{C}$, $65\pm 10\%$ HR y 14:10h (L:O), obteniendo entre 62,71 y 163,44 huevos por hembra. Estas diferencias se atribuyen a la aceptación que tiene la araña y a la calidad de la planta hospedera (Yano *et al.* 1998).

Parámetros de Tabla de Vida. Los parámetros de tabla de vida difieren entre las tres variedades de melón ($P<0,05$) (Tabla 3). Estos valores son similares a los obtenidos por Tello *et al.* (2009) para *T. cinnabarinus* sobre *D. caryophyllus* ($r_m=0,18$ y $R_0=40,81$, $\lambda=1,201$ y $T=20,24$ días) y a Kazak y Kibritçi (2008) sobre distintos cultivares de fresa ($r_m=$ entre 0,21 y 0,25; $R_0=$ entre 39,51 y 120,19; $T=$ entre 18,96 y 22,32 días). Así mismo, concuerdan con los valores indicados por diversos autores para otras especies de tetránidos (Morros y Aponte 1994; Gallardo *et al.* 2005; Taleb y Sardar 2008).

El valor máximo de R_0 se obtuvo en Cantaloupe, mientras que los valores más altos de r_m y λ se alcanzaron en las variedades Galia y Cantaloupe, siendo estas variedades más susceptibles a la plaga, el alto valor de r_m sobre Galia, se debe al corto período de oviposición. La diferencia en la susceptibilidad entre Galia y Cantaloupe, puede determinarse con la fertilidad de las hembras ya que fue menor en Galia (47 huevos/hembra) que en Cantaloupe (61 huevos/hembra)

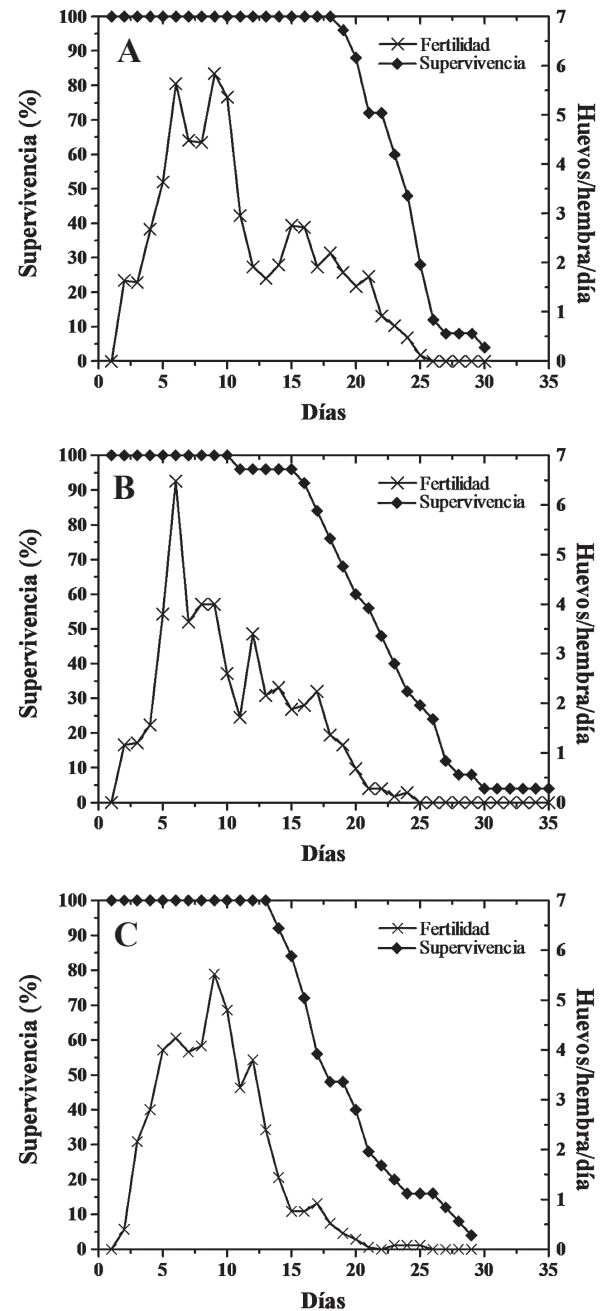


Figura 1. Tasas de supervivencia y de fertilidad a una edad específica de *Tetranychus cinnabarinus* sobre tres variedades de melón *Cucumis melo*: A. Cantaloupe. B. Honeydew y C. Galia Arava. (Programa: MicroCal Origin Versión 3.01).

Tabla 2. Duración (días) de los períodos de preoviposición, oviposición, postoviposición, longevidad y tasa de reproducción de *Tetranychus cinnabarinus* sobre tres variedades de melón (media± error estándar) (n=30).

	Cantaloupe	Honeydew	Galia
Preoviposición	1,44 ± 0,14 b*	1,76 ± 0,17 b	2,44 ± 0,16 a
Oviposición	18,48 ± 0,67 a	15,90 ± 0,89 ab	13,44 ± 0,83 b
Postoviposición	3,12 ± 0,43 a	3,72 ± 0,46 a	2,96 ± 0,40 a
Longevidad	23,04 ± 0,59 a	21,40 ± 1,06 ab	18,84 ± 0,95 b
Total fertilidad	60,70 ± 3,31 a	48,20 ± 3,34 b	46,60 ± 2,79 b
Tasa oviposición	3,30 ± 0,15 a	3,10 ± 0,19 a	3,56 ± 0,19 a

* Medias seguidas por distintas letras en la fila son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey, $P<0,05$).

Tabla 3. Parámetros de tabla de vida de *Tetranychus cinnabarinus* sobre tres variedades de melón (media± error estándar) (n=30).

Variedad	Tasa neta de reproducción R_0	Tiempo generacional T	Tasa intrínseca de crecimiento r_m	Tasa finita de crecimiento λ
Cantaloupe	45,18± 10,16a*	18,78± 1,29a	0,20± 0,02ab	1,23± 0,02ab
Honeydew	32,22± 9,22b	18,39± 1,27a	0,19± 0,02b	1,12± 0,02b
Galia	29,14± 7,20b	15,61± 1,17b	0,22± 0,02a	1,24± 0,02a

* Medias seguidas por distintas letras en la columna, son estadísticamente diferentes entre sí, según prueba de Tukey ($P < 0,05$).

y la supervivencia de juveniles fue inferior en Galia (74%) y superior en Cantaloupe (92%) (Tablas 2 y 3). Krips *et al.* (1998), señalan al respecto, que la tasa neta reproductiva (R_0) y la tasa natural intrínseca de incremento (r_m) son dos indicadores muy importantes de la dinámica poblacional de los tetránquidos.

Muchos mecanismos pueden ser responsables de las diferencias observadas en este estudio. En este sentido, las tres variedades de melón ofrecerían condiciones diferentes que afectarían la biología de *T. cinnabarinus*. Estas condiciones involucran aspectos químicos, nutritivos, aspectos físicos como la pubescencia, la resistencia de los tejidos, la estructura superficial de las hojas, la superficie disponible para cada individuo y a los componentes secundarios de las plantas (Crooker 1985; Gutiérrez y Helle 1985; Dennis *et al.* 1998; Agrawal 2000; Kerguelen y Hoddle 2000; Balkema-Boomsma *et al.* 2003; Biswas *et al.* 2004; Matos *et al.* 2006). Estos factores pueden reducir la calidad alimenticia, reduciendo la digestibilidad y afectando a la fertilidad, el crecimiento, la densidad poblacional, la supervivencia, el desarrollo y la mortalidad de los estados juveniles de las arañas rojas.

T. cinnabarinus encontró distintos niveles de nitrógeno, de agua, de carbohidratos y de aminoácidos en las variedades de melón estudiadas, Wermelinger *et al.* (1985), Wilson *et al.* (1988), Wermelinger *et al.* (1991), Kielkiewicz *et al.* (2006), determinaron que un alto contenido de nitrógeno y fósforo en las hojas tienen un efecto positivo en los parámetros de tabla de vida de ácaros tetránquidos, mientras que un alto contenido de potasio y de metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos, tienen un efecto adverso en la oviposición y en algunas poblaciones inmaduras de arañas rojas.

Otra razón que pudo influir en nuestros resultados, son los aspectos morfológicos de las tres variedades de melón. Skorupska (1998) encontró diferencias en variedades de manzanos resistentes (distinto número de pelos/cm², distinto número de estomas/cm², etc.) sobre los parámetros demográficos de *Tetranychus viennensis* (Zacher, 1920) y *T. urticae*, posteriormente, Skorupska (2004) demuestra una correlación negativa entre el aumento del número de pelos de la superficie abaxial de las hojas de manzano y la fecundidad de *T. urticae*. Sarria *et al.* (2009), demostraron que las características externas de la epidermis de la hoja de dos cultivares de melón influyen en el comportamiento de *Aphis gossypii* (Glover, 1877), sus resultados sugieren que una alta densidad de tricomas glandulares del tipo I que están presentes en las hojas del cultivar resistente, almacenan y secretan sustancias químicas como fenoles y flavonoides. Esto apoyaría nuestros resultados, ya que cada variedad de melón podría poseer una densidad distinta de tricomas glandulares sugiriendo que *T. cinnabarinus* fue perturbado y disuadido por estos compuestos en mayor o menor medida. Además, Razdoburdin (2006) señala las diferencias en la dinámica poblacional y reproduc-

ción de *T. urticae* entre distintos cultivares de *C. melo*, las diferencias estarían determinadas por el cultivar y por el estado morfológico y fisiológico de las plantas.

Las temperaturas más cálidas influyen en la biología de los tetránquidos (Da Silva 2002; Praslička y Huszár 2004) y la sequedad (Sadrás *et al.* 1998; Haile y Higley 2003). En el norte de Chile, estas condiciones abióticas están presentes, por lo tanto la selección de la variedad de melón más tolerante sería de gran importancia para la inclusión y el establecimiento de un manejo integrado de plagas, esto con el propósito de reducir la incidencia de *T. cinnabarinus* sobre *C. melo* con la consecuente reducción en la utilización de acaricidas.

Agradecimientos

Al Departamento de Agricultura del Desierto y Biotecnología de la Universidad Arturo Prat.

Literatura citada

- ABOUT-SETTA, M.; DORRELL, R.; CHILDRES, C. 1986. Life 48: a BASIC computer program to calculate life table parameters for an insect or mites species. Florida Entomologist 69:690-697.
- AGRAWAL, A. 2000. Host-range evolution: adaptation and trade-offs in fitness of mites on alternative hosts. Ecology 81: 500-508.
- ANSALONI, T.; AUCEJO, S.; JACAS J. 2007. Estimating the intrinsic rate of increase of *Tetranychus urticae*: which is the minimum number of immature individuals to consider? Experimental and Applied Acarology 41:55-59.
- APONTE, O.; APONTE, F. 1990. Daño de *Tetranychus urticae* Koch y su influencia en el cultivo de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Boletín Entomológico de Venezuela 5(20): 197-204.
- BALKEMA-BOOMSTRA, A.; ZIJLSTRA, S.; VERSTAPPEN, F.; INGGAMER, H.; MERCKE, P.; JONGSMA, M.; BOUWMEESTER, H. 2003. Role of Cucurbitacin C in resistance to spider mite (*Tetranychus urticae*) in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). Journal of Chemical Ecology 29: 225-235.
- BIRCH, L. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. Journal of Animal Ecology 17:15-26.
- BISWAS, G. C.; ISLAM, W.; HAQUE, M. M.; SAHA, R. K.; HOQUE, K. M. F.; ISLAM, M. S.; HAQUE, M. E. 2004. Some biological aspects of Carmine Mite, *Tetranychus cinnabarinus* Boisd. (Acari: Tetranychidae) infesting egg-plant from Rajshahi. Journal of Biological Sciences 4 (5): 588-591.
- BOISDUVAL, A. 1867. Essai sur l'entomologie horticole. Paris, France: 648 p.
- BONDADA, B.; OOSTERHUIS, D.; TUGWELL, N.; KIM, K. 1995. Physiological and cytological studies of twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, injury in cotton. Southwestern Entomologist 20: 171-180.

- CAKMAK, I.; DEMIRAL, M. 2007. Response of *Tetranychus cinnabarinus* feeding on NaCl-stressed strawberry plants. *Phytoparasitica* 35 (1): 37-49.
- CANDOLFI, M.; ROLLER, E.; WERMELINGER, B. 1992. Influence of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, on the gas exchange of Pinot noir grapevine leaves. *Vitis* 31: 205-212.
- CROOKER, A. 1985. Embryonic and juvenile development. In: Helle W. and Sabelis MW, editors. Spider mites: their biology, natural enemies and control. Elsevier 1A: 149-163.
- DA SILVA, C. 2002. Biología e exigencias térmicas do ácaro-vermelho (*Tetranychus ludeni* Zacher) em folhas de algodoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37 (5): 573-580.
- DENNIS, J.; O'DOWD, O.; PEMBERTON R. 1998. Leaf domatia and foliar mite abundance in broadleaf deciduous forest of north Asia. *American Journal of Botany* 85(1): 70-78.
- FREITAS, A. DE; OLIVEIRA, R.; NABITY, P.; HIGLEY, L.; FERNANDES, O. 2009. Photosynthetic Response of Soybean to Twospotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae) Injury. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52(4): 825-834.
- GALLARDO, A.; VÁSQUEZ, C.; MORALES, J.; GALLARDO J. 2005. Biología y enemigos naturales de *Tetranychus urticae* en pimentón. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 74:34-40.
- GIACONI, V.; ESCAFF, M. 1997. Cultivo de Hortalizas. Editorial Universitaria. Chile. 336 p.
- GUO, F.; ZHANG, Z.; ZHAO, Z. 1998. Pesticide resistance of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) in China: a review. *Systematic and Applied Acarology* 3 3-7.
- GUTIERREZ, J.; HELLE, W. 1985. Evolutionary changes in the Tetranychidae, p.91-107. In: W. Helle & M.W. Sabelis (Eds). Spider mites: their biology, natural enemies and control. Amsterdam, Elsevier Science Publisher B.V., Vol. 1A, 405 p.
- HAILE, F.; HIGLEY, L. 2003. Changes in Soybean Gas-Exchange After Moisture Stress and Spider Mite Injury. *Environmental Entomology* 32(3): 433-440.
- HERRON, G.; ROPHAIL J. 2002. The stability of tebufenpyrad resistance in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) under laboratory conditions. *Experimental and Applied Acarology* 26: 253-256.
- JEPPSON, L.; KEIFER, H.; BAKER, E. 1975. Mites injurious to economic plants. University of California Press. Berkeley, 614 p.
- KAZAK, C.; KIBRITÇI, C. 2008. Population parameters of *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Prostigmata: Tetranychidae) on eight strawberry cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 32: 19-27.
- KERGUELEN, V.; HODDLE, M. 2000. Comparason of the susceptibility of several cultivars of avocado to the persea mite, *Oligonychus persea* (Acari: Tetranychidae). *Scientia Horticulturae* 84:101-114.
- KIELKIEWICZ, M.; PITERA, E.; OLSZAC, I.; ŻURAŃSKA. 2006. Spider-mite susceptibility of scab V_f -resistant apple genotypes. *Biological Letters* 43(2): 327-334.
- KLEIN, C.; WATERHOUSE, D. F. 2000. The distribution and importance of arthropods associated with agriculture and forestry in Chile (Distribución e importancia de los artrópodos asociados a la agricultura y silvicultura en Chile). ACIAR Monograph 68, Canberra, Australia. 234 p.
- KRIPS, O.; WITBUL, A.; WILLEMS P.; DICKE, M. 1998. Intrinsic rate of population increase of the spider mite *Tetranychus urticae* on the ornamental crop gerbera: intraespecific variation in host plant and herbivore. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 89: 159-168.
- LA ROSSA, R.; KAHN, Y. 2003. Dos programas de computadora para confeccionar tablas de vida de fertilidad y calcular parámetros biológicos y demográficos en áfidos (Homoptera: Aphidoidea). *Revista de Investigaciones Agrarias* 32:127-142.
- MAIA, A.; LUIZ, A.; CAMPANHOLA, A.. 2000. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: Computational aspects. *Journal of Economic Entomology* 93:511-518.
- MATOS C.; PALLINI, A.; BELLINI L.; PEREIRA, R.: 2006. Domácias e seu papel na defesa das plantas. *Ciência Rural* 36(3): 1021-1026.
- MORROS, M.; APONTE, O. 1994. Biología y tabla de vida de *Tetranychus ludeni* Zacher en caraota *Phaseolus vulgaris* L. *Agro-nomía Tropical* 44(4):667-677.
- ODEPA. 2010. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. Censo agropecuario 2007: Cultivos de Hortalizas. <http://icet.odepa.cl/> Fecha última revisión : 10 de mayo 2010. Fecha último acceso: [30 junio 2010].
- PRASLIČKA, J.; HUSZÁR, J. 2004. Influence of temperature and host plants on the development and fecundity of the spider mite *Tetranychus urticae* (Acarina: Tetranychidae). *Plant Protection Science* 40: 141-144.
- RAZDOBURDIN, V. 2006. Influence of the spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acarina, Tetranychidae) population density on its dynamics on different cucumber cultivars. *Entomological Review* 86: 398-408
- RAZMJOU, J.; TAVAKKOLI, H.; FALLAHI, A. 2009. Effect of soybean cultivar on life history parameters of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Pest Science* 82:89-94.
- REDDALL, A.; SADRAS, V.; WILSON, J.; GREGG, P. 2004. Physiological Responses of Cotton to Two-Spotted Spider Mite Damage. *Crop Science* 44: 835-846.
- REDDALL, A.; WILSON, J.; GREGG, P.; SADRAS, V. 2007. Photosynthetic Response of Cotton to Spider Mite Damage: Interaction with Light and Compensatory Mechanisms. *Crop Science* 47:2047-2057.
- SADRAS, V.; WILSON, L. 1997. Growth analysis of cotton crops infested with spider mites: I. Light interception and radiation-use-efficiency. *Crop Science*. 37: 481- 491.
- SADRAS, V.; WILSON, L.; LALLY, D.1998. Water deficit enhanced cotton resistance to spider mite herbivory. *Annals of Botany* 81: 273-286.
- SARRIA, E.; PALOMARES-RIUS, F.; LÓPEZ-SESÉ, A.; HEREDIA, A.; GÓMEZ-GUILLAMÓN, M. 2009. Role of leaf glandular trichomes of melon plants in deterrence of *Aphis gossypii* Glover. *Plant Biology* 12: 503-511.
- SILVA, E.; REIS, P.; CARVALHO, T.; ALTOÉ, B. 2009. *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on *Gerbera jamesonii* Bolus and Hook (Asteraceae). *Brazilian Journal of Biology* 69(4): 1121-1122.
- SKORUPSKA, A. 1998. Morphologico-anatomical structure of leaves and demographic parameters of the hawthorn spider mite, *Tetranychus viennensis* Zacher and the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Koch) (Acarina, Tetranychidae) on selected scab-resistant apple varieties. *Journal of Applied Entomology* 122: 493-496.
- SKORUPSKA, A. 2004. Resistance of Apple cultivars to spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acarina, Tetranychidae) Part II. Influence of leaf pubescence of selected apple cultivars on fecundity of two-spider mite. *Journal of Plant Protection Research* 44(1): 69-74.
- STAVRINIDES, M.; VAN NIEUWENHUYSE, P.; VAN LEEUWEN, T.; MILLS, N. 2010. Development of acaricide resistance in Pacific spider mite (*Tetranychus pacificus*) from California vineyards. *Experimental and Applied Acarology* 50:243-254.
- TALEB, M.; SARDAR, M. 2008. Demographic Evaluation of Red Mite, *Tetranychus bioculatus* (Wood-Mason) on Different Ornamental Hosts. *Journal of Agriculture and Rural Development* 6: 83-90.
- TELLO, V.; VARGAS, R.; ARAYA J. 2009. Parámetros de vida de *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) sobre hojas de clavel, *Dianthus caryophyllus*. *Revista Colombiana de Entomología* 35 (1): 47-51.

- WERMELINGER, B.; OERTLI, J.; DELUCHI, V. 1985. Effect of host plant nitrogen fertilization on the biology of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 38: 23-28.
- WERMELINGER, B.; OERTLI, J.; BAUMGÄRTNER, J. 1991. Environmental factors affecting the life-tables of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). III. Host-plant nutrition. *Experimental and Applied Acarology* 12: 259-274.
- WILSON, L.; SMILANICK, J.; HOFFMANN, M.; FLAHERTY, D.; RUIZ, M. 1988. Leaf nitrogen and position in relation to population parameters of pacific spider mite, *Tetranychus pacificus* (Acari: Tetranychidae) on grapes. *Environmental Entomology* 17(6): 964-968.
- YANO, S.; WAKABAYASHI, M.; TAKABAYASHI, J.; TAKAFUJI, A. 1998. Factors determining the host plant range of the phytophagous mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a method for quantifying host plant acceptance. *Experimental and Applied Acarology* 22: 595-601.
- ZAR, J. 2006. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall Inc. Fifth ed., Englewood Cliffs, New Jersey, USA. 960 p.

Recibido: 13-ago-2010 • Aceptado: 26-abr-2011

Estabilidad de formulaciones a base de granulovirus para controlar *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) en campo

Stability of formulations based on granulovirus for controlling *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) in the field

ISABEL QUIROGA¹, MARTHA GÓMEZ A.² y LAURA VILLAMIZAR R.³

Resumen: Uno de los principales problemas del cultivo de la papa en Colombia es la polilla guatemalteca *Tecia solanivora*, que causa daños en campo y durante el almacenamiento de los tubérculos. Para su control biológico en condiciones de almacenamiento se han desarrollado productos a base de granulovirus como el denominado “Baculovirus Corpoica”, único registrado en Colombia. Sin embargo, con el aislamiento nativo de granulovirus codificado como VG003 se desarrollaron dos prototipos de bioplaguicida formulados como un granulado dispersable (WG) y un concentrado emulsionable (EC), diseñados para el control del insecto en condiciones de campo. Considerando que la estabilidad de los bioplaguicidas en almacenamiento es un parámetro determinante para su registro y comercialización, el objetivo del presente estudio fue evaluar la estabilidad fisicoquímica, microbiológica y biológica de los productos, durante seis meses de almacenamiento a 6°C, 20°C y 28°C. La actividad insecticida de las dos formulaciones se mantuvo estable a 6°C y 20°C, con eficacias que oscilaron entre el 60% y el 70%. El contenido de contaminantes aumentó durante el almacenamiento, pero se mantuvo dentro de los límites de aceptación establecidos. Sin embargo, las características fisicoquímicas fueron afectadas por el paso del tiempo y las altas temperaturas, por lo que se recomienda el almacenamiento de los dos productos a 20°C, esto por otra parte reduciría los costos durante la comercialización, ya que se elimina la necesidad de la cadena de frío para el transporte y comercialización.

Palabras clave: Baculovirus. Polilla guatemalteca. Control biológico.

Abstract: One of the principal problems of potato cultivation in Colombia is the Guatemalan moth *Tecia solanivora*, which causes damage in the field and during tuber storage. For its biological control under storage conditions, products have been developed based on the granulovirus denominated “Baculovirus Corpoica”, the only one registered in Colombia. However, with the isolation of a native granulovirus known as VG003, two biopesticide prototypes were formulated as a dispersible granular (WG) and as an emulsifiable concentrate (EC), designed for control of the insect under field conditions. Considering that the stability of biopesticide under storage is a determining parameter for their registration and commercialization, the objective of the present study was to evaluate the physicochemical, microbiological and biological stability of the products over six months of storage at 6°C, 20°C and 28°C. Insecticidal activity of both formulations remained stable at 6°C and 20°C, with efficacies that ranged between 60% and 70%. Contaminant content increased during storage but was maintained within the established acceptance limits. However, physicochemical characteristics were affected by elapsed time and high temperature, which is why storage at 20°C is recommended, and which would also reduce costs during commercialization since it would eliminate the necessity for refrigeration during transport and commercialization.

Key words: Baculovirus. Guatemalan moth. Biological control.

Introducción

Uno de los mayores problemas sanitarios que presenta el cultivo de papa es el ataque del tubérculo por parte de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Povolny, 1973) (Lepidoptera: Gelechiidae); insecto oriundo de América Central que se reportó por primera vez en Colombia (Norte de Santander) en el año 1985 (Herrera 1998) que se ha adaptado a diferentes condiciones agroecológicas, favoreciendo su diseminación por todo el país y causando grandes pérdidas económicas (Araque y García 1999). Con el fin de controlar este insecto plaga, a nivel mundial se han usado de forma indiscriminada una gran cantidad de plaguicidas químicos que a menudo presentan altos niveles de toxicidad y en muchos casos son aplicados sin el uso de protección. El resultado es un alarmante nivel de intoxicación en las comunidades campesinas y la contaminación ambiental (FAO 2008).

Como alternativa “ambientalmente amigable” para el control de este insecto plaga, se encuentra la aplicación de agentes como los granulovirus. Este virus de la familia Baculoviridae ha sido hallado en forma natural afectando larvas de las polillas *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (Lepidoptera: Gelechiidae) y *T. solanivora* en varios países de América y África (Zeddam *et al.* 1999). Todos los granulovirus sintetizan al final del proceso infeccioso grandes cantidades de granulina, proteína que cristaliza formando una matriz o cuerpo de inclusión (CI) con forma de gránulo. Durante su morfogénesis, queda incluido un virión dentro del CI, lo que les permite preservar su capacidad infecciosa. Los CIs son insolubles en agua y resistentes a la putrefacción y desintegración por agentes químicos y también a tratamientos físicos como la congelación, la desecación o la liofilización, características que les confieren persistencia en el ambiente (Caballero *et al.* 2001).

¹ Microbióloga Industrial, Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corpoica, isabelqh@hotmail.com ² Investigadora, Ph.D. Farmacia, Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corpoica, mgomez@corpoica.org.co ³ Investigadora, Ph.D. Ciencias Farmacéuticas, Laboratorio de Control Biológico, Centro de Biotecnología y Bioindustria, Corpoica, lvillamizar@corpoica.org.co. Autora para correspondencia.

La producción de estos virus se realiza normalmente en su hospedero, lo que genera contaminación microbiana en la suspensión viral, proveniente de la microflora normal de los cadáveres de los insectos (Lasa *et al.* 2008). Esta contaminación puede afectar la estabilidad fisicoquímica y las propiedades insecticidas del producto, e incluso representar riesgos para la salud si se presentan patógenos humanos dentro del formulado (Grzywacz *et al.* 1997).

Dos productos de origen latinoamericano han sido registrados para el control de esta plaga en papa almacenada; uno de ellos desarrollado por el Centro Internacional de la Papa (CIP) en Perú, formulado como un polvo para espolvoreo cuyo ingrediente activo es un granulovirus aislado de *P. operculella* llamado “Baculovirus de la polilla de la papa” (Alcázar y Raman 1992) y el producto colombiano denominado “Baculovirus Corpoica”, formulado también como un polvo para espolvoreo (Chaparro *et al.* 2010). Recientemente se desarrollaron dos prototipos de bioplaguicida a base de un granulovirus colombiano aislado de larvas de *T. solanivora* y codificado como VG003, que según el trabajo de Barrera *et al.* (2009) corresponde a un granulovirus de *P. operculella* (PhopGV). Estos productos se diseñaron para el control de la polilla en campo y fueron formulados como un granulado dispersable (WG) y un concentrado emulsionable (EC), los cuales incluyen en su formulación un filtro ultravioleta del grupo de los abrillantadores ópticos y deben ser reconstituídos en agua para su posterior aplicación por aspersión dirigida al suelo (Chaparro *et al.* 2010).

Teniendo en cuenta que las características fisicoquímicas, microbiológicas y la actividad insecticida de los formulados pueden afectarse negativamente durante el almacenamiento y que la estabilidad de los productos puede verse influenciada por la temperatura y el tipo de formulación; el objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio de estabilidad acelerada para determinar características susceptibles de optimización en los dos productos que permitan avanzar en el desarrollo de los prototipos y seleccionar las condiciones óptimas de almacenamiento para los mismos.

Materiales y Métodos

Propagación viral. Para obtener la cantidad requerida de inóculo viral, se tomaron huevos de *T. solanivora* provenientes de la cría del insecto de Corpoica. Éstos se inocularon con el aislamiento PhopGV nativo (VG003) proveniente de la región de Cundinamarca, Colombia y previamente seleccionado por presentar alta actividad insecticida contra *T. solanivora* (Espinell *et al.* 2009). Los huevos ubicados sobre un disco de papel toalla fueron inoculados aplicando la suspensión viral con un pincel. En cubetas de plástico de 4 litros de capacidad se ubicaron seis tubérculos de papa pastusa previamente lavados. Sobre ellos se ubicaron trozos de papel, cada uno con aproximadamente 40 huevos inoculados. Los recipientes se cerraron e incubaron a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 20 días. Pasado este tiempo, las larvas fueron extraídas y clasificadas. Aquellas larvas con síntoma típico de la enfermedad causada por granulovirus (color blanco), se colocaron en cajas de Petri estériles, las cuales fueron selladas y almacenadas a $-4\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Purificación y cuantificación viral. El virus fue obtenido a partir de un proceso de purificación mediante centrifugaciones diferenciales. Para tal fin, las larvas infectadas se macearon en SDS al 0,1% y la suspensión se filtró en tres capas

de velo suizo estéril, para una posterior centrifugación a 800 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se recuperó y centrifugó a 15.000 rpm durante 1 hora y el sedimento obtenido se resuspendió en 2 mL de tampón Tris-HCl (pH 6,0) y se centrifugó nuevamente sobre un gradiente de glicerol de 30% - 80% (v/v) a 15.000 rpm durante 10 minutos. Se recuperó la banda blanca que contenía el virus y ésta se lavó dos veces con tampón Tris-HCl. La concentración de todas las suspensiones de virus purificado utilizadas para todos los ensayos se cuantificó mediante la lectura de la absorbancia a 450 nm en un espectrofotómetro, usando una curva de calibración previamente estandarizada adaptando la metodología descrita por Matthiessen *et al.* (1978).

Elaboración de las formulaciones. Las formulaciones se elaboraron empleando virus purificado y diferentes componentes como aceites vegetales y tensoactivos no iónicos para el concentrado emulsionable (EC) y silicatos, almidón y azúcares para el granulado dispersable (WG). Además, los dos productos incluyeron un filtro ultravioleta del grupo de los abrillantadores ópticos (Chaparro *et al.* 2010).

Preparación de las muestras. Muestras de 3 Kg de producto formulado como WG se empacaron en bolsas metalizadas que fueron selladas al calor. Por otra parte, se almacenaron muestras de 140 mL del EC en recipientes plásticos con tapa a rosca de color blanco, con una capacidad de 150 mL. Como tratamiento control para utilizar en los bioensayos se empacaron muestras de 0,1 mg de virus liofilizado (sin formular) en bolsas metalizadas de 1 g de capacidad.

Estudio de estabilidad en almacenamiento. Dos muestras de cada tratamiento (WG, EC y virus liofilizado) se almacenaron en un cuarto frío a $6\pm 2^{\circ}\text{C}$, el mismo número de muestras se almacenó en una incubadora digital a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ y otro grupo igual de muestras se almacenó en otra incubadora digital a $28\pm 2^{\circ}\text{C}$. Antes de iniciar el almacenamiento y pasados dos, cuatro y seis meses se analizaron tres submuestras de cada bolsa o frasco de cada prototipo almacenado a las tres temperaturas, determinando el contenido de contaminantes y las características fisicoquímicas. Adicionalmente, la actividad insecticida se determinó antes y después de los seis meses de almacenamiento utilizando una submuestra de cada bolsa o frasco.

El estudio contó con un diseño experimental completamente al azar, con medidas repetidas en el tiempo y todas las mediciones se realizaron por triplicado. Los resultados del estudio de estabilidad de las características fisicoquímicas, microbiológicas y biológicas se sometieron a un análisis de varianza y posteriormente a comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey (95%). En el caso de la estabilidad de la densidad apisonada, los resultados se analizaron mediante una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ya que los datos no cumplieron con los principios de normalidad y homogeneidad de varianzas.

Estabilidad fisicoquímica

Tamaño de partícula por granulometría: Se pesaron 100 g de WG, los cuales se adicionaron a un tamiz con un tamaño de poro de 2,8 mm, el cual fue ensamblado en una columna de tamices con orificios de 2 mm, 850, 500, 150 y 38 μm . Posteriormente, la muestra se sometió a tamizado en máquina durante 10 minutos y pasado este tiempo, se pesó el material

retenido en cada uno de los tamices. Los resultados se expresaron como el porcentaje de material con un tamaño entre el del poro del tamiz anterior y el del poro del tamiz en el que quedó retenida la mayor cantidad de producto (Villamizar *et al.* 2005).

pH: Se tomaron muestras de 10 g de granulado o 10 mL de EC y posteriormente se mezclaron con 100 mL de agua destilada desionizada. El pH se midió con ayuda de un potenciómetro calibrado (Villamizar *et al.* 2005).

Humedad: En una balanza de humedad halógena OHAUS MB 45 se ubicaron 0,5 g de WG en el plato de la misma y se inició el secado de la muestra a 100°C. Después de 10 minutos se leyó el porcentaje de humedad en la pantalla del equipo.

Mojabilidad: Se vertieron 100 mL de agua destilada en un vaso de precipitados de 250 mL de capacidad, y se adicionaron 5 g del WG sin agitación. Inmediatamente, con un cronómetro se contó el tiempo en segundos necesario para que todo el producto se humedeciera completamente (Voight y Bornschein 1982).

Densidad apisonada: Se pesaron 40 g del producto granulado y se introdujeron en una probeta de 250 mL de base plástica ubicada dentro de un soporte de madera. La probeta se levantó 5 cm y se dejó caer lentamente sobre la base del soporte. Este proceso se repitió 50 veces. Al finalizar, se registró el volumen (V) de la muestra apisonada y se determinó la densidad apisonada (D) aplicando la fórmula correspondiente (Voight y Bornschein 1982):

$$D = 40 \text{ g} / V$$

Estabilidad de la suspensión del WG reconstituido en agua basado en la norma MT 168 (CIPAC 1989): Se pesaron 2,5 g del WG se vertieron en un vaso de precipitados de 200 mL que contenía 50 mL de agua destilada previamente calentada a 30±1°C. El sistema se mezcló durante dos minutos a 120 rpm utilizando un agitador magnético. Posteriormente, la suspensión se llevó a un volumen de 250 mL con agua destilada en una probeta y se selló con un tapón de caucho. A continuación la probeta se invirtió 30 veces (180°) durante un minuto y se ubicó en un baño termostático a 30±1°C durante 30 minutos. Con ayuda de una pipeta de 10 mL, la cual estaba sostenida en un soporte universal, a la altura de la marca de 25 mL de la probeta y conectada a una bomba peristáltica, se extrajeron 225 mL de la suspensión a 600 rpm. Posteriormente el sedimento fue transferido con ayuda de agua destilada a una caja de Petri previamente tarada. Ésta se secó hasta peso constante durante 18 horas a 90°C en un horno y con el peso final de los sólidos de la muestra (a), se determinó la estabilidad (E) de la suspensión aplicando la fórmula:

$$E = 111 \times (1 - (a / 2,5 \text{ g}))$$

Estabilidad de la emulsión formada con el EC basado en la norma MT 20 (CIPAC 1989): Se vertieron 70 mL de agua destilada a 25±1°C en un vaso de precipitados de 250 mL y se adicionaron gota a gota con una bureta, 5 mL del producto oleoso. El sistema fue mezclado con una barra de cristal dirigiendo el flujo hacia el centro y no contra las paredes del vaso de precipitados. Posteriormente, el líquido se transfirió a una probeta de 250 mL limpia y seca y se completó el volumen con agua destilada. Finalmente, la emulsión se mantuvo en reposo a 25±1°C durante una hora y se observaron los cam-

bios del sistema relacionados con el volumen y la presencia de material separado.

Estabilidad microbiológica. Este parámetro se determinó mediante el recuento de microorganismos contaminantes. Para tal fin, muestras de cada prototipo y el virus liofilizado sin formular fueron reconstituidas en agua a una concentración de 1x10⁶ CI/mL y se realizaron diluciones seriadas en agua estéril, las cuales se sembraron por triplicado en cajas de Petri con Agar Nutritivo, para determinar la concentración de bacterias y en Agar Saboureaud con Rosa de Bengala para el recuento de mohos y levaduras. Los medios se incubaron a 37±2°C durante 48 horas y a 25±2°C durante ocho días respectivamente. Al finalizar el tiempo de incubación se contaron las colonias formadas por los microorganismos contaminantes y se informó el resultado en unidades Formadoras de Colonia (UFC) por mL o por g para el EC y WG respectivamente.

Estabilidad de la actividad insecticida. Los prototipos de bioplaguicida y el virus liofilizado sin formular se reconstituyeron en agua estéril a una concentración de 1x10⁶ CI/mL. Con cada suspensión se inocularon tres tubérculos de papa pastusa con ayuda de un nebulizador (Carrera *et al.* 2008), aplicando 2 mL de suspensión por cada lado de éstos. Los tubérculos se dejaron secar y cada uno se ubicó en un vaso plástico de 16 onzas que contenía 60 g de arena estéril en el fondo. Posteriormente, con ayuda de un pincel se ubicaron 10 larvas neonatas de *T. solanivora* sobre cada tubérculo. Los recipientes se taparon e incubaron en oscuridad constante durante 30 días, a 25±1°C. Se contó con un testigo absoluto en el cual, los tubérculos no recibieron ningún tratamiento. Terminado el tiempo de incubación se realizó un análisis destructivo recuperando todos los individuos y clasificando las larvas en vivas o muertas. Con los resultados de mortalidad en los tratamientos y el testigo se calculó el porcentaje de eficacia según la fórmula de Schneider – Orelly (Gómez *et al.* 2005):

$$\text{Eficacia (\%)} = ((B - K) / (100 - K)) \times 100$$

Donde K es el porcentaje de mortalidad del testigo y B es el porcentaje de mortalidad en el tratamiento.

Resultados y Discusión

Estabilidad fisicoquímica del granulado WG en almacenamiento

Tamaño de partícula: El WG recién manufacturado presentó el mayor porcentaje de material retenido en el tamiz de 850 µm, con un valor del 94,54%. Lo que permite concluir que la mayoría del material tiene un tamaño de partícula que oscila entre 850 y 2000 µm. No hubo diferencias significativas (F=5,31, d.f.=11, P=0,153) entre el porcentaje de granulado retenido en el tamiz de 850 µm antes y después del almacenamiento del producto a las tres temperaturas, lo que sugiere que esta característica se mantuvo estable cuando el producto se almacenó durante seis meses y no fue afectado por la temperatura.

pH: El WG presentó un pH inicial de 7,32 y durante los seis meses de almacenamiento a 6°C, 20°C y 28°C se obtuvieron valores que oscilaron entre 6,56 y 7,50. La prueba de

comparación de medias de Tukey detectó diferencias significativas entre los tratamientos ($F=34,1$, $df=11$, $P<0,005$). El pH del producto recién manufacturado no fue diferente de los valores obtenidos a los dos meses de almacenamiento a 6°C y 20°C (Fig. 1). Sin embargo, en el cuarto y sexto mes de almacenamiento a 6°C y 20°C, el pH obtenido fue significativamente menor al inicial. Este cambio podría deberse al crecimiento de microorganismos contaminantes que podrían haber degradado algunos componentes de la formulación, generando cambios químicos que afectaron el pH del medio (Borges 1998).

El WG almacenado a 28°C redujo significativamente su pH desde los dos meses de almacenamiento, es decir que a mayor temperatura, el cambio químico se evidenció más rápido. Sin embargo, el pH del producto durante todo el almacenamiento a las tres temperaturas se mantuvo entre 5 y 8, rango adecuado para el granulovirus utilizado como ingrediente activo. De esta forma se asegura la estabilidad física de los cuerpos de inclusión, ya que se ha establecido que solo valores de pH mayores a 9 y menores a 4 afectan la integridad de los baculovirus (Caballero *et al.* 2001).

Humedad: El WG recién manufacturado presentó un porcentaje de humedad del 4% y cuando éste se almacenó a 6°C presentó humedades promedio del 4,75%, 4,97% y 5,97% a los dos, cuatro y seis meses respectivamente. Para el producto almacenado a 20°C el porcentaje de humedad obtenido fue del 4,60% al segundo mes, del 4,99% al cuarto mes y del 5,69% al sexto mes. Finalmente, cuando el prototipo fue almacenado a 28°C la humedad fue del 4,35%, 4,69% y 2,40% al segundo, cuarto y sexto mes de almacenamiento respectivamente. El producto sólo presentó un incremento significativo ($F=16,9$, $df=11$, $P<0,005$) de la humedad a los seis meses de almacenamiento a 6°C y 20°C.

Cuando el almacenamiento se realizó a 28°C, no hubo diferencias significativas entre el porcentaje de humedad del producto antes de ser almacenado y el valor obtenido a los dos y cuatro meses de almacenamiento, pero la humedad obtenida a los seis meses fue significativamente inferior a la inicial. Estos resultados podrían sugerir que el sello al calor usado en los empaques no fue totalmente hermético y permitió la entrada de humedad a las dos temperaturas más bajas y posiblemente la salida de ésta cuando se utilizó la temperatura más alta.

Cuando el almacenamiento se realizó a 6°C y 20°C, la humedad de los prototipos sobrepasó el valor máximo del 5% recomendado para este tipo de productos (Lawrie *et al.* 2001; Santos *et al.* 2008), considerando que humedades altas podrían dar lugar a la compactación de los gránulos, con la consecuente aparición de grumos y aglomerados de difícil dispersión, además de facilitar el crecimiento de microorganismos contaminantes (Salazar 2003). El crecimiento de organismos contaminantes puede afectar la estabilidad del vi-

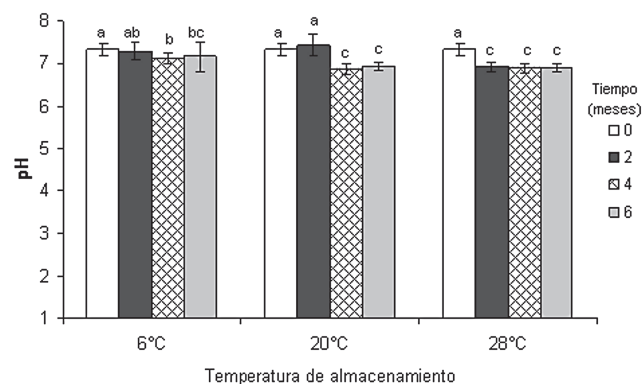


Figura 1. Estabilidad del pH del WG durante seis meses de almacenamiento a tres temperaturas. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias según la prueba de Tukey con un 95% de confianza.

rus, ya que estos pueden degradar los compuestos orgánicos presentes en la cubierta viral y generar radicales libres que podrían afectar la integridad del ingrediente activo (Borges 1998).

Los resultados sugieren la necesidad de revisar el sellado utilizado para los empaques, o de buscar otro sistema que garantice la hermeticidad y de esta forma, la calidad del producto terminado y su estabilidad durante el almacenamiento.

Mojabilidad: Esta característica fisicoquímica osciló entre 56 y 62 segundos, para todos los tratamientos durante seis meses a las tres temperaturas (Tabla 1). No detectaron diferencias significativas entre los valores de mojabilidad obtenidos cuando el producto fue almacenado a 6°C y 20°C, lo que sugiere que esta característica fue estable bajo dichas condiciones. Sin embargo, el producto almacenado a 28°C presentó un incremento significativo ($F=2,14$, $d.f.=11$, $P=0,048$) del tiempo de humectabilidad a partir del segundo mes que podría deberse a que las temperaturas elevadas favorecen fenómenos de compactación de las partículas que modifican la porosidad y por lo tanto el tiempo de humectación (Aulton 2004). La estabilidad de esta característica a 6°C y 20°C podría sugerir que el producto no presentó cambios representativos en su porosidad, ya que la permeabilidad del agua en el granulado y por ende la facilidad para humectarse, depende de la cantidad de poros intra o interarticulares (Vargas 2003).

Densidad apisonada: La densidad del WG osciló entre 606,70 y 631,72 g/L y no se detectaron diferencias significativas a través el tiempo, ni entre temperaturas de almacenamiento ($F=1,93$, $df=11$, $P=0,086$). La estabilidad de esta característica sugiere un adecuado proceso de granulación y una correcta formulación, debido a que los cambios en la densidad están asociados con modificaciones en el tamaño y

Tabla 1. Estabilidad del tiempo de mojabilidad (segundos) del granulado almacenado durante seis meses a tres temperaturas.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Tiempo de almacenamiento (meses)			
	0	2	4	6
6 ± 2	56,93c*	60,00bc	61,20abc	58,67bc
20 ± 2	56,93c	61,33bc	61,33abc	59,33bc
28 ± 2	56,93c	60,47abc	59,47a	58,67ab

* Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias según la prueba de Tukey con un 95% de confianza.

la porosidad de las partículas, que podrían deberse al empleo de una cantidad inadecuada del agente aglutinante (Aulton 2004). Una cantidad insuficiente del mismo genera fragilidad en los gránulos, los cuales pueden romperse y compactarse aumentando su densidad. Por el contrario, el empleo de una gran cantidad de aglutinante genera un granulado muy duro, que no cambia su densidad pero presenta problemas de disolución y desintegración (Montalvo 1989). Los valores obtenidos durante todo el almacenamiento son similares a los de algunos productos virales registrados ante la Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos (OECD), que presentan densidades entre 600 y 800 g/L (OECD 2005).

Estabilidad de la suspensión: Los resultados de estabilidad de la suspensión formada por el producto almacenado durante seis meses a tres temperaturas oscilaron entre 67,80% y 78,88%. Se observó que esta característica no cambió significativamente durante los cuatro primeros meses de almacenamiento a las tres temperaturas evaluadas. Sin embargo, al sexto mes se observó una reducción significativa ($F=3,52$, $d.f.=11$, $P=0,048$) de la estabilidad de la suspensión del producto almacenado a 6°C, 20°C y 28°C.

El porcentaje de estabilidad presentado por el producto recién manufacturado (78,88%) y después del almacenamiento fue superior al límite mínimo recomendado correspondiente al 60% (SENASA 2002; Chemical Regulation Directorate 2009). La alta suspensibilidad del producto posiblemente se debe a que el granulado desintegra completamente al entrar en contacto con el agua y no hay agregación de las partículas en suspensión (Allen *et al.* 2005), ya que según la ley de Stokes, a mayor tamaño de partícula o mayor diferencia de densidad entre la partícula y el medio dispersante, mayor será la velocidad de sedimentación (Aulton 2004).

Estabilidad fisicoquímica del concentrado emulsionable (EC) en almacenamiento

pH: El pH del EC se mantuvo entre 5,49 y 6,67 durante los seis meses de almacenamiento a las tres temperaturas evaluadas (Fig. 2). Los prototipos almacenados a 6°C, 20°C y 28°C mostraron una reducción significativa del pH a partir del segundo mes de almacenamiento ($F=22,2$, $df=11$, $P<0,005$) con respecto al valor presentado por el producto recién manufacturado. La temperatura de almacenamiento no tuvo un efecto sobre la estabilidad del pH del producto mientras que el tiempo de almacenamiento sí afectó significativamente el pH de la formulación. La reducción del pH del EC podría deberse al aumento en la concentración de microorganismos contaminantes durante el tiempo de almacenamiento, ya que éstos pueden promover la producción de gas, cambios de color y olor, la hidrólisis de grasas y aceites y cambios de pH, entre otros (Aulton 2004). A pesar de estos resultados, el EC durante los seis meses de almacenamiento a 6°C, 20°C y

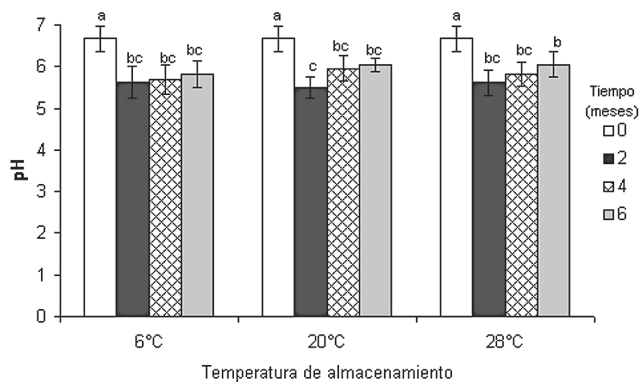


Figura 2. Estabilidad del pH del EC, durante seis meses de almacenamiento a tres temperaturas. Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias según la prueba de Tukey con un 95% de confianza.

28°C presentó valores de pH dentro del rango recomendado para los granulovirus entre 5 y 8.

Estabilidad de la emulsión diluida: La estabilidad de la emulsión formada por el EC no se afectó por el tiempo ni por la temperatura de almacenamiento ($F=2,26$, $df=11$, $P<0,056$) (Tabla 2).

La prueba cualitativa también mostró que la emulsión obtenida al reconstituir el EC fue estable, ya que no se presentaron separación de fases, ni formación de flóculos en los ensayos realizados al prototipo almacenado a 6°C, 20°C y 28°C durante seis meses. Lo anterior indica que la temperatura y el tiempo de almacenamiento no afectaron la diferencia de densidad entre las fases (Cubero *et al.* 2002) y que la estructura química del surfactante que compone la formulación fue estable durante el tiempo, ya que facilitó la extensión de la interfase y estabilizó la emulsión retardando la coalescencia de las gotas de la fase dispersa (Graciani 2006).

El producto reconstituido presentó un cremado de 6 mL fácilmente dispersable, fenómeno de inestabilidad que normalmente es reversible con una pequeña agitación y que se presenta con más frecuencia en emulsiones agua en aceite (O/W) (Nehal *et al.* 1999). A pesar de esto, el cremado debe evitarse ya que puede originar errores en la dosificación, mal aspecto y mayor proximidad de los glóbulos, lo que puede conducir a una agregación o coalescencia de la emulsión (Allen *et al.* 2005).

Estabilidad microbiológica en almacenamiento

El WG recién manufacturado presentó un contenido de contaminantes 17 veces mayor que el del EC (Tabla 3). Esto podría deberse a diferencias en la carga microbiana de los auxiliares de formulación empleados en la elaboración de los

Tabla 2. Comportamiento de la estabilidad de la emulsión formada al reconstituir el EC almacenado durante seis meses a tres temperaturas, expresada como porcentaje.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Tiempo de almacenamiento (meses)			
	0	2	4	6
6 ± 2	94,50 ab*	95,80 a	97,47 ab	92,27 ab
20 ± 2	94,50 ab	92,28 ab	91,20 ab	92,27 ab
28 ± 2	94,50 ab	88,14 b	95,64 a	94,77 ab

* Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias según la prueba de Tukey con un 95% de confianza.

Tabla 3. Comportamiento del contenido de contaminantes del WG y del EC (UFC/g) almacenados durante seis meses a tres temperaturas.

Formulación	Temperatura de almacenamiento (°C)	Tiempo de almacenamiento (meses)			
		0	2	4	6
WG	6 ± 2	3,00x10 ³ c*	2,67x10 ³ c	1,67x10 ³ c	4,33x10 ³ bc
	20 ± 2		7,33x10 ³ bc	9,00x10 ³ a	9,93x10 ³ a
	28 ± 2		8,33x10 ³ ab	6,67x10 ³ b	7,33x10 ³ b
EC	6 ± 2	1,77x10 ² d	4,43x10 ² d	7,93x10 ² d	8,20x10 ² d
	20 ± 2		7,50x10 ² d	1,37x10 ² d	2,40x10 ³ c
	28 ± 2		1,23x10 ² d	2,10x10 ² d	2,93x10 ³ c

* Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias según la prueba de Tukey con un 95% de confianza.

dos productos, ya que éstos no fueron esterilizados antes de la manufactura. Cabe destacar que el contenido de contaminantes inicial en los dos formulados es bajo (3,00x10³ UFC/g para el WG y 1,77x10² UFC/mL para el EC) en comparación con los descritos en la literatura para productos virales como la formulación del nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808) evaluada por Lasa *et al.* (2008), que mostró un contenido de microorganismos aerobios de 1,4 x10⁷ UFC/mL y el producto comercializado en Estados Unidos con el nombre comercial Elcar, cuyo ingrediente activo es el nucleopoliedrovirus de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) que presenta un contenido de contaminantes de 10⁷ UFC/g (Shied 1989).

No se detectaron diferencias significativas entre el contenido de contaminantes del producto recién manufacturado y el de éste durante los seis meses de almacenamiento a 6°C (F=2,56, df=3, P=0,071), lo que indica que no hubo crecimiento microbiano a temperatura de refrigeración. El uso de temperaturas bajas es un mecanismo utilizado para estabilizar las células, debido a que disminuye su metabolismo y en consecuencia la velocidad de crecimiento de los microorganismos (Rodríguez 1998). Sin embargo, se pudo observar un aumento al sexto mes de almacenamiento que pudo haberse favorecido por un incremento de la humedad del WG.

Cuando la temperatura de almacenamiento fue de 20°C y 28°C, se observó un aumento significativo (F=9,66, df=11, P<0,005) en la concentración de contaminantes del WG a partir del cuarto y el segundo mes respectivamente, que en el producto almacenado a 20°C pudo verse favorecido por el incremento de la humedad del producto. Sin embargo, el incremento de la contaminación fue mayor cuando el bioplaguicida se almacenó a 28°C, posiblemente debido a que dicha temperatura es adecuada para el crecimiento de diversas bacterias contaminantes (Borges 1998).

El aumento de la población microbiana contaminante podría relacionarse con las propiedades higroscópicas de los productos liofilizados (Voigt y Bornsheim 1982), ya que el WG fue sometido a dicho proceso de deshidratación; lo que sumado a un sello no hermético posiblemente favoreció un incremento de la humedad y en consecuencia el crecimiento microbiano. Este tipo de contaminación es muy frecuente ya que los sistemas actuales de producción viral se realizan *in vivo*, lo que genera una carga importante de bacterias y hongos que naturalmente colonizan las dietas, la superficie del insecto, su intestino y sus heces. La gran mayoría de estos microorganismos son especies comunes de los géneros *Pseudomonas*, *Enterococcus* y especies colifor-

mes de la familia Enterobacteriaceae (Jenkins y Grzywacz 2000).

Para el EC, la temperatura y tiempo de almacenamiento no afectaron el contenido de contaminantes a 6°C. Sin embargo, el análisis estadístico detectó diferencias significativas entre la cantidad de contaminantes presentada por el EC almacenado a 20°C y 28°C después de seis meses de almacenamiento, con respecto al contenido de contaminantes presentado por el producto recién manufacturado (F=35,9, df=11, P<0,005).

Dicho comportamiento sugiere que estas temperaturas favorecieron el crecimiento microbiano, posiblemente debido a que algunos componentes de la formulación oleosa podrían ser utilizados como sustrato por los microorganismos (Aulton 2004), especialmente por bacterias de la familia Enterobacteriaceae. Dentro de éstas se destaca *Enterobacter gergoviae* (Brenner *et al.* 1980) aislado por Kuzina *et al.* (2002) en el intestino de *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1844) (Lepidoptera; Gelechiidae), que también fue encontrada por Pinto *et al.* (2007) en el tracto digestivo de dos lepidópteros de la familia Saturniidae, *Rothschildia lebeau* (Rothschild, 1907) y *Automeris zugana* (Druce, 1886) y además demostraron su actividad lipolítica.

Durante todo el tiempo de almacenamiento a las tres temperaturas los dos prototipos de bioplaguicida (WG y EC) presentaron una concentración de microorganismos contaminantes que estuvo por debajo del límite máximo de calidad establecido previamente en el Laboratorio de Control de Calidad biotécnica de Corpoica, que exige que la concentración de contaminantes sea inferior a 1x10⁶ UFC/g o mL.

Estabilidad biológica en almacenamiento. En todos los casos se encontraron larvas con síntomas de la infección (Fig. 3), como coloración blanca y la pérdida de la turgencia debido a la desintegración de los tejidos y órganos (Caballero *et al.* 2001). No se detectaron diferencias significativas (F=1,38, df=5, P=0,2663) entre el porcentaje de eficacia que presentó el WG antes y después de seis meses de almacenamiento (Tabla 4). Santos *et al.* (2009) encontraron resultados similares al evaluar la actividad biocontroladora del producto comercial registrado en Colombia “Baculovirus Corpoica”, después de almacenarlo a 8°C, 18°C y 28°C durante tres meses.

Estos resultados pueden atribuirse a la alta estabilidad que presentan los baculovirus a diferentes temperaturas, ya que existen estudios que demuestran su tolerancia a condiciones de congelamiento por varios años y a temperaturas de hasta

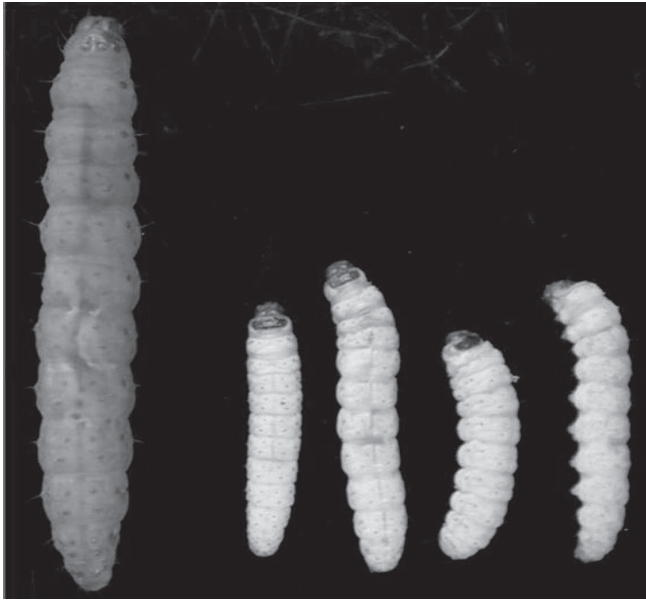


Figura 3. Larvas de *Tectia solanivora* el ejemplar de la izquierda muestra su condición sana mientras que los demás dejan ver la sintomatología típica de la infección con granulovirus PhoGV.

50°C por varias horas (Ignoffo y García 1992), aunque Támez *et al.* (2006) observaron una reducción significativa de la eficacia de cuatro granulados a base del NPV de *Anagrapha falcifera* (Kirby, 1837), almacenados a 25°C durante ocho meses. Este comportamiento se atribuyó a un incremento en la concentración de contaminantes, debido a un aumento de la humedad desde el tercer mes de almacenamiento, los cuales pudieron degradar la cubierta viral.

La estabilidad del granulovirus formulado como un WG sugiere que los excipientes utilizados en la formulación fueron adecuados y mantuvieron la integridad viral durante el almacenamiento, criterio de gran importancia cuando se seleccionan los auxiliares de formulación (Támez *et al.* 2002). Sin embargo, es necesario mejorar el sistema de sellado y tomar medidas para reducir la concentración de contaminantes desde el inicio de la producción, ya que la presencia de microorganismos saprófagos, puede afectar severamente la viabilidad del virus a largo plazo (Gipson y Scott 1975). Lo anterior facilitará el almacenamiento del producto a tempe-

ratura ambiente y por lo tanto ahorrará costos de producción y transporte, evitando un costo adicional por el uso de una cadena de frío.

En cuanto al EC no se detectaron diferencias significativas entre la eficacia del producto recién manufacturado y la presentada después de seis meses de almacenamiento a 6°C y 20°C (Tabla 4), mientras que a 28°C se presentó una reducción significativa del 20% ($F=5,77$, $df=5$, $P=0,006$). Este comportamiento podría estar relacionado con el aumento en la concentración de contaminantes que se evidenció desde el segundo mes del estudio en el EC almacenado a 28°C. Estos contaminantes pudieron afectar la estabilidad del virus por efectos de proteólisis de los cuerpos de inclusión o inactivación por la producción de radicales libres (Jones y Burges 1997). Adicionalmente, esta menor actividad insecticida del EC almacenado a 28°C podría también deberse a la formación de torta o "caking" (sedimento compacto de difícil dispersión) que se produjo en dicho tratamiento. Este sedimento posiblemente atrapó y aglomeró algunas partículas virales impidiendo su homogénea distribución en el momento de la reconstitución y en consecuencia afectando la dosis aplicada.

Batista *et al.* (2001) obtuvieron resultados similares quienes observaron una reducción de la eficacia del 18,3% para un concentrado emulsionable a base del nucleopolihedrovirus de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (AgMNPV) después de 20 meses de almacenamiento a 24,5°C. En un trabajo similar, se estudió la estabilidad del baculovirus de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833), almacenado en diferentes aceites minerales y vegetales y a bajas temperaturas no se observaron diferencias en la eficacia en los dos grupos de aceites, pero si se presentó una pérdida de la infectividad del virus almacenado durante 15 meses a 26°C en aceite vegetal, lo que atribuyeron al deterioro de los componentes de la formulación por interacciones con el oxígeno (Cherry 1994).

Para el virus liofilizado sin formular no se detectaron diferencias significativas entre los valores de eficacia obtenidos antes y después de seis meses a las tres temperaturas evaluadas ($F=1,77$, $df=5$, $p=0,1943$) (Tabla 4).

Para muchos autores, los baculovirus son considerados los mejores agentes biológicos para desarrollar bioplaguicidas, ya que pueden ser almacenados en preparaciones secas en oscuridad a temperaturas ambientales de 20°C y 25°C durante varios años. Un ejemplo, es el producto comercial llamado TM Biocontrol-1, el cual tiene una vida de almacenamiento de cinco años a temperaturas ambientales (Martignoni 1978).

Tabla 4. Eficacia biológica (%) del WG, del EC y del virus liofilizado durante seis meses de almacenamiento a tres temperaturas.

Tratamiento	Temperatura (°C)	Tiempo de almacenamiento (meses)	
		0	6
WG	6 ± 2	67,2 a*	59,3 a
	20 ± 2		56,6 a
	28 ± 2		58,3 a
EC	6 ± 2	63,3 a	56,6 ab
	20 ± 2		53,3 ab
	28 ± 2		43,3 b
Virus liofilizado sin formular	6 ± 2	63,3 a	56,7 a
	20 ± 2		53,3 ab
	28 ± 2		56,7 a

* Tratamientos con la misma letra no presentan diferencias según la prueba de Tukey (95%).

La estabilidad de la actividad insecticida del WG y el virus sin formular podría atribuirse a la estabilidad innata de los baculovirus en un amplio rango de temperaturas, hecho que fue comprobado por Pokharkar y Kurhade (1999), quienes observaron que temperaturas entre 20°C y 35°C no tuvieron un efecto significativo en la infectividad del granulovirus de *P. operculella*.

Agradecimientos

Los autores manifiestan sus agradecimientos al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural por el apoyo financiero.

Literatura citada

- ALCÁZAR, J.; RAMAN, K.; 1992. Control biológico de la polilla de la papa con *Baculovirus phthorimaeae*. Boletín de Capacitación CIP No. 2, Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. 27 p.
- ALLEN, L.; POPOVICH, N.; ANSEL, H.; 2005. Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. Editorial Baltimore MD, Estados Unidos. 672 p.
- ARAUQUE, M.; GARCÍA, C. 1999. Manual integrado de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia Solanivora* (Polvony). CRECED, Santander, Colombia. 46 p.
- AULTON, M. 2004. Farmacia, La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas. Elsevier, España. 681 p.
- BARRERA, G.; CUARTAS, P.; VILLAMIZAR, L. 2009. Comparative analysis of a granulin fragment of Colombian granulovirus isolated from *Tecia solanivora*. Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes. IOBC wprs Bulletin 45: 129-132.
- BATISTA, A.; ALVES, S.; AUGUSTO, N.; PEREIRA, R. 2001. Stability and persistence of two formulations containing *Anticarsia gemmatilis* nuclear polyhedrovirus (AgMNPV). Neotropical Entomology 30 (3): 411-416.
- BURGES, H. 1998. Formulation of microbial biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Holanda. 496 p.
- CABALLERO, P.; LOPEZ, M.; WILLIAMS, T. 2001. Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Phytoma. Navarra. España. 518 p.
- CARRERA, M.; ZEDDAM, J.; POLLET, A.; LE'RY, X.; LÓPEZ-FERBER, M. 2008. Evaluation of the *per os* insecticidal activity of baculoviruses by a nebulization method. IOBC/WPRS Bull. 31: 40-43.
- CHAPARRO, M.; ESPINEL, C.; COTES, A.; VILLAMIZAR, L. 2010. Fotoestabilidad y actividad insecticida de dos formulaciones de granulovirus sobre larvas de *Tecia solanivora*. Revista Colombiana de Entomología 36 (1): 25-30.
- CHEMICAL REGULATION DIRECTORATE. 2009. Data Requirements Handbook. Mallard House. York. UK. 3: 24-25.
- CHERRY, A. 1994. Oil formulation of insect viruses. European meeting: Microbial Control of Pests. Disponible en: <http://www.fao.org/agris/search/display.do?f=.1995/v2109/FR9501332.xml;FR9501332> [Fecha de revisión: 10 Junio 2009].
- CIPAC - COLLABORATIVE INTERNATIONAL PESTICIDES ANALYTICAL COUNCIL. 1989. CIPAC Handbook F. Black Bear Press, Cambridge. UK. 472 p.
- CUBERO, N.; MONTEFERRER, A.; VILLALTA, J. 2002. Tecnología de alimentos y aditivos alimentarios. Mundi-prensa libros, España. 240 p.
- ESPINEL, C.; GÓMEZ, J.; VILLAMIZAR, L.; COTES, A.; LERY, X.; LÓPEZ-FERBER, M. 2009. Biological activity and compatibility with chemical pesticides of a Colombian granulovirus isolated from *Tecia solanivora*. Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes. IOBC wprs Bulletin 45: 145-148.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS). 2008. Gestión de las plagas y enfermedades de la papa. Disponible en: <http://www.potato2008.org> [Fecha de revisión: 6 Mayo 2009].
- GIPSON, A.; SCOTT, C. 1975. Alkaline protease associated with the matrix protein of a virus infecting the cabbage looper. Biochemical and Biophysical Research Communications 62: 478-484.
- GÓMEZ, J.; VILLAMIZAR, L.; ESPINEL, C.; GRIJALBA, E.; TORRES, L.; COTES, A. 2005. Reconocimiento, selección y evaluación de aislamientos nativos de virus de la granulosis para el control biológico de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora*. Produmedios, Bogotá, Colombia. 24 p.
- GRACIANI, C. 2006. Los aceites y grasas: Composición y propiedades. Mundi-prensa libros, España. 316 p.
- GRZYWACZ, D.; MCKINLEY, D.; JONES, K.; MOAWAD, G. 1997. Microbial contamination in *Spodoptera littoralis* nuclear polyhedrosis virus produced in insects in Egypt. Journal of Invertebrate Pathology 69: 151-156.
- HERRERA, F. 1998. La polilla guatemalteca de la papa. Biología, comportamiento y Prácticas de manejo integrado. Produmedios, Bogotá, Colombia. 46 p.
- IGNOFFO, C.; GARCIA, C. 1992. Combinations of environmental factors and simulated sunlight affecting inclusion bodies of the *Heliothis* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrosis virus. Environmental Entomology 21: 210-213.
- JENKINS, N.; GRZYWACZ. 2000. Quality control of fungal and viral biocontrol agents- Assurance of product performance. Biocontrol Science and Technology 10: 753-777.
- JONES, K.; BURGESS, H. 1997. Microbial insecticides: novelty or necessity. British Crop Protection Council Symposium Proceedings 68: 163-171.
- KUZINA, L.; MILLER, E.; GE, B.; MILLER, T. 2002. Transformation of *Enterobacter gergoviae* isolated from pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) with *Bacillus thuringiensis* toxin. Current Microbiology. 44 (1): 1-4.
- LASA, R.; WILLIAMS, T.; CABALLERO, P. 2008. Insecticidal properties and microbial contaminants in a *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (Baculoviridae) formulation stored at different temperatures. Journal of Economical Entomology 101 (1): 42-49.
- LAWRIE, J.; DOWN, J.; GREAVES, M. 2001. Effects of storage on viability and efficacy of granular formulations of the microbial herbicides *Alternaria alternata* and *Trematophoma lignicola*. Biocontrol Science and Technology 11: 283-295.
- MARTIGNONI, M. 1978. Virus in biological control: production, activity, and safety. USDA Forest Service Technology Bulletin 30: 140-145.
- MATTHIESSEN, J.; CHRISTIAN, R.; GRACE, T.; FILSHIE, K. 1978. Large-Scale field propagation and the purification of the granulosis virus of the potato moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). Bulletin of Entomological Research 68: 385-391.
- MONTALVO, E. 1989. Introducción a la tecnología farmacéutica. Universidad Central de Quito, Quito, Ecuador. 92 p.
- NEHAL, A.; AMAL, N.; NAEL, Z.; HUSSEIN, K. 1999. Stability and rheology of heavy Crude oil-in-water emulsion stabilized by an anionic-nonionic surfactant mixture. Petroleum Science and Technology 17 (6): 553-576.
- OECD - ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. 2005. Directory of Microbial Pesticides for Agricultural Crops in OECD Countries Disponible en: <http://www.oecd.org/dataoecd/18/0/1900785.pdf> [Fecha de revisión: 07 Abril 2011].
- PINTO, A.; URIBE, L.; BLANCO, J.; FONTECHA, G.; RODRÍGUEZ, C.; MORA, M.; JANZEN, D.; CHAVARRIA, F.; DÍAZ, J.; SITTENFELD, A. 2007. Actividades enzimáticas en aislamientos bacterianos de tractos digestivos de larvas y del contenido de pupas de *Automeris zugana* y *Rothschildia lebeau* (Lepidoptera: Saturniidae). Revista de Biología Tropical 55 (2): 32-39.

- POKHARKAR, S.; KURHADE, V. 1999. Cross infectivity and effect of Environmental factors on the infectivity of granulosis virus of *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Biological Control* 13: 79-84.
- RODRÍGUEZ, M. 1998. Envasado de alimentos bajo atmósfera protectora. alimentación, equipos y tecnología. Editorial Acribia, España. 130 p.
- SALAZAR, R. 2003. Tecnología farmacéutica industrial. Fabricación y control de medicamentos sólidos de administración por vía oral. Editorial Acribia, España. 34 p.
- SANTOS, A.; VILLAMIZAR, L.; GARCÍA, M.; BELTRAN, C.; COTES, A. 2008. Caracterización de un prototipo de bioplaguicida mixto para la protección de semilla de papa en almacenamiento. Memorias VI seminario latinoamericano de uso y comercialización de la papa. Asociación Latinoamericana de la Papa, Mar del Plata, Argentina. 475-476.
- SENASA - SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA. 2002. Establece una norma que determina las condiciones en que los productos formulados fitosanitarios mantengan la aptitud para su uso. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. Resolución 489. República Argentina. Disponible en: <http://www.ambiente.bioetica.org/normas/02-489.htm>. [Fecha de revisión: 07 Abril 2011].
- SHIED, T. 1989. Industrial production of viral pesticides. *Advances in Virus Research* 36: 315-343.
- TÁMEZ, P.; MCGUIRE, M.; BEHLE, R.; SHASHA, S.; PINGEL, R. 2002. Storage stability of *Anagrapha falcifera* nucleopolyhedrovirus in spray-dried formulations. *Journal of Invertebrate Pathology* 79: 7-16.
- TÁMEZ, P.; ZAMUDIO, V.; MARTÍNEZ, J.; RODRÍGUEZ, C.; REYES, S.; GÓMEZ, R. 2006. Formulaciones granulares de baculovirus en combinación con abrillantadores ópticos para su empleo como bioinsecticida. *Ciencia UANL* 4 (2): 149-156.
- VARGAS, R. 2003. Evaluación preliminar del método utilizado en la determinación de la fotoestabilidad de alimentos piscícolas. *Agronomía Mesoamericana* 14 (2): 193-199.
- VILLAMIZAR, L.; ZEDDAM, J-L.; ESPINEL, C.; COTES, A. 2005. Implementación de técnicas de control de calidad para la producción de un bioplaguicida a base del granulovirus de *Phthorimaea operculella* PhopGV. *Revista Colombiana de Entomología* 31 (2): 127-132.
- VOIGHT, R.; BORNSCHEIN, M. 1982. Tratado de tecnología farmacéutica. Editorial Acribia. España. 297 p.
- ZEDDAM, J.; POLLET, A.; MANGOENDIHARJO, S.; RAMADHAN, H.; LÓPEZ, F. 1999. Occurrence and virulence of a Granulosis virus in *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) populations in Indonesia. *Journal of Invertebrate Pathology* 74: 48-54.

Recibido: 8-jun 2010 • Aceptado: 12-abr-2011

Patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) sobre *Heterotermes tenuis* (Isoptera: Rhinotermitidae) en *Hevea brasiliensis*

Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) on *Heterotermes tenuis* (Isoptera: Rhinotermitidae) in *Hevea brasiliensis*

ARMANDO STERLING C.¹, CARLOS A. GÓMEZ M.² y ARY A. CAMPO J.³

Resumen: En la Amazonía colombiana las termitas atacan los tocones a raíz desnuda de caucho natural *Hevea brasiliensis*. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar en condiciones de laboratorio la patogenicidad del hongo *Metarhizium anisopliae* sobre termitas *Heterotermes tenuis*. Se emplearon las concentraciones 1×10^1 , 1×10^3 , 3×10^5 , 1×10^7 y 3×10^8 conidios/ml y el testigo (agua destilada estéril). Los insectos muertos se aclararon con KOH 10% y se montaron en placas microscópicas. La mortalidad se comparó mediante las curvas de sobrevivencia de Kaplan-Meier y se determinaron la CL_{50} y el TL_{50} . La concentración 3×10^8 conidios/ml demostró ser la más efectiva (100% de los individuos eliminados en 6 días). Se encontraron diferencias entre las seis concentraciones empleadas en el porcentaje de supervivencia de *H. tenuis* ($H_{5,81}=19,4$; $p < 0,05$) y en el tiempo (días) de supervivencia ($H_{4,60}=14,0$; $p < 0,05$). La CL_{50} fue de $9,64 \times 10^3$ conidios/ml en un tiempo de seis días. El TL_{50} fue de tres días para la concentración 3×10^8 conidios/ml. En condiciones de laboratorio *M. anisopliae* resulta ser muy efectivo sobre *H. tenuis*, razón por la cual su uso en condiciones naturales debería ser considerado en el manejo integrado de las termitas que afectan el cultivo de caucho natural en la región amazónica. Este estudio constituye el primer registro de biocontrol *in vitro* sobre *H. tenuis* en *H. brasiliensis*.

Palabras clave: Hongo entomopatógeno. Insectos-plaga. Caucho natural. Amazonía colombiana.

Abstract: In the Colombian Amazon termites attack bare root stumps of the rubber tree *Hevea brasiliensis*. The objective of the study was to evaluate the pathogenicity of the fungus *Metarhizium anisopliae* on *Heterotermes tenuis* termites under laboratory conditions. The concentrations used were 1×10^1 , 1×10^3 , 3×10^5 , 1×10^7 and 3×10^8 conidia/ml and the control (distilled sterile water). The dead insects were cleared with KOH at 10% and mounted on glass slides. Mortality was compared using Kaplan-Meier survival curves and the CL_{50} and TL_{50} were determined. The concentration of 3×10^8 conidia/ml was the most effective (100% of insects eliminated in six days). There were differences found among the six concentrations used in percent survival of *H. tenuis* ($H_{5,81}=19.4$; $p < 0.05$) and in the time (days) of survival ($H_{4,60}=14.0$; $p < 0.05$). The CL_{50} was 9.64×10^3 conidia/ml after a time of six days. The TL_{50} was three days for the concentration of 3×10^8 conidia/ml. Under laboratory conditions *M. anisopliae* is very effective on *H. tenuis*, and for this reason its use under natural conditions should be considered in the integrated management of the termites that affect the cultivation of rubber trees in the Amazonian region. This study is the first report on the *in vitro* biocontrol of *H. tenuis* in *H. brasiliensis*.

Key words: Entomopathogenic fungus. Pest insect. Rubber tree. Colombian Amazonia.

Introducción

Las termitas son insectos que se han especializado en una dieta a base de madera en descomposición, pasto seco, hongos, hojas muertas, cortezas, suelo rico en humus y estiércol de herbívoros entre otros materiales con lignocelulosa (Cancello y Myles 2000; Takuya y Masahiko 2001). Sin embargo, se les considera de importancia económica por las pérdidas que ocasionan en plantaciones forestales, huertos, árboles urbanos, frutales, cosechas, pastos y construcciones de madera (Wolff 2006).

La familia Rhinotermitidae (Isoptera) son termitas que nidifican bajo tierra excavando cámaras y túneles en relación con raíces próximas, troncos y piezas de madera (Constantino 2002). Esta familia comprende muchas especies consideradas plagas de cultivos, entre las cuales se encuentran: caña de azúcar y té. En Colombia se han registrado los géneros *Heterotermes* y *Coptotermes* que causan daño además en cultivos forestales (Madrigal 2003). Según Light (1946),

los géneros *Heterotermes*, *Coptotermes* y *Reticulitermes* son considerados los responsables de las mayores pérdidas económicas por parte de las termitas alrededor del mundo.

Heterotermes tenuis (Hagen, 1858) es una de las especies con mayor importancia económica, son termitas de pequeño porte con soldados dimórficos (Constantino 1991). Esta especie consume diferentes sustratos ricos en celulosa (heces de bovinos, bagazos de tallos, papel, entre otros) (Campos *et al.* 1998) y ataca un amplio número de especies vegetales entre las que se destacan el maíz (*Zea mays*), la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y el eucalipto (*Eucalyptus* sp.) (Mill 1991); además pueden defender intra e interspecíficamente su territorio (Camargo-Dietrich y Costa-Leonardo 2000). Los métodos de regulación de esta plaga han incluido el uso de insecticidas y hongos entomopatógenos (Moino *et al.* 2002; Almeida *et al.* 1998).

El uso de organismos benéficos como los hongos entomopatógenos es una opción ecológica y económicamente viable para la regulación de diferentes especies de termitas plaga

¹ M. Sc, Grupo de Recursos Genéticos y Biotecnología. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI. Calle 17 No. 11-67 B, El Centro, Florencia, Caquetá, Colombia. asterling@sinchi.org.co / asterlingc@gmail.com. Autor para Correspondencia. ² Biólogo, Grupo de Investigación en Micología GINMUA. Universidad de la Amazonía Avd. Circunvalar, Barrio El Porvenir, Florencia, Caquetá, Colombia. cagmazo@gmail.com. ³ Biólogo, Grupo de Investigación en Micología GINMUA. Universidad de la Amazonía Avd. Circunvalar, Barrio El Porvenir, Florencia, Caquetá, Colombia. bioary@gmail.com.

(Butt *et al.* 2001; Moino y Alves 1998; Ferron 1978). Tanada y Kaya (1993) afirmaron que los primeros microorganismos que se encontraron causando enfermedades en estos insectos, fueron los hongos entomopatógenos, debido a su notable capacidad de invasión y su rápido crecimiento macroscópico sobre la superficie de sus hospederos.

Las enfermedades fungosas en insectos son comunes y en ocasiones lo suficientemente severas para causar epizootias que llegan a eliminar casi por completo una población en un hábitat determinado (Herrera y Ulloa 1990). Los hongos entomopatógenos poseen ciertas ventajas sobre otros agentes de control microbiano (bacterias, protozoarios y virus), debido a que son capaces de atacar todas las fases de desarrollo de los insectos, además pueden infectar a aquellos que normalmente no son susceptibles a la infección por bacterias y virus (Ferron 1978).

Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sor., 1879 es uno de los hongos biocontroladores con mayor potencial entomopatógeno en el control de insectos plaga en diferentes cultivos agrícolas (Albuquerque *et al.* 2005; Shi y Feng 2004; Faria y Wraight 2001; Saldarriaga y Pineda 2001; Feng y Poprawski 1999). Este hongo Deuteromycota (anamorfo) se caracteriza por formar esporulación en capas, fialides sencillas, en pares o en ramilletes, con fialoconidias producidas en cadenas basipetadas, compactadas y en columnas (Samson *et al.* 2004; Kiffer y Morelet 2000; Domsch *et al.* 1980; Barnett y Hunter 1972). En diversos estudios se ha informado sobre la capacidad patógena de *M. anisopliae* en diferentes especies de termitas en condiciones de laboratorio (Chouvenc *et al.* 2009a, 2009b; Chouvenc *et al.* 2008; Gutiérrez *et al.* 2005; Gutiérrez y Saldarriaga 2004; Sun *et al.* 2002; Milner *et al.* 1997; Milner 1992). También se ha informado sobre su patogenicidad en *H. tenuis*, que atacan cultivos de caña y plantaciones de eucalipto (Moino *et al.* 2002; Moino y Alves 1998).

En la Amazonía colombiana, y en particular en los polos de explotación cauchera del Departamento del Caquetá (Noroccidente y Suroccidente), las termitas atacan frecuentemente los tocones a raíz desnuda de caucho natural *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.Dr. de Juss.) Muell.-Arg. durante la fase de siembra y establecimiento en campo de finitivo del cultivo, lo que históricamente se ha reflejado en pérdidas que han oscilado entre el 10% y el 20% (ASOHECA 2007).

El manejo de las termitas plaga en los cultivos recién establecidos de *H. brasiliensis* se ha realizado preventivamente con los insecticidas Furadan® y Malation® (Garzón 2000). El método consiste en preparar una solución de estos químicos, en la cual se sumergen los tocones a raíz desnuda por 24 horas y posteriormente se realiza la siembra. Este método no es efectivo y puede causar problemas a la salud humana y al ambiente; además puede generarse resistencia en las poblaciones (FAO 1970). Debido a los problemas que conlleva el uso de insecticidas, *M. anisopliae* constituye a una estrategia viable y efectiva que puede ser usada para el manejo de termitas plaga asociadas al cultivo del caucho natural.

El cultivo del caucho natural en el Departamento del Caquetá constituye uno de los renglones más significativos dentro de la actividad agrícola, económica y social de la región, dado que de la producción y explotación laticífera dependen cerca de 1700 familias campesinas en la región (ASOHECA 2007). En este sentido, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar, en condiciones de laboratorio, la patogenicidad del hongo *M. anisopliae* sobre termitasplaga de la especie *H. tenuis* a partir de ejemplares colectados en tocones a raíz

desnuda de plantaciones en crecimiento de *H. brasiliensis* establecidas en la zona noroccidental del Departamento del Caquetá.

Materiales y Métodos

Área de estudio. La fase de campo se realizó en el municipio de El Doncello, al noroccidente del Departamento del Caquetá (Colombia). Éste es el municipio más heveícola del Departamento con el 14,3% del total establecido en plantaciones de *H. brasiliensis* en etapa de crecimiento y en producción (ASOHECA 2009). La región presenta paisajes de lomerío, se encuentra ubicada a una altitud de 289 msnm, posee una temperatura promedio de 28°C, una pluviosidad promedio de 3500 mm/año y una humedad relativa media del 74% (IGAC 1993).

Se seleccionaron las veredas Maguaré y La Libertad, localizadas entre las coordenadas 1°38'21"N, 75°09'32,7"W, 1°38'55,6"N 75°09'19,6"W, respectivamente, por presentar el mayor registro de termitas en tocones de caucho (>10% de infestación) (ASOHECA 2009). En tres plantaciones en crecimiento (2-6 meses), se coleccionaron ejemplares de *H. tenuis* de las castas obrera y soldado que son importantes para la identificación taxonómica; de cada plantación se escogieron y de forma aleatoria tres puntos de muestreo. Estas plantaciones se establecieron a partir de tocones a raíz desnuda en surcos dobles con un distanciamiento de 3 x 3 x 12 m.

La fase de laboratorio se desarrolló en el Laboratorio de Biología de la Universidad de la Amazonia en Florencia, Caquetá (Colombia), municipio localizado en las coordenadas 1°37'03"N 75°37'03"W. Florencia está a una altitud de 242 msnm, posee una temperatura promedio anual de 25,5°C, una pluviosidad de 3793 mm/año y una humedad relativa promedio de 84,2% (IGAC 1993).

Recolección y mantenimiento de ejemplares de *H. tenuis*.

Los tocones a raíz desnuda de *H. brasiliensis* infestados por las termitas *H. tenuis* se introdujeron en bolsas plásticas de color negro con el fin de emular condiciones de oscuridad y evitar así el estrés en los individuos coleccionados. Se utilizaron también frascos de 15 x 8 cm a los cuales se les agregó 500 g de sustrato (suelo y restos de tocones de donde se obtuvieron las termitas). Los recipientes se taparon con muselina sujeta por una banda de caucho sintético.

Bajo condiciones de laboratorio se establecieron las colonias. Las termitas se mantuvieron en los tocones de donde se coleccionaron y se colocaron luego en un recipiente rectangular con dimensiones de 21 x 56 x 30 cm, cubiertos con tela muselina y plástico negro para simular oscuridad, hábito críptico y subterráneo característico de la familia Rhinotermitidae (Márquez 2006; Sun *et al.* 2003). Se simuló las características climáticas básicas (74% de humedad relativa y 28°C de temperatura) y físicas del sitio de procedencia. Para prolongar el tiempo de vida de las termitas, se adicionó una mezcla de arena fina con suelo del sitio de origen en una relación 1:3.

Previo a las pruebas de patogenicidad con *M. anisopliae* se realizó un ensayo que consistió en introducir obreras de *H. tenuis* en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con papel filtro estéril para registrar su supervivencia (Wang y Powell 2004) y garantizar así que en los bioensayos de patogenicidad los insectos morirían efectivamente por acción de *M. anisopliae* y no por falta de alimento u otro factor estresante. Se utiliza-

ron 10 repeticiones y 20 termitas por repetición. El indicador de supervivencia fue el porcentaje de termitas que permanecieron vivas por un periodo mayor a 15 días alimentándose exclusivamente del papel filtro.

Reactivación y cultivo del hongo. Las pruebas de patogenicidad se realizaron con el hongo *M. anisopliae* (M3C5), aislado de un coleóptero de la familia Melolonthidae, suministrado por el Laboratorio de Micología de la Universidad de Antioquia, Medellín (Colombia). La reactivación de *M. anisopliae* se realizó en obreras de *H. tenuis*. Se utilizaron dos métodos de infección: El primero realizando una aspersión sobre las termitas con una suspensión concentrada de 3×10^8 conidios/ml (Gutiérrez y Saldarriaga 2004) y un segundo método, exponiendo los insectos al ataque del hongo por invasión hifal en cajas de Petri de 9 cm de diámetro sobre medio de cultivo Saboroud Dextrosa Agar (SDA). Después de muertas las termitas por la invasión de *M. anisopliae* se transfirieron a cajas de Petri con papel filtro estéril humedecido, hasta que se lograba la invasión total del hongo potenciando así su patogenicidad. El hongo se reprodujo en los medios de cultivo: Papa Dextrosa Agar (PDA), y Saboroud Dextrosa Agar (SDA) y se incubó a una temperatura de 24°C entre 8 a 10 días.

Preparación de las suspensiones de inóculo. En un vaso de precipitado de 250 ml se vertieron 50 ml de agua destilada estéril, luego se le adicionaron las esporas del hongo con un asa estéril y se le agregaron dos gotas de Tween 80 al 0,05% para facilitar remoción del inóculo y obtener una solución homogénea. A partir de esta solución madre de esporas se prepararon las siguientes concentraciones (tratamientos): 1×10^1 , 1×10^3 , 3×10^5 , 1×10^7 y 3×10^8 conidios/ml, realizando los conteos mediante la cámara de Neubauer (Goettel y Inglis 1997). Se utilizó agua destilada estéril como tratamiento testigo, totalizando así seis tratamientos.

Pruebas de patogenicidad. Cada concentración de *M. anisopliae* se agregó en un vaso de precipitado estéril de 250 ml, luego se sumergió una lona 100% de algodón durante 5 minutos y a partir de la lona humedecida se impregnaron los insectos experimentales (método de inoculación tópica indirecta) (Gutiérrez *et al.* 2005).

Los ensayos se realizaron en termitas obreras de *H. tenuis* adaptando la metodología de Gutiérrez *et al.* (2005). En este sentido, se colocaron 10 ejemplares de termitas obreras en frascos de vidrio de 9 x 8 cm. En cada frasco se agregaron aproximadamente 25 ml de agar-arena (Staples y Milner 2000) y luego se adicionó la lona impregnada con las esporas del hongo y papel filtro estéril. Con el fin de cubrir la boquilla de cada frasco se empleó muselina sujeta por una banda elástica. Se realizaron cuatro repeticiones por cada concentración, cada repetición con 10 termitas y un lote de testigos (lona tratada con agua destilada estéril). En total se utilizaron 240 termitas. Los ensayos se realizaron bajo condiciones de oscuridad utilizando una incubadora a una temperatura de 28°C y humedad relativa de 74%.

Las termitas se observaron cada día, registrando los porcentajes de mortalidad, las muertas se trasladaron a cajas de Petri con papel filtro estéril humedecido y se colocaron en cámara húmeda e incubaron a temperatura ambiente (28°C) durante 10 días. Los insectos muertos y colonizados por el hongo se aclararon con KOH al 10% (Gutiérrez y Saldarriaga

2004) y montados en placas microscópicas. Se realizaron también placas coloreadas con azul de lactofenol con el fin de observar las diferentes estructuras hifales y verificar así la presencia e identidad del hongo (Goettel y Inglis 1997).

Análisis estadístico. La mortalidad diaria y acumulada de las termitas para cada concentración, se comparó mediante las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier siguiendo la prueba generalizada de Gehan. Utilizando estas curvas se calcularon también los TL_{50} (tiempo letal mediano) para cada concentración con el programa Statistica 7.0. Se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (H) con nivel de significancia del 5% para las variables supervivencia (%) y tiempo de supervivencia (días) con el fin de comparar los tratamientos. Se usó también la prueba *a posteriori* no paramétrica de comparaciones múltiples Student Newman Keuls al 5% de significancia. La CL_{50} (concentración letal mediana) se estimó por medio de una regresión lineal de logaritmo dosis-mortalidad empleando el programa Statgraphics Centurion XV.

Resultados y Discusión

Supervivencia de termitas en condiciones de laboratorio.

En el ensayo en cajas de Petri con papel filtro el 100% de las termitas permanecieron vivas por más de 15 días y se alimentaron durante todo el tiempo de la fuente de celulosa suministrada a través del papel filtro. Esta prueba permitió confirmar que las termitas durante los ensayos de patogenicidad murieron efectivamente por acción de *M. anisopliae* y no por inanición o estrés. Camargo-Dietrich y Costa-Leonardo (2000) dedujeron que los factores que influyen significativamente en la adaptación y el comportamiento de *H. tenuis* son muy complejos y parecen depender de características individuales como tamaño y edad de las castas escogidas y las condiciones ambientales. Por lo que la supervivencia de las termitas luego de 15 días en las condiciones antes señaladas reflejó un mínimo efecto de la condiciones de experimentación, atribuyendo por tanto sólo el efecto de las concentraciones patógenas de *M. anisopliae*.

Patogenicidad de *M. anisopliae* sobre *H. tenuis*. Las termitas tratadas con una menor concentración sobrevivieron por más tiempo que aquellas infectadas con una concentración mayor (Fig. 1). Se encontró que en el primer día después de la inoculación de *M. anisopliae* las termitas empezaron a morir ante las concentraciones 3×10^8 y 1×10^7 conidios/ml con unas mortalidades promedio de 17,5% y 10% respectivamente. En sexto día post-inoculación todas las termitas expuestas a la concentración 3×10^8 conidios/ml murieron. En el séptimo día murieron todas las termitas tratadas con la concentración 1×10^7 conidios/ml.

Para el segundo día post-inoculación con la concentración 3×10^5 conidios/ml se evidenció la muerte de termitas y el 100% de los individuos murieron al noveno día post-inoculación. Solo hasta el tercer día se observaron las primeras termitas muertas con el tratamiento 1×10^3 conidios/ml y toda la población murió al día 13. Al día quinto se presentaron las primeras termitas muertas con la concentración 1×10^1 conidios/ml, y sólo hasta el día 20 se registró la muerte de todas las termitas tratadas con esta concentración.

Se encontró diferencia en la supervivencia (%) de *H. tenuis* ($H_{5,81}=19,4$; $p < 0,05$) y en el tiempo de sobrevivencia

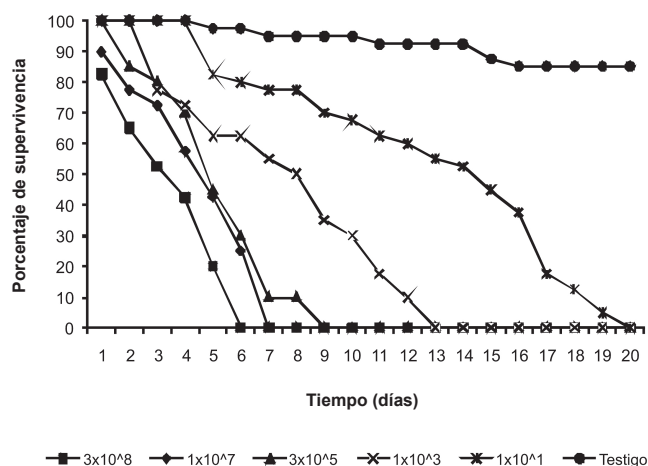


Figura 1. Evolución de la supervivencia de *H. tenuis* en presencia de *M. anisopliae* en función del tiempo y la concentración aplicada.

(días) ($H_{4,60}=14,0$; $p < 0,05$) entre los seis tratamientos. De acuerdo con la prueba *a posteriori* Student Newman Keuls, todas las concentraciones patógenas presentaron diferencias significativas respecto al tratamiento testigo. En particular, la máxima diferencia en la supervivencia y en el tiempo de supervivencia de *H. tenuis* se presentó entre las concentraciones 3×10^8 y 1×10^1 conidios/ml. El 100% de la muestra de termitas de *H. tenuis* fue eliminada a los seis días post-inoculación.

Resultados similares encontraron Gutiérrez *et al.* (2005), al evaluar en condiciones de laboratorio la patogenicidad de *M. anisopliae* sobre termitas *Microcerotermes* sp., concluyendo que la concentración 3×10^8 conidios/ml fue la más efectiva (mayor mortalidad y menor tiempo de supervivencia). Dong *et al.* (2007), demostraron la misma eficacia en una nueva variedad de *M. anisopliae* (*M. anisopliae* var. dcjhyium, DQ288247), obtenida y evaluada sobre *Odontotermes formosanus* Shiraki en condiciones de laboratorio; el nuevo aislamiento resultó ser muy infeccioso y virulento contra las termitas, causando el 100% de mortalidad en tres días post-inoculación a una concentración de 3×10^8 conidios/ml.

Moino y Alves (1998) evaluaron el efecto inhibitorio de algunos insecticidas como Imidacloprid y Fipronil sobre la capacidad patógena de *M. anisopliae* en *H. tenuis*, lo que permitiría también explicar por qué una misma concentración patógena posee mayor virulencia en un sitio y menor capacidad infecciosa en otro, toda vez que el efecto fue evaluado sobre la misma especie de termita.

Los individuos testigo que presentaron mortalidad, probablemente fueron resultado de la fragilidad natural de estos insectos que no permite someterlos a técnicas de asepsia previas a los ensayos (Tanada y Kaya 1993) ó a las condiciones propias de los ensayos que pueden causar estrés (Staples y Milner 2000). La técnica de aclaración con KOH al 10% permitió observar que las termitas testigo no mostraron invasión de sus tejidos por *M. anisopliae* ni por otros hongos contaminantes.

Capacidad de conidiación de *M. anisopliae* sobre cadáveres de *H. tenuis*. La aparición de micelio en los insectos varió en días y en los diferentes tratamientos. En cuatro de

cinco concentraciones patógenas se observó conidiación por el hongo *M. anisopliae* (Fig. 2). En particular, 74 de 200 termitas presentaron invasión micelial por *M. anisopliae* (Figs. 3A-D). Con el tratamiento 3×10^8 conidios/ml, *M. anisopliae* esporuló en el 100% de las termitas, al segundo día post-inoculación conidió el 12,5% de los insectos, al quinto día la mitad de la población y al octavo día el 100% de las termitas.

La germinación de *M. anisopliae* sobre las termitas sometidas a la concentración 1×10^7 conidios/ml sólo se evidenció al quinto día post-muerte y al octavo sólo germinó el 57,5%. Para las concentraciones 3×10^5 conidios/ml y 1×10^3 conidios/ml la conidiación no fue mayor al 30% de la muestra tratada. Las termitas inoculadas con la concentración 1×10^1 conidios/ml no presentaron conidiación. Se observó que una disminución en la concentración de conidias, implicó una menor la probabilidad de esporulación y de invasión sobre las termitas evaluadas.

Moino *et al.* (2002) estudiaron la duración de las diferentes fases de infección de *M. anisopliae* sobre *H. tenuis* usando microscopio electrónico de barrido y una única concentración patógena (1×10^9 conidios/ml). Estos autores encontraron que la adhesión conidial de *M. anisopliae* al integumento del insecto ocurrió inmediatamente después de la inoculación y entre las 0 y 6 horas, mientras que la germinación ocurrió entre las 12 y 24 horas después de la inoculación. La colonización de *M. anisopliae* ocurrió entre las 48 y 72 horas después de la inoculación. *M. anisopliae* mató a los insectos a las 48 y 72 horas después de la inoculación, y el micelio extruyente apareció entre las 48 y 120 horas después de la inoculación. La conidiogénesis apareció entre las 96 y 144 horas post-inoculación. El cadáver fue cubierto por las conidias de *M. anisopliae* 120 horas después de la inoculación. En este estudio, *M. anisopliae* con una concentración inferior (3×10^8 conidios/ml) a la utilizada por Moino *et al.* (2002), mató a los insectos en un rango de 24 a 144 horas después de la inoculación, es decir, que inició más rápido el proceso infeccioso pero tardó más tiempo el proceso invasivo de los insectos. El inicio del proceso de conidiación también fue más rápido (48 horas post-inoculación), sin embargo, una vez iniciado se prolongó más la aparición de conidias sobre los insectos infectados en un rango que osciló entre las 48 y las 192 horas post-inoculación.

Los resultados de Moino *et al.* (2002), muestran una mayor patogenicidad de la cepa evaluada (*M. anisopliae* E-9)

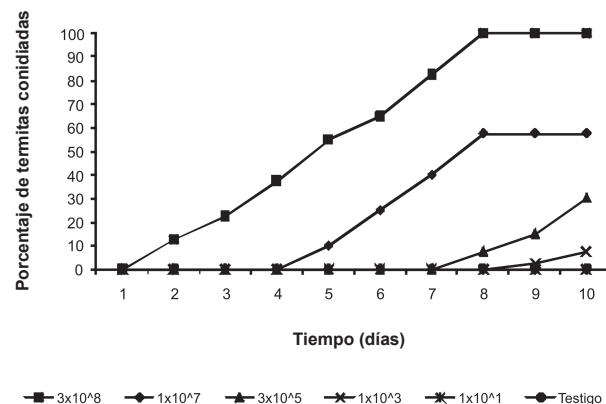


Figura 2. Evolución de la conidiación de *M. anisopliae* sobre termitas *H. tenuis* en función del tiempo y la concentración aplicada.

luego de las 48 horas post-inoculación en relación con el aislamiento probado en este estudio, inicialmente atribuible a la concentración patogénica empleada. Lo anterior, consideraría también la posibilidad de que las termitas *H. tenuis* asociadas a *H. brasiliensis* tengan una mayor resistencia a *M. anisopliae* debido al mayor rango en el tiempo de supervivencia observado en las diferentes concentraciones patogénicas.

Considerando el origen alóctono de la cepa utilizada en este estudio, se podría afirmar que la ausencia de interacción hospedero-parásito asociada a sustratos provenientes de tocones de caucho natural bajo las condiciones de la Amazonia colombiana, ha generado mejores ventajas adaptativas en *H. tenuis* para contrarrestar la patogenicidad de aislamientos alóctonos de *M. anisopliae*. Esto confirmaría la necesidad de probar aislamientos nativos con un mayor grado de virulencia y mejor potencial para la región. Sun *et al.* (2002) y Hajek y Leger (1994) afirmaron que el grado de patogenicidad de los entomopatógenos puede variar de acuerdo con el sustrato de procedencia, su nicho ecológico y sus condiciones fisiológicas y metabólicas.

En relación con las condiciones de infección que favorecieron la conidiación sobre *H. tenuis*, todos los tratamientos ocurrieron a una humedad relativa del 72%, lo que pudo favorecer la patogenicidad de *M. anisopliae* matando el 100% de los individuos de *H. tenuis* al séptimo día cuando se empleó la concentración de 1×10^7 conidios/ml. Ensayos realizados por Milner *et al.* (1997), donde se evaluó el efecto de la humedad en la germinación e infección de *M. anisopliae* sobre *Coptotermes acinaciformis froggatt*, permitieron apreciar que el hongo mató el 100% de termitas en seis días a una concentración 1×10^7 conidios/ml y una humedad relativa de 93% y 97,5%. Aunque en ambos estudios se empleó la misma concentración, la mortalidad registrada en el tiempo difiere por el grado de susceptibilidad de la especie y por la variación en la humedad relativa considerada en las pruebas de patogenicidad. En particular, Milner *et al.* (1997), establecieron

la necesidad de hacer pruebas con humedades relativas superiores al 86% para alcanzar mayores niveles de eficiencia en *M. anisopliae*.

Según Gutiérrez *et al.* (2005), el hecho que el hongo invada los cadáveres es trascendental ya que la posibilidad de la transmisión de la micosis a partir de termitas enfermas constituye una forma exitosa de acceder a partes de la colonia y al nido que no son accesibles por tratamiento directo. Ante esta aseveración debe considerarse que el éxito de las termitas (incluso las subterráneas) está dado por su comportamiento social, la limpieza que se hacen los individuos cuando son infectados por hongos, presencia de secreciones de defensa y el hábito de excluir a cadáveres e individuos enfermos de la colonia (Chouvenc *et al.* 2009a, 2009b; Torales *et al.* 2005; Myles 2002).

Mediante la técnica de aclaración y tinción del insecto, se verificó la presencia de *M. anisopliae* sobre *H. tenuis*. Los conidios se observaron sobre la cutícula, los palpos labiales, en las setas de la cabeza, setas maxilares y setas de las patas; las hifas se observaron invadiendo la cabeza y los tejidos del abdomen (Figs. 3B-D). Estas observaciones coinciden con los estudios realizados por Gutiérrez y Saldarriaga (2004) y Moino *et al.* (2002) quienes observaron la patogenicidad de *M. anisopliae* en *Nasutitermes* sp. y *H. tenuis* respectivamente. En ambos casos se encontró que el mecanismo de invasión y toxicidad del hongo es vía integumentaria, iniciándose con la adherencia de la espora a la cutícula y penetración al tejido graso, llevando a la muerte del insecto y posterior esporulación. Estos resultados también fueron confirmados por Chouvenc *et al.* (2009a) en termitas *Reticulitermes flavipes* (Kollar, 1837). St. Leger *et al.* (1988) informó que una enzima del grupo de las quimolastasas (Pr1) se encuentra implicada en la degradación cuticular. Tanada y Kaya (1993) observaron que *M. anisopliae* produce metabolitos secundarios como: destruxinas A, B, C, D, E y una desmetildestruxina B, los cuales son tóxicos y actúan como micotoxinas.

Concentración letal mediana (CL₅₀) y tiempo letal mediano (TL₅₀) de *M. anisopliae*. La concentración letal mediana (CL₅₀) para *M. anisopliae* fue de $9,64 \times 10^3$ conidios/ml en seis días con un intervalo de confianza del 95%. El tiempo de TL₅₀ fue de tres días para la concentración 3×10^8 conidios/ml, cinco días para las concentraciones 1×10^7 conidios/ml y 3×10^5 conidios/ml, ocho días para la concentración 1×10^3 conidios/ml y 14 días para la concentración 1×10^1 conidios/ml. Estos valores fueron inferiores a los registrados por Gutiérrez *et al.* (2005) quienes informaron un CL₅₀ fue de $0,69 \times 10^2$ conidios/ml en un tiempo de siete días y valores de TL₅₀ de cinco días para las concentraciones 1×10^3 y 3×10^5 conidios/ml y de tres días para la concentración 3×10^8 conidios/ml en termitas de *Microcerotermes* sp.

En este estudio, se observó que las termitas de *H. tenuis* son susceptibles a *M. anisopliae*, quien debe considerarse como un agente potencial de control microbiológico de termitas plaga asociadas a tocones a raíz desnuda del caucho natural y que debe ser evaluado en condiciones de campo (considerando aspectos propios del ecosistema, el aislamiento y la etología de las termitas) para valorar implementación dentro de un programa de manejo integrado de plagas (Dong *et al.* 2007; Myles 2002).

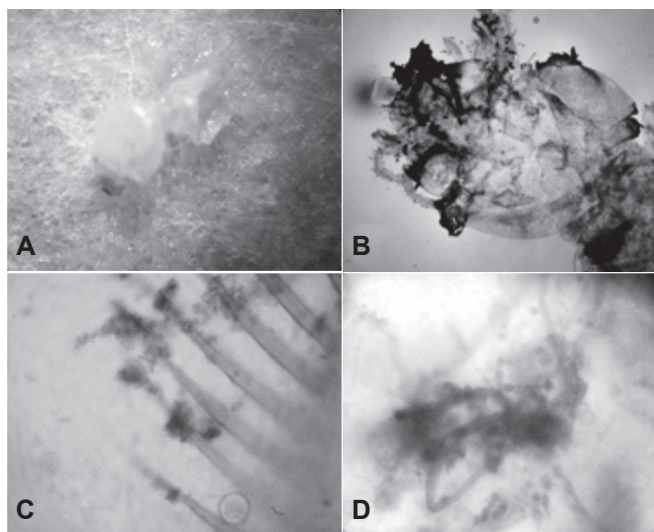


Figura 3. Presencia de *M. anisopliae* sobre *H. tenuis*. **A.** Integumento de una termita obrero con presencia de conidiación 10X. **B.** Conidios sobre la cabeza y las setas de la maxila 40X. **C.** Micelio invadiendo los tejidos de la región torácica 40X. **D.** Hifas y conidios diseminados en los tejidos del abdomen 100X.

Agradecimientos

Los autores agradecen al proyecto: Investigación en la cadena productiva del caucho natural entre la Universidad de la Amazonia y la Asociación de Reforestadores y Cultivadores de Caucho del Caquetá (ASOHECA) por el soporte económico a la presente investigación; al doctor Reginaldo Constantino por su colaboración en la verificación taxonómica de *H. tenuis*, al doctor Jaime Enrique Velásquez por sus comentarios en el desarrollo de la investigación, y al Grupo de Recursos Genéticos del Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI por la asesoría prestada en la fase de laboratorio.

Literatura citada

- ALBUQUERQUE, A.C.; PEREIRA, K.C.A.; CUNHA, F.M.; VEIGA, A.F.S.L.; ATHAYDE, A.C.R.; LIMA, E. A.L.A. 2005. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* Sobre *Nasutitermes coxiopensis* (Holmgren) (Isoptera: Termitidae). Neotropical Entomology 34 (4):585-591.
- ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B.; MOINO JR., A.; LOPES, R.B. 1998. Controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen) com iscas Termitrap impregnadas com inseticidas e associadas ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 27: 639-644.
- ASOHECA. ASOCIACIÓN DE REFORESTADORES Y CULTIVADORES DE CAUCHO DEL CAQUETÁ 2007. Plan Estratégico y de Negocios. Documento Técnico No 1. 30 p.
- ASOCIACIÓN DE REFORESTADORES Y CULTIVADORES DE CAUCHO DEL CAQUETÁ ASOHECA. 2009. Información estadística de caucho en el departamento del caqueta-2009. Documento técnico de agronegocios. 9 p.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B.; 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. New York. United States of America. 241 p.
- BUTT, T. M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. 2001. Fungi as Biocontrol Agents, progress, problems and potential. CABI publishing. London. England. 75 p.
- CAMARGO-DIETRICH, C.R.R.; COSTA-LEONARDO, A.M. 2000. Comportamento intra-específico do cupim *Heterotermes tenuis* (Hagen) (Isoptera, Rhinotermitidae) em condições de laboratório. Revista Brasileira. Zoologia 17 (2): 421-427.
- CAMPOS, M.B.S.; ALVES, S.B.; MACEDO, N. 1998. Seleção de iscas celulósicas para o cupim *Heterotermes tenuis* (isoptera: rhinotermitidae) em cultura de cana-de-açúcar. Scientia Agricola 55 (3): 480-484.
- CANCELLO, E.; MYLES, T. G. 2000. Isoptera. p. 285-305. En: Llorente, J.B.; Gonzalez, E.; García, A.N.; Papavero, N. (eds.). Biodiversidad, Taxonomía y Biogeografía de Artrópodos de México: Hacia una Síntesis de su conocimiento. México. 350 p.
- CHOUVENC, T.; SU, N-Y.; ELLIOT, M. 2008. Antifungal activity of the termite alkaloid norharmane against the mycelia growth of *Metarhizium anisopliae* and *Aspergillus nomius*. Journal of Invertebrate Pathology 99: 345-347.
- CHOUVENC, T.; SU, N-Y.; ROBERT, A. 2009a. Inhibition of *Metarhizium anisopliae* in the alimentary tract of the eastern subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. Journal of Invertebrate Pathology 101: 130-136.
- CHOUVENC, T.; SU, N-Y.; ROBERT, A. 2009b. Cellular encapsulation in the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes* (Isoptera), against infection by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology 101: 234-241.
- CONSTANTINO, R. 1991. Termites (Isoptera) from the lower Japurá River, Amazonas State, Brazil. Boletín del Museo Paraense Emilio Goeldi, séries Zoologia 7 (2): 189-224.
- CONSTANTINO, R. 2002. The pest termites of South American: Taxonomy, distribution and status. Journal of Applied Entomology. 126: 355-365.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. 1980. Compendium of soil fungi. Academic Press Ltd., London, England. 859 p.
- DONG, C.; ZHANG, J.; CHEN, W.; HUANG, H.; HU, Y. 2007. Characterization of a newly discovered China variety of *Metarhizium anisopliae* (*M. anisopliae* var. *dcjhyium*) for virulence to termites, isoenzyme, and phylogenetic analysis. Microbiological Research 162: 53-61.
- FARIA, M.; WRAIGHT, S.P. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. Crop Protection 20: 767-778.
- FAO (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN) 1970. Pest resistance to pesticide in agriculture. Importance, Recognition and Countermeasures. Rome: 32 p.
- FENG, M.G.; POPRAWSKI, T.J. 1999. Robustness of the time-dose-mortality model in bioassay data analysis of microbial control agents and chemical agents for insect control. Subtropical Plant Science 51: 36-38.
- FERRON, P. 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Annual Review of Entomology 23: 409-442.
- GARZÓN, F. 2000. Principales plagas y enfermedades en el cultivo del caucho (*Hevea brasiliensis*) con énfasis en la Amazonia Colombiana. Produmedios, Bogota. 63 p.
- GOETTEL, M.; INGLIS, G. D. 1997. Fungi Hyphomycetes. p. 213-249. En: Lacey, L. (ed.). Manual of techniques in insect pathology. Academic Press. London. Great Britain.
- GUTIÉRREZ, A. I.; SILDARRIAGA, Y. 2004. Observación de la patogenicidad de *Metarhizium anisopliae* en soldados *Nasutitermes* sp. (Isoptera: Termitidae). Revista Colombiana de Entomología 30 (2): 151-156.
- GUTIÉRREZ, A. I.; SILDARRIAGA, Y.; URIBE, S.; ZULUAGA, M.; PINEDA, F. 2005. Patogenicidad de *Paecilomyces lilacinus* y *Metarhizium anisopliae* sobre termitas *Microcerotermes* sp. (Isoptera: Termitidae). Revista Colombiana de Entomología 31 (1): 9-14.
- HAJEK, A.E.; LEGER, R.J., 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annual Review of Entomology 39: 293-322.
- HERRERA, T.; ULLOA, M. 1990. El reino de los hongos, Micología básica y aplicada. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de cultura económica. S.A. México D.F. 975 p.
- IGAC (INSTITUTO GEOGRAFICO AGUSTIN CODAZZI). 1993. Aspectos ambientales para el ordenamiento territorial de occidente del Departamento del Caquetá. Tomo VI. Bogotá, Colombia. 673 p.
- KIFFER, E.; MORELET, M. 2000. The Deuteromycetes, Mitosporic Fungi, Classification and Generic keys. Science publishers Inc. United States of America. 195 p.
- LIGHT, S. F. 1946. Habitat and habit types of Termites and their economic significance. p. 136-149. En: Kofoid, C. A.; Light, S. F.; Horner, A. C.; Herms, W. B.; Bowe, E. (Eds.). Termites and Termite control. University of California Press. s.p.
- MADRIGAL, A. 2003. Insectos Forestales en Colombia. Biología, Hábitos Ecología y Manejo. Ed. Marin Vieco Ltda. 593 p.
- MÁRQUEZ, J. 2006. Biología básica de termitas subterráneas que afectan caña de azúcar. Boletín caña Cañamip No. 9. Gengicaña. Guatemala. 9 p.
- MILL, A. 1991. Termites as structural pests in Amazonia, Brazil. Sociobiology 19 (2): 339-348.
- MILNER, R. J. 1992. Selection and characterization of strains of *Metarhizium anisopliae* for control of soil insects in Australia. p. 200-207. En: Lomer, C. J.; Prior, C. (eds.). Biological Con-

- trol of Locusts and Grasshoppers. CAB Int. London. England. 392 p.
- MILNER, R. J.; STAPLES, J. A.; LUTTON, G. G. 1997. The Effect of Humidity on Germination and Infection of Termites by the Hyphomycete, *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology 69: 64-69.
- MOINO, A. JR., ALVES, S.B. 1998. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil 27: 611-620.
- MOINO, A. JR.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; OLIVEIRA, P.M.; NEVES, J.; PEREIRA R.M.; VIEIRA, S.A. 2002. External development of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the subterranean termite *Heterotermes tenuis*. Scientia agricola 59 (2): 267-273.
- MYLES, T.G. 2002. Laboratory studies on the transmission of *Metarhizium anisopliae* in the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae), with a method for applying appropriate doses of conidia to trapped termites for release. Sociobiology 40 (2): 9-21.
- SALDARRIAGA, Y.; PINEDA, F. 2001. Manual de micología aplicada. Ciencia y tecnología. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia. 103 p.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C. 2004. Introduction to food- and airborne fungi. Institute of the Royal Netherlands, Academic of the Arts and Sciences. London. England. 248 p.
- SHI, W-B.; FENG, M-G. 2004. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. Biological Control 30: 165-173.
- STAPLES, J. A.; MILNER, R. J. A. 2000. Laboratory evaluation of the repellency of *Metarhizium anisopliae* conidia to *Coptotermes lacteus* (Isoptera: Rhinotermitidae). Sociobiology 36 (1): 133-148.
- ST. LEGER, R.J.; DURRANDS, P.K.; CHARNLEY, A.K.; COOPER, R.M. 1988. Role of extracellular chymoelastase in the virulence of *Metarhizium anisopliae* for *Manduca sexta*. Journal of Invertebrate Pathology 52:285-293.
- SUN, Y.; BAN, P. M.; SCHEFFRAHN, R. H. 2002. Control of subterranean termite populations at San Cristóbal and El Morro, San Juan National Historic Site. Journal of Cultural Heritage 3: 217-225.
- SUN, J.; JAMES, R.F.; HENDERSON, G. 2003. Effects of virulence, sporulation, and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* laboratory transmission in *Coptotermes formosanus*. Journal of Invertebrate Pathology 84:38-46.
- TANADA, Y.; KAYA, H. K. 1993. Insect pathology. Academic Press, Harcourt Brace Javanovich 328 p.
- TAKUYA, A.; MASAHICO H. 2001. Isoptera. Encyclopedia of Biodiversity. Academic Press. 611 p.
- TORALES, J. G.; CORONEL, J. M.; FONTANA, L. J.; LAFFONT, R. E. 2005. Composición Faunística y Distribución de Isoptera (Insecta) del Litoral. Miscelánea 14: 259-280.
- WANG, C.; POWELL, J. E. 2004. Cellulose bait improves the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* as a microbial control of termites (Isoptera: Rhinotermitidae). Biological Control 30: 523-529.
- WOLFF, M. 2006. Insectos de Colombia. Editor Multimpresos Ltda. Medellín, Colombia. 460 p.

Recibido: 2-nov-2010 • Aceptado 26-abr-2011

Ciclo de vida y patogenicidad del aislamiento nativo *Heterorhabditis* sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae)

Life cycle and pathogenicity of native isolate *Heterorhabditis* sp. SL0708 (Rhabditida: Heterorhabditidae)

ADRIANA SÁENZ A.¹ y JUAN CARLOS LÓPEZ N.²

Resumen: Los nemátodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* son importantes agentes para el control biológico de plagas. Se determinó la patogenicidad, sintomatología, multiplicación *in vivo* y ciclo de vida en larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) de un nematodo aislado en Alcalá, Valle del Cauca, Colombia denominado *Heterorhabditis* sp. SL0708. Se procesaron muestras de 1.000 cm³ de suelo recolectadas en pastos, café, plátano y guadua. Para establecer su virulencia se realizó un bioensayo uno a uno. A las 120 horas de infección, 20 larvas se mantuvieron en incubación para registrar la producción acumulada de juveniles infectivos (JI). El ciclo de vida general y porcentaje de penetración se determinaron disectando 100 larvas a las 8, 12 y luego cada 24 horas por 19 días. Las muestras de suelo provenientes de guadua presentaron una mortalidad por JI del 84% entre las 24 y 72 horas de exposición. La sintomatología exhibida por las larvas fue típica de las especies del género *Heterorhabditis*. El porcentaje de penetración fue del 35% (10-80%), el cual corresponde a un ingreso de uno a ocho JI en 24 horas. El ciclo de vida de *Heterorhabditis* sp. SL0708 comprende un ciclo largo de dos generaciones y un ciclo corto de una generación. Este nematodo nativo presenta ocho estados de desarrollo: huevo, cuatro estados juveniles (J1, J2, J3-JI, J4) separados por mudas, y adultos hermafroditas, machos y hembras. El ciclo tuvo una duración de 19 días desde la infección hasta la recuperación de JI y cada larva produjo en promedio 200.000 JI.

Palabras clave: Nematodo entomopatógeno. Hermafrodita. Amfimíctico.

Abstract: Entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis* are important agents for the biological control of pests. We determined the pathogenicity, symptomatology, *in vivo* multiplication and life cycle in larvae of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) for a nematode isolated from Alcalá, Valle del Cauca, Colombia called *Heterorhabditis* sp. SL0708. A sample of 1000 cm³ of soil collected from grass, coffee, plantain and guadua was processed. To establish virulence, a one-to-one bioassay was conducted. At 120 hours after infection, 20 larvae were kept in incubation to record the accumulated production of infective juveniles (IJ). The general life cycle and the percentage of penetration were determined by dissecting 100 larvae every 8, 12 and thereafter 24 hours for 19 days. The soil samples from bamboo presented a mortality of IJ of 84% IJ between 24 and 72 hours after exposure. The symptomatology exhibited by the larvae was typical of species from the genus *Heterorhabditis*. Percent penetration was 35% (10-80%), which corresponds to the entrance of one to eight IJ in 24 hours. The life cycle of *Heterorhabditis* sp. SL0708 consists of a long cycle of two generations and a short cycle of one generation. This native nematode has eight developmental stages: egg, four juvenile stages (J1 J2, J3-J4) separated by moltings, and adult hermaphrodites, males and females. The cycle had a duration of 19 days from infection to IJ recovery and each larva produced an average of 200,000 IJ.

Key words: Entomopathogenic nematode. Hermaphrodite. Amphimictic.

Introducción

La atención sobre los nematodos parásitos de insectos se ha incrementado en las dos últimas décadas, ya que resultados de miles investigaciones en el mundo los presentan como agentes promisorios para el control de insectos, moluscos, nematodos de plantas y algunos patógenos de plantas que se encuentran en el suelo (Grewal *et al.* 2005). Los nematodos entomopatógenos poseen características como gran capacidad de adaptación a nuevos ambientes y a condiciones adversas, resistencia a productos químicos, alta especificidad por insectos, inocuidad al ambiente y mamíferos y compatibilidad con otros entomopatógenos, resaltando su importancia en programas de manejo integrado de plagas (Sáenz 2005).

Los nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis* son agentes importantes para el control biológico de plagas. Viven en el suelo y son parásitos capaces de infectar la mayoría de órdenes y familias de insectos (Klein 1990). Los heterorhabditidos tienen un complejo ciclo de

vida que incluye generaciones hermafroditas y amfimícticas que ocurren dentro del hospedero parasitado muchas veces y superponiéndose (Burnell y Stock 2000). Una característica particular de las especies de este género es que guardan una relación mutualista con un simbiote bacteriano del género *Photorhabdus* (Enterobacteriaceae) que alojan en su intestino. Esta relación le da una ventaja competitiva al parásito pues mata a su hospedero durante las primeras 24 a 48 horas después de infección (Bennett y Clarke 2005).

El estado infectivo de los heterorhabditidos no se alimenta, está morfológica y fisiológicamente adaptado para la dispersión, sobrevivir largos periodos en el suelo, buscar e infectar su hospedero. Este estado es conocido como juvenil infectivo (JI). Los JI de los heterorhabditidos responden al insecto hospedero en el suelo por quimiotaxis. Los JI ingresan al insecto a través de aberturas naturales (boca, ano, espiráculos) o penetran las membranas intersegmentales del hospedero mediante un diente en la parte anterior. Una vez en el hemocele del insecto, los JI liberan sus bacterias sim-

¹ M.Sc. Profesor Asistente Unidad de Ecología y Sistemática UNESIS. Departamento de Biología. Pontificia Universidad Javeriana. Cra 7ª No 43-82 Ed 54 (Jesús Emilio Ramírez), Of. 200. adriana.saenz@javeriana.edu.co. Autora para correspondencia. ² Microbiólogo. Investigador Científico I. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafe. juancarlos.lopez@cafedecolombia.com.

biontes, las cuales se multiplican rápidamente secretando toxinas y enzimas líticas. Estas secreciones son letales para los insectos que mueren dentro de las 48 horas (Forst *et al.* 1997). Las células bacterianas y tejidos del hospedero proporcionan un medio rico para el crecimiento y reproducción de *Heterorhabditis*. Los nematodos pueden desarrollar dos o tres generaciones dentro del hospedero y emerger al suelo en dos semanas (Akhurst y Bedding 1986).

Aunque los registros mundiales sobre el número de especies de este género son limitados y reportan 12 especies descritas hasta el momento (López 2008), en Colombia sólo se ha registrado *H. bacteriophora* Poinar, 1976. Es así como el objetivo del presente estudio, fue determinar la patogenicidad, sintomatología, multiplicación *in vivo* y ciclo de vida en larvas de *Galleria mellonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) de un nematodo aislado en Alcalá, Valle del Cauca, el cual se denominó *Heterorhabditis* sp. SL0708, el cual se encuentra en descripción morfológica, ecológica y molecular.

Materiales y Métodos

Aislamiento, patogenicidad, sintomatología, virulencia y producción. En el laboratorio de control biológico de la Pontificia Universidad Javeriana, se procesaron muestras de 1 Kg de suelo recolectadas en pasto (*Brachiaria* sp.), café (*Coffea arabica* L), plátano (*Musa* sp.) y guadua (*Guadua angustifolia* Kunth) en la vereda el Congal, Alcalá-Valle del Cauca, Colombia (4°40'38"N 75°47'15"W). Para el aislamiento de nematodos entomopatógenos se utilizó la metodología de insecto trampa, descrita por Bedding (1984) y Kaya y Stock (1997). Para todas las muestras con nematodos, se aplicaron los postulados de Koch, efectuando infecciones en 10 larvas de *G. mellonella* en cajas Petri con papel filtro Whatman #1 en una dosis de 1000 JI/ml. Se utilizaron 10 repeticiones y como testigo agua estéril libre de nematodos. Las cajas se sellaron, etiquetaron y se mantuvieron a 20±2°C bajo oscuridad, registrando el porcentaje de mortalidad diariamente hasta las 120 horas después de la inoculación. Igualmente se describió la sintomatología de las larvas infectadas.

Para determinar la virulencia de los nematodos aislados, se realizó un bioensayo uno a uno (Ricci *et al.* 1996), en cajas multipozos Falcon™ de 24 celdas de 1 cm de diámetro, se individualizaron larvas de *G. mellonella* expuestas a 1 JI inoculado en 25 µl. A las 120 horas de infección, 20 larvas se disectaron para confirmar la formación de adultos de primera generación y las 20 larvas restantes se mantuvieron a 20±2°C para registrar la producción acumulada de JI, contabilizando diariamente la emergencia hasta el agotamiento total de las larvas de *G. mellonella*.

Ciclo de vida del aislamiento nativo. Para establecer el ciclo de vida general y el porcentaje de penetración del aislamiento nativo SL0708 y confirmar la presencia de un ciclo corto de una generación y uno largo de dos o tres generaciones, se expusieron 160 larvas individuales de *G. mellonella* a 10 JI en cajas de petri con papel filtro previamente humedecido y mantenidas a 20±2 °C. Diez larvas fueron disectadas a las ocho, 12 y luego cada 24 horas en cajas de petri de 60x15mm y lavadas con solución Ringer hasta completar el ciclo de vida del nematodo y confirmar la presencia de cada estado de desarrollo. El reconocimiento de cada fase se realizó con

montaje en placa siguiendo las recomendaciones de Kaya y Stock (1997).

Resultados y Discusión

Aislamiento, patogenicidad, sintomatología, virulencia y producción. Utilizando la técnica de insecto trampa, resultaron positivas 10 trampas provenientes de guadua de Alcalá-Valle del Cauca, con porcentajes de mortalidad del 16% después de 24 horas y 84% después de 72 horas de expuestas las larvas de último instar de *G. mellonella*. Las larvas expuestas a los suelos provenientes de pasto, café y plátano no registraron mortalidad.

El suelo de guadua se caracterizó como franco-arenoso (F-An) con porcentajes de arena de 68,7%, arcilla 12,8%, limo 19,8%; pH 4.76 y materia orgánica de 4,60%. Patel *et al.* (1997) determinaron que este tipo de suelo permite la persistencia y la dispersión de JI, variando ampliamente frente a estas características de manera inter e intraespecífica con sobrevivencia y eficacia en parasitismo. Sin embargo, valores de pH del suelo extremos (11 ó 3) limitan su capacidad de infección pero no su viabilidad y humedades extremas; además de afectar su viabilidad y establecimiento debido al desecamiento del JI, éstas pueden dificultar su movilidad ya que suelos muy saturados dificultan el desplazamiento y la capacidad de búsqueda del huésped y generan condiciones anaerobias que reducen su viabilidad (Johnigk y Ehlers 1999; Koppenhofer *et al.* 1997).

La sintomatología exhibida por las larvas de *G. mellonella* fue cuerpo flácido y no putrefacto, el 90% de las larvas presentó coloración roja o vinotinto, característica presente en infecciones por especies de la familia Heterorhabditidae. Una característica para destacar es que el 10% de las larvas infectadas durante las primeras 48h presentan una coloración que va desde el amarillo, pasando por anaranjado hasta color marrón claro, sin que deje de finalizar con una coloración típica vinotinto a las 160 horas. Este tipo de coloración, sintomatología y presencia de generaciones hermafroditas y amfimícticas en el mismo huésped, determinaron que el aislamiento SL0708 proveniente de Alcalá-Valle del Cauca como perteneciente al género *Heterorhabditis*. El género *Heterorhabditis* y la familia Heterorhabditidae fueron descritas por Poinar (1975) con *H. bacteriophora*, como especie tipo, la cual fue aislada de larvas del noctuidae *Heliothis punctigera* (Wallengren, 1860) al sur de Australia. Se han publicado para Colombia dos registros para la ciencia de especies no descritas del género *Heterorhabditis* aislados de suelo cultivado con café en Fresno, Tolima (López *et al.* 2007). Estas dos especies y el reciente aislamiento de *Heterorhabditis* sp., se encuentran en proceso de identificación específica.

La prueba de patogenicidad con los JI de *Heterorhabditis* sp. SL0708 recuperados de larvas de *G. mellonella* de trampas Bedding, mostró 96% de mortalidad entre las 24 y 72 horas, exhibiendo la sintomatología descrita anteriormente. Este porcentaje de mortalidad es similar al registrado por otros aislamientos analizados por Burnell y Stock (2000) y Adams *et al.* (2006). La prueba de virulencia arrojó un porcentaje de mortalidad del 82% entre las 24 y 72 horas, considerando al aislamiento SL0708 virulento, lo cual es similar a lo reportado por Dix *et al.* (1992), Molina y López (2001) y Andalo *et al.* (2006), con especies del mismo género. No obstante la diferencia en el porcentaje de mortalidad de la

prueba de patogenicidad y virulencia está determinada por el número de JI al cual se expone el hospedero (100JI vs 1JI respectivamente), capacidad y comportamiento de búsqueda y porcentaje de invasión en el hospedero, como lo establece Campbell y Kaya (1999) y Sáenz y Luque (2000).

Las larvas muertas por el aislamiento nativo *Heterorhabditis* sp. SL0708 y disectadas a las 120 horas posterior a la infección, mostraron adultos hermafroditas de primera generación (Fig. 1A), confirmando que el aislamiento SL0708 corresponde al género *Heterorhabditis*. En cuanto a la producción acumulada de JI, se inicia después de los 15 días de infección, recuperando en promedio 10.414 JI (10.414-17.784) y con producción total de 150.000 a 280.000 JI/larva de *G. mellonella* hasta el agotamiento del hospedero, siendo el quinto y sexto día, los de mayor recuperación de JI (Fig. 2). Esta diferenciación en producción de JI se debe principalmente al proceso de infección, el cual involucra el ingreso al hospedero por el ano, boca, espiráculos o cutícula, número de JI que ingresan por hospedero, penetración hasta la hemolinfa del insecto, liberación y propagación de las bacterias antes de iniciarse el desarrollo de *Heterorhabditis* sp. SL0708; resultados similares ofrecen con *H. bacteriophora* Flanders *et al.* (1996), Wang y Bedding (1996), Boff *et al.* (2000), Shapiro-Ilan *et al.* (2002).

Ciclo de vida. El porcentaje de penetración de *Heterorhabditis* sp. SL0708 fue del 35% (10-80%), el cual corresponde a un ingreso de uno a ocho JI en un periodo de 24 horas. Este porcentaje es alto respecto a lo reportado para *H. bacteriophora* que presenta un rango de 2,7-12,3% (Caroli *et al.* 1996) pero es similar al encontrado para las especies *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) (27,8-63,5) y *S. riobravae* Cabanillas, Poinar y Raulston, 1994 (30,1-53,7) (Caroli *et al.* 1996; Ricci *et al.* 1996).

La disección de las larvas inoculadas mostró que el JI de vida libre aplicado a las larvas de último instar de *G. mellonella* invade por la boca, ano, espiráculos o las membranas intersegmentales del insecto usando el diente dorsal, esta última forma de penetración se observó en pocas larvas. Posteriormente penetra la pared del sistema digestivo y entra a la cavidad corporal. La mayoría de los JI se acumula en la cápsula cefálica y parte posterior del intestino. El JI, antes de mudar al próximo estado juvenil, inicia su desarrollo incrementando la longitud total del cuerpo y estoma; este proceso toma entre 8 a 14 horas.

Heterorhabditis sp. SL0708 presenta dos ciclos uno largo con dos generaciones y uno corto con una generación pero esto depende del número de JI que inicialmente invade el hospedero y la disponibilidad de nutrientes para los estados

de desarrollo. Este nematodo nativo presenta ocho estados de desarrollo: huevo, cuatro estados juveniles (J1, J2, J3-JI, J4), separados por mudas y adultos hermafroditas, machos y hembras. Todos los estados son morfológicamente distintos.

Catorce horas después de haber ingresado al hospedero, el estoma del JI se abre gradualmente, el esófago incluyendo el bulbo basal, se expande y las glándulas excretoras incrementan su tamaño. Las bacterias simbiotes, localizadas a lo largo del intestino son regurgitadas en el hemocoele de las larvas de *G. mellonella*, matándola entre 24 y 72 horas. A las 48 horas muda a J4 o preadultos hermafroditas lo que se inicia con el desprendimiento anterior de la cutícula (Fig. 1B), rompimiento de la cutícula posteriormente y el nematodo sale. El ancho del cuerpo de los J4 se incrementa más rápido que en longitud, hasta alcanzar casi el ancho y la longitud del adulto. Durante este tiempo, el ducto excretor llega a ser largo y se ha formado el sistema reproductor (Johnigk y Ehlers 1999).

El J4 muda formando la primera generación de adultos hermafroditas jóvenes entre las 68 y 72 horas después de la inoculación. Se caracterizan por tener órganos reproductivos (ovarios, oviductos) visibles en sus cuerpos semitransparentes y vulva no desarrollada (Fig. 1C). Al madurar en un periodo de 18 a 22 horas, las hembras hermafroditas están llenas de huevos y su vulva es sobresaliente (Fig. 1D). Los huevos son transparentes y ovals, descienden dentro del útero y son fertilizados por el esperma localizado en el *receptaculum seminis* que está ubicado entre el ovario y útero y dirigiéndose hacia el centro del útero (Fig. 3A). Los huevos maduros se observan entre las 90-94 horas, se localizan cerca a la abertura de la vulva (Fig. 3B) y en su interior se visualiza el primer estado juvenil (J1) (Fig. 3C). Esto coincide con los resultados de Johnigk y Ehlers (1999) con *Heterorhabditis* spp. en estudios sobre periodos de puesta por hermafroditas. Los J1 se encuentran en el hemocoele del insecto y en el interior de algunos hermafroditas desarrollados tardíamente, esto último se conoce como endotokia matricial (Fig. 3D) (Lordello 1951).

Los J1 son transparentes (Fig. 3E) y muestran movimientos lentos, se alimentan y 10 horas después mudan a J2 (Fig. 3F), los cuales son parcialmente transparentes por la acumulación de nutrientes almacenados. Entre las 94-120 horas, algunos J1 pasan a J2 dentro de los adultos hermafroditas, rompiendo la cutícula de la madre y aproximadamente a las 144 horas pasan a J3 (Fig. 3G) pero si no hay suficientes nutrientes los J3 retienen la cutícula del estadio anterior (J2) que le sirve como protección, llevan células bacterianas de su simbionte, cierran boca, ano y dejan el cadáver del hospedero, en este caso se completa el ciclo de vida corto y este estadio es conocido como juvenil infectivo (JI) (Fig. 3H).

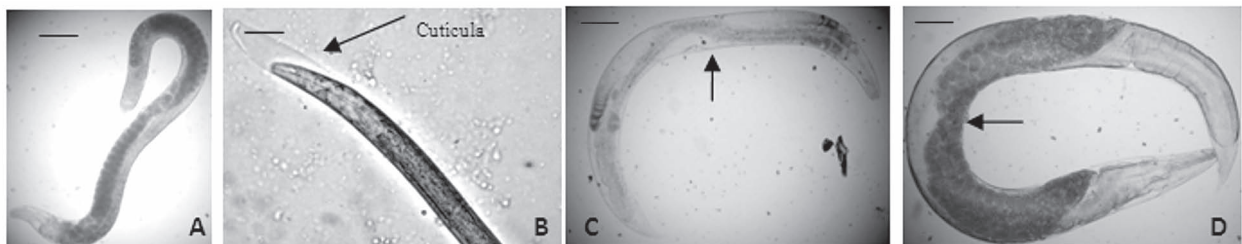


Figura 1. Estados de desarrollo de la primera generación de *Heterorhabditis* sp. SL0708. A. Adulto hermafrodita. B. Desprendimiento anterior en el proceso de muda de un J4. C. Hermafrodita juvenil sin desarrollo de la vulva. D. Hermafrodita madura con vulva desarrollada. (Barras de escala A, C, D=100µm; B=40µm).

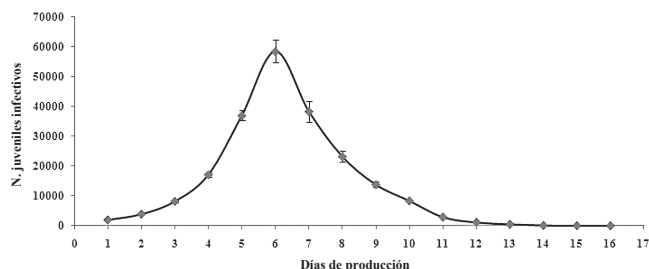


Figura 2. Producción de JI de *Heterorhabditis* sp. SL0708 hasta el agotamiento del cadáver.

Los J3 que no emergen del hospedero continúan con el ciclo de vida largo y mudan a J4 o preadultos a las 168 horas. Los adultos de la segunda generación son hembras y machos amfimícticos que aparecen a las 185 horas (Figs. 3I-J). Estos son más pequeños que los adultos hermafroditas de primera generación. Las hembras amfimícticas desarrollan en su interior los huevos y en aproximadamente 204 horas forman los primeros J1 que pasan a J2 entre las 230-254 horas y finalmente forman los J3 a las 278 horas, los cuales conservan la cutícula del J2 y abandonan el cadáver como JI. La emergencia de los JI está determinada por la disponibilidad de nutrientes ofrecidos por el hospedero que permite otra generación, para el caso de *Heterorhabditis* sp. SL0708 se completa en 456 horas, es decir 19 días bajo las condiciones experimentales trabajadas. Diferentes autores confirman que el ciclo de vida y número de generaciones de los nematodos entomopatógenos en un hospedero depende de la densidad poblacional de la primera y segunda generación, disponibi-

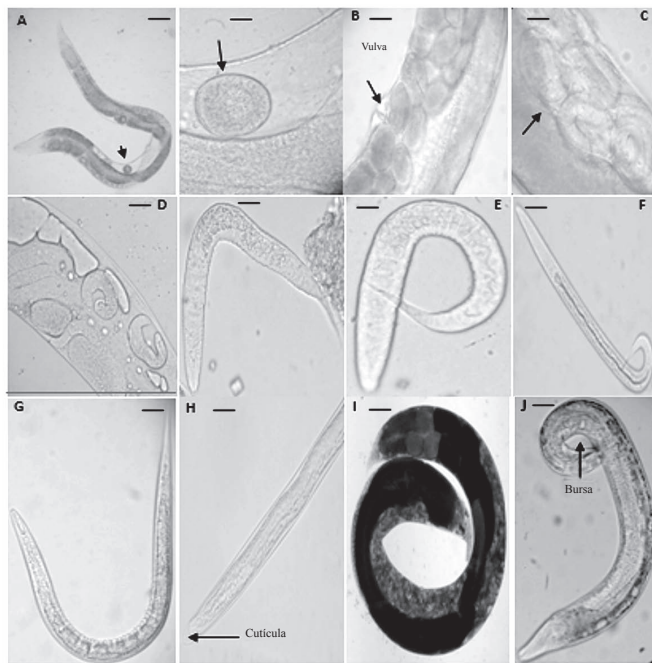


Figura 3. Estados de desarrollo de *Heterorhabditis* sp. SL0708. **A.** Desplazamiento del huevo dentro del útero de hembra no gravida. **B.** Huevos maduros cerca a la abertura de la vulva. **C.** Huevos con desarrollo del J1. **D.** Proceso de endotokia matricida. **E.** J1. **F.** J2. **G.** J3. **H.** Juvenil infectivo conservando la cutícula del J2. **I.** Hembra. **J.** Macho con bursa expuesta. (Barras de escala en A=100 µm (izquierda), 25µm (derecha); B-C-D=40µm; E=10µm; F-G-H=33µm; I-J=100µm).

lidad de alimento y tamaño del hospedero (Sáenz y Luque 2000; Ciche *et al.* 2007).

Conclusiones

Las características sintomatológicas presentadas por las larvas entre las 72 y 120 horas después de infección por el aislamiento nativo de *Heterorhabditis* sp., sugieren que se mantiene una asociación bacteriana con una especie de *Photobacterium*. Además las diferentes coloraciones exhibidas por las larvas de *G. mellonella*, son atribuibles a la concentración de células bacterianas a lo largo del intestino del JI, pigmentos producidos por las bacterias y número de JI que ingresan al hospedero. La evidencia mostrada en el presente estudio acerca de la patogenicidad, virulencia y ciclo de vida del nematodo entomopatógeno nativo *Heterorhabditis* sp. SL0708, es importante para orientar estudios sobre su potencial reproductivo, genética y uso potencial para el control de diferentes insectos plaga que afectan la agricultura del país.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los propietarios de la finca el Topacio por permitir el acceso a las zonas de estudio y a la estudiante Natalia Naranjo de la carrera de biología por la toma de las muestras.

Literatura citada

- ADAMS, B. J.; FODOR, A.; KOPPENHOFER, H. S.; STACKE-BRANDT, E.; STOCK, P.; KLEIN, M. 2006. Biodiversity and systematics of nematode-bacterium entomopathogens. *Biological Control* 37: 32-49.
- AKHURST, R.; BEDDING, R.A. 1986. Natural occurrence of insect parasitic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae) in soil in Australia. *Journal of the Australian Entomological Society* 25 241-244.
- ANDALO, V.; NGUYEN, K. B.; MOINO, J. 2006. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brasil. *Nematology* 8 (6): 853-867.
- BEDDING, R. A. 1984. Large-scale production, store and transport of the insect parasitic nematodes *Neoalectana* sp and *Heterorhabditis*. *Annals of Applied Biology* 101: 117-120.
- BENNETT, H. P.; CLARKE, D. J. 2005. The pbgPE operon in *Photobacterium luminescens* is required for pathogenicity and symbiosis. *Journal. Bacteriology* 187 77-84.
- BOFF, M. I. C.; WIEGERS, G. L.; GERRITSEN, L. J. M.; SMITS, P. H. 2000. Development of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis* strain NLH-E 87,3 in *Galleria mellonella*. *Nematology* 2 303-308.
- BURNELL, A. M.; STOCK, S. P. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts lethal pathogens of insects. *Nematology* 2 (1): 31-42.
- CAMPBELL, J. F.; KAYA, H. K. 1999. How and why a parasitic nematode jumps. *Nature* 397: 485-486.
- CAROLI, L.; GLAZER, I.; GAUGLER, R. 1996. Entomopathogenic nematode infectivity assay: multi variable comparison of penetration into different hosts. *Biocontrol Science and Technology* 6 227-233.
- CICHE, T. A.; DARBY, C.; EHLERS, R.; FORST, S.; GOODRICH-BLAIR, H. 2007. Dangerous liaisons: The symbiosis of entomopathogenic nematodes and bacteria. *Biological Control* 38 22-46.
- DIX, I.; BURNELL, A. M.; GRIFFIN, C. T.; JOYCE, S. A.; NUGENT, J. M. 1992. The identification of biological species in the genus *Heterorhabditis* (Nematoda: Heterorhabditidae) by

- cross breeding second generation amphimictic adults. *Parasitology* 104: 509-518.
- FLANDERS, K.L.; MILLER, J. M.; SHIELDS, E. J. 1996. In vivo production of *Heterorhabditis bacteriophora* 'Oswego' (Rhabditida: Heterorhabditidae), a potential biological control agent for soil-inhabiting insects in temperate regions. *Journal of Economic Entomology* 89 373-380.
- FORST, S.; DOWDS, B.; BOEMARE, N.; STACHEBRANDT, E. 1997. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp. Bugs that kill bugs. *Annual Review of Microbiology* 51 47-72.
- GREWAL, P. S.; KOPPENHOFER, A. M.; CHOO, H.Y. 2005. Lawn, turfgrass and pasture applications, pp. 115-146. En: Grewal, P. S.; Ehlers, R.-U.; Shapiro-Ilan, D. (eds). *Nematodes as biocontrol agents*. CABI, New York, USA.
- JOHNIGK, S. A.; EHLERS, R. 1999. Juvenile development and life cycle of *Heterorhabditis bacteriophora* and *H. indica* (Nematoda Heterorhabditidae). *Nematology* 1: 251-260.
- KAYA, H. K.; STOCK, S. P. 1997. Techniques of insect nematology. Chapter VI. In: *Manual of techniques in insect pathology*. Lacey L. (Ed). *Biological Techniques Series*. Academic Press, San Diego (Estados Unidos), 409 p.
- KLEIN, M. G. 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pest, pp. 195-210. En: Gaugler, R.; Kaya, H. K. (eds). *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- KOPPENHOFER, A. M.; BAUR, M.; STOCK, P.; CHOO, H.; CHINNASRI, B.; KAYA, H. K. 1997. Survival of entomopathogenic nematodes within host cadavers in dry soil. *Applied Soil Ecology* 6: 231-240.
- LÓPEZ, N. J.; CANO, L.; GONGORA, C.E.; STOCK, S. P. 2007. Diversity and evolutionary relationships of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from the central Andean region of Colombia. *Nematology* 9 (3): 333-341.
- LÓPEZ, N. J.C. 2008. Nematodos para el control de insectos plaga, pp. 150-183. En: Bustillo, A. (ed). *Los insectos y su manejo en la caficultura colombiana*. Chinchina (Colombia). Cenicafe, Federación Nacional de cafeteros.
- LORDELLO, L. G. 1951. Endotokia matricida em *Rhabditis* sp. (Nematoda, Rhabditidae). *Anais Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiros de Sao Paulo* 3: 111-114.
- MOLINA, J. P.; LOPEZ, J. C. 2001. Producción in vivo de tres entomonemátodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (1/2): 73-78.
- PATEL, M. N.; PERRY, R. N.; WRIGHT, D. 1997. Desiccation survival and water contents of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* spp (Rhabditida: Steinernematidae). *International Journal for Parasitology* 27 (1): 61-70.
- POINAR, G. O. JR. 1975. Description and biology of a new parasitic rhabditoid *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen., n sp. *Nematologica* 21 463-470.
- RICCI, M.; GLAZER, J.; GAUGLER, R. 1996. Entomopathogenic nematode infectivity assay: comparison of laboratory bioassays. *Bicontrol Science and Technology* 6 235-245.
- SÁENZ, A. A. 2005. Importancia de los nematodos entomopatógenos para el control biológico de plagas en palma de aceite. *Palmas* 26 (2): 41-57.
- SÁENZ, A. A.; LUQUE, J. E. 2000. Ciclo de vida del entomonemátodo nativo *Steinernema feltiae* Filipjev. *Agronomía Colombiana* 17: 17-24.
- SHAPIRO-ILAN, D. I.; GAUGLER, W. L.; TEDDERS, I.; BROWN, E.; LEWIS, I. 2002. Optimization of inoculation for in vivo production of entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology* 34 (4): 343-350.
- WANG, J.; BEDDING, R.A. 1996. Population development of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* in the larvae of *Galleria mellonella*. *Fundamental and Applied Nematology* 19 363-367.

Recibido: 18-jun-2010 • Aceptado: 9-may-2011

Avances en la biología de *Corthylus zulmae* (Coleoptera: Curculionidae) en plantaciones de *Alnus acuminata* (Betulaceae)

Advances on the biology of *Corthylus zulmae* (Coleoptera: Curculionidae) in *Alnus acuminata* (Betulaceae)

JORGE L. JARAMILLO¹, CARLOS M. OSPINA², ZULMA NANCY GIL³, ESTHER C. MONTOYA²
y PABLO BENAVIDES²

Resumen: *Alnus acuminata* es una especie nativa usada en reforestación e industria forestal en Colombia. Actualmente es atacada por un insecto recientemente descrito como *Corthylus zulmae*, lo cual está desestimulando el uso de esta planta. Se requiere establecer estrategias de manejo de esta plaga por lo que es necesario conocer aspectos básicos de su biología. En este estudio se evaluó la dinámica poblacional de la plaga durante un año mediante muestreos destructivos de árboles afectados. Se realizó un seguimiento del vuelo de los adultos usando trampas con atrayentes; se realizaron observaciones sobre el ciclo de vida mediante el seguimiento de estados biológicos del insecto recolectados en campo y se evaluaron sustratos para la cría del insecto en laboratorio. Los resultados mostraron que este insecto se reproduce en árboles decadentes o troncos en el suelo con bajos contenidos de humedad. El insecto mostró mayor actividad de vuelo cuando la temperatura fue más alta, y la precipitación y humedad relativa bajas. Se realizó una descripción de los estados de vida y se estimó que un ciclo completo podría superar los 48 días y que los huevos requerirían alrededor de 28 días para que se desarrollen hasta el estado adulto. Las dietas artificiales reportadas para la cría en laboratorio de otros coleópteros no fueron eficientes para establecer una colonia de *C. zulmae* en confinamiento.

Palabras clave: Aliso. Barrenador. Insecto ambrosial. Dinámica poblacional. Scolytinae.

Abstract: *Alnus acuminata* is a native species used in reforestation and industrial forestry programs in Colombia. It is currently attacked by an insect recently described as *Corthylus zulmae*, which is inhibiting the use of this plant. Establishing management strategies for this pest is required, which is why it is necessary to understand basic aspects of its biology. In this study we evaluated the population dynamics of the pest over one year through destructive sampling of affected trees. The adult flight period was followed using traps with attractants; observations on the life cycle were made by following the insect biological stages collected in the field; and substrates for rearing the insect were evaluated in the laboratory. The results showed that this insect reproduces in decaying trees or trunks in the soil with low humidity content. This insect showed greater flight activity when temperature was higher, and precipitation and relative humidity were lower. A description of the life stages was made and we estimated that a complete cycle might last more than 48 days and, that eggs could require around 28 days in order to develop into an adult. The artificial diets reported for rearing other coleopterans in the laboratory were not efficient for establishing a confined colony of *C. zulmae*.

Key words: Alder tree. Borer. Ambrosia beetle. Population dynamics. Scolytinae.

Introducción

Alnus acuminata H.B.K. subsp. *acuminata* (Betulaceae), llamada comúnmente Aliso, es un árbol nativo de los Andes que crece entre los 1700 y 3300 msnm. En Colombia se encuentra naturalmente en las zonas de vida clasificadas de acuerdo con Holdridge (1987) como Bosque húmedo montano bajo (bh-MB), Bosque muy húmedo montano bajo (bmh - MB) y Bosque pluvial o Páramo pluvial montano (bp-M) en los departamentos de Caldas, Quindío, Risaralda, Huila, Boyacá, Nariño y Santander. Esta especie se adapta a temperaturas entre 8,5 y 18°C y precipitaciones anuales de 1.000 a 2.000 mm (Del valle y González 1988). Se destaca su uso en la protección y recuperación de cuencas hidrográficas, juega un papel importante en el control de la erosión y es utilizada con buenos resultados en sistemas agroforestales y silvopastoriles gracias a su asociación con microorganismos fijadores de nitrógeno (Briceño 2002). La madera de *A. acuminata* se usa en construcciones livianas, formaleas para concreto, en la industria de tableros de viruta y aglomerados, en la fabrica-

ción de lápices, fósforos, toneles, alacenas, puertas, ventanas, postes, entre otros.

En el año 2003 las plantaciones de *A. acuminata* localizadas en la cuenca del río Blanco, en el municipio de Manizales, Caldas, se vieron afectadas por un insecto barrenador identificado como *Corthylus zulmae* Wood, 2007 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) (Wood 2007). En los árboles afectados por este insecto se observó acumulación de aserrín blanquecino en la parte inferior de los orificios de entrada, produciendo pérdida de calidad de la madera; en forma general en las plantaciones se presentó marchitamiento de árboles, seguida de defoliación total, y por último, alta formación de rebrotes basales e intermedios; asociados a estos daños se encontraron hongos fitopatógenos como *Fusarium solani* (Link ex Gray), *Fusarium* sp. y *Ceratocystis* sp. y una levadura conocida como *Pichia* sp. (Gil *et al.* 2004; Ospina *et al.* 2005). Los únicos reportes que se tenían hasta entonces de este género en el país, corresponden al año 1989 cuando se observaron algunos individuos atacando varias especies de fabáceas como *Inga spectabilis* Vahl, *Inga edulis* Mart e *Inga* sp., sin

¹ Estudiante Ingeniería Agronómica. Universidad de Caldas. Manizales, Caldas, Colombia Jorgel.jaramillo@cafedecolombia.com. ² I. F., Investigador Científico I, I. A., Asistente de Investigación, Estadístico M. Sc., Investigador Científico III e I. A. Ph. D. Investigador Científico II, respectivamente. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafe. A.A 2427, Chinchiná, Caldas, Colombia. carlosm.ospina@cafedecolombia.com, zulma.gil@cafedecolombia.com, EstherCecilia.Montoya@cafedecolombia.com, pablo.benavides@cafedecolombia.com. Autor de correspondencia.

embargo, su efecto no revistió mayor importancia (Posada 1989).

La larva de *C. zulmae* es vermiforme, de color blanco, ápada y en forma de C, con mandíbulas esclerotizadas. La pupa es blanca cremosa y típicamente exarata. El adulto mide aproximadamente 3,0 mm de largo y 1,16 mm de ancho. El cuerpo es robusto, la cabeza y el tórax de color marrón a negro y en la parte anterior de los élitros presenta una mancha de color marrón - amarillo, el resto es de color marrón - negro. En las áreas superior y lateral del pronoto presenta líneas de espinas. La especie presenta dimorfismo sexual; las hembras tienen la frente cóncava con setas cortas y abundantes, la clava antenal es larga, con el margen anterior ornamentado por un grupo de setas largas. El macho presenta la frente convexa sin setas, la clava antenal no presenta el grupo de setas descrito para la hembra (Gil *et al.* 2004; Wood 2007).

Los coleópteros de las subfamilias Scolytinae y Platypodinae (Curculionidae) se encuentran entre el grupo de insectos de mayor importancia en plantaciones forestales. Son particularmente importantes debido a algunas características como el uso de feromonas de agregación, que genera la colonización en masa de los hospedantes y la interacción con hongos asociados que causan la muerte de los árboles. Debido a esta interacción son llamados comúnmente “coleópteros ambrosiales” (Furniss *et al.* 1987; Cibrian *et al.* 1995; Harrington 2005). Estos coleópteros desempeñan cuidado parental con la progenie (Normark *et al.* 1999) y construyen galerías para cultivar los hongos simbioses, los cuales son utilizados como fuente de alimento durante todo su ciclo vital (Kuhnholz *et al.* 2001). Los huevos son colocados en el jardín del hongo que es cultivado en las galerías cavadas en el interior del xilema (Farrell *et al.* 2001).

Los adultos del género *Corthylus* perforan el fuste y las ramas de los árboles vivos débiles o derribados. En algunas especies, el ataque es iniciado por la hembra; en otras el macho realiza la entrada de la galería principal y parte inicial de una o dos galerías transversales de oviposición. La hembra copula con el macho, entra a la galería principal y continúa con la excavación de las galerías de oviposición en cada una de las cuales deposita un huevo; existen especies en las cuales las hembras depositan sus huevos libremente en las galerías y los estados jóvenes y adultos viven juntos en las mismas cámaras (Steinhaus 1947; Comstock 1962; Cibrian *et al.* 1995). Al inicio de la colonización, los adultos, principalmente las hembras, transportan el hongo en la superficie del cuerpo o en estructuras especializadas denominadas “micangias” o micetangias definidas como una invaginación del integumento con glándulas o células secretoras que protegen las esporas y el micelio del hongo de la desecación y poseen acción contra microorganismos. Estas micangias se encuentran localizadas en ciertas partes del cuerpo como las mandíbulas, élitros y tórax y los hongos son transmitidos de la madre a la progenie (Beaver 1989; Tanada y Kaya 1993; Fraedrich *et al.* 2008).

Los insectos permanecen gran parte de su ciclo de vida dentro de las galerías hechas en las plantas hospedantes, en donde las condiciones del microclima son muy constantes. Las condiciones externas de temperatura, humedad relativa, precipitación y radiación solar, desempeñan un papel importante en la distribución de estos insectos (Wood *et al.* 1992).

La capacidad de vuelo de los organismos es afectada por factores primarios en la atracción que ejercen las oleoresinas, terpenos, alcoholes y otras sustancias emitidas por el tejido de los árboles recién cortados o muertos. Cuando uno de es-

tos insectos encuentra un medio apropiado para alimentarse y reproducirse, empieza a barrenar para iniciar la liberación de compuestos volátiles producto de la fermentación de la madera, así como feromonas en sus excrementos, que atraen a ambos sexos de su propia especie (Wood 1982). En Canadá, el periodo de vuelo para *C. punctatissimus* (Zimmermann, 1868) se presenta principalmente entre junio y agosto (Finnegan 1967).

Las diferentes especies de *Corthylus*, presentan dos o más generaciones al año, dependiendo de las condiciones de altitud y latitud donde se encuentren (Cibrian *et al.* 1995). En el Sur de Indiana en los Estados Unidos, *C. columbianus* Hopkins, 1895 presenta dos generaciones por año; los huevos duran seis días aproximadamente, las larvas de 12 a 15 días, prepupa de dos a tres días, pupa de ocho a nueve días y los adultos de 34 a 40 días (Kabir y Giese 1966), mientras que en Ontario, Canadá, *Corthylus punctatissimus* presenta solo una generación por año (Finnegan 1967).

En América se conocen cerca de 90 especies del género *Corthylus* distribuidas desde Canadá hasta Argentina, 56 de éstas se encuentran en Norte y Centro América (Wood 1982). En Colombia se han reportado *C. zulmae* y *Corthylus andinus* Wood, 2007 en los departamentos de Caldas y Huila (Gil *et al.* 2004; Wood 2007), sin embargo, aún se hacen inventarios en otras partes del mundo.

La incidencia causada por *C. zulmae* en las plantaciones de *A. acuminata* en el departamento de Caldas ha desestimulado a los reforestadores y ha generado la necesidad de buscar alternativas de manejo para esta plaga. Esto hace importante conocer la etología, el ciclo de vida y las condiciones que favorecen la reproducción y dispersión de este insecto. Dado que en Colombia no se ha desarrollado estudios detallados sobre esta especie, el objetivo de esta investigación fue contribuir al entendimiento de la biología de *C. zulmae*; para lo cual se estudió la dinámica poblacional del insecto en el campo, se realizó una aproximación a su ciclo de vida y se evaluaron sustratos para su cría en condiciones de laboratorio.

Materiales y Métodos

Localización. Este estudio se realizó entre abril de 2008 y diciembre de 2009 en una plantación de Aliso en la finca La Fe (5°00,4'69"N 75°23,4'28"W), vereda Gallinazo del municipio de Villamaría en el departamento de Caldas, Colombia, perteneciente a la empresa Aguas de Manizales a una altitud de 2800 msnm, en un lote de aproximadamente 1,2 hectáreas, con una densidad de población de 715 árboles/ha. Los estudios de laboratorio se realizaron en el cuarto de cría de insectos del Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, con condiciones controladas de temperatura de 17,7°C y humedad relativa del 70%, similares a las de campo.

Dinámica poblacional de *C. zulmae*. Para determinar el número de árboles afectados en el lote experimental, se realizó un censo trimestral durante 12 meses, a partir del cual se obtuvo el porcentaje de infestación ocasionado por *C. zulmae*. Posteriormente, durante ese mismo tiempo y con una periodicidad mensual, se realizaron disecciones de árboles afectados. Para esto se cortaron los árboles, se tomaron las partes afectadas del tallo, se transportaron al laboratorio de cría, se fraccionaron longitudinalmente utilizando una sierra y se extrajeron los estados biológicos del insecto. Se estimó en cada

tiempo de muestreo, el promedio de perforaciones por árbol y el rango de altura a las cuales se encontraron; la proporción de árboles y de perforaciones con presencia de huevos, larvas, pupas y adultos de *C. zulmae* y la relación de sexos en la población adulta. Se realizó prueba de comparación de Duncan, de los promedios mensuales para identificar los meses con mayor promedio en las variables descritas. Adicional a esto, se realizaron muestreos destructivos de troncos de Aliso que se hallaron en el suelo con numerosas perforaciones durante los meses de julio, agosto, septiembre y octubre de 2009 con el fin de registrar el número de estados presentes y la proporción de troncos que contenían individuos.

Se registró el vuelo de los adultos de *C. zulmae* a través del tiempo. Para ello, se instalaron 30 trampas de captura (BROCATRAP - www.biogardenlab.com) con una mezcla de metanol: etanol en una proporción de 3 a 1, distanciadas aproximadamente 20 metros entre sí. Se contabilizó el número de adultos capturados por trampa cada quince días durante un año; se estimó el promedio de adultos capturados por trampa, en cada tiempo de muestreo y se construyó la variable acumulado de adultos a través del tiempo, y con ella se estableció la relación lineal con el número de estados, con el fin de identificar si el vuelo estuvo asociado con mayor ataque de la plaga. Durante el tiempo de evaluación se llevaron los registros de clima, como temperatura, humedad relativa y precipitación, para complementar el análisis de la información.

Estimación del tiempo del ciclo de vida de *C. zulmae*. Con el fin de estimar preliminarmente la duración de los estados de vida del insecto. Se recolectaron muestras de individuos que se encontraban en el interior de las galerías en alisos afectados en campo y se llevaron al laboratorio de cría en Cenicafé. Se individualizaron secciones de troncos conservando los estados del insecto sobre las galerías de oviposición, en recipientes plásticos con algodón húmedo. Se realizó una descripción de cada estado y se hizo un seguimiento diario hasta el momento en que el estado observado murió.

Evaluación de un sustrato para la cría de *C. zulmae*. Se evaluaron cuatro sustratos de cría para mantener a *C. zulmae* y determinar su biología en condiciones de laboratorio. Se definió como unidad experimental un recipiente que contenía una pareja de insectos. Por cada sustrato, se tuvieron 60 unidades experimentales bajo un diseño completamente aleatorio, en el ambiente del laboratorio de entomología de Cenicafé, los sustratos fueron los siguientes:

1. Dieta artificial (Cenibroca modificada). Esta dieta es una modificación de la usada para la cría de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867) en la cual se reemplazó el café por aserrín de Aliso en la misma proporción. Para la elaboración de la dieta se siguió el protocolo establecido por Portilla y Streett (2006) y se depositó una cantidad aproximada de 5 ml en viales estériles.

2. Troncos de Aliso con agar y aserrín (Kabir y Giese 1966 modificado). Se depositaron 50 cc de una mezcla de agar al 1% y aserrín de aliso, en frascos de vidrio de 200 cc y antes de la solidificación, se introdujo una sección cuadrada de tronco de Aliso (5 cm de ancho por 5 cm de largo y 4 cm de profundidad), conservando el lado de la corteza descubierta de la mezcla. Tanto el aserrín como los troncos fueron esterilizados previamente a 120°C de temperatura y a 15 libras de presión durante 25 minutos.

3. Troncos de Aliso. Se tomaron secciones de tronco de Aliso (15 cm de longitud por 10 cm de ancho y 6 cm de profundidad) esterilizados previamente y se depositaron en recipientes plásticos sobre una capa de algodón humedecido. El recipiente se cubrió con una tapa que permitía la circulación del aire para evitar proliferación de microorganismos.

4. Ramas secundarias de Aliso. Se introdujeron ramas de Aliso (10 cm de longitud y diámetro aproximado de 3 cm) esterilizadas previamente, en un recipiente plástico sobre una capa de algodón humedecido. El recipiente se cubrió con una tapa que permitía la circulación del aire para evitar la proliferación de microorganismos.

Una vez establecida cada unidad experimental para cada sustrato, se realizaron las infestaciones de los tratamientos tomando una pareja de *C. zulmae* recolectados en campo, se esterilizaron en hipoclorito de sodio al 3%, se lavaron con agua destilada y se introdujeron en cada uno de los recipientes conteniendo el sustrato. Cada 20 días durante dos meses, se tomaron aleatoriamente, 20 unidades experimentales de cada tratamiento, y mediante muestreo destructivo, se registró el número de huevos, larvas y pupas, mortalidad de cada estado y relación de sexos en individuos adultos. Con esta información se realizaron comparaciones estadísticas de las poblaciones del insecto en cada sustrato.

Resultados y Discusión

Dinámica poblacional de *C. zulmae* en campo. El porcentaje de infestación inicial en el lote fue del 13%; el ataque aumentó rápidamente en la plantación durante el tiempo evaluado, duplicándose el número de árboles infestados en tan solo tres meses, tiempo después del cual aumentó hasta niveles del 38% (Fig. 1). Los árboles presentaron síntomas de ataque reciente como exudado y acumulación de aserrín en la parte inferior de los orificios de entrada del insecto (Figs. 2A y 2B), y síntomas de ataques viejos donde se observaron orificios de penetración con alrededores de coloración oscura y seca (Fig. 2C). La mayoría de los árboles afectados no presentaron marchitamiento ni defoliación total, los cuales son síntomas reportados como característicos del daño causado por *C. zulmae* (Gil *et al.* 2004; Ospina *et al.* 2005). Se encontraron árboles afectados en toda la plantación, sin embargo, la tendencia al mayor ataque del insecto se observó en árboles ubicados en los bordes del lote que limitaban con áreas de bosque natural y una menor población de árboles atacados en áreas cercanas a claros y bordes de camino (Fig. 1).

Según la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$), el mayor promedio para la variable número de perforaciones se presentó en diciembre (valores mínimos de 2 y máximos de 159 perforaciones por árbol); aunque se observaron diferencias significativas para las variables número y altura de perforaciones por árbol, no se pudo establecer el comportamiento de dichas variables a lo largo del tiempo evaluado. El ataque del insecto en el tronco se concentró entre los 127 y 198 cm sobre el suelo (Tabla 1); sin embargo, se hallaron perforaciones a alturas por debajo de este intervalo hasta los 21 cm y por encima hasta 575 cm.

No se encontraron diferencias en el número de huevos, larvas, pupas y adultos a lo largo del año. A pesar de que el Aliso fue atacado por *C. zulmae*, se observó que una baja proporción de los árboles plantados contenían estados del insecto (35%, $N=147$). El 9,72% de las perforaciones evaluadas ($N=1634$) presentaron al menos un estado, observán-

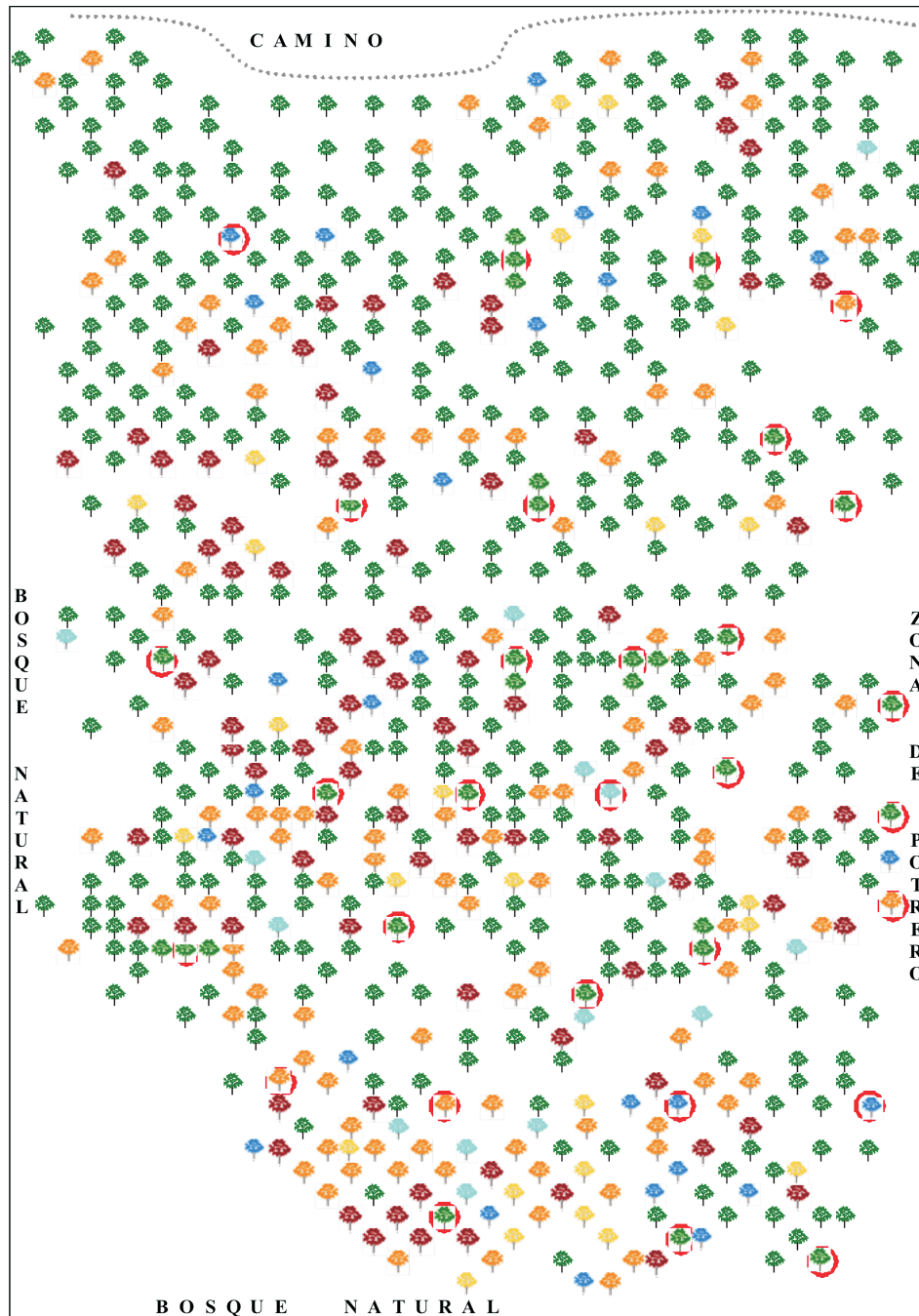


Figura 1. Mapa del lote experimental en la finca La Fe, municipio de Villamaría, Caldas donde se muestran los árboles sanos ■, y afectados durante el primero ■ (13%), segundo ■ (29%), tercero ■ (33%), cuarto ■ (36,5%) y quinto censo ■ (38,6%) y la ubicación de las trampas de alcohol ○. El porcentaje acumulado de infestación se indica entre paréntesis.

dose máximo 10 individuos por galería. Posiblemente estos árboles vivos con contenidos altos de humedad no proporcionaron las condiciones necesarias para la reproducción de la especie. Las observaciones en troncos del suelo que provenían de árboles talados en meses anteriores, demostraron que *C. zulmae* prefirió alimentarse y reproducirse sobre Alisos decadentes en el suelo; este material presentó estados del insecto en mayor proporción (90%, N=22) comparado con los muestreos destructivos, explicando la baja proporción de individuos presentes en los árboles plantados. Estos resultados son acordes con Wood (1982) y Cibrian *et al.* (1995) quienes

reportan que los adultos de este género perforan el fuste y las ramas de los árboles vivos débiles o derribados, y además que el tejido de estos árboles recién cortados o muertos emite compuestos volátiles que atraen a ambos sexos de su propia especie.

Durante todo el año se hallaron 408 adultos en los muestreos de árboles plantados; 194 de los cuales fueron hembras y 214 machos. Esta misma relación de sexos (1:1) se presentó en el seguimiento realizado al material del suelo durante julio y octubre del 2009, periodo en el cual se obtuvieron 414 adultos (195 hembras y 219 machos).

Tabla 1. Número promedio de perforaciones por árbol afectado y altura de los daños causados por *C. zulmae* en la finca La Fe, municipio de Villamaría, Caldas.

Año	Tiempo (Meses)	No. árboles	No. perforaciones	Número de perforaciones		Altura de las perforaciones			
				Promedio por árbol	E. E.	Promedio (cm)	E. E.	MIN.	MAX.
2008	Noviembre	7	141	20,14b	4,68	127,51d*	6,52	20,5	575
	Diciembre	7	276	39,43a	20,82	158,48c	4,13	23,5	363
2009	Enero	7	115	16,43b	4,46	134,82c	6,42	22	339
	Febrero	14	123	8,79b	3,01	132,28d	4,59	21	307,9
	Marzo	14	265	18,93b	8,75	197,56a	6,4	21,4	426,5
	Abril	14	203	14,50b	6,36	183,71a	8,05	23,3	498,5
	Mayo	18	127	7,06b	2,11	130,86d	5,1	30	290
	Junio	18	118	6,56b	1,53	157,76c	6,6	22,9	405
	Julio	12	68	5,67b	1,6	150,63c	6,35	37,1	315
	Agosto	12	69	5,75b	0,95	146,32c	4,39	54,4	263,9
	Septiembre	12	53	4,42b	0,69	147,18c	6,9	28,1	303,7
	Octubre	12	75	6,25b	2,02	159,57b	6,13	53,1	268,9

* Medias con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí, de acuerdo con la prueba de comparación Duncan al 5%. E.E.= Error estándar.

En todas las perforaciones de *C. zulmae* se observaron hongos de coloración marrón que se extendían a lo largo afectando los haces vasculares (Fig. 2D). El interior de las galerías que presentaron cámaras de oviposición con larvas, pupas y adultos, se encontraron invadidas por un micelio gris que cubría los estados inmaduros del insecto (Fig. 2E). Estas observaciones sugieren que *C. zulmae* podría ser un insecto ambrosial, al igual que lo reportan para las diferentes especies de este género (Giese 1967; Cibrian *et al.* 1995). Gil *et al.* (2004), aislaron e identificaron en el interior de las galerías a *Fusarium solani*, (Mart.) Sacc. *Fusarium* sp., *Verticillium* sp., y una levadura cercana a las especies del género *Pichia* sp. En el avance de la lesión se aislaron *F. solani* y *Ceratocystis* sp. indicando que el ataque de *C. zulmae* en asociación con *Ceratocystis* sp. ocasionaba la muerte de los árboles y que los hongos del género *Fusarium* eran invasores secundarios. Considerando que los hongos fueron aislados de tejido afectado asociado a las heridas hechas por los insectos en el tallo y no directamente del micelio presente en el interior de las cámaras de cría que contenían estados inmaduros del insecto, no se podría asegurar que los hongos fitopatógenos reportados por Gil *et al.* (2004) correspondieran al microorganismo simbiote.

Se registraron ocasionalmente especies coexistentes con *C. zulmae* en los muestreos. Se encontró un insecto de la misma subfamilia (Scolytinae) cercano al género *Amphicranus* ocasionando perforaciones en árboles muertos en pie, pero tanto en los muestreos como en las trampas de alcohol, *C. zulmae* fue la especie más abundante (75%). Asociado al daño del insecto, en galerías recientes, se observaron larvas de un díptero de la familia Richardiidae y en galerías viejas se encontraron ácaros.

Las trampas de captura indicaron que hay individuos de *C. zulmae* durante todo el año, con marcada tendencia al aumento en agosto - septiembre, seguido de diciembre - enero y mayo. La figura 3 muestra diferencias significativas entre los meses mencionados anteriormente y el periodo comprendido entre marzo y abril donde se dieron las menores capturas. Con relación a las variables del clima se observó que las tem-

peraturas más altas se registraron en el periodo de agosto y septiembre (Fig. 4A) donde se dieron las mayores capturas de insectos, sin embargo, los meses donde la población de individuos fue menor, no muestran una diferencia marcada de la temperatura que pueda explicar el comportamiento poblacional de la especie durante este periodo. La humedad relativa y la precipitación (Fig. 4B) presentaron una tendencia similar, y a pesar que no fue posible establecer una relación directa entre las capturas del insecto y las variables de clima, pareciera que los periodos de sequía pudieran favorecer la dispersión de *C. zulmae*.

La mayor cantidad de adultos capturados en las trampas de alcohol fueron machos (2569 individuos) comparados con las capturas de hembras (756 individuos). Gil *et al.* (2004) y Wood (2007) reportan que las hembras de *C. zulmae* poseen antenas de clava larga con el margen anterior ornamentado por un grupo de setas, mientras que el macho no posee este grupo y las antenas son más cortas. Esta diferencia morfológica podría explicar la mayor atracción de machos a alcoholes y permitiría hipotetizar que las hembras tendrían una mayor capacidad para identificar volátiles específicos del huésped. Estudios realizados en algunas especies como *C. columbianus* y otros escolítidos han demostrado que las trampas de alcohol son selectivas a machos (Roling y Kearby 1975).

No fue posible establecer la relación entre el número acumulado de adultos capturados a través del tiempo y el número de estados encontrado en los muestreos en los árboles plantados, dado que se encontró un número muy bajo de poblaciones del insecto en éstos.

Estimación del tiempo del ciclo de vida de *C. zulmae*. Se realizó el seguimiento a 54 individuos de *C. zulmae* a partir de los cuales se estimó preliminarmente la duración de cada uno de los estados. Durante el desarrollo de esta actividad se estudiaron todos los estados de vida de *C. zulmae*. Los huevos son blanquecinos translúcidos, de forma elíptica, cuyo tamaño fue de 0,73 mm de largo y 0,46 mm de ancho aproximadamente (Fig. 2F) y son depositados de manera individual en cada galería; los demás estados observados corresponden

con lo descrito por Gil *et al.* (2004) (Figs. 2G- I). Larvas blanquecinas, ápodas, en forma de "C" con mandíbulas esclerotizadas; pupas de color crema, típicamente exarata, las cuales, a medida que se desarrollaron, comenzaron a oscurecer sus alas posteriores y cabeza; los adultos recién emergidos presentaron una coloración marrón en todo el cuerpo; cuando completaron su crecimiento tomaron la coloración típica de la especie.

No fue posible estimar la duración del ciclo completo del insecto desde huevo hasta adulto, ya que solo 13 de los individuos observados pasaron al estado biológico siguiente, tiempo después del cual murieron. Pero se pudo estimar la duración promedio de huevos, larvas, pupas y adultos de manera independiente (Tabla 2). El 81% de los huevos no eclosionaron; el 71% de las larvas murieron y el 67% de las pupas no se desarrollaron completamente. El 33% de los adultos restantes que se obtuvieron a partir de pupas se les realizó se-

guimiento para estimar la duración del estado. Los resultados sugieren que los factores de humedad (70%) y temperatura (17,7°C) suministrados en laboratorio no fueron adecuados para el desarrollo del insecto o que la manipulación del hospedante afectó su alimentación. Wood *et al.* (1992), anotan que los insectos permanecen gran parte de su ciclo de vida dentro de las galerías hechas en las plantas hospedantes, donde las condiciones de microclima son constantes. Esto es corroborado por Kabir y Giese (1966), quienes mencionan que las larvas maduras de *C. columbianus* prefieren permanecer dentro de una cámara cerrada para poder completar su desarrollo. Se sugiere que esta evaluación se realice en condiciones naturales.

Se pudo establecer que la duración promedio del ciclo del insecto podría superar los 48 días y se requerirían más de 28 días para que los huevos se desarrollen hasta el estado adulto (Tabla 2). Los resultados sugieren que *C. zulmae* podría

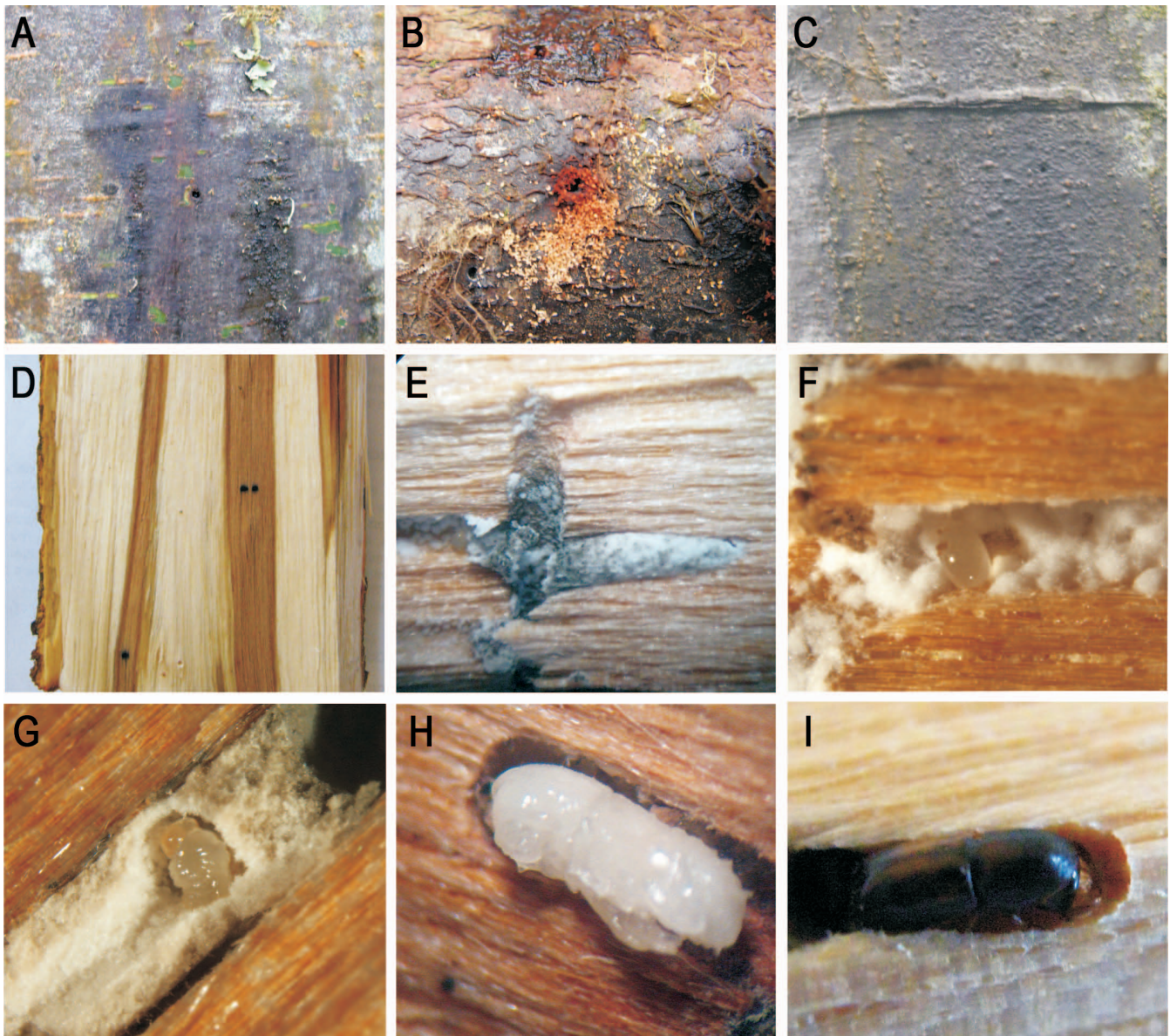


Figura 2. Síntomas del ataque, hongos asociados a los daños ocasionados y estados de desarrollo de *C. zulmae* en árboles de Aliso. **A.** Exudado. **B.** Aserrín. **C.** Perforación vieja. **D.** Hongos fitopatógenos asociados a las perforaciones. **E.** Micelio presente en el interior de las galerías de oviposición. **F.** Huevo. **G.** Larva recién emergida. **H.** Pupa. **I.** Adulto.

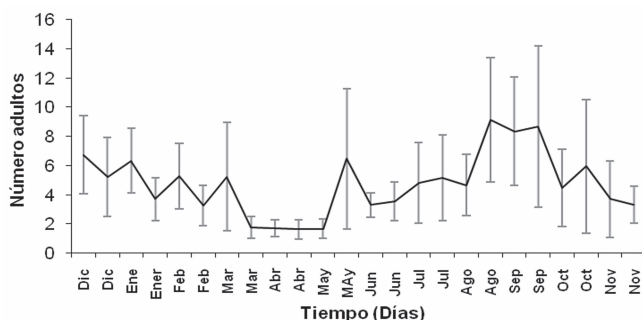


Figura 3. Promedio del número de adultos de *C. zulmae* capturados por trampa a través del tiempo, en 30 trampas atrayentes de alcoholes en el lote experimental de la finca La Fe, municipio de Villamaría, Caldas. Barras de error = intervalo de confianza 95%.

presentar más de dos generaciones al año en condiciones de campo, contrario a lo reportado para *C. columbianus* el cual tiene una duración de huevo de seis días aproximadamente, larva de 12 a 15 días, prepupa de dos a tres días, pupa de ocho a nueve días y los adultos de 34 a 40 días en condiciones de laboratorio, presentando dos generaciones por año (Kabir y Giese 1966).

Evaluación de un sustrato para la cría de *C. zulmae*. Se presentó alta mortalidad de los adultos de *C. zulmae* que conformaron las unidades experimentales por lo que se realizó un análisis descriptivo. los insectos comenzaron a perforar los sustratos pocos días después de infestados, mostrando tanto el macho como la hembra, capacidad de perforar y realizar galerías en los tratamientos. se presentó mayor proporción de sustratos perforados en el tratamiento de troncos de Aliso sobre algodón con un 70%. No se observó actividad de cópula de los insectos lo que indica que las condiciones necesarias para la fertilización probablemente ocurran durante la construcción de la galería.

Las primeras posturas se observaron a los 20 días después de la infestación, donde se obtuvieron 10 huevos de *C. zul-*

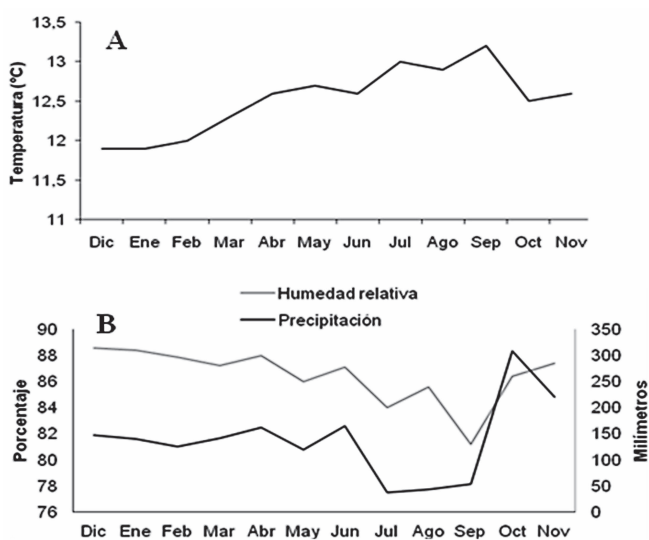


Figura 4. A. Temperatura promedio, B. humedad relativa promedio y precipitación acumulada del lote experimental de la finca La Fe del municipio de Villamaría, Caldas.

mae en el 1% de las unidades experimentales del tratamiento tres, allí el insecto realizó galerías con cámaras de oviposición en cada una de las cuales se encontraba depositado un huevo. Ningún otro sustrato presentó respuesta a la variable número de estados. Entre el 30 y el 50% de los adultos habían muerto en los diferentes sustratos. A los 40 días se presentó entre un 45 y un 70% de mortalidad de adultos, encontrándose reproducción del insecto en dos tratamientos, en el tratamiento dos se obtuvo un huevo y una larva muerta en una de las repeticiones, y en el tratamiento tres, cuatro larvas vivas y cuatro larvas muertas en dos de las repeticiones. En la última evaluación realizada a los 60 días se observaron muertos entre el 70 y el 100% de los adultos con los que se infestaron los tratamientos y únicamente ocho adultos muertos en una de las unidades experimentales del sustrato de ramas de Aliso. A pesar de que el insecto pudo ovipositar en algunos sustratos, ninguno de los tratamientos fue adecuado para la cría, dada la baja cantidad de estados encontrados. El desarrollo de la cría de un insecto ambrosial depende del almacenamiento de hongos simbiontes en las micangias y de su crecimiento en el sistema de galerías, asegurando alimento para la prole (Francke-Grosmann 1967; Kuhnholz *et al.* 2001; Mizuno y Kajimura 2002; Biedermann 2007). Es posible que los métodos de esterilización usados en esta investigación tanto para los sustratos como para los insectos, hayan limitado el establecimiento del hongo ambrosial del cual se alimentan las larvas de *C. zulmae* en las dietas artificiales, sugiriendo además que sus micangias podrían ser de origen ectodermal. Estudios posteriores para desarrollar dietas apropiadas para el crecimiento y reproducción de *C. zulmae* requieren de la identificación de micangias en esta especie y de la determinación del hongo ambrosial del cual se alimentan sus estados inmaduros. Igualmente se sugieren evaluar diferentes condiciones de humedad y temperatura.

Conclusiones

Corthylus zulmae no parece ser el responsable de la muerte de árboles de Aliso sanos; al igual que muchos xilomicetófagos, este insecto puede ser atraído por los árboles cuando las condiciones climáticas son desfavorables o cuando se encuentran senescentes o muertos. Durante este proceso se presentan hongos fitopatógenos oportunistas asociados a los daños mecánicos que debilitan los árboles y en condiciones extremas ocasionan la muerte del Aliso. El adecuado manejo de los residuos presentes en el suelo y la eliminación de los árboles en mal estado fitosanitario, podrían disminuir las poblaciones del insecto en plantaciones de Aliso.

Tabla 2. Duración promedio de los estados de *C. zulmae* observados en laboratorio.

Estado	Número de Observaciones	Duración Promedio (Días)	E.E.	Min. (Días)	Max. (Días)
Huevo	38	12,16	0,89	3	22
Larva	14	7,14	1,20	2	20
Pupa	11	9,36	1,00	1	13
Adulto	4	19,75	9,17	8	47

E.E.= Error estándar.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a Carlos Augusto Ramírez, Adriana Cifuentes y Freddy Sánchez de la disciplina de ETIA, al personal de la Disciplina de Entomología e Ingeniería Agrícola de Cenicafe. A los Ingenieros Jorge Uribe Jaramillo, Carlos Enrique Restrepo, al Señor Darío Murillo de la empresa Aguas de Manizales y a los funcionarios de Procuencia, por su colaboración en el desarrollo de este experimento. Esta investigación se realizó en el Centro Nacional de Investigaciones de Café con la cofinanciación del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

Literatura citada

- BEAVER, R.A. 1989. Insect-fungus relationships in the bark and ambrosia beetles. In: Insect-fungus interactions, ed. N. Wilding, N. M. Collins, P. M. Hammond and J. F. Webber. London: Academic Press. 121-143.
- BIEDERMANN P., H. W. 2007. Social behavior in sib mating fungus farmers. Intra- and interspecific cooperation in ambrosia beetles. Masterarbeit der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bern vorgelegt von. 85 p.
- BRICEÑO, V. A. 2002. El Aliso, *Alnus acuminata* H.B.K., hospedero de dos especies de Chrysomelidae (Coleoptera) en los andes venezolanos. Revista Forestal Venezolana 46 (1): 53-57.
- CIBRIAN T., D.; MENDEZ M., J. T.; CAMPOS B., R.; YATES, H. O.; FOLRES L., J. 1995. Insectos Forestales de México. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo, Estado de México, México. 382 p.
- COMSTOCK, J. H. 1962. An introduction to entomology. Comstock Publishing associates a division of Cornell University press. Ithaca, New York. 1064 p.
- DEL VALLE, J. I.; GONZÁLEZ, H. 1988. Rendimiento y crecimiento del cerezo (*Alnus jorullensis*) en la región central andina, Colombia. Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellín 41(1): 61-90.
- FARRELL, B. D.; SEQUEIRA, A. S.; O'MEARA, B.; NORMARK, B. B.; CHUNG, J.H.; JORDAL, B. H. 2001. The evolution of agriculture in beetles (Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). Evolution 55: 2011-2027.
- FINNEGAN, R. J. 1967. Notes on the Biology of the Pitted Ambrosia Beetle, *Corthylus punctatissimus* (Coleoptera: Scolytidae), in Ontario and Quebec. The Canadian Entomologist 99: 49-54.
- FRAEDRICH, S. W.; HARRINGTON, T. C.; RABAGLIA, R. J.; ULYSHEN, M. D.; MAYFIELD, A. E.; HANULA, J. L.; EICKWORT, J. M.; MILLER, D. R. 2008. A fungal symbiont of the redbay ambrosia beetle causes a lethal wilt in redbay and other Lauraceae in the southeastern United States. Plant Disease 92: 215-224.
- FRANCKE-GROSMANN. 1967. Ectosymbiosis in wood-inhabiting insects. In symbiosis. S. M. Henry (ed.), Academic Press. New York. Vol. II. p 141-205.
- FURNISS, M. M.; WOO, J. Y.; DEYRUP, M. A.; ATKINSON, T. H. 1987. Prothoracic Mycangium on pine-infesting *Pityoborus* spp. (Coleoptera: Scolytidae). Annals of the Entomological Society of America 80: 692-696.
- GIESE, R. L. 1967. The Columbian Timber Beetle, *Corthylus columbianus* (Coleoptera: Scolytidae). V. A description of the mycetangia. The Canadian Entomologist 99: 54-58.
- GIL P., Z. N.; BUSTILLO P., A. E.; GOMEZ, D. E.; MARIN, M. P. 2004. *Corthylus* n. sp. (Coleoptera: Scolytidae), plaga del aliso en la cuenca de río Blanco en Colombia. Revista Colombiana de Entomología 30(2): 171-178.
- HARRINGTON, T.C. 2005. Ecology and evolution of mycophagous bark beetles and their fungal partners. Pages 257-291 In: *Ecological and Evolutionary Advances in Insect-Fungal Associations*, F. E. Vega and M. Blackwell, eds. Oxford University Press.
- HOLDRIDGE, L. 1987. Ecología basada en zonas de vida. IICA: 216 p.
- KABIR A. K. M. F.; GIESE R. L. 1966. The Columbian Timber Beetle, *Corthylus columbianus* (Coleoptera: Scolytidae). I. Biology of the Beetle. Annals of the Entomological Society of America 59 (5) 883-894.
- KUHNHOLZ, S.; BORDEN J. H.; UZUNOVIC, A. 2001. Secondary ambrosia beetles in apparently healthy trees: adaptations, potential causes and suggested research. Integrated Pest Management Reviews 6: 209-219.
- MIZUNO, T.; KAJIMURA, H. 2002. Reproduction of the ambrosia beetle, *Xyleborus pfeili* (Ratzeburg) (Col., Scolytidae), in semiartificial diet. Journal of Applied Entomology 126: 455-462.
- NORMARK, B. B.; JORDAL, B. H.; FARRELL, B. D. 1999. Origin of a haplodiploid beetle lineage. Proceedings of The Royal Society Biological Sciences 266: 1-7.
- OSPINA P., C. M.; HERNANDEZ R., R. J.; GOMEZ D., D. E.; GODOY B., J. A.; ARISTIZABAL V., F. A.; PATIÑO C., J. N.; MEDINA O., J. A. 2005. Serie cartillas divulgativas. El Aliso o Cerezo *Alnus acuminata* H. B. K. ssp. *acuminata*. Guías silviculturales para el manejo de especies forestales con miras a la producción de madera en la zona andina Colombiana. FNC -Cenicafe. 36 p.
- PORTILLA R., M.; STREETT, D. 2006. Nuevas técnicas de producción masiva automatizada de *Hypothenemus hampei* Ferrari sobre la dieta artificial cenibroca modificada. Revista Cenicafe 57(1):37-50.
- POSADA O, L. 1989. Lista de insectos dañinos y otras plagas en Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Bogotá, Boletín Técnico No. 43. 662 p.
- ROLING, M. P.; KEARBY, W. H. 1975. Seasonal flight and vertical distribution of scolytidae attracted to ethanol in an oak-hickory forest in Missouri. The Canadian Entomologist 107: 1315-1320.
- STEINHAUS, E. A. 1947. Insect Microbiology. Comstock Publishing Company. Ithaca, New York. 763 p.
- TANADA, Y.; KAYA, H. K. 1993. Insect pathology. Academic Press, inc. San Diego. Estados Unidos. 666 p.
- WOOD, S. L. 1982. The bark and ambrosia beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae) a taxonomic monograph. Great Basin Naturalist Memoires (Utah-EE.UU). (6) 1359 p.
- WOOD S. L., STEVENS G. C., LEZAMA H. J. 1992. Los Scolytidae (Coleoptera) de Costa Rica: Clave de la subfamilia Scolytinae, Tribu Cothylini. Revista de Biología Tropical 40 (3): 247-286.
- WOOD, S. L. 2007. Bark and ambrosia beetles of South America (Coleoptera: Scolytidae). M. L. Bean Life Science Museum. Brigham Young University. (Utah-EE.UU) 842 p.

Recibido: 23-sep 2010 • Aceptado: 26-abr-2011

Composición y clasificación de daño de insectos en *Nothofagus glauca* (Fagaceae), Región del Maule, Chile

Composition and classification of insect damage on *Nothofagus glauca* (Fagaceae), Maule Region, Chile

AMANDA HUERTA FUENTES¹, WILSON NAVARRETE VALDIVIA², JAIME ARAYA CLERICUS³, FRANCISCO MUÑOZ ALEGRÍA⁴

Resumen: El bosque maulino, donde predomina el hualo, *Nothofagus glauca*, es una de las formaciones vegetales chilenas menos estudiadas de su fauna entomológica. Esta especie arbórea endémica de Chile se distribuye entre las regiones Metropolitana y Bío-Bío, en ambientes muy fragmentados por la deforestación de décadas previas y la introducción de especies exóticas. La valoración del daño por insectos es una herramienta necesaria para la toma de decisiones sobre el manejo integrado de plagas. Dado los escasos antecedentes en esta materia sobre esta especie, se hicieron muestreos periódicos de follaje, corteza, madera, frutos y raíces y colectas de insectos asociados a *N. glauca* durante las temporadas primavera-verano de 2001-2002, 2002-2003 y 2003-2004 para analizar su composición de insectos y clasificar sus daños, en renovales de la Comuna de Empedrado, Región del Maule, Chile. Los insectos asociados a *N. glauca* se agruparon en tres órdenes, 13 familias y 25 especies, con predominio de coleópteros (siete familias, 19 especies), seguido de lepidópteros (tres familias, tres especies), y hemípteros (tres familias, tres especies). Los insectos del follaje fueron los más abundantes (16 especies), causando daño moderado, seguido de aquellos de la madera y corteza, con siete y seis especies cada uno, dos de las cuales causaron daño significativo. Ocho especies son nuevas citas para *N. glauca*, con cinco ampliaciones de distribución geográfica hacia el norte del país. Cerca del 60% de los frutos cosechados presentaron daño por *Perzelia* sp. (Lepidoptera: Oecophoridae), un insecto que afecta los procesos de regeneración de *N. glauca*.

Palabras clave: Hualo. Roble maulino. Insectos del follaje. Insectos de la corteza. Xilófagos.

Abstract: The Maulino forest, where the “hualo”, *Nothofagus glauca*, dominates, is one of the Chilean plant formations least studied for its entomological fauna. This endemic tree of Chile is distributed from the regions of Metropolitana and Bío-Bío, in environments very fragmented by deforestation in previous decades and by the introduction of exotic trees. The assessment of damage by insects is a necessary tool for decision-making about integrated pest management. Given the scarce knowledge in this matter on this species, periodical samplings were made of foliage, bark, wood, fruits and roots and insect collections associated with *N. glauca* during the 2001-2002, 2002-2003, and 2003-2004 spring-summer seasons to analyze their insect composition and classify their damage, in second growth sectors located in Empedrado County, Maule Region, Chile. The insects associated with *N. glauca* were grouped in three orders, 13 families and 25 species, predominantly coleopterans (seven families, 19 species), followed by lepidopterans (three families, three species) and hemipterans (three families, three species). Foliage insects were the most abundant (16 species), causing moderate damage, followed by those on wood and bark, with seven and six species each, two of which caused significant damage. Of the species found, eight are new records for *N. glauca*, with five extending the geographical distribution toward the north of the country. Nearly 60% of collected fruits presented damage by *Perzelia* sp. (Lepidoptera: Oecophoridae), an insect that affects the regenerative processes of *N. glauca*.

Key words: “Hualo”. “Roble Maulino”. Foliage insects. Bark insects. Xilophagous.

Introducción

El conocimiento de la entomofauna representa una base sólida para desarrollar estudios ecológicos y biológicos de las especies, permitiendo fundamentar planes de manejo, realizar evaluaciones de impacto ambiental con énfasis en la conservación y uso racional de los recursos (Solervicens y Estrada 2002).

Además de ser fuente de diversas materias primas, el bosque nativo chileno posee gran diversidad biológica de importancia científica. En este bosque, el género *Nothofagus* es un elemento clave en la fitogeografía de todo el hemisferio sur y el componente más importante de las formaciones boscosas del extremo austral de Sudamérica (Gajardo 2001). En general, este recurso se encuentra alterado severamente, de-

bido principalmente a la extracción de sus productos durante siglos, sin criterios de sustentabilidad, y a su sustitución por plantaciones exóticas; aunque en las últimas décadas se han ido adoptando medidas de manejo apropiadas para su uso sostenido. No obstante, estos bosques presentan una baja proporción de volúmenes de calidad, con el recurso muy afectado en las zonas más accesibles, y variabilidad estructural y composición asociadas a un estado fitosanitario deficiente.

El bosque maulino chileno ha sido deforestado y fragmentado intensamente (Grez *et al.* 1997), y se ha reducido a fragmentos aislados pequeños que se encuentran rodeados de plantaciones de *Pinus radiata* D. Don. (Grez *et al.* 1997; Bustamante y Castor 1998). Se estima que entre 1975 y 2000 un 67% de su superficie ha disminuido (Echeverría *et al.* 2006).

¹ Ph. D. Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Facultad de Ciencias Forestales y Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile. Casilla 9206- Santiago, Chile. ahuertaf@gmail.com Autora para correspondencia. ² Ing. F. Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Facultad de Ciencias Forestales y Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile. Casilla 9206 - Santiago, Chile. ³ Ph. D. Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Casilla 1004-Santiago, Chile. jearay@uchile.cl ⁴ Ing. F. Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Facultad de Ciencias Forestales y Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile. Casilla 9206-Santiago, Chile.

La entomofauna asociada al bosque maulino es poco conocida. En un estudio de la composición y abundancia de coleópteros epigeos asociados al bosque maulino en la Reserva Nacional Los Queules, Grez *et al.* (2003) detectaron 85 especies de insectos. Desde el punto de vista entomológico, una de las especies menos estudiadas en el país es el "hualo" o roble maulino, *Nothofagus glauca* (Phil) Krasser (Fagaceae), árbol endémico de Chile, que forma parte del bosque maulino, una especie clasificada como vulnerable (IUCN 2010). Se distribuye por la Cordillera de la Costa en forma discontinua desde Alhué, Provincia de Melipilla, Región Metropolitana (33°56'S), hasta Quirihue, Provincia de Ñuble, Región del Bío-Bío (36°17'S); y por la Cordillera de Los Andes desde la precordillera al Norte del Río Teno (35°01'S), Provincia de Curicó, Región del Maule, hasta San Fabián de Alicó (36°32'S), Provincia de Ñuble, Región del Bío-Bío (Ormazábal y Benoit 1987; Donoso 1993). La finalidad de este estudio fue contribuir al conocimiento de la composición y daño de especies de insectos asociados específicamente a *N. glauca* en renovales ubicados en la Región del Maule, Chile.

Materiales y Métodos

Se hicieron 18 muestreos en rodales de ~100 ha de *N. glauca*, en el Centro Experimental Dr. Justo Pastor León, 35°26'S 72°17'O, de la Facultad de Ciencias Forestales y Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile, Empedrado, Provincia de Talca (Región del Maule, Chile), durante las temporadas primavera-verano de 2001-2002, 2002-2003 y 2003-2004, la época de mayor actividad de los insectos (Jaña-Prado y Grez 2004). Estos rodales presentaron una densidad de árboles variable dada su condición de formación natural con una altura cercana a los 15 m y como especies acompañantes se identificaron principalmente a: *Ugni molinae* Turczaninow (Myrtaceae), *Pernettya insana* (Molina) Gunckel (Ericaceae), *Azara integrifolia* Ruiz et Pavón (Flacourtiaceae), *Lithraea caustica* (Molina) Hooker & Arnott (Anacardiaceae) and *Persea lingue* Miers ex. Bertero Ness (Lauraceae). Se usaron diversas técnicas de detección de signos o síntomas de daño: para insectos de la copa se usaron bolsas de tela delgada y transparentes de algodón (1m x 0,5 m) que fueron atadas en las ramas, además de paraguas y redes entomológicas para colectas directas desde el follaje; los frutos se muestrearon en forma directa y se trasladaron al Laboratorio de Entomología Forestal de la Facultad de Ciencias Forestales y Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile, en Santiago, donde se mantuvieron en condiciones de temperatura y humedad controladas hasta la emergencia de los adultos; los insectos de las raíces se obtuvieron mediante excavaciones, y los insectos de la corteza y madera se colectaron con una malla de cuadrículado de 0,1mm de 1m de longitud por 0,60-0,80m de ancho grapada al fuste a ~0,50 m sobre el nivel del suelo. En total se enmallaron 10 árboles en su tronco por temporada, repartidos al azar dentro del rodal, que se revisaron cada mes en la temporada de primavera verano. Adicionalmente, para detectar xilófagos se usó el método de árboles cebo (Aguilar *et al.* 1997), entre septiembre y noviembre de 2003. Este material se trozó en piezas de 1 m de longitud, con diámetro medio de 0,25 m y al cabo de dos meses que se trasladaron en sacos de polietileno al Laboratorio de Entomología Forestal en Santiago. Se hicieron riegos periódicos por aspersión para asegurar el desarrollo de las larvas y emergencia posterior de los adultos.

Los insectos adultos colectados se pusieron en frascos de vidrio con alcohol 70%, y los estados juveniles se mantuvieron con hojas o ramas de *N. glauca* en cajas plásticas con ventilación. Todo el material se etiquetó y trasladó al Laboratorio de Entomología Forestal, en Santiago, donde los estados juveniles se criaron según las condiciones señaladas anteriormente hasta su emergencia y se hicieron las identificaciones taxonómicas bajo una lupa estereoscópica de alta resolución, mediante claves de reconocimiento de insectos (Sáiz *et al.* 1989; Artigas 1994a, b; Peña 2001) y por comparación con ejemplares de los Museos de Entomología Forestal y de Entomología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la de la Universidad de Chile, y del Museo Nacional de Historia Natural de Santiago de Chile.

Las especies se ordenaron según la estructura dañada en insectos de hojas, insectos de ramas y frutos, insectos de corteza, xilófagos e insectos de raíces. También se hizo una valoración acumulada del daño (X) para cada especie muestreada, donde se estableció una sumatoria de la valoración cuantitativa, obtenida según los siguientes factores con sus niveles: a) origen del insecto: 0 sin antecedentes (s.a.), 1 nativo, 2 introducido; b) especificidad: 0 (s.a.), 1 polífaga, 2 oligófaga, 3 monófaga; c) efectos del daño: 0 (s.a.), 1 debilita fisiológicamente al árbol, 2 destruye partes del árbol, 3 mata al árbol; d) Hemisferio de daño: 1 raíces, 2 frutos, 3 ramas o follaje, 4 corteza, 5 madera; y e) período de presencia: 1 una temporada, 2 dos temporadas, 3 tres temporadas. Las valoraciones de cada nivel se asignaron de acuerdo al impacto en la estabilidad física y supervivencia del árbol, así se consideró una mayor valoración para un insecto introducido dada la mayor probabilidad de convertirse en plaga al no contar con sus enemigos naturales; también se consideró de mayor impacto una especie monófaga al alimentarse de una única especie y respecto del hemisferio de daño se dio un mayor valor a los insectos de la madera y corteza, por el efecto de anillado que producen en los árboles afectando su estabilidad y supervivencia y un menor valor a los insectos asociados a las raíces cuyos problemas eran menores según las observaciones en terreno. Cada factor tuvo la misma ponderación a fin de reducir el error dada la ausencia de información sobre su influencia en el daño. Para cada especie se utilizó una clasificación del daño en tres categorías basada en la valoración acumulada del daño según su impacto en el árbol: daño significativo, daño moderado, daño leve y sin daño que se establecieron con igual ponderación para reducir el error (Tabla 1).

Resultados

El conjunto de insectos asociados a *N. glauca* estuvo constituido por 25 especies, en tres órdenes y 13 familias, siendo los coleópteros el grupo más numeroso, con 19 especies y siete familias (Tabla 2). El número de especies de insectos asociados a hojas fue superior a los otros grupos, con un incremento en el transcurso de las temporadas de evaluación. Los otros grupos de insectos presentaron una tendencia más o menos estable durante los tres períodos de muestreo (Fig. 1).

Se detectaron ocho nuevas citas para *N. glauca*: *Brachysternus prasinus* Guérin, 1830 (Coleoptera: Scarabaeidae), *Hybreoleptops aureosignatus* Blanchard, 1851 (Coleoptera: Curculionidae), *Perzelia* sp. (Lepidoptera: Oecophoridae), *Hornius sulcifrons* Fairmaire, 1885 (Chrysomelidae), *Sphaerophorus faber* Kuschel, 2003 (Curculionidae), *Sericoides* sp. (Scarabaeidae), *Aegorhinus superciliosus* Guérin, 1830

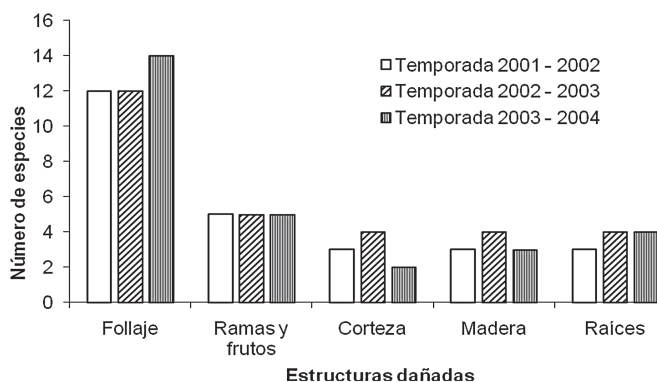
Tabla 1. Categorías del daño según valoración acumulada del daño de las especies de insectos asociados a *Nothofagus glauca*.

Categorías de daño	Valoración acumulada del daño*
Significativo: Insecto que se presenta en niveles que producen un daño mayor, con potencial de afectar la estabilidad física y supervivencia del árbol.	$10 < X \leq 13$
Moderado: Insecto que produce un daño de mediana consideración, sin afectar la estabilidad física ni supervivencia del árbol.	$7 < X \leq 10$
Leve: Insecto que produce un daño de baja consideración.	$4 < X \leq 7$
Sin daño: No presenta ningún efecto dañino.	$1 \leq X \leq 4$

* Se estableció como una sumatoria de la valoración cuantitativa para cada especie muestreada, según los siguientes factores con sus niveles: a) origen del insecto: 0 sin antecedentes (s.a.), 1 nativo, 2 introducido; b) especificidad: 0 s.a., 1 polífaga, 2 oligófaga y 3 monófaga; c) efectos del daño: 0 s.a., 1 debilita fisiológicamente al árbol, 2 destruye partes del árbol, 3 mata al árbol; d) Estructura dañada: 1 frutos, 2 raíces, 3 ramas o follaje, 4 corteza, 5 madera; y e) período de presencia: 1 una temporada, 2 dos temporadas, 3 tres temporadas.

(Curculionidae) y *Tettigades chilensis* Amyot & Serville, 1843 (Hemiptera: Cicadidae). Además, ampliaron su distribución hacia el norte del país cinco especies: los coleópteros: *H. aureosignatus*, *Hybreoleptops tuberculifer* Boherman, 1842 (Curculionidae), *H. sulcifrons*, *A. superciliosus* y *Cognatha viridiventrís* Solier, 1849 (Buprestidae).

Insectos del follaje. Se encontraron 16 especies de insectos asociados al follaje de *N. glauca*, los coleópteros, el grupo más numeroso con 11 especies, es seguido por tres especies de lepidópteros y por último, dos hemípteros. Entre los coleópteros las familias más numerosas fueron Chrysomelidae con cuatro especies, y Curculionidae y Scarabaeidae con tres especies cada una. La mayor parte de las especies generaron daño moderado (14), dos scarabeidos, *Hylamorpha elegans* Burmeister, 1844 y *B. prasinus* se observaron en las tres temporadas; dos lepidópteros *Ormiscodes* sp. (Saturniidae) y un Geometridae; un curculiónido *H. aureosignatus*; un hemíptero (Aphididae); un hemíptero, *Leptoglossus chilensis* Spinola, 1852 (Coreidae) y tres crisomélidos, *Mylassa* sp., *Psathyrocerus* sp. y *Protopsilapha pyrrhoptera* Philippi y Philippi, 1864. En dos temporadas consecutivas se presentaron dos coleópteros: *H. tuberculifer* y *Ectinogonia buqueti* Germain, 1856 (Buprestidae). Por último, en una única temporada se observó al lepidóptero *Perzelia* sp. y al crisomélido *H. sulcifrons*. Se presentaron dos especies, en una sola temporada: *S. faber* y *Sericoides* sp., causando daño leve (Tabla 2).

**Figura 1.** Número de especies de insectos asociados a *Nothofagus glauca*, según estructuras dañadas en las tres temporadas de primavera-verano muestreadas.

Se observaron adultos de *H. elegans* en las tres temporadas de estudio, especialmente entre noviembre y diciembre y se verificó la defoliación causada. El daño de larvas de *Perzelia* sp., con pliegues en las hojas y consumo de la lámina se centró entre octubre y noviembre. También se observaron a adultos de *H. aureosignatus* consumiendo hojas tiernas.

Insectos de ramas y frutos. Todos los insectos asociados a ramas y frutos causaron daño moderado y estuvieron presentes en las tres temporadas. Se observó al hemíptero *T. chilensis* causando heridas en las ramillas. En frutos se detectó a una especie de *Perzelia* dañando los frutos, la misma que había sido observada consumiendo hojas de *N. glauca* (Tabla 2).

Insectos de la corteza. Los coleópteros *Calydon submetallicum* Blanchard, 1851 y *C. viridiventrís* presentaron daño significativo en árboles débiles con un estado avanzado de daño. Se clasificaron como asociados a daño moderado los coleópteros: *Grammicus flavofasciatum* Blanchard in Orbigny, 1843 (Cerambycidae) y *A. superciliosus*. Se observaron dos especies de Coleoptera, una en la primera temporada, *Archesia* sp. (Melandryidae) y otra en la segunda, *Calymmaderus* sp. (Anobiidae), ambas con daño leve (Tabla 2).

Insectos de la madera. Dos coleópteros presentaron daño significativo: *C. submetallicum* y *C. viridiventrís*. Generando daño moderado se observó a dos buprestidos: *Polycesta costata* Solier, 1849 y *E. buqueti*; y dos cerambycidos: *G. flavofasciatum* y *Acanthinodera cummingii* Hope, 1833; este último, además se observó alimentándose de madera descompuesta de *N. glauca*. También se detectó al anóbido *Calymmaderus* sp., causando un daño leve (Tabla 2).

Se observaron oviposiciones de *C. submetallicum* en octubre de 2003, que se trasladaron a Santiago, donde eclosionaron; los adultos se obtuvieron al año siguiente, entre agosto y octubre, lo que da cuenta de la extensión de su ciclo de vida en condiciones de laboratorio.

Insectos de las raíces. Se observó al escarabeido *H. elegans*, a *T. chilensis* cerca de la base del tronco durante las excavaciones y al escarabeido *B. prasinus*, todos en estado adulto, clasificándose como asociados a daño moderado. Se detectó al curculiónido *A. superciliosus* y al escarabeido *Sericoides* sp., causando un daño leve y sin daño, respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Composición de especies y categoría de daño de insectos de *Nothofagus glauca* según estructura dañada.

Estructura dañada	Orden	Familia	Especie	O	E I	E D	H D	P	V D	Temporada de ocurrencia				Categoría de daño
										2001	2002	2003	2004	
Follaje	Col.	Scarabaeidae	<i>Hylamorphia elegans</i> Burneister, 1844	1	1	2	3	3	10	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Col.	Scarabaeidae	<i>Brachysternus prasinus</i> Guérin, 1830	1	1	2	3	3	10	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Lep.	Saturniidae	<i>Ormiscades</i> sp.	1	1	2	3	3	10	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Col.	Cuculionidae	<i>Hybroleptops aureosignatus</i> Blanchard, 1851	1	1	2	3	3	10	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Col.	Chrysomelidae	<i>Psathyrocenus</i> sp.	1	1	2	3	3	10	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Col.	Chrysomelidae	<i>Mylasa</i> sp.	0	2	1	3	3	9	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Hem.	Coreidae	<i>Leptoglossus chilensis</i> Spinola, 1852	1	1	1	3	3	9	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Col.	Chrysomelidae	<i>Protopsalptra pyrrhoptera</i> Philippi y Philippi, 1864	1	1	1	3	3	9	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Col.	Cuculionidae	<i>Hybroleptops tuberculifer</i> Boheman, 1842	1	1	2	3	2	9	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Lep.	Oecophoridae	<i>Perzela</i> sp.	1	2	2	3	1	9	-	-	-	+	Moderado
Follaje	Col.	Chrysomelidae	<i>Hornius sulcifrons</i> Fairmaire, 1885	1	2	2	3	1	9	-	-	-	+	Moderado
Follaje	Lep.	Geometridae	Sp.	0	1	1	3	3	8	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Hem.	Aphididae	Sp.	0	1	1	3	3	8	+	+	+	+	Moderado
Follaje	Col.	Buprestidae	<i>Ectinogonia buqueti</i> German, 1856	1	1	1	3	2	8	-	+	+	+	Moderado
Follaje	Col.	Cuculionidae	<i>Sphaerophorus faber</i> Kuschel, 2003	1	1	1	3	1	7	+	+	-	-	Leve
Follaje	Col.	Scarabaeidae	<i>Sericoides</i> sp.	0	1	1	3	1	6	-	-	-	+	Leve
Ramas	Col.	Chrysomelidae	<i>H. sulcifrons</i>	1	2	2	3	3	11	+	+	+	+	Moderado
Ramas	Col.	Cerambycidae	<i>Calydon submetallicum</i> Blanchard, 1851	1	1	2	3	3	10	+	+	+	+	Moderado
Ramas	Hem.	Cicadidae	<i>Tettigades chilensis</i> Amyot & Serville, 1843	1	1	2	3	3	10	+	+	+	+	Moderado
Frutos	Lep.	Oecophoridae	<i>Perzela</i> sp.	1	2	2	2	3	10	+	+	+	+	Moderado
Ramas	Col.	Cuculionidae	<i>Aegorhinus superciliosus</i> Guérin, 1830	1	1	1	3	3	9	+	+	+	+	Moderado
Corteza	Col.	Cerambycidae	<i>C. submetallicum</i>	1	1	2	4	3	11	+	+	+	+	Significativo
Corteza	Col.	Buprestidae	<i>Conognatha viridiventris</i> Solier, 1849	1	3	2	4	1	11	+	-	-	-	Significativo
Corteza	Col.	Cerambycidae	<i>Grammicocum flavofasciatum</i> Blanchard in Orbigny, 1843	1	1	1	4	2	9	-	+	+	+	Moderado
Corteza	Col.	Cuculionidae	<i>A. superciliosus</i>	1	1	1	4	1	8	-	+	+	-	Moderado
Corteza	Col.	Anobiidae	<i>Calymmadenus</i> sp.	0	0	0	4	1	5	-	+	+	-	Leve
Corteza	Col.	Melandryidae	<i>Archesta</i> sp.	0	0	0	4	1	5	-	+	-	-	Leve
Madera	Col.	Cerambycidae	<i>C. submetallicum</i>	1	1	2	5	3	12	+	+	+	+	Significativo
Madera	Col.	Buprestidae	<i>C. viridiventris</i>	1	2	2	5	1	11	+	-	-	-	Significativo
Madera	Col.	Cerambycidae	<i>G. flavofasciatum</i>	1	1	1	5	2	10	-	+	+	+	Moderado
Madera	Col.	Buprestidae	<i>Polycesta costata</i> Solier, 1849	1	1	1	5	1	9	+	+	-	-	Moderado
Madera	Col.	Cerambycidae	<i>Acanthinodera cumingi</i> Hope, 1833	1	1	1	5	1	9	-	+	+	-	Moderado
Madera	Col.	Buprestidae	<i>E. buqueti</i>	1	1	1	5	1	9	-	-	-	+	Moderado
Madera	Col.	Anobiidae	<i>Calymmadenus</i> sp.	0	0	0	5	1	6	-	+	+	-	Leve
Raíces	Col.	Scarabaeidae	<i>H. elegans</i>	1	1	2	1	3	8	+	+	+	+	Moderado
Raíces	Hem.	Cicadidae	<i>T. chilensis</i>	1	1	2	1	3	8	+	+	+	+	Moderado
Raíces	Col.	Scarabaeidae	<i>B. prasinus</i>	1	1	2	1	3	8	+	+	+	+	Moderado
Raíces	Col.	Cuculionidae	<i>A. superciliosus</i>	1	1	1	1	1	5	-	+	+	-	Leve
Raíces	Col.	Scarabaeidae	<i>Sericoides</i> sp.	0	1	1	1	1	4	-	-	-	+	Sin daño

O = Origen: 0 sin antecedentes (s.a.), 1 nativo, 2 introducido. EI = Especificidad del insecto: 0 s.a., 1 polífaga, 2 oligófaga, 3 monófaga. ED = Efecto del daño: 0 s.a., 1 debilitamiento fisiológico del árbol, 2 destruye porciones del árbol, 3 mata al árbol. HD = Hemisferio de daño: 1 raíces, 2 frutos, 3 hojas o ramas, 4 corteza, 5 madera. P = Presencia: 1 en una temporada, 2 en dos temporadas, 3 en tres temporadas. VD = Valoración de daño. Categoría de daño: sin daño (1-4), daño leve (4,1-7), daño moderado (7,1-10), daño significativo (10,1-13). Temporada de ocurrencia: - ausencia, + presencia.

Discusión

La valoración del daño en especies vegetales por insectos es una herramienta necesaria para la toma de decisiones sobre el manejo integrado de plagas. En este sentido, la composición de especies de insectos que causan daño y una estimación del impacto constituye una primera aproximación para abordar programas de protección fitosanitaria. La tendencia a detectar más coleópteros, seguido de lepidópteros entre los insectos asociados a hojas de *N. glauca* también la observaron De la Vega y Grez (2008), quienes en un bosque maulino encontraron una mayor abundancia de coleópteros (78%), seguida por lepidópteros (12%). Además, se verificó que los adultos eran los que defoliaban, tal como señalaron Durán (1952) y Carrillo y Cerda (1987).

Perzelia sp. se ha descrito como agente causal de daño primario, perforando semillas y con daño secundario, esquelizando hojas de plantas del género *Nothofagus* (Baldini y Pancel 2002). En este estudio su daño se centró entre octubre y noviembre, formando pliegues en las hojas y consumiendo la lámina foliar. *Sphaerophorus faber* se observó consumiendo hojas tiernas y actuando en parejas; además constituye una nueva cita para *N. glauca* ya que sólo había sido prospectada en roble (*Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oest, 1872) por Kuschel (2003).

El crisomélido *H. sulcifrons* incrementó su área de distribución hacia el norte del país, pues Arias (2000) lo había registrado en la Región de Carlos Ibáñez del Campo, sobre *Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oersted, 1872 (Fagaceae), por lo que este estudio contribuyó con un nuevo registro de esta especie, consumiendo hojas tiernas de *N. glauca* y siempre de dos individuos. Una situación similar sucedió con los curculiónidos *A. superciliosus*, *H. aureosignatus* y *H. tuberculifer*, cuya distribución estaba restringida desde la Región del Bío-Bío a la de los Lagos (Artigas 1994a; Arias 2000); y con el buprestido *C. viridiventris*, que amplió su distribución norte, establecida previamente desde la Región del Bío-Bío por Lazo (2002).

Entre los insectos de ramas y frutos con daño moderado se observó al hemíptero *T. chilensis*, causando heridas en las ramillas de *N. glauca*, tal como señala Artigas (1994a) para otras especies cercanas. El bajo potencial regenerativo de *N. glauca* puede ser atribuido al daño causado por *Perzelia* sp., el que se verificó en este estudio, estimándose que alrededor del 60% de los frutos presentes en el árbol en la época de primavera presentaban daño por este insecto. Esta cifra se encuentra dentro del rango señalado por Burgos *et al.* (2008), en un estudio de semillas de *N. glauca*.

En este estudio se vieron adultos de *H. elegans* al pie del tronco de *N. glauca*, lo que coincide con las observaciones de Kuschel (1951), sobre la ubicación de las hembras para oviponer. Este autor agregó que las larvas de este insecto causaban daño en las raíces, junto a galerías externas y también en el cuello de la planta. Aguilar y Rebolledo (2001) confirmaron posteriormente la acción de las larvas de este insecto. Respecto a los insectos de raíces, los escarabeidos *B. prasinus* y *H. elegans* presentaron un daño moderado y se detectaron en las tres temporadas en estado adulto. Estos insectos son comunes por su agresividad y daño a las raíces y raicillas de las plantas (Durán 1954). Pueden llegar a constituirse en plagas forestales, por su alta capacidad de dispersión, y por los hábitos polífagos tanto de larvas como adultos (Carrillo y Cerda 1987; Baldini y Pancel 2002).

Conclusiones

El conocimiento de la composición de insectos que causan daño y la estimación del impacto potencial sobre la estabilidad física y supervivencia de los renovales de *N. glauca* de la Región del Maule, Chile, especie endémica chilena que ha sido severamente alterada durante siglos y cuya superficie se ha ido reduciendo en forma acelerada en los últimos tiempos, constituye una primera aproximación para enfrentar eventuales medidas de protección de este recurso.

Agradecimientos

Los autores agradecen el aporte financiero de la Corporación Nacional Forestal (Chile), a través del Proyecto "Caracterización de los principales insectos asociados a *Nothofagus glauca* y sus daños".

Literatura citada

- AGUILAR, A.; VERGARA, G.; RÍOS, R. 1997. Contribución a la evaluación de daño de dos insectos barrenadores de madera asociados a *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst y *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst, en la Provincia de Valdivia, X Región. p. 80- 88. En: Corporación Nacional Forestal (eds.). Actas Congreso Internacional de Plagas Forestales. Corporación Nacional Forestal, Pucón, Chile. 471 p.
- AGUILERA, A.; REBOLLEDO, R. 2001. Estadios larvarios de *Aegorhinus superciliosus* (Guérin, 1830) (Coleoptera: Curculionidae). Revista Chilena de Entomología 28: 5-8.
- ARIAS, E. 2000. Coleópteros de Chile. Editorial Fototeknika Ltda., Santiago. 209 p.
- ARTIGAS, J. 1994a. Entomología económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario (nativos, introducidos y susceptibles de ser introducidos). Volumen 1. Ediciones Universidad de Concepción, Concepción. 1.126 p.
- ARTIGAS, J. 1994b. Entomología económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario (nativos, introducidos y susceptibles de ser introducidos). Volumen 2. Ediciones Universidad de Concepción, Concepción. 943 p.
- BALDINI, A.; PANCEL, L. 2002. Agentes de daño en el bosque nativo. Editorial Universitaria, Santiago. 408 p.
- BURGOS, A.; GREZ, A.; BUSTAMANTE, R. 2008. Seed production, pre-dispersal seed predation and germination of *Nothofagus glauca* (Nothofagaceae) in a temperate fragmented forest in Chile. Forest Ecology and Management 255: 1226-1233.
- BUSTAMANTE, R.; CASTOR, C. 1998. The decline of an endangered temperate ecosystem: the ruil (*Nothofagus alessandrii*) forest in central Chile. Biodiversity and Conservation 7: 1607-1626.
- CARRILLO, R.; CERDA, L. 1987. Zoofitófagos en *Nothofagus* chilenos. Bosque 8(2): 99-103.
- DE LA VEGA, X.; GREZ, A. 2008. Composición, riqueza de especies y abundancia de insectos defoliadores de actividad nocturna asociados a *Aristotelia chilensis* (maqui) en el bosque maulino fragmentado. Revista Chilena de Historia Natural 81: 221-238.
- DONOSO, C. 1993. Bosques templados de Chile y Argentina: Variación, estructura y dinámica. Editorial Universitaria, Santiago. Chile. 484 p.
- DURÁN, L. 1952. Aspectos ecológicos de la biología del San Juan verde, *Hylamorphia elegans* (Buró) y mención de las demás especies de escarabeidos perjudiciales en Cautín. Agricultura Técnica (Chile) 12(1): 24-36.
- DURÁN, L. 1954. La biología del *Phytoloema hermanni* Germ. y mención de otros escarabeidos perjudiciales a la agricultura en las provincias australes de Chile. Revista Chilena de Historia Natural 54(1): 5-20.

- ECHEVERRÍA, C.; COOMER, D.; SALAS, J.; REY-BENAYAS, J.; LARA, A.; NEWTON, A. 2006. Rapid deforestation and fragmentation of Chilean temperate forests. *Biological Conservation* 130: 481-494.
- GAJARDO, R. 2001. Antecedentes sobre el "Roble de Santiago" o "Roble blanco" (*Nothofagus macrocarpa*) y sus problemas de conservación. *Bosque Nativo* 28: 3-7.
- GREZ, A.; BUSTAMANTE, R.; SIMONETTI, J.; FAHRIG, L. 1997. Landscape ecology, deforestation and habitat fragmentation: the case of the rui forest in Chile. p. 1-26. En: Salinas-Chávez, E. & Middleton, J. (eds.), *Landscape ecology as a tool for sustainable development in Latin América*.
- GREZ, A.; MORENO, P.; ELGUETA, M. 2003. Coleópteros (Insecta: Coleoptera) epigeos asociados al bosque maulino y plantaciones de pino aladañas. *Revista Chilena de Entomología* 29: 9-18.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources). 2010. The IUCN red list of threatened species. Web site. <http://www.iucn.org>. Fecha revisión: 9 junio 2010. Fecha último acceso: [9 junio 2010].
- JANA-PRADO, R.; GREZ, A. 2004. Insectos herbívoros en el bosque maulino: un ecosistema fragmentado. *Revista Chilena de Entomología* 30: 27-43.
- KUSCHEL, G. 1951. La subfamilia Aterpinae en América (Ap. 12 de Coleoptera Curculionidae). *Revista Chilena de Entomología* 1: 205-244.
- KUSCHEL, G. 2003. A ball forming weevil from young *Nothofagus* leaves in Chile (Coleoptera: Curculionidae: Curculioninae: Sphaeriopoeini). *Revista Chilena de Entomología* 29: 59-65.
- LAZO, W. 2002. *Insectos de Chile. Atlas entomológico*. Editorial Salesianos SA, Universidad de Chile. Facultad de Ciencias, Santiago, Chile. 190 p.
- ORMAZÁBAL, C.; BENOIT, I. 1987. El estado de conservación del género *Nothofagus* en Chile. *Corporación Nacional Forestal. Bosque* 8(2): 109-120.
- PEÑA, L. 2001. *Introducción al estudio de los insectos de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 253 p.
- SÁIZ, F.; SOLERVICENS, J.; OJEDA, P. 1989. *Coleópteros del Parque Nacional La Campana y Chile central*. Ediciones Universitarias de Valparaíso, Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. 124 p.
- SOLERVICENS, J.; ESTRADA, P. 2002. Insectos epigeos de asociaciones vegetacionales esclerófilas de la Reserva Nacional Río Clarillo. *Acta Entomológica Chilena* 26: 27-44.

Recibido: 18-jun-2010 • Aceptado 3-mar-2011

Parámetros biológicos de *Proprioseiopsis iorgius* sobre *Tetranychus desertorum* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae)

Biological parameters of *Proprioseiopsis iorgius* on *Tetranychus desertorum* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae)

VÍCTOR TELLO MERCADO¹, ROMINA BRICEÑO VALDIVIA² y PAMELA CASTILLO MARTÍNEZ³

Resumen: El desarrollo postembrionario, consumo y parámetros de tabla de vida de *Proprioseiopsis iorgius* se estudiaron a $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, $70\pm 5\%$ de H.R. y un fotoperíodo de 14:10 horas (luz: oscuridad) para evaluar la potencialidad de este depredador por alimentarse sobre la araña del desierto *Tetranychus desertorum*. Los huevos, ninfas, larvas y adultos de *T. desertorum* pueden considerarse alimentos óptimos para *P. iorgius* porque la tasa de supervivencia fue 100, 96, 93 y 93%, respectivamente. La duración del desarrollo postembrionario de *P. iorgius* fue significativamente diferente ($P < 0,05$) entre las distintas dietas. El estadio de larva fue el de menor duración (1,2 a 1,3 días) aunque no se alimentó de ningún estadio de *T. desertorum*. Los periodos de oviposición, post-oviposición y longevidad de *P. iorgius* fueron 11,2, 3,0 y 16,8 días, respectivamente. Los parámetros biológicos de *P. iorgius* y *T. desertorum* fueron: $r_m=0,225$ y $0,191$, $T=14,961$ y $18,565$, $R_0=28,913$ y $34,357$, $\lambda=1,252$ y $1,210$, respectivamente. Los valores altos de r_m y λ registrados para *P. iorgius* bajo las condiciones experimentales son indicadores del potencial de control que presentaría este fitoseido como depredador de *T. desertorum*.

Palabras clave: Tabla de vida. Desarrollo postembrionario. Control biológico.

Abstract: The postembryonic development, consumption and life table parameters of *Proprioseiopsis iorgius* were studied at $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ and $70\pm 51\%$ RH and a photoperiod of 14:10 h (L:D) in order to evaluate the potential of this predator for feeding on the desert spider mite *Tetranychus desertorum*. Eggs, nymphs, larvae and adults of *T. desertorum* could be considered optimal food for *P. iorgius*, because the survival rate was 100%, 96%, 93% and 93%, respectively. The duration of postembryonic development of *P. iorgius* was significantly different ($p < 0.05$) between the distinct diets; the larval stage was the shorter duration (1.2 to 1.3 days) even though it did not feed on any stage of *T. desertorum*. The oviposition and postoviposition periods and longevity of *P. iorgius* were 11.2, 3.0 and 16.8 days, respectively. Biological parameters of *P. iorgius* and *T. desertorum* were: $r_m=0.225$ and 0.191 ; $T=14.961$ and 18.565 ; $R_0=28.913$ and 34.357 , $\lambda=1.252$ and 1.210 , respectively. The high values of r_m and λ found for *P. iorgius* under the experimental conditions are indicators of the control potential that this phytoseiid mite could have as a predator of *T. desertorum*.

Key words: Life table. Postembryonic development. Biological control.

Introducción

Los ácaros son las plagas más importantes de las plantas cultivadas después de los insectos. Estos pequeños arácnidos, ocasionan severos daños a muchos cultivos, sobre todo cuando se trata de elevados niveles poblacionales (Mirabal 2003). Los ácaros depredadores son importantes agentes de control biológico, esenciales en los programas de manejo integrados de plaga, teniendo gran relevancia especialmente en el manejo de ácaros fitófagos. La familia Phytoseiidae es un grupo de estos ácaros depredadores que cuenta con alrededor de 2.250 especies descritas, y es objeto de intensos estudios debido a su rol como depredadores de plagas agrícolas (McMurtry y Croft 1997).

En Chile se han reportado 48 especies de ácaros fitoseidos asociados a plantas cultivadas o malezas, algunos han sido reportados como un factor de regulación en las poblaciones de los ácaros fitófagos de importancia económica, tales como *Tetranychus urticae* Koch, 1836, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval, 1867), *Panonychus ulmi* (Koch, 1836) y *Panonychus citri* (McGregor, 1916) (Acari: Tetranychidae) (Ragusa 2000; Ragusa *et al.* 2000; Ragusa y Vargas 2002; Rioja y Vargas 2009; Tello *et al.* 2009a, 2009b).

Se sabe muy poco sobre la biología de las especies de fitoseidos del género *Proprioseiopsis* (Emmert *et al.* 2008a). Las especies que han sido estudiadas son *P. temperellus* (Muma y Denmark, 1967), *P. cannaensis* Muma, 1962, *P. mexicanus* (Garman, 1958), *P. rotundus* (Muma, 1961) (Acari: Phytoseiidae) (Ball 1980; Bakker *et al.* 1993; Mégevand *et al.* 1993; Emmert *et al.* 2008a). *P. iorgius* es una especie descrita por Karg (1976) y citada sólo para Chile, encontrándose en el sector de Fray Jorge ($30^{\circ}40'S$ $71^{\circ}40'W$), Región de Coquimbo, Chile (Karg 1976; Moraes *et al.* 2004).

Tetranychus desertorum Banks, 1900 (Acari: Tetranychidae), es un ácaro fitófago que ataca a una gran variedad de cultivos, se adapta a una gran diversidad de ambientes, forma colonias numerosas en el envés de las hojas y produce seda o tela de araña. *T. desertorum* tiene como hospederos, en Chile, a fréjol, alfalfa, sandía, alcayota. Se distribuye desde la Región de Arica y Parinacota hasta la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins. En la Región de Tarapacá se asocia principalmente a la alfalfa donde se controla principalmente con productos químicos.

Se desconoce si hay relación depredador-presa entre el fitoseido *P. iorgius* y *T. desertorum*, por lo que el objetivo de este trabajo fue estudiar el desarrollo postembrionario y los

¹ Ph. D., Departamento de Agricultura del Desierto, Universidad Arturo Prat. Avenida Arturo Prat 2120, Casilla 121, Iquique, Chile. vtello@unap.cl. Autor para correspondencia. ² Ing A., Departamento de Agricultura del Desierto, Universidad Arturo Prat. Avenida Arturo Prat 2120, Casilla 121, Iquique, Chile.

³ Ing A., Departamento de Agricultura del Desierto, Universidad Arturo Prat. Avenida Arturo Prat 2120, Casilla 121, Iquique, Chile.

parámetros de vida del ácaro depredador *P. iorgius* y determinar la capacidad de consumo sobre diferentes estados de desarrollo de *T. desertorum*.

Materiales y Métodos

Los bioensayos se realizaron en los laboratorios del Campus Huayquique dependiente de la Universidad Arturo Prat (UNAP) bajo condiciones experimentales de temperatura ($23\pm 3^{\circ}\text{C}$), humedad relativa ($70\pm 5\%$) y fotoperíodo (14:10 h L:O). Los ácaros utilizados fueron el fitoseido *T. iorgius*, colectado en plantas de orégano, *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) en la localidad de Iquique ($20^{\circ}16' \text{ S } 70^{\circ}7' \text{ W}$), Región de Tarapacá y *T. desertorum* colectado en plantas de alfalfa, *Medicago sativa* L. (Fabaceae) en la Estación Experimental "Canchones" ($20^{\circ}26' \text{ S}; 69^{\circ}32' \text{ O}$), Región de Tarapacá. Para alimentar las crías de *P. iorgius* se mantuvieron poblaciones de *T. urticae* sobre plantas de frejol, *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae). Los ácaros fueron identificados el Ingeniero Agrónomo Sr. Osán Peralta y ratificados por los doctores Salvatore Ragusa y Gilberto De Moraes.

Los ensayos se condujeron en placas de acrílico negro de 6x6 cm, tal como las descritas por Swirski *et al.* (1970). Se utilizó pegamento (point sticking glue, Point Chile S.A.) para evitar el escape de los ácaros desde las placas. Las observaciones durante todo el período de trabajo se realizaron en lupa estereoscópica 40X (Zeiss Stemi, Alemania).

Desarrollo postembrionario. En estos ensayos se determinó el potencial de desarrollo desde el estado de huevo a adulto de *P. iorgius* alimentado con dietas simples consistentes en un estado de la presa por vez: huevos, larvas, ninfas (mezcla de proto y deutoninfas) y adultos de *T. desertorum*. Se dispuso un huevo de 20h de edad, como máximo, en una placa de 6x6 cm de diámetro, observándose diariamente, a la misma hora, hasta que se obtuvo el adulto. Estos huevos provenían de diferentes hembras mantenidas en cría habiendo transcurrido aproximadamente cinco generaciones desde el establecimiento del criadero. El alimento se administró diariamente en forma de 20 individuos de cada estado de la presa. Se evaluó la supervivencia, duración y consumo de cada uno de los estados de desarrollo del fitoseido. Cada prueba tuvo 30 repeticiones, correspondiendo a cada repetición un huevo de fitoseido por placa.

Consumo de presas. El consumo de presas se evaluó en todos los estados pre-imaginales usando huevos de *T. desertorum*. En los ensayos con estados juveniles se procedió como fue explicado en las pruebas sobre desarrollo postembrionario, administrando 20 presas (huevos, larvas, ninfas y adultos)

diarias de *T. desertorum* para cada individuo. Se contabilizó el número de presas consumidas durante todo el desarrollo preimaginal. Cada prueba tuvo 30 repeticiones, correspondiendo a cada repetición un fitoseido por placa.

Parámetros de vida. se determinaron los efectos de la alimentación con todos los estados de desarrollo de *T. desertorum* sobre los parámetros de vida de *P. iorgius*. Se siguió la metodología descrita por Birch (1948) y aplicada por Ragusa *et al.* (2000), Vargas *et al.* (2005) y Tello *et al.* (2009a y 2009b). Estos parámetros fueron: la tasa intrínseca de crecimiento (r_m), la tasa neta de reproducción (r_0), tiempo generacional (T) y la tasa finita de crecimiento natural (λ). En cada placa se dispuso una pareja de fitoseidos registrándose la oviposición cada 24h hasta la muerte de la hembra. Los machos muertos fueron reemplazados de manera que la hembra fuese constantemente fertilizada. Además de la oviposición se evaluó la supervivencia de las hembras de la cohorte, la supervivencia de los juveniles y la proporción o razón sexual. Cada prueba tuvo 15 repeticiones, correspondiendo a cada repetición una hembra de fitoseido por placa.

Diseño y análisis estadístico. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado para todos los experimentos. Los datos de desarrollo postembrionario, duración de las fases adultas y consumo fueron transformados utilizando $\log(x+1)$ (Zar 2006). El porcentaje de supervivencia fue normalizado a través de la transformación angular $\arcsen\sqrt{x\%}^{-1}$ (Zar 2006). Posteriormente se realizó análisis de varianza (ANDEVA) y los promedios se separaron de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha=0,05$). Para comparar la duración del ciclo huevo a adulto entre machos y hembras y las tasas de consumo entre proto y deutoninfas del fitoseido se aplicó la prueba t-Student. Los parámetros de la tabla de vida se calcularon a través de un programa computacional escrito en BASIC (Abou-Setta *et al.* 1986).

Resultados

Supervivencia y duración del ciclo de vida de *P. iorgius*. *P. iorgius* no presentó diferencias significativas entre los diferentes alimentos ($F_{3,16}=0,23$; $P=0,87$; Tabla 1). Las dietas simples basadas en huevos, larvas y protoninfas de la araña desértica tuvieron una influencia positiva cuando fueron incluidos en la dieta. Sólo en larvas y protoninfas del fitoseido no hubo diferencias significativas (larvas: $F_{3,115}=0,24$; $P=0,87$ y protoninfas: $F_{3,114}=2,38$; $P=0,07$) al ser alimentadas con las diferentes dietas de *T. desertorum*. El estado de deutoninfas presentó diferencias significativas ($F_{3,114}=4,46$; $P<0,05$) con las diferentes dietas. El período de incubación

Tabla 1. Efecto del tipo de alimento o dieta en forma de diferentes estados de desarrollo de *T. desertorum*, sobre el desarrollo postembrionario de *P. iorgius*.

Dieta	n ¹	Larvas	Protoninfas	Deutoninfas	Adultos		Supervivencia ²
					Hembra	Macho	
Huevos	29	29	29	29	23	6	100,00 $\pm$ 0,00 a
Larvas	30	30	30	28	20	8	93,33 $\pm$ 4,63 a
Ninfas	30	30	29	29	24	5	96,67 $\pm$ 3,45 a
Adultos	30	30	30	30	22	8	93,33 $\pm$ 4,79 a

¹ Número de individuos ² Medias seguidas de distinta letra en la columna son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey ($P<0,05$).

Tabla 2. Efecto del tipo de alimento o dieta en forma de diferentes estados de desarrollo de *T. desertorum* sobre la duración del desarrollo postembrionario de *P. iorgius*.

Dieta	Duración de diferentes estadios					
	n ¹	Huevos ²	Larvas ²	Protoninfas ²	Deutoniinfas ²	Adultos
						Hembra ³ Macho ³
Huevos	29	2,6 ± 0,32 b	1,31 ± 0,1 a	1,55 ± 0,13 a	2,31 ± 0,17 a	6,76 ± 0,65 a A 7,83 ± 1,11 ab A
Larvas	30	3,57 ± 0,21 c	1,27 ± 0,08 a	1,87 ± 0,10 a	2,93 ± 0,14 b	9,80 ± 0,26 b A 9,88 ± 0,35 b A
Ninfas	30	2,83 ± 0,16 bc	1,33 ± 0,1 a	1,83 ± 0,09 a	2,66 ± 0,14 ab	8,70 ± 0,20 b A 8,40 ± 0,24 ab A
Adultos	30	1,53 ± 0,12 a	1,23 ± 0,09 a	1,63 ± 0,11 a	2,43 ± 0,10 ab	6,90 ± 0,21 a A 5,43 ± 1,00 a A

¹ Número de individuos. ² Medias seguidas de distinta letra minúscula dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey ($P < 0,05$). ³ Medias seguidas de distinta letra mayúscula dentro de cada fila son estadísticamente diferentes según prueba t-Student ($P < 0,05$).

(Tabla 2) de los huevos de *P. iorgius* varió entre 1,5 y 3,6 días, presentando esta etapa diferencias significativas ($F_{3,116} = 17,29$; $P < 0,001$). La duración del desarrollo completo desde huevo a adulto fue significativamente diferente entre las distintas dietas para hembras ($F_{3,82} = 17,96$; $P < 0,001$) y machos ($F_{3,21} = 5,83$; $P = 0,05$), sin embargo la duración entre los dos sexos, para la misma dieta, fue similar ($P \geq 0,05$).

Consumo. Se encontraron diferencias significativas en las tasas de consumo (Tabla 3) entre los diferentes estados inmaduros de *P. iorgius* (protoninfas: $F_{3,114} = 38,53$; $P < 0,001$; deutoniinfas: $F_{3,114} = 109,73$; $P < 0,001$). *P. iorgius* no se alimentó en su estado larval. Las protoninfas consumieron en orden descendente larvas, ninfas, huevos y en último lugar adultos. Las deutoniinfas de *P. iorgius* depredaron principalmente larvas y ninfas y en menor cantidad huevos y adultos. Al comparar el consumo de los dos estados juveniles de *P. iorgius* que se alimentaron (proto y deutoniinfas) se observaron diferencias significativas cuando se alimentaron de larvas ($t = 10,7$; $P < 0,001$), ninfas ($t = 11,9$; $P < 0,001$) y adultos ($t = 5,76$; $P < 0,0001$). Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas entre proto y deutoniinfas de *P. iorgius* al ser alimentadas con huevos de *T. desertorum* ($t = 0,81$; $P = 0,42$).

Parámetros de tabla de vida

Tasas de oviposición y duración de fases adultas. El periodo de preoviposición fue de $2,6 \pm 0,3$ días y fluctuó entre 1 y 4 (Tabla 4). El periodo de oviposición tuvo una duración promedio de $11,2 \pm 0,3$ días variando entre 9 y 13. El de post-oviposición fue de $3,0 \pm 0,5$ días y varió entre 0 y 6. La longevidad tuvo un promedio de $16,8 \pm 0,6$ días y varió entre 14 y 20 días. La proporción o razón sexual fue 82,0% de hembras y la supervivencia de los estados juveniles de 81,6% ($n = 200$). La

tasa de oviposición media diaria fue $3,9 \pm 0,1$ huevos/hembra⁻¹·día⁻¹. En promedio, una hembra puso durante su vida fértil unos $43,0 \pm 1,3$ huevos.

Tabla de Vida. La tasa neta de reproducción (R_0) fue de 28,91 y el tiempo generacional (T) de 14,96; lo que significa que la población de *P. iorgius* se multiplicará 28,91 veces cada 14,9 días. La tasa intrínseca de incremento natural (r_m) presentado por *P. iorgius* fue de 0,225; lo que implica que la población de este fitoseido se incrementará a una tasa tal, que se espera un incremento de 22,5% de un día a otro. Al convertir esta tasa intrínseca de incremento natural a una tasa finita (λ), tenemos un valor de 1,25, lo que significa que por cada fitoseido presente en un día, habrá aproximadamente 1,25 individuos al día siguiente.

Discusion

Los resultados sobre la supervivencia de *P. iorgius* alimentados con diferentes estados de *T. desertorum* son similares a los obtenidos en fitoseidos alimentados con presas de ácaros del género *Tetranychus* (Pratt *et al.* 1999; Gotoh *et al.* 2004; Escudero y Ferrugat 2005; Kasap 2005; Gotoh *et al.* 2006; Tello *et al.* 2009b). Tello *et al.* (2009b) también obtuvieron 100% de mortalidad al alimentar a *Cydnodromus picanus* Ragnus, 2000, con adultos de *T. cinnabarinus*.

La corta duración de estado larval es concordante con lo registrado por Emmert *et al.* (2008a), quienes obtuvieron para *Proprioseiopsis aetus* (Chant, 1959) (Acari: Phytoseiidae) una duración de 0,9 y 1,0 día para machos y hembras, respectivamente. La fase larval de *P. aetus* fue la más corta y la proporción de tiempo dedicado a esa etapa fue casi independiente de la temperatura, esto concuerda con nuestros resultados los cuales indican que el tiempo de duración de

Tabla 3. Consumo promedio diario de estados juveniles de *P. iorgius* alimentados con huevos, inmaduros móviles y adultos de *T. desertorum*.

Dieta	Consumo por estadio			
	n ¹	Larvas ²	Protoninfas ³	Deutoniinfas ³
Huevos	29	0 ± 0,00 a	3,69 ± 0,36 b A	4,34 ± 0,45 b A
Larvas	30	0 ± 0,00 a	5,20 ± 0,48 ab B	15,07 ± 0,81 a A
Ninfas	30	0 ± 0,00 a	5,14 ± 0,35 a B	14,31 ± 0,85 a A
Adultos	30	0 ± 0,00 a	1,23 ± 0,21 c B	3,17 ± 0,27 b A

¹ Número de individuos.

² Medias seguidas de distinta letra minúscula dentro de cada columna son estadísticamente diferentes según prueba de Tukey ($P < 0,05$).

³ Medias seguidas de distinta letra mayúscula dentro de cada fila son estadísticamente diferentes según prueba t-Student ($P < 0,05$).

Tabla 4. Duración de las fases del estado adulto y tasa de oviposición media diaria de *P. iorgius* (n = 15) alimentados con huevos de *T. desertorum*.

Períodos	Duración promedio (días) $\pm$ EE ¹
Preoviposición	2,60 $\pm$ 0,29
Oviposición	11,20 $\pm$ 0,33
Postoviposición	3,00 $\pm$ 0,49
Longevidad	16,80 $\pm$ 0,56
<u>Oviposición</u>	<u>Promedio de huevos $\pm$ EE¹</u>
Huevos·hembra ⁻¹	43,00 $\pm$ 1,26
Huevos·hembra ⁻¹ ·día ⁻¹	3,86 $\pm$ 0,12

¹EE: error estándar.

este estadio fue de 1,2 a 1,3 días y fue el estadio de menor duración.

La duración del desarrollo de huevo-adulto coinciden con los obtenidos por Emert *et al.* (2008b) quienes registraron una duración de huevo-adulto para *P. aetus*, alimentado con *T. urticae* de 6,7 y 7,3 días para machos y hembras, respectivamente. De igual forma los resultados de Abou-Setta *et al.* (1997) concuerdan con los de este estudio con tiempos de desarrollo para machos de 6,6 $\pm$ 0,4 días y para hembras de 6,1 $\pm$ 0,5 días para *Proprioseiopsis rotundus* (Muma, 1961) (Acari: Phytoseiidae) alimentados con *T. urticae*. Sin embargo, difieren de lo reportado por Fouly (1997) para *P. aetus* quien obtuvo un tiempo de desarrollo total que fluctuó entre 3,3 y 5,3 días para machos y entre 3,8 y 5,5 días para hembras. Estas diferencias podrían deberse tanto a la calidad del alimento (especie y estado de desarrollo utilizado como dieta) como a las condiciones experimentales como temperatura, humedad relativa y fotoperiodo.

La larva de *P. iorgius* no se alimentó de ninguno de los estados de *T. desertorum* ofrecidos como presas. Este es el caso de muchos fitoseidos con un estilo de vida tipo I, de acuerdo con McMurtry y Croft (1997), especialmente especies del género *Phytoseiulus* (Ferrero *et al.* 2007). Similares resultados se reportan para *C. picanus* (Ragusa *et al.* 2000; Tello *et al.* 2009b), *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, 1957 (Acari: Phytoseiidae) (Ashihara *et al.* 1978; Chittenden y Saito 2001; Kazak 2008; Tello *et al.* 2009b), *Phytoseiulus longipes* Evans, 1958 (Acari: Phytoseiidae) (Badii *et al.* 1999). Todos estos resultados estarían de acuerdo con la hipótesis planteada por Chittenden y Saito (2001) quienes proponen que esta conducta sería una adaptación contra el canibalismo de las larvas cuyas madres pondrían sus huevos cercanos unos a otros y en gran número como es el caso de *P. iorgius*.

La longevidad de *P. iorgius* fue menor que la registrada para *P. rotundus* (Abou-Setta *et al.* 1997) alimentado con *T. urticae* con un valor de 45 $\pm$ 6,3 días. La duración de los períodos de preoviposición, oviposición y postoviposición concuerdan a los registrados por Tello *et al.* (2009b) para *P. persimilis* alimentado con *T. cinnabarinus* con valores de 2,7 $\pm$ 0,2; 9,1 $\pm$ 0,7 y 6,7 $\pm$ 0,3 días, respectivamente. La fertilidad total fue levemente mayor a *P. rotundus* obtenidos por Abou-Setta *et al.* (1997) con 41,5 huevos·hembra⁻¹, pero similar a la obtenida por Tello *et al.* (2009b) para *C. picanus* con una ovipostura de 49,0 $\pm$ 2,0 huevos·hembra⁻¹.

Los resultados para la tasa de reproducción neta de *P. iorgius* al ser alimentado con huevos de *T. desertorum* fueron similares a los de Abou-Setta *et al.* (1997) quienes registraron

tasas de 23,69 para *P. rotundus* alimentado con huevos de *T. urticae*. Emmert *et al.* (2008b) y Abou-Setta *et al.* (1997) obtuvieron resultados similares de 21,39 y 21,73 para *P. aetus* sobre *F. occidentalis* y *P. rotundus* sobre polen de *Malephora* sp. (Aizoaceae), respectivamente. Cabe destacar que Emmert *et al.* (2008b) encontraron un valor de R_0 más bajo en *T. urticae* (6,48) que en polen de *Typha latifolia* L. (Typhaceae) (9,76) o con *F. occidentalis* (21,39), de acuerdo con esos resultados la dieta basada en *T. urticae* resultó menos favorable como alimento.

Emmert *et al.* (2008b) obtuvieron un rango de valores altos de la r_m en *P. aetus* alimentado con *F. occidentalis* que fluctuaron entre 0,2789 y 0,2925 no así para *T. urticae*. Los valores de este estudio son bastante similares a los presentados por depredadores generalistas del tipo III (McMurtry y Croft 1997) como los *Neoseiulus*. Ragusa *et al.* (2000) obtuvieron un valor alto de la r_m en *C. picanus* alimentado con huevos de *T. urticae* (0,377) no así para *P. citri* (0,209). Tello *et al.* (2009b) obtuvieron para la misma especie de fitoseido valores de r_m de 0,289 y 0,307 para dietas de huevos y una mezcla de todos los estados de *T. cinnabarinus*, respectivamente.

La tasa finita de crecimiento obtenida en este estudio es muy similar a la informada por Emmert *et al.* (2008b) para *P. aetus* sobre *F. occidentalis* (1,340) y Abou-Setta *et al.* (1997) de *P. rotundus* sobre polen de *Malephora* (1,460). Fouly (1997) obtuvo para *P. aetus* alimentado con *Eutetranychus orientalis* (Klein, 1936) (Acari: Tetranychidae) un λ de 1,33, pero este mismo fitoseido alimentado con el ácaro *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae) produjo un λ =1,19 indicando que esta fuente alimenticia es menos favorable para el desarrollo de este fitoseido. En el mismo sentido, Emert *et al.* (2008a) obtuvieron para *P. aetus* valores de la tasa finita de crecimiento de 1,1868; 1,3274 y 1,3398 alimentados con *T. urticae*, polen de *Typha latifolia* L. y *F. occidentalis*, respectivamente, indicando que la especie *T. urticae* no es un alimento favorable para este fitoseido, pero sí lo sería *F. occidentalis*.

El tiempo generacional de *P. iorgius* coincide con el obtenido por Fouly *et al.* (1997) para *P. aetus* con valores de 12,5 y 16,9 días con una dieta de *E. orientalis* y *P. latus*. Abou-Setta *et al.* (1997) obtuvieron un valor de 19,5 días de *P. rotundus* sobre *T. urticae*. De acuerdo con Sabelis (1985), las especies de fitoseidos cuyo λ excede el valor numérico de 1,2 son consideradas candidatos promisorios para el control biológico de arañas rojas prolíficas. Los valores de este parámetro obtenidos en este estudio son muy cercanos a los obtenidos por Nascimento *et al.* (2008) para *Phytoseiulus fragariae* Denmark & Schicha, 1983 (Acari: Phytoseiidae), alimentado con huevos de *T. urticae* y por Canlas *et al.* (2006) para *N. californicus* alimentado con huevos de *T. urticae*. Si a estos resultados les sumamos los obtenidos para la tasa intrínseca de crecimiento podemos proponer que, *P. iorgius* podría ser un controlador eficiente de *T. desertorum*, comportándose de esta manera como un depredador selectivo tipo II, como *N. californicus*.

P. iorgius completa su desarrollo embrionario y logra reproducirse al alimentarse con todos los estadios de *T. desertorum* en condiciones de laboratorio. *P. iorgius* podría controlar poblaciones de este fitoseido en campo, debiéndose evaluar su acción depredadora para incluirlo dentro de un manejo integrado de la araña del desierto, en alfalfa, en las zonas áridas del norte de Chile.

Literatura citada

- ABOU-SETTA, M.M.; FOULY, A.H.; CHILDERS, C.C. 1997. Biology of *Proprioseiopsis rotundus* (Acari: Phytoseiidae) reared on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) or pollen. Florida Entomologist 80(1): 27-34.
- ABOU-SETTA, M.M.; DORRELL, R.W.; CHILDRES, C.C. 1986. Life 48: a BASIC computer program to calculate life table parameters for an insect or mites species. Florida Entomologist 69: 690-697.
- ASHIHARA, W.; HAMAMURA, T.; SHINKAJI, N. 1978. Feeding, reproduction, and development of *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acarina: Phytoseiidae) on various food substances. Bulletin of Fruit Tree Research Station 2: 91-98.
- BADII, M. H.; McMURTRY, J. A.; FLORES, A. E. 1999. Rates of development, survival and predation of immature stages of *Phytoseiulus longipes* (Acari: Mesostigmata: Phytoseiidae). Experimental and Applied Acarology 23: 611-621.
- BALL, J.C. 1980. Development, fecundity, and prey consumption of four species of predacious mites (Phytoseiidae) at two constant temperatures. Environmental Entomology 9(3): 298-303.
- BAKKER, F.M.; KLEIN, M.E.; MESA, M.C.; BRAUN, A.R. 1993. Saturation deficit tolerance spectra of phytophagous mites and their phytoseiid predators on cassava. Experimental and Applied Acarology 17(1-2):97-113.
- BIRCH, L. C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. Journal of Animal Ecology 17: 15-26.
- CANLAS, L.; AMANO, H.; OCHIAI, N.; TAKEDA, M. 2006. Biology and predation of the Japanese strain of *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). Systematic and Applied Acarology 11: 141-157.
- CHITTENDEN, A.R.; SAITO, Y. 2001. Why are there feeding and nonfeeding larvae in phytoseiid mites (Acari, Phytoseiidae)? Journal of Ethology 19: 55-62.
- EMMERT, CH.J.; MIZELL, R.F.; ANDERSEN, P.C.; FRANK J.H.; STIMAC, J.L. 2008a. Effects of contrasting diets and temperatures on reproduction and prey consumption by *Proprioseiopsis asetus* (Acari: Phytoseiidae). Experimental and Applied Acarology 44(1): 11-26.
- EMMERT, CH. J.; MIZELL, R.F.; ANDERSEN, P.C.; FRANK J.H.; STIMAC, J. L. 2008b. Diet effects on intrinsic rate of increase and rearing of *Proprioseiopsis asetus* (Acari: Phytoseiidae). Annals of the Entomological Society of America 101(6): 1033-1040.
- ESCUADERO, L.A.; FERRUGAT, F. 2005. Life-history of predatory mites *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) on four spider mite species as prey, with special reference to *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae). Biological Control 32: 378-384.
- FERRERO, M.; DE MORAES, G.; KREITER, S.; TIXIER, M.-S.; KNAPP, M. 2007. Life tables of the predator *Phytoseiulus longipes* feeding on *Tetranychus evansi* at four temperatures (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). Experimental and Applied Acarology 41: 45-53.
- FOULY, A.H. 1997. Effects of prey mites and pollen on the biology and life tables of *Proprioseiopsis asetus* (Chant) (Acari: Phytoseiidae). Journal of Applied Entomology 121:435-439.
- GOTOH, T.; YAMAGUCHI, K.; MORI, K. 2004. Effect of temperature on life history of the predatory mite *Amblyseius* (*Neoseiulus*) *californicus* (Acari: Phytoseiidae). Experimental and Applied Acarology 32: 15-30.
- GOTOH, T.; TSUCHIYA, A.; KITASHIMA, Y. 2006. Influence of prey on developmental performance, reproduction and prey consumption of *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). Experimental and Applied Acarology 40:189-204.
- KARG, V. 1976. Zur kenntnis der Überfamilie Phytoseioidea Karg 1965. Zoologische Jahrbucher Systematik 103: 505-546.
- KAZAK, C. 2008. The development, predation, and reproduction of *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) from Hatay Fed *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Acari: Tetranychidae) larvae and protonymphs at different temperatures. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 32: 1-7.
- KASAP, I. 2005. Life-history traits of the predaceous mite *Kampimodromus aberrans* (Oudemans) (Acarina: Phytoseiidae) on four different types of food. Biological Control 35: 40-45.
- McMURTRY, J. A.; CROFT, B.A. 1997. Life styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. Annual Review of Entomology 42: 291-321.
- MÉGEVAND, B.; KLAY, A.; GNANVOSSON, D.; PARAISO, G. 1993. Maintenance and mass rearing of phytoseiid predators of the cassava green mite. Experimental and Applied Acarology 17:115-128.
- MIRABAL, L. 2003. Los ácaros depredadores como agentes de control biológico. Revista de Protección Vegetal 18(3): 145-152.
- MORAES, G.J.; MCMURTRY, J.A.; DENMARK, H.A.; CAMPOS, C.B. 2004. A revised catalog of the mite family Phytoseiidae. Zootaxa 434: 1-494.
- NASCIMENTO, G.; DE MORAES, G.; DELALIBERA, I.; KNAPP, M. 2008. Life history of the predatory mite *Phytoseiulus fragariae* on *Tetranychus evansi* and *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) at five temperatures. Experimental and Applied Acarology 44: 27-36.
- PRATT, P. D.; SCHAUSBERGER, P.; CROFT, B. A. 1999. Prey-food types of *Neoseiulus fallacies* (Acari:Phytoseiidae) and literature versus experimentally derived prey-food estimates for five phytoseiid species. Experimental and Applied Acarology 23: 551-565.
- RAGUSA, S. 2000. A new *Cydnodromus* (Parasitiform, Phytoseiidae), from the desert of the northern Chile. Phytophaga 10: 3-103.
- RAGUSA DI CHIARA, S.; VARGAS, R.; TSOLAKIS, H.; ASHBACH, R. 2000. Laboratory studies on the influence of various food substances on some biological and life-table parameters of *Cydnodromus picanus* Ragusa (Parasitiformes, Phytoseiidae) associated with citrus trees in the Chilean desert. Phytophaga 10: 11-23.
- RAGUSA DI CHIARA, S.; VARGAS, R. 2002. On some phytoseiid mites (Parasitiformes, Phytoseiidae) from Chile. Phytophaga 12: 129-139.
- RIOJA, T.; VARGAS, R. 2009. Life table parameters and consumption rate of *Cydnodromus picanus* Ragusa, *Amblyseius graminis* Chant, and *Galendromus occidentalis* (Nesbitt) on avocado red mite *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). Chilean Journal of Agricultural Research 69(2):160-170.
- SABELIS, M. W. 1985. Development. In: Helle, W.; Sabelis, M.W. (eds), Spider Mites, their biology, natural enemies and control. Elsevier, Amsterdam, 1B: 43-53.
- SWIRSKI, E.; AMTAI, S.; DORZIA, N. 1970. Laboratory studies of the feeding habits, post-embryonic survival, and oviposition of the predaceous mites *Amblyseius chilensis* Dosse and *Amblyseius hibisci* Chant (Acarina: Phytoseiidae) on various kinds of food substances. Entomophaga 15: 93-106.
- TELLO, V.; VARGAS, R.; ARAYA, J. 2009a. Parámetros de vida de *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) sobre hojas de clavel, *Dianthus caryophyllus*. Revista Colombiana de Entomología 35 (1): 47-51.
- TELLO, V.; VARGAS, R.; ARAYA, J.; CARDEMIL, A. 2009b. Biological parameters of *Cydnodromus picanus* and *Phytoseiulus persimilis* raised on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). Ciencia e Investigación Agraria 36(2): 277-290.
- VARGAS, R.; OLIVARES, N.; CARDEMIL, A. 2005. Desarrollo postembrionario y parámetros de tabla de vida de *Typhlodromus pyri* Scheuten, *Cydnodromus californicus* (McGregor) (Acarina: Phytoseiidae) y *Brevipalpus*. Agricultura Técnica (Chile) 65(2): 147-156.
- ZAR, J.H. 2006. Biostatistical analysis. Prentice-Hall Inc. 5th edition, Englewood Cliffs, New Jersey, USA. 960 p.

Effects of aging and polygamy on the reproductive performance of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae)

Efectos de la edad y poligamia en el desempeño reproductivo de *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae)

ROSANA M. DE MORAIS¹, JOSUÉ SANT'ANA¹, LUIZA R. REDAELLI¹ and RAFAEL LORSCHTEITER¹

Abstract: Males and females of *Grapholita molesta* (Lep., Tortricidae) are polygamous. In order to evaluate the effects of polyandry and polygyny in the reproductive performance of this species, newly-emerged adults were submitted to either of two treatments: monogamous couples together until death or males and females receiving virgin partners one or three days old every day until death. The fecundity and fertility of all females were evaluated daily. Mean fecundity was similar in both monogamic and poliandric females; however, females paired with one day old males presented the lowest mean fertility. Similarly, fecundity and fertility means were significantly lower in females paired with polygynic males, in comparison to monogamic females. A negative correlation was found between male age and the number of copulated females. Males presented the highest number of copulations between three and eight days of age. Oviposition patterns were similar in the polyandric and in the monogamic groups, with the highest number of fertile eggs being observed after day three of initial pairing. Females of *G. molesta* do not need to copulate with additional virgin males to enhance their fertility rates. After their third day of life, males are able to copulate with a high number of females, keeping themselves fertile for a long period.

Key words: Age. Fertility. Oriental moth. Mating.

Resumen: Machos y hembras de *Grapholita molesta* (Lep., Tortricidae) son polígamos. Para evaluar los efectos de la poliandria y poliginia en el desempeño reproductivo de esta especie, adultos recién emergidos fueron sometidos a uno de dos tratamientos: parejas monógamas que permanecieron juntas hasta la muerte o machos y hembras que recibieron compañeros vírgenes de uno o tres días de edad, todos los días, hasta la muerte. La fecundidad y fertilidad de todas las hembras fueron evaluadas diariamente. La fecundidad media fue semejante en ambas, en hembras monógamas y poliandras; sin embargo, las hembras apareadas con machos de un día de edad presentaron la menor fertilidad media. Del mismo modo, la fecundidad y fertilidad media fueron significativamente menores en las hembras apareadas con machos poliginicos, en comparación con las hembras monógamas. Se encontró una correlación negativa entre la edad del macho y el número de hembras que copularon. Los machos presentaron el mayor número de cópulas entre tres y ocho días de edad. Los patrones de oviposición fueron similares en los grupos poliandros y monógamos, con el mayor número de huevos fértiles observados en el tercer día después del apareamiento inicial. Las hembras de *G. molesta* no necesitan copular con machos vírgenes y adicionales para elevar la tasa de fertilidad. Después del tercer día de vida, los machos son capaces de copular con un alto número de hembras, manteniéndose fértiles por un largo periodo.

Palabras clave: Edad. Fertilidad. Polilla oriental. Cópula.

Introduction

Polygamy is widespread among insects, in particular polygynic behavior, while monogamy is less common and frequently considered as is an evolutionarily derived condition (Matthews and Matthews 1978). Multiple copulations enhance the risk of predation and parasitism, but those have also several advantages (Torres-Vila *et al.* 2004; Torres-Vila and Jennions 2005). Males are benefited by the sperm transfer to a high number of partners (Wiklund 2003), and females could benefit by increasing the genetic diversity of their offspring, by sperm selection, and adequate supply of the ejaculated sperm (Wedell 2003). Additionally, nutritional benefits of copulation could enhance the reproductive period as well as life span of the females (Svard and McNeil 1994; Wedell 2002).

Polygynic males may optimize their reproductive gain by decreasing the investment in courtship strategies for females that had previously copulated or by reducing the amount of the liquid ejaculated when copulating more than once with the same partner (Svard and McNeil 1994; McNamara and

Elgar 2008). Because of the higher sperm investment in the first copulation, successive matings may cause a decrease in fertility in lepidopteran species. Females of *Cnephasia jactatana* Walker, 1863 (Tortricidae), which copulated with non-virgin males, received spermatophores that were 45% smaller than the ones transferred in the first copulation. This reduction was reflected in fertility, which decreased by approximately 23, 37 and 55%, in females that copulated with males that had previously mated one, two, or five times, respectively, at one day interval (Jiménez-Pérez and Wang 2004a).

The reproductive capacity of moths could vary with age, due to a low quality or quantity of sperm, to the low male sensitivity to the pheromone released by the female, or to the low receptivity and attraction to individuals from the opposite sex (Brits 1979; Anton and Gadenne 1999; Delisle and Simard 2003). In *Spodoptera exigua* (Hubner, 1808) (Noctuidae), Rogers and Marti (1996) observed that individuals that copulated one or two days after emergence presented higher fecundity and fertility, but had a shorter longevity when compared to individuals that mated later. Females of *C. jactatana* could be more susceptible to aging than males since six days

¹ Ph.D. PPG-Fitotecnia, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, Brasil. e-mail: entomorais@yahoo.com.br

old females are less preferred for mating in comparison with three days old females, while females do not demonstrate a preference for males of different ages (Jiménez-Pérez and Wang 2004b).

Grapholita molesta (Busck, 1916) is an Asian tortricidean that is among the most important insect pests of stone fruit trees, causing fruit and branch damages (Salles 2001). In this species, both males and females were reported as polygamous and as being able to copulate multiple times in 24 hours intervals (Dustan 1964). However, it is still unknown whether a particular mating system confers more benefits to the moths than other(s) and what are the effects of moth age in the ultimate fitness in the individuals. The assessment of such effects was the main goal of this study.

Materials and Methods

Adults of *G. molesta* originated from a colony kept under controlled conditions (photoperiod of 16 hours; $25\pm 1^\circ\text{C}$; $60\pm 5\%$ U.R.), at the Department of Fitossanidade, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, southern Brazil. The insects were fed with artificial diet during the larval period (Arioli *et al.* 2007), and the adults were fed with a honey solution (15% honey, 5% nipagin). Male and female pupae weighted, on average, 10 to 13 and 15 to 18mg, respectively.

Bioassays were carried out by keeping pairs of males and females in 500mL plastic bottles to which a honey solution was added as food source. The treatments consisted of: 1) a male and a female, one day old kept together for their entire life ($n = 35$) (monogamy) (control); 2) a single female receiving a virgin male no older than one day ($n = 18$) (polyandry); 3) a single female receiving a three days old virgin male ($n = 15$) (polyandry); 4) a single male receiving a virgin female not older than one day ($n = 15$) (polygyny), and 5) a single male receiving a three days old virgin female ($n = 16$) (polygyny). In treatments 2-5, all virgin partners were replaced daily.

In the analysis of polygyny, after one day together, each female was kept isolated in another container (500mL) with food. Eggs deposited (fecundity) and larvae hatched (fertility), were counted daily.

After one day together with a male, each female was kept in a separate container (500mL) with honey as food and the number of eggs laid was recorded daily. For the monogamic females, only the eggs laid during the first 15 days after they were first coupled with males, were counted, allowing a comparison among reproductive patterns of these females and those paired with polygynic males. The number of copulations of polygynic males was verified by recording the fertility of the eggs laid by their females.

Mean values of fecundity, fertility, oviposition period, and longevity were compared among treatments using the Kruskal-Wallis test ($\alpha=0.05$) and Dunn test (5%). Pearson

correlation was used to evaluate the relationship, if any, between age of the males and the number of copulations. The program Biostat 4.0 (Ayres *et al.* 2006) was used for all analyses, and the results are shown as mean values ($\pm$ SE).

Results and Discussion

Polyandry and performance of *G. molesta*. *Grapholita molesta* female mean fecundity values were similar across all treatments ($H=3.84$; $df=2$; $P=0.146$) (Table 1). This result differs from the one obtained by Torres-Villa and Jennions (2005), who reported that in 22 out of 25 Lepidopteran species, the females tended to increase their fecundity when copulated with virgin males. A higher volume of ejaculated material into the females apparently caused this effect during the first copulation. The closely related species *Cydia pomonella* (L., 1758) (Tortricidae), however, has a similar behavior to that recorded in the present study. In this species, the fecundity and viability of the eggs from females paired with virgin males, and with males who had several matings in 24 hour intervals was not significantly different, even though the spermatophore transferred in the first copula was significantly larger compared to those later released in additional matings (Knight 2007).

Mean fertility of females paired with three days old males was not different from that of monogamic females. However, this was higher than that by females paired with one day old males ($H=9.88$; $df=2$; $P<0.05$) (Table 1). Thus, it is possible that the absence of reproductive maturation in one day old males could have influenced the reproductive capacity of the females. Males of some tortricid species have reproductive cells in an advanced maturation stage just after the emergence, but some hormonal stimuli are required for the release of the sperm from the testicles. These stimuli are dependent of the circadian rhythm of each species (Benz 1991; Giebultowicz and Brooks 1998). Furthermore, the changes in hormonal levels throughout the adult phase could influence the physiology of the insect reproductive organs, which may in turn influence the synthesis of proteins in the accessory glands (Happ 1992). Electrophysiological responses of the antennae of males of *Agrotis ipsilon* (Hüfnagel, 1766) (Noctuidae) to the sexual pheromone are minimal right after the emergence, and this is apparently associated with an increase in the levels of juvenile hormone in their haemolymph (Anton and Gadenne 1999).

Our results suggest that females do not alter their mean fertility by the constant presence of the same or different males, virgins or sexually mature. The same was also verified by Cook (1999) for *Plodia interpunctella* (Hubner, 1813) (Pyralidae). In this study, the amount of spermatophores received by the females did not significantly affect their mean fertility, even though virgin males had transferred in only one copula three times the amount of euphyrene released by non-virgin males. In both cases only one mating event was suf-

Table 1. Fecundity and fertility means ($\pm$ standard error) of females of *Grapholita molesta* paired under monogamy and polyandry conditions with one and three days old males (n = individuals number).

	Monogamy ($n = 35$)	Polyandry (σ^3 1 day) ($n = 18$)	Polyandry (σ^3 3 days) ($n = 15$)
Fecundity	223.4 ± 14.55 a	195.5 ± 22.36 a	258.9 ± 12.67 a
Fertility	201.1 ± 16.48 ab	136.7 ± 24.11 b	245.6 ± 13.56 a

*Means followed by the same letter in a row are not statistically significantly different from each other ($\alpha= 0.05$).

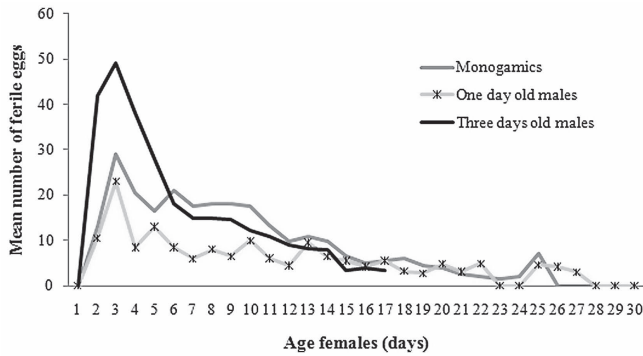


Figure 1. Mean number of fertile eggs laid by of *Grapholita molesta* females paired under monogamy and polyandry conditions with one and three day old males.

ficient to fertilize all eggs. In *G. molesta* mating number did not increase the fertility, as well (Morais 2009). This could explain the similar mean fertility verified in both the monogamic and polyandric groups. It is supposed that in *G. molesta* additional matings from the female perspective would be more advantageous for sperm selection and genetic variability than nutritional gain used in oviposition as referred to other lepidopteran species (Vahed 1998; Wiklund *et al.* 2003).

The mean number of fertile eggs laid by both monogamic and three days old polyandric *G. molesta* females was similar (Table 1). In all treatments there was a peak of egg clutches in the third day (Fig. 1) indicating that, independently of the evaluated factors, the longest period of oviposition is between 24 and 48 hours after the first copulation. Moreover, the period (days) of deposition of fertile eggs did not differ among monogamic females (10.5 ± 0.85), compared to those of females that mated with one day old males (12.76 ± 1.58), and three days old males (11.52 ± 0.54) ($H=2.30$; $df=2$; $P=0.316$).

Polygyny and reproductive performance of *G. molesta*.

The mean fecundity and fertility evaluated until day 15 after emergence were lower for one and three days old females paired with polygynic males, in comparison to monogamic females ($H=17.72$; $df=2$; $P<0.05$; $H=22.47$; $df=2$; $P<0.05$) (Table 2). Up to day 15 after male emergence, there were 206 encounters with one day old females and 202 encounters with three days old females, among them, only 80 (38.8%) and 126 (62.3%) of the females, respectively, copulated as evidenced by the presence of fertile eggs. It well could be that the low number of eggs was the result of encounters that did not end up in copulation, which would have than reduced the total mean number of eggs. The low number of copulations with younger females may be related

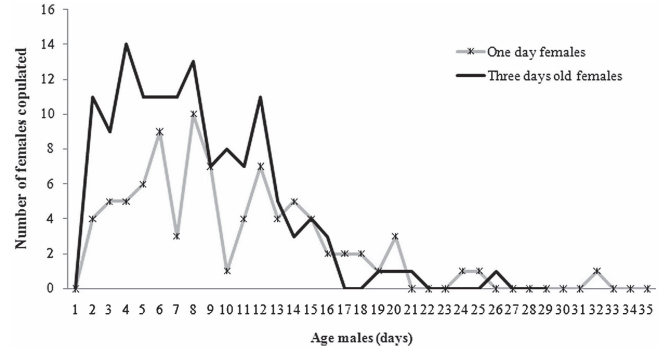


Figure 2. Daily number of females of *Grapholita molesta* that copulated with polygynic males throughout their lives.

to the small amount of pheromone released by them, as was observed in studies carried out by Foster *et al.* (1995) with four species of tortricids.

In relation to male age, the highest number of mated females was recorded when they were paired with males between three and eight days old, in both polygyny treatments (Fig. 2). However, a negative correlation was observed between the male age and the number of females that copulated (one day old females: $r = -0.621$; $df=23$; $P=0.0009$) (three days old females: $r = -0.786$; $df=27$; $P<0.0001$).

Mean fecundity values were similar among females paired with males from day one to day 15 after emergence, in both polygynic groups ($H=9.40$; $df=4$; $P=0.051$). The highest mean fertility values were recorded for females paired with males four days after emergence. For one day old females, fertility was significantly different only for those females paired with males between four and six days old ($H=18.35$; $df=4$; $P<0.05$) (Fig. 3A). In the treatment where males received three days old females, the highest fertility values were recorded when they were between four and nine days old ($H=21.4$; $df=4$; $P<0.05$) (Fig. 3B). These results suggest that males of *G. molesta* maintain their reproductive capacity for a long period.

The relation between fertility and male age could be associated to the amount of sperm content received by the female during copulation. Even though the males emerge with a reproductive system completely formed, the maturation and volume of the glands normally changes throughout the adult phase in tortricids (Benz 1991). Apart from aging, the decreasing reproductive capacity in males of *G. molesta*, after a certain period, could also be influenced by the number of copulations along their life. In some species of tortricids, such as *Choristoneura fumiferana* (Clemens, 1865) and *C. rosaceana* (Harris, 1841), the percentage of fertile eggs is reduced when females copulate with non-virgin males, as a

Table 2. Fecundity and means ($\pm$ standard error) of females of *Grapholita molesta* paired with monogamic and polygynic males, and evaluated during 15 days (n = individuals number).

	Monogamy ($n = 35$)	Polygyny (♀ 1 day) ($n = 15$)	Polygyny (♀ 3 days) ($n = 16$)
Fecundity	210.6 ± 12.64 a*	102.65 ± 10.98 b	99.55 ± 3.82 b
Fertility	190.4 ± 14.81 a	73.15 ± 12.03 b	81.79 ± 4.45 b

* Means followed by the same letter in a row are not statistically significantly different from each other ($\alpha=0.05$).

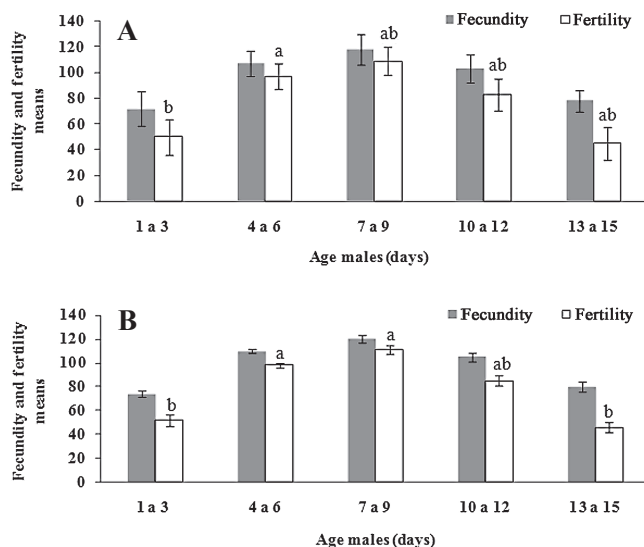


Figure 3. Means of fecundity and fertility ($\pm$ standard error) of one day old **A.** and three days old **B.** females of *Grapholita molesta* during the first 15 days of life of the males. Different letters above bars indicate a statistically significant difference among means (Kruskal-Wallis, $\alpha=0.05$; Dunn, $\alpha=0.05$).

result of a linear decrease in the amount of sperm and other released by the male accessory glands. This decrease in the amount of substances was observed in the copulatory pouch of females with an increase in the number of previous copulations by the males (Marcotte *et al.* 2005).

Overall, different implications of polygamy were observed between the sexes in *G. molesta*. Females do not need to copulate with additional virgin males to increase their fertility, and their oviposition pattern is independent of the number and the age of their partners. Males, after their third day of life, are able to copulate with a high number of females, keeping themselves fertile for a long period.

Acknowledgments

To the financial support of Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Cited Literature

- ANTON, S.; GADENNE, C. 1999. Effect of juvenile hormone on the central nervous processing of sex pheromone in an insect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 5764-5767.
- ARIOLI, C. J.; MOLINARI, F.; BOTTON, M.; GARCIA, M. S. 2007. Técnica de criação de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em laboratório utilizando dieta artificial para a produção de insetos visando estudos de comportamento e controle. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento: Embrapa Uva e Vinho* 13:1-13.
- AYRES, M.; AYRES, M. JR.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. 2006. BioEstat 4.0 Aplicações estatísticas nas áreas da ciências biológicas e médicas. Belém, Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, 324 p.
- BENZ, G. 1991. Physiology, reproduction and ecology, p. 89-136. In: Van Der Geest, L.; Evenhuis, H. (eds.). *Tortricid pests, their biology, natural enemies and control*. New York, Elsevier, 775p.
- BRITS, J. A. 1979. The influence of age on the adult male reproductive system of the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of the Entomological Society of Southern Africa* 42: 395-400.

- COOK, P. A. 1999. Sperm numbers and female fertility in the moth *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Insect Behavior* 12: 767-780.
- DELISLE, J.; SIMARD, J. 2003. Age-related changes in the competency of the pheromone gland and the pheromonotropic activity of the brain of both virgin and mated females of two *Choristoneura* species. *Journal of Insect Physiology* 49: 91-97.
- DUSTAN, G. G. 1964. Mating behaviour of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Olethreutidae). *The Canadian Entomologist* 96: 1087-1093.
- FOSTER, S. P.; HOWARD, A. J.; AYRES, R. H. 1995. Age-related changes in reproductive characters of four species of tortricid moths. *New Zealand Journal of Zoology* 22: 271-280.
- GIEBULTOWICZ, J. M.; BROOKS, N. 1998. The circadian rhythm of sperm release in the codling moth, *Cydia pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 8: 229-234.
- HAPP, G. 1992. Maturation of the male reproductive system and endocrine regulation. *Annual Review of Entomology* 37: 303-20.
- JIMÉNEZ-PÉREZ, A.; WANG, Q. 2004a. Male remating behavior and its effect on female reproductive fitness in *Cnephasia jactatana* Walker (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Insect Behavior* 17: 685-694.
- JIMÉNEZ-PÉREZ, A.; WANG, Q. 2004b. Sexual selection in *Cnephasia jactatana* (Lepidoptera: Tortricidae) in relation to age, virginity, and body size. *Annals of the Entomological Society of America* 97: 819-824.
- KNIGHT, A. L. 2007. Multiple mating of male and female codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in Apple Orchards Treated with Sex Pheromone. *Environmental Entomology* 36: 157-164.
- MARCOTTE, M.; DELISLE, J.; MCNEIL, J. N. 2005. Impact of male mating history on the temporal sperm dynamics of *Choristoneura rosaceana* and *C. fumiferana* females. *Journal of Insect Physiology* 51: 537-544.
- MATTHEWS, R. W.; MATTHEWS, J. R. 1978. *Insect behavior*. New York, John Wiley & Sons, 685 p.
- MCNAMARA, K. B.; ELGAR, M. A. 2008. A longevity cost of re-mating but no benefits of polyandry in the almond moth, *Cadra cautella*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62: 1433-1440.
- MORAIS, R. M. 2009. Estudo da reprodução em *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) – com ênfase na morfologia dos órgãos internos e no comportamento. Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. 76 p. 2009.
- ROGERS, C. E.; MARTI JR., O. G. 1996. Beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): effects of age at first mating on reproductive potential. *The Florida Entomologist* 79: 343-352.
- SALLES, L.A.B. *Grafolita (Grapholita molesta): bioecologia e controle*. Pelotas: EMBRAPA CNPq, 1991. 13 p.
- SVARD, L.; MCNEIL, J. N. 1994. Female benefit, male risk: Polyandry in the true armyworm *Pseudaletia unipuncta*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 35: 319-326.
- TORRES-VILA, L. M.; RODRÍGUEZ-MOLINA, M. C.; JENNIONS, M. D. 2004. Polyandry and fecundity in the Lepidoptera: can methodological and conceptual approaches bias outcomes? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 55: 315-324.
- TORRES-VILA, L. M.; JENNIONS, M. 2005. Male mating history and female fecundity in the Lepidoptera: do male virgins make better partners? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 55: 318-326.
- VAHED, K. 1998. The function of nuptial feeding in insects: a review of empirical studies. *Biological Reviews* 73: 43-78.
- WEDELL, N.; WIKLUND, C.; COOK, P. 2002. Monandry and polyandry as alternative lifestyles in a butterfly. *Behavioral Ecology* 13: 450-455.
- WEDELL, N. 2003. Sperm competition in butterflies and moths, p. 49-81. In: M. D. E. Fellowes; G. J. Holloway; Rolff, J. (eds.). *Insect Evolutionary Ecology - Proceedings of the Royal Entomological Society's 22nd Symposium*. Cambridge, CABI Publishing, 539 p.
- WIKLUND, C. 2003. Sexual selection and evolution of butterfly mating systems. In: Boggs, C.; W.B. Watt & P.R. Ehrlich. 2003. *Butterflies: ecology and evolution taking flight*. Chicago, University of Chicago Press, 739 p.

Distribución geográfica de *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) en Colombia

Geographical distribution of *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) in Colombia

ANA ELIZABETH DÍAZ M.¹, ALMA SOLIS² y HELENA L. BROCHERO³

Resumen: *Neoleucinodes elegantalis* es un insecto considerado como la plaga más limitante para la producción y comercialización de frutas y hortalizas solanáceas. El presente estudio actualiza la distribución geográfica de *N. elegantalis* en relación con las áreas de mayor producción agrícola de *Solanum lycopersicum*, *S. melongena*, *S. betaceum*, *S. quitoense* y *Capsicum annuum* de Colombia. Se eleva a 18 los departamentos con registro geográfico de la especie y su distribución en el piso térmico frío, templado y cálido en seis zonas de vida según Holdridge, correspondientes a bosque seco tropical (bs-T), bosque seco premontano (bs-PM), bosque húmedo premontano (bh-PM), bosque muy húmedo premontano (bmh-PM), bosque húmedo montano bajo (bh-MB) y bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB).

Palabras clave: *Solanum*. Perforador del fruto. Zonas de vida. Plaga.

Abstract: *Neoleucinodes elegantalis* is an insect considered the most serious pest for production and commercialization of solanaceous fruits and vegetables. This study updates the geographic distribution of *N. elegantalis* in relation to the major agricultural production areas of *Solanum lycopersicum*, *S. melongena*, *S. betaceum*, *S. quitoense*, and *Capsicum annuum* in Colombia. The geographic occurrence of the species is expanded to 18 departments distributed across cold, warm, and temperate climates categorized in six of the Holdridge life zones, corresponding to tropical dry forest (bs-T), montane dry forest (bs-PM), montane rain forest (bh-PM), very humid forest (bmh-PM), lower montane wet forest (bh-MB) and lower montane wet forest (bmh-MB).

Key words: *Solanum*. Perforador del fruto. Zonas de vida. Plaga.

Introducción

Neoleucinodes elegantalis (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae) es una de las plagas más limitantes para la producción y comercialización de frutas y hortalizas solanáceas en Colombia debido a que sus larvas se alimentan del endospermo y mesocarpio, inutilizando el fruto para su comercialización. El control químico es ineficiente debido a que la larva se encuentra protegida por el fruto (Costa Lima 1949). En Colombia, sin embargo, se utilizan insecticidas sintéticos para su control mediante aplicaciones calendario que incrementan los costos de producción, limitan su exportación a mercados internacionales y pueden causar deterioro al ambiente y a la salud humana debido a que estas frutas se consumen en fresco (Vallejo 1999; Secretaría de Agricultura y Pesca del Valle 2007). *N. elegantalis* es un insecto de origen tropical que se encuentra ampliamente distribuido en Norte, Centro y Sur América (Capps 1948). Es una plaga cuarentenaria para Estados Unidos (USDA-APHIS-PPQ 2005; ICA-SOCOLEN 1998), Chile (SAG 2005) y Perú (SENASA 2005).

Solanáceas como el tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* Lam., 1753), el tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav., 1799); el lulo (*Solanum quitoense* Lam., 1794), la berenjena (*Solanum melongena* L., 1753) y el pimentón (*Capsicum annuum* L., 1753) constituyen elementos básicos de la canasta familiar en Colombia (Corporación Colombia Internacional 2003). El tomate de mesa es la hortaliza más cultivada en Colombia. De acuerdo con datos del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) (2005), se cosecharon 14.659

hectáreas con una producción anual de 411.994 en 19 departamentos, siendo los más representativos Norte de Santander, Antioquia, Cundinamarca, Santander y Huila. Para pimentón se cultivaron 1.609 hectáreas siendo Antioquia, Valle del Cauca, Tolima, Norte de Santander y Huila las zonas de mayor producción. La berenjena se produjo principalmente en Córdoba, Valle del Cauca, Sucre y Bolívar donde se sembraron 264 hectáreas con una producción de 7.430 toneladas y un rendimiento promedio de 22,07 Kg/Ha. Con respecto a los frutales, se cultivó tomate de árbol en 17 departamentos con un área cosechada de 7.176 hectáreas concentradas en Antioquia, Cundinamarca, Huila, Norte de Santander, y Tolima. El lulo se sembró en un área de 5.493 hectáreas que produjeron 41.325 en 19 departamentos, siendo los de mayor representación Huila, Valle del Cauca, Boyacá, Tolima y Nariño. La demanda por estas frutas ha aumentado en los mercados colombianos para consumo en fresco y ha venido llamando la atención de los mercados internacionales como el de la Comunidad Económica Europea, Estados Unidos de América y Japón, vislumbrándose mayores posibilidades de exportación. El tomate de árbol ha mostrado tasas positivas de crecimiento en valor y en volumen de exportación correspondientes a 3,9% y 11,3% para el período 1994-2004 (MADR 2006).

Pese a lo anterior, *N. elegantalis* se ha recolectado únicamente en un 75% de los departamentos donde se concentra la mayor producción agrícola para estas solanáceas en Colombia: Antioquia, Boyacá, Cauca, Caldas, Cundinamarca, Huila, Meta, Nariño, Putumayo, Quindío, Risaralda, Santader,

¹ M.Sc. Investigador, CORPOICA Centro de Investigación La Selva, Km. 7 Vía Las Palmas, Vereda Llanogrande, Rionegro, Antioquia, Colombia. aediaz@corpoica.org.co Autora para correspondencia. ² Ph.D. Research Leader, Systematic Entomology Laboratory, PSI, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, c/o National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, P.O. Box 37012, MRC 168, Washington, DC 20013-7012, U.S.A. alma.solis@ars.usda.gov. ³ Ph.D. Profesora Asociada, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Carrera 45 No 26-85, Edificio 500, Bogotá D.C., Colombia. embrochero@unal.edu.co

Norte de Santander, Tolima y Valle del Cauca (Gallego 1960; ICA 1981a,b,c; 1982, 1984, 1988a,b, 1993). El objetivo del presente trabajo fue actualizar la distribución geográfica de *N. elegantalis* en relación con las áreas de mayor producción agrícola de estas frutas y hortalizas solanáceas de interés para Colombia.

Materiales y Métodos

Sitios de estudio. Se seleccionaron áreas con solanáceas cultivadas de acuerdo con la información del Primer Censo Nacional de Frutas Agroindustriales y Promisorias suministrado por MADR-DANE-ASOHOFRUCOL-FNH-SISAC (2004) y con la asesoría de profesionales de las UMATA, funcionarios del ICA, del Comité de Cafeteros y asistentes técnicos en los diferentes departamentos. Se escogieron entre dos y tres municipios representativos por mayor área sembrada en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Caldas, Cauca, Cesar, Cundinamarca, Huila, Magdalena, Nariño, Norte de Santander, Quindío, Santander, Risaralda, Tolima y Valle del Cauca.

Recolección de muestras entomológicas. En cada predio se recolectaron por lo menos 50 frutos que presentaran orificios de entrada del insecto o excremento sobre su epicarpio. Con el propósito de obtener insectos adultos, los frutos se dispusieron en cámaras de cría en condiciones controladas de laboratorio a una temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, 76% de humedad relativa y un fotoperíodo de 12 horas luz/12 horas oscuridad.

Determinación taxonómica. La determinación taxonómica del insecto se hizo con base en el estudio de la morfología interna de los genitales masculinos y femeninos de los adultos. Para la extracción, preparación y montaje permanente de los genitales se siguieron los protocolos desarrollados por Hanemann (1957) y Hardwick (1950). Se empleó la terminología morfológica según Munroe y Solis (1999) y Maes (1995) y se siguió la clave taxonómica propuesta por Capps (1948).

Información geográfica. Se registraron los siguientes datos de cada ejemplar recolectado: Departamento, Municipio, Corregimiento, Vereda, Finca, cultivo, fecha de recolección,

coordenadas geográficas de los puntos de muestreo y altitud. Para cada sitio de muestreo se definió la zona de vida según Holdridge (1967). Se obtuvo información de la precipitación promedio mensual multianual de 43 años (1958-2000) haciendo uso del software MarkSim desarrollado por el CIAT (Jones y Thornton 2000). Este programa es un generador de datos climatológicos para el trópico que maneja sistemas moduladores del clima basados en procesos estocásticos y markovianos de tercer orden, lo que permite generar datos diarios de precipitación con precisión.

Se elaboraron mapas con la distribución geográfica del insecto usando el software ArcGis 8.x®. Para cada especie de solanácea hospedera de interés se hicieron análisis pormenorizados del efecto del clima sobre las capturas del insecto. Se asumió que el nicho ideal de un insecto depende en gran medida de la temperatura media anual. Esta variable, a nivel tropical, depende de la altitud sobre el nivel del mar y por lo tanto, se puede tratar de explicar las capturas de *N. elegantalis* en función de este parámetro. La variable “capturas” que inicialmente fue una variable continua se transformó en discreta. Se caracterizó con 0 (cero) la ausencia y con 1 (uno) la presencia del insecto. Con la nueva serie de capturas, así definida, se hizo un análisis de la dispersión de los datos de captura en función de la altura sobre el nivel del mar.

Resultados y Discusión

Entre Enero de 2005 y Julio de 2009 se inspeccionaron 92 áreas productivas de 44 municipios en 15 departamentos de Colombia. Se obtuvieron 1.799 insectos adultos de *N. elegantalis*, 888 machos y 911 hembras. La distribución poblacional por hospedero correspondió a 38 de *S. quitoense*, 24 de *S. betaceum*, 27 de *S. lycopersicum*, dos de *C. annuum* y uno de *S. melongena*. Se realizaron 547 micropreparaciones de genitalias de hembras y 88 de machos. Las características morfológicas de todos los genitales correspondieron a *N. elegantalis*.

En términos generales, el genital de los machos de *N. elegantalis* es simple y se caracteriza porque la mayoría de sus estructuras son membranosas. El ápice de la valva es redondeado, la margen costal de la valva ocupa tres cuartas partes de la longitud de la misma. La fíbula es una estructura es-

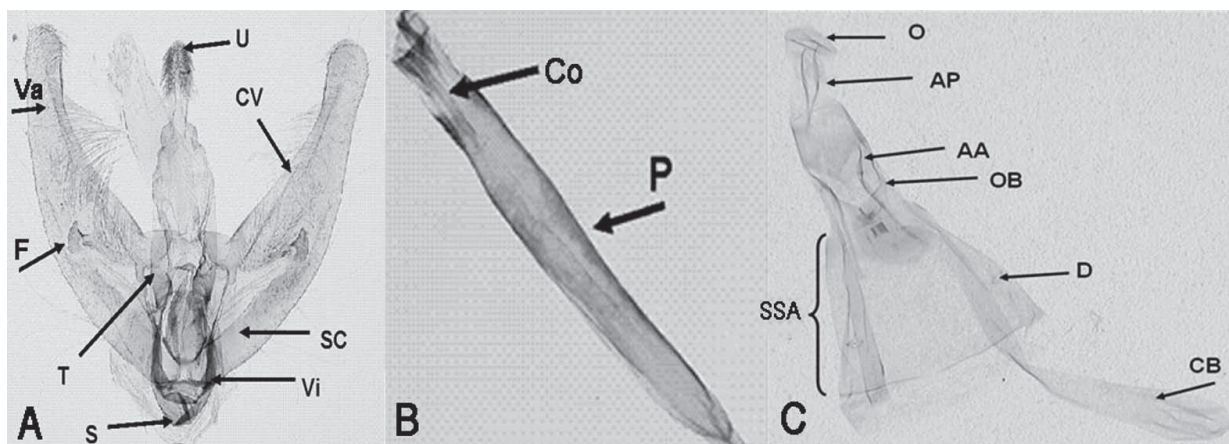


Figura 1. A. Genital de macho de *Neoleucinodes elegantalis*. Va: Valva; F: Fibula; T: Tegumen; S: Saccus; Vi: Vinculum; SC: Sacculus; CV: Costa de la valva; U: Uncus. B. P: Penis; C: Cornuti. C. Genital de una hembra de *Neoleucinodes elegantalis*. O: Ovipositor ó papilas anales; AP: Apophysis posterioris; AA: Apophysis anterioris; OB: Ostium bursae ó Apertura genital; D: Ductus; CB: Corpus bursae; SSA: Séptimo segmento abdominal.

clerotizada en forma de cuchillo pequeño con una estructura hueca en la base que se encuentra más cerca de la base de la valva que del ápice. El tegumen es membranoso. El cornuti del penis es esclerotizado y tiene forma de espada con una leve curvatura en el ápice. En las hembras, el genital está conformado por un ovipositor compuesto por un par de lóbulos setosos membranosos fusionados dorsalmente, conocidos como papilas anales. El ovipositor está sujeto a cada lado por dos estructuras esclerotizadas en forma de T denominadas apophysis posterioris (derecha e izquierda). El órgano de la cópula, se denomina ostium bursae y se caracteriza por ser una estructura membranosa que posee una apertura en forma de copa. Las apophysis anterioris son dos estructuras esclerotizadas que al parecer sostienen el octavo segmento abdominal. Las apophysis anterioris tienen una longitud promedio de 0,03 mm (n=547) y las posterioris 0,02 mm (n=547). La longitud promedio del ducto de la bursa es 1,9 veces la longitud del séptimo segmento abdominal (n=547). El séptimo segmento abdominal es la estructura que da soporte a los genitales (Fig. 1).

Distribución geográfica de *N. elegantalis*. La especie se registró en 17 departamentos de los 18 evaluados, así: Antioquia, Boyacá, Caldas, Cauca Cundinamarca, Huila, Nariño, Norte de Santander, Quindío, Risaralda, Santander, Tolima, Valle del Cauca correspondientes a la Región Andina; para Nariño en la Región Pacífica y para Cesar, Magdalena y Córdoba en la Región Caribe (Fig. 2). Se aclara que los especímenes de *N. elegantalis* registrados para Nariño y Córdoba corresponden a individuos que fueron criados sobre las solanáceas silvestres *Solanum pseudolulo* Heiser, recolectado en el municipio de Tumaco, Nariño y *Solanum hirtum* Vahl en el municipio de San Marcos, Córdoba.

Con respecto a los registros para Colombia reportados por Gallego (1960) y el ICA (1981a,b,c; 1982, 1984, 1988a,b; 1993) el presente estudio registra a Magdalena, Quindío, Córdoba y Tolima como nuevas áreas geográficas con presencia de la plaga. Se eleva a 18 los departamentos con registro geográfico de *N. elegantalis* en Colombia, adaptado a diferentes altitudes y atacando diferentes solanáceas en las principales áreas productoras del país (Fig. 2).

Analizando la altitud, precipitación y temperatura de los sitios con infestación de *N. elegantalis* se determinó que el insecto se distribuye en seis zonas de vida: bosque seco tropical (bs-T), bosque seco premontano (bs-PM), bosque húmedo premontano (bh-PM), bosque muy húmedo premontano (bmh-PM), bosque húmedo montano bajo (bh-MB) y bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB).



Figura 2. Presencia del perforador del fruto de las solanáceas *Neoleucinodes elegantalis* en Colombia.

pertenecientes a los pisos térmicos cálido, templado y frío (Tabla 1).

En localidades ubicadas entre los 1400 y los 2279msnm se evidenció infestación de *N. elegantalis* en cultivos de tomate de árbol (*S. betaceum*) en Antioquia, Boyacá, Caldas, Cundinamarca, Huila, Quindío, Risaralda, Santander, Tolima y Valle del Cauca. Para este cultivo no se registró al insecto en altitudes superiores a los 2.466 metros en localidades correspondientes a bosque húmedo montano bajo (bh-MB) y bosque seco montano bajo (bs-MB) del piso térmico frío en los municipios de Entreríos y Santa Rosa de Osos en Antioquia así como en Buenavista, Boyacá y Silos en Norte de Santander (Fig. 4). De acuerdo con las estadísticas reportadas por el MADR *et al.* (2004) estos municipios son de importancia agronómica por presentar un área mayor de siembra con tomate de árbol.

El rango de infestación de *N. elegantalis* en cultivos de lulo (*S. quitoense*) se registró entre los 978 y 2560msnm (Fig. 4) en zona de bosque húmedo premontano (bh-PM). La distribución de este insecto en Colombia es generalizada en la mayoría de climas donde se cultiva esta fruta en Antioquia,

Tabla 1. Zonas de vida correspondientes a las localidades donde el perforador del fruto *N. elegantalis* fue recolectado en solanáceas cultivadas y silvestres de Colombia.

Altitud (m.s.n.m.)	Temperatura (°C)	Precipitación (mm)	Zona de vida	Piso térmico
0 a 850	> 24	1.000 - 2.000	Bosque seco tropical (bs-T)	Cálido
		500 - 1.000	Bosque seco premontano (bs-PM)	
850 a 2.000	17-24	1.000 - 2.000	Bosque húmedo premontano (bh-PM)	Templado
		2.000 - 4.000	Bosque muy húmedo premontano (bmh-PM)	
2.000 a 2.800	12-17	1.000 - 2.000	Bosque húmedo montano bajo (bh-MB)	frío
		2.000 - 4.000	Bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB)	

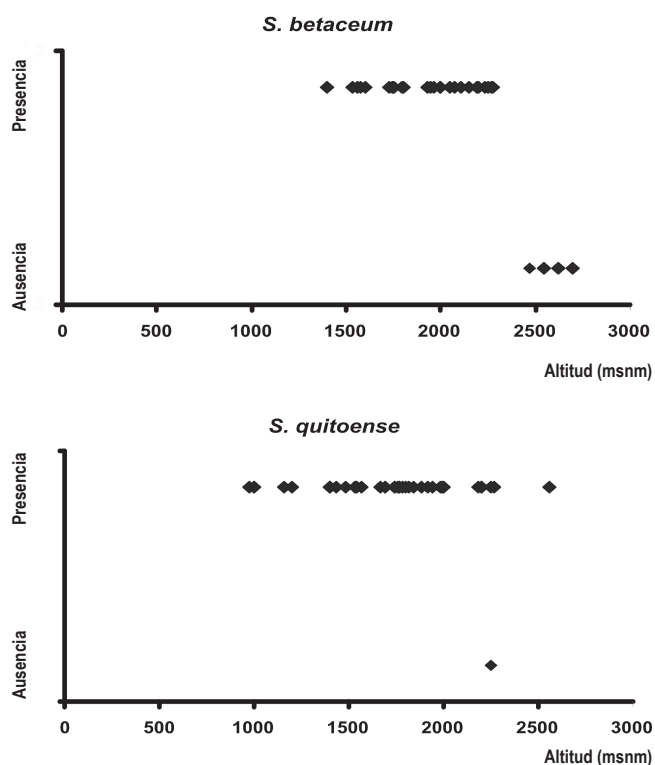


Figura 3. Presencia de *Neoleucinodes elegantalis* en relación con la planta hospedera y altitud de diferentes localidades de Colombia

Boyacá, Caldas, Cundinamarca, Huila, Magdalena, Nariño, Norte de Santander, Quindío, Risaralda, Santander, Tolima y Valle.

Se encontró ampliamente a *N. elegantalis* infestando cultivos de tomate de mesa (*S. lycopersicum*) en localidades ubicadas en alturas entre los 936 y 1897msnm (Fig. 4), correspondientes al piso térmico templado en Caldas, Cesar, Cundinamarca, Huila, Magdalena, Norte de Santander, Quindío, Risaralda, Santander, Tolima y Valle del Cauca. No se encontró la especie en las condiciones climáticas de algunas zonas de vida de clima cálido, templado y frío que incluyen al bosque húmedo premontano (bh-PM), bosque muy húmedo premontano (bmh-PM), bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB), bosque seco tropical (bs-T) y bosque seco premontano (bs-PM), específicamente en localidades de Ciénaga en Magdalena; Manta en Cundinamarca; Pijao en Quindío; Cajamarca en Tolima, El Jardín y El Peñol en Antioquia.

Se confirmó la infestación de *N. elegantalis* en berenjena (*S. melongena*) y pimentón (*C. annuum*) en localidades de clima templado entre los 940 y 1875 msnm (Fig. 4) en Valle del Cauca y Tolima. El insecto no se encontró en clima cálido correspondiente a zonas de vida de bosque seco tropical (bs-T) y de bosque muy seco tropical (bms-T) característicos de la Costa Atlántica colombiana: Atlántico, Bolívar, Córdoba, Magdalena y Sucre. Se resalta la importancia de este hallazgo en la medida que, por tradición, estos departamentos son los mayores cultivadores de estas hortalizas en Colombia.

Los resultados sugieren que la infestación por *N. elegantalis* depende en parte de la ubicación de la solanácea hospedera con respecto a las diferentes zonas de vida. Al parecer los factores ambientales propios de cada zona desencadenan

en las plantas hospederas respuestas diferenciales al comportamiento de la plaga. Las observaciones sobre la infestación diferencial de *N. elegantalis* de acuerdo con la ubicación de la solanácea hospedera respecto a las diferentes zonas de vida según Holdridge (1967) es el primer hallazgo relacionado con este insecto plaga en el país. Es necesario plantear nuevos estudios encaminados a determinar si los factores ambientales propios de cada zona de vida desencadenan en las plantas respuestas diferenciales a la herbivoría de *N. elegantalis* a través de la liberación de distintos metabolitos secundarios ó si existen mecanismos de adaptación de la especie a los diferentes ambientes. Esto apoyaría la hipótesis sobre la existencia de biotipos del insecto especializados en atacar solanáceas hospederas diferentes y permitiría explicar la diversidad biológica encontrada dentro del género *Neoleucinodes* en Colombia (Díaz y Solís 2007).

Estos aspectos han sido ampliamente documentados en otros lepidópteros. Bruno *et al.* (2006), determinaron la distribución y la preferencia agroclimática de siete nóctuidos, tres crámbidos y tres pirálidos, barrenadores del tallo del maíz en Kenia. Se encontró que las zonas de trópico alto, con mayor potencial productivo, presentaron la menor infestación, mientras que en las tierras húmedas de trópico bajo, la infestación por estos barrenadores fue mayor. Los autores discuten que la menor temperatura en las zonas altas, podría afectar negativamente el desarrollo de estos insectos, mientras que las condiciones de las zonas bajas, pueden reducir los mecanismos de defensa de las plantas, resultando en mayor daño y por consiguiente mayores pérdidas en la producción. En este sentido, Tuda *et al.* (2005) argumentan que la estrecha distribución geográfica de algunas especies parece estar relacionada con su limitada capacidad fisiológica para soportar la variabilidad ambiental, lo que les impide ampliar el rango de hospederos. Estos mismos autores, indican que

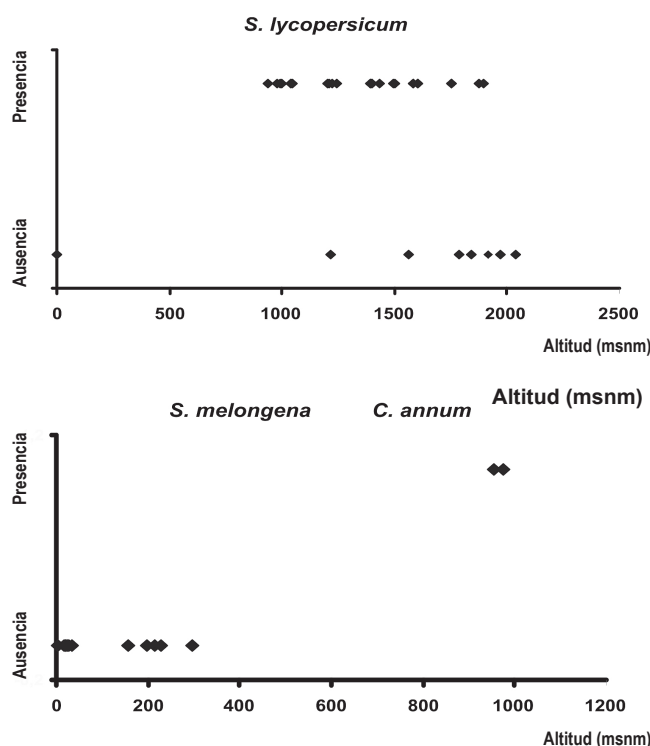


Figura 4. Presencia de *Neoleucinodes elegantalis* en relación con la planta hospedera y altitud de diferentes localidades de Colombia.

puede haber un equilibrio entre la habilidad reproductiva y la adaptación ambiental que permita a los insectos ampliar su hábitat y adaptarse a la composición química de las plantas hospederas.

La preferencia por la planta hospedera en algunas especies insectiles está mediada por la detección y el procesamiento del estímulo recibido a través de las señales químicas que emiten éstas (Mustapha *et al.* 2004). Los insectos se diversifican en respuesta a la diversidad de plantas, que a la vez son el resultado de la selección mediada por otras influencias como el clima, el suelo y la competencia, que en conjunto, afectan la diversidad bioquímica hallada en ellas (Thompson 2003). Ehrlich y Raven (1964) postularon que la presencia de los metabolitos secundarios en las plantas y las respuestas diferenciales por los organismos fitófagos ha sido claramente el factor dominante en la evolución de las interacciones conducentes a la diversidad de insectos y plantas. Por ejemplo, se sabe que la producción, composición química y actividad biológica de los metabolitos secundarios extraídos de la epicutícula cerosa de hojas de algunas plantas es distinta en las diferentes estaciones del año en una misma localidad. Faini *et al.* (1999), encontraron que en invierno la producción es mínima pero con alta concentración de compuestos hidrofóbicos, en tanto que en verano, debido a las condiciones de sequía y alta radiación solar, hay mayor concentración de sólidos polares como triterpenos, flavonoides, diterpenoides que evitan la deshidratación de las hojas y reflejan la luz incidente. También, en primavera y verano, la concentración de los compuestos químicos Lachnophylum ester 1 y Werneria chromene 3 incrementa cuando la presión de insectos es alta. En bioensayos de laboratorio determinaron que estos compuestos juegan un papel importante disuadiendo a los insectos de la alimentación en estas plantas (Faini *et al.* 1999).

Estos aspectos aún no ha sido estudiados para *N. elegantalis*. Sin embargo, la asociación encontrada entre infestación del insecto y zonas de vida específicas permite estimar que estas interacciones están delimitando la distribución geográfica de la especie. Estos factores aunados a la presencia de barreras geográficas de gran envergadura como la Cordillera de los Andes y los ríos Magdalena y Cauca, podrían determinar procesos de especiación reciente en *N. elegantalis* que puede derivarse en la caracterización de biotipos o estar conformando un complejo de especies.

Con relación a la formación de biotipos especializados en atacar una especie determinada de planta hospedera, Brändle *et al.* (2002), explican que en pequeñas áreas geográficas la movilidad de algunas especies de mariposas genera flujo constante de genes, impidiendo la adaptación a algún tipo de planta hospedera. Sin embargo, en una escala espacial más grande, las poblaciones de mariposas pueden adaptarse a ciertas plantas hospederas de acuerdo con las circunstancias particulares de esas áreas geográficas. Para el caso de *N. elegantalis*, un análisis de divergencia intraespecífica usando la subunidad 1 del gen citocromo oxidasa del ADN mitocondrial, reveló la presencia de cuatro haplotipos para esta especie en Colombia. La distribución de haplotipos no estuvo en concordancia con las plantas hospederas donde se criaron los insectos. El haplotipo que presentó mayor divergencia genética estuvo localizado en la cordillera central donde se cultiva la mayor área de solanáceas en el país, lo que sugiere una especie incipiente, resultado del aislamiento geográfico y de la

presión de selección por el uso de insecticidas (Suarez-Barón *et al.* 2009).

La determinación de biotipos o complejos de especies en *N. elegantalis* es determinante porque las diferentes poblaciones naturales de la plaga podrían presentar respuestas diferenciales a una misma estrategia de control. Las estrategias de manejo integrado del cultivo deberían incluir aspectos bióticos y abióticos locales diferenciales que permitan mayor eficacia para su control.

Desde el punto de vista práctico, los resultados de este estudio podrían constituir la base para determinar mediante seguimiento sistemático por varios años, si las zonas de vida según Holdridge (1967) donde no se registró *N. elegantalis* podrían constituir “áreas de baja prevalencia”, lo cual sería relevante para el cumplimiento de los programas de análisis de riegos de plagas para la apertura de mercados internacionales para estas solanáceas.

Agradecimientos

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia - MADR y a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - CORPOICA quienes financiaron el presente estudio a través del proyecto: Tecnologías para el manejo integrado de plagas de hortalizas en tres regiones de Colombia PN25100033. A los doctores: Cesar Cardona - Asesor de CIAT, Ranulfo González - Profesor titular UNIVALLE, Demian Takumasa Kondo - Investigador CORPOICA, C.I. Palmira, Rafael Hurtado - Investigador exCORPOICA, C. I. Tibaitatá, Andrés Peña - Investigador, ex CORPOICA, Jon A. (BUCK) Lewis - Especialista SEL - USDA. A todos los colegas de CORPOICA de los diferentes Centros de Investigación del país; Raúl Parra - Profesor Catedrático Universidad del Tolima, Jorge Jimenez - Vicepresidente ASOHO-FRUCOL, Barranquilla, Colegas del ICA Seccionales: Sucre, Armenia, Manizales, Comité de Cafeteros Santa Marta, a los funcionarios de las Umata de Restrepo, Valle; Pamplona, Norte de Santander; Guayatá, Boyacá; Arbeláez, Manta, San Bernardo y Fusagasugá, Cundinamarca, y a las Alcaldías de Silos, Norte de Santander y Buenavista, Boyacá,

Literatura citada

- BRÄNDLE, M.; ÖHLSCHLÄGER, S.; BRANDL, R. 2002. Range size in butterflies: correlation across scales. *Evolutionary Ecology Research* 4: 993-1004.
- BRUNO, O.; DUPAS, S.; MOYAL, P.; CALATAYUD, P.; SILVAIN, J. 2006. Distribution, pest status and agro-climatic preferences of lepidopteran stem borers of the 177th Annual Society Entomology of France maize in Kenya. *Annales de la Société Entomologique de France* (n.s.) 42 (2): 171.
- CAPPS, H.W. 1948. Status of the Pyraustid moths of genus *Leucinodes* in the new world, with descriptions of new genera and species. *Proceeding of United States National Museum*. Smithsonian Institution U.S. National Museum 98: 69-83.
- CCI (CORPORACIÓN COLOMBIA INTERNACIONAL). 2003. Mercado Nacional de frutas y hortalizas. Monitoreo de Mercados No.5 Abril-Junio. 8 p.
- COSTA LIMA, A. D. 1949. Insetos do Brasil. 6^o Tomo. *Lepidópteros 2^a parte*. Escola Nacional de Agronomia. 420 p.
- DÍAZ, A. E.; SOLIS A. M. 2007. A New species and species distribution records of *Neoleucinodes* (Lepidoptera: Crambidae: Spilomelinae) from Colombia feeding on *Solanum* sp. *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 109:897-908.

- EHRlich, P.; RAVEN, P. 1964. BUTTERFLIES AND PLANTS: A STUDY IN COEVOLUTION. *EVOLUTION* 18: 586-608.
- FAINI, F., LABBÉ C.; COLL, J. 1999. Seasonal changes in chemical composition of epicuticular waxes from the leaves of *Baccharis linearis*. *Biochemical Systematics and Ecology* 27: 673-9.
- GALLEGO, F. 1960. Gusano del tomate de árbol. *Revista Facultad de Agronomía Medellín*, Colombia 20 (54): 39.
- HANNEMANN, H. J. 1957. Über die weiblichen genitalapparate der Gattung *Martyrlilida* Clarke, 1941 (Lep. Epoch.) *Deutsche ent. Z. N. F.*, Bd. 4, Heft 112, pp. 103-111, 8 figs, 4 refs.
- HARDWICK, D. F. 1950. Preparation of slide mounts of Lepidopterous Genitalia. *Canadian Entomologist* 82 (11): 231-5.
- HOLDRIDGE, L. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center, San José, Costa Rica. 206 p.
- ICA (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO). 1981a. Programa de Entomología Palmira (Valle). Más sobre tomate de árbol. *Notas y Noticias Entomológicas (Colombia)*. Pp. 21.
- ICA (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO). 1981b. Programa de Entomología Bogotá (Cundinamarca). Nuevo huesped. *Notas y Noticias Entomológicas (Colombia)*. Pp. 11.
- ICA (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO). 1981c. Programa de Entomología Medellín (Antioquia). Problema en tomate de árbol. *Notas y Noticias Entomológicas (Colombia)*. Pp. 17-8.
- ICA (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO). 1982. Programa de Entomología Vélez (Santander). También en Santander. *Notas y Noticias Entomológicas (Colombia)*. Pp. 7.
- ICA (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO). 1984. Programa de Entomología Cúcuta (Norte de Santander). Plagas vs. mal control. *Notas y Noticias Entomológicas (Colombia)*. Pp. 14.
- ICA (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO). 1988a. Programa de Entomología Espinal (Tolima). También en Tolima. *Notas y Noticias Entomológicas (Colombia)*. Pp. 24.
- ICA (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO). 1988b. Programa de Entomología Bogotá (Cundinamarca). Enemigo Promisorio. *Notas y Noticias Entomológicas (Colombia)*. Pp. 58.
- ICA (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO). 1993. Programa de Entomología Bogotá (Cundinamarca). Fuerte ataque. *Notas y Noticias Entomológicas (Colombia)*. Pp. 23.
- ICA-SOCOLEN (INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO; SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA). 1998. Documento Preliminar. Listado de plagas cuarentenarias por productos para Colombia. 61 pp.
- JONES, P.G.; THORNTON P.K. 2000. MarkSim: Software to Generate Daily Weather for Latin America and Africa. *Agronomic Journal* 92: 445-453; <http://isa.ciat.cgiar.org> Fecha de último acceso: Enero de 2008.
- MAES, K.V. 1995. A Comparative morphological study of the adult Crambidae (Lepidoptera: Pyraloidea). *Annales de la Société Royale Entomologique de Belgique*. 131: 159-68.
- MADR-DANE- ASOHOFRUCOL- FNH-SISAC (MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL- DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA- ASOCIACIÓN HORTOFRUTÍCOLA DE COLOMBIA- FONDO NACIONAL DE FOMENTO HORTOFRUTÍCOLA- SISTEMA DE INFORMACIÓN DEL SECTOR AGROPECUARIO Y PESQUERO DE COLOMBIA. 2004. Primer censo nacional de 10 frutas agroindustriales y promisorias, resultados 2004. 308 pp.
- MADR (MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL). 2005. Observatorio Agrocadenas Colombia. La cadena de los frutales de exportación en Colombia una mirada global de su estructura y dinámica. 1991-2005. En: Documento de Trabajo. <http://agrocadenas.gov.co> (67): 68 p. Fecha de último acceso: Noviembre 11 2006.
- MADR (MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL). 2006. Anuario estadístico de frutas y hortalizas 2002-2005 y sus calendarios de siembras y cosechas. Edición. Dirección de política sectorial-Grupo sistemas de información. 297 pp.
- MUNROE, E.; SOLIS M.A. 1999. Pyraloidea, pp.233-256. En: Kristensen, N. (ed.) *Lepidoptera, Moths and Butterflies*, Vol.1, *Arthropoda, Insect*, Vol.4, Part 35. *Handbook of Zoology*. Walter de Gruyter & Co. Berlin. 491 p.
- MUSTAPHA, F.; JALLOWA, J.; CUNNINGHAMB, P.; ZALUCKIB P. 2004. Intra-specific variation for host plant use in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): implications for management. *Crop Protection* 23: 955-64.
- (SAG). SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO 2005. Criterios de Regionalización actualizando las listas de plagas cuarentenarias. Santiago, Chile. 19 p.
- SAPV (SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y PESCA DEL VALLE). 2007. Guía de costos de producción agrícola. <http://www.valledelcauca.gov.co> Fecha de último acceso: Septiembre 12 de 2008.
- SENASA (SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA PERÚ). 2005. En: <http://ippc.int/cdsupload/1133198299805lpc> Fecha de último acceso: Noviembre 11 de 2005.
- SUAREZ-BARON, H.; GALLEGO, G; DIAZ A.; TOHME J. 2009. Uso del código de barras de ADN para identificar posibles biotipos del perforador del fruto *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae), una importante plaga de frutas solanáceas Andinas. En: Resúmenes XXXVI Congreso de SOCOLEN, Julio 29 al 31, Medellín - Antioquia. 23 p.
- THOMPSON, J.N. 2003. El proceso coevolutivo. Traducido de Roberto Eliecer; revisión técnica de Víctor Rico-Gray. México. 418 p.
- TUDA, M.; CHOUB L.Y.; NIYOMDHAMC, C.; BURANAPANICH PAND, S.; TATEISHI Y. 2005. Ecological factors associated with pest status in *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae): high host specificity of non-pests to Cajaninae (Fabaceae). *Journal of Stored Products Research* 41: 31-45.
- USDA-APHIS-PPQ (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - ANIMAL AND PLANT HEALTH INSPECTION SERVICE - PLANT PROTECTION AND QUARANTINE). 2005. Importation of peppers from certain central american countries. Seventh (7) Code of Federal Regulations (CFR) Part 319. *Federal Register*. 196 (70): 59283 p.
- VALLEJO, F. A. 1999. Mejoramiento genético y producción de tomate en Colombia. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. 216 p.

Recibido: 24-mar-2010 • Aceptado: 12- abr -2011

Transmisión del Virus del Mosaico Suave del Ñame a *Dioscorea rotundata* (Dioscoreaceae) por *Oncometopia* sp. (Cicadellidae)

Transmission of Yam Mild Mosaic Virus to *Dioscorea rotundata* (Dioscoreaceae) by *Oncometopia* sp (Cicadellidae)

DEIVYS ÁLVAREZ G.^{1,6}, ANTONIO PÉREZ H.^{2,6}, JUAN DÍAZ S.^{3,6}, MARIO MAESTRE H.^{4,6} y JAVIER BELTRÁN H.^{5,6}

Resumen: Se determinó la capacidad de transmisión del Virus del Mosaico Suave del Ñame (YMMV) por *Oncometopia* sp en *D. rotundata* cv. Botón. Para ello, se realizaron colectas de adultos de *Oncometopia* sp en un cultivo de *D. rotundata* ubicado en el municipio de Toluviéjo departamento de Sucre, Colombia. Se realizaron bioensayos de transmisión en *D. rotundata* cv. Botón libres de YMMV, utilizando plantas infectadas naturalmente en campo como fuente de inóculo. Las plantas utilizadas en los bioensayos desarrollaron diferentes síntomas como mosaico, bandeo, corrugamiento y deformación foliar. La detección del virus en esas plantas así como en *Oncometopia* sp se realizó mediante la técnica de IC-RT-PCR. Este es el primer informe sobre la identificación de un cicadélido vector de virus en ñame.

Palabras clave: Vector. Potyvirus. YMMV. IC-RT-PCR.

Abstract: The transmission capacity of the Yam Mild Mosaic Virus (YMMV) by *Oncometopia* sp in *D. rotundata* cv. Botón was determined. This was done by collecting adult specimens of *Oncometopia* sp from *D. rotundata* crops located in the municipality of Toluviéjo, department of Sucre, Colombia. Transmission bioassays were conducted on *D. rotundata* cv. Botón free of YMMV, using naturally infected field plants as a source of inoculum. The plants used in the bioassays developed different symptoms, such as mosaics, banding, wrinkling and foliar deformation. Detection of the virus in these plants as well as in *Oncometopia* sp was achieved by the IC-RT-PCR technique. This is the first report on the identification of a leafhopper as a yam virus vector.

Key words: Vector. Potyvirus. YMMV. IC-RT-PCR.

Introducción

Los Cicadellidae, comúnmente llamados cicadélidos, saltahojas o chicharritas (Freytag y Sharkey 2002) son de gran importancia económica ya que son capaces de transportar y transmitir fitopatógenos; además, pueden causar daños directos en las plantas al alimentarse de la savia de las células y tejidos, lo cual resulta en un debilitamiento general (Nielson 1985). Estos insectos poseen piezas bucales picadoras-chupadoras las cuales utilizan para penetrar de manera delicada las células vegetales y succionar la savia. Entre los cicadélidos, algunas especies del género *Oncometopia* poseen gran interés al ser plagas en cultivos de cítricos pudiendo transmitir la bacteria *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*, 1987) agente causal de la clorosis variegada de los cítricos (Roberto *et al.* 1996).

El ñame pertenece a la familia Dioscoreaceae, género *Dioscorea* (Perea y Buitrago 2000). Es una planta de importancia económica en regiones pluviosas tropicales y subtropicales cuyos tubérculos son considerados como producto esencial para la alimentación de millones de personas en África, Asia y América latina (Perea 2000) y Alvarez (2000) considera que en Colombia el cultivo del ñame se encuentra restringido a la región Caribe, con Bolívar, Córdoba y Sucre como los departamentos de mayor producción.

Los cultivos de ñame pueden ser infectados por virus de los géneros *Potyvirus*, *Badnavirus*, *Cucumovirus*, *Comovirus*, *Potexvirus* y *Carlavirus* (Asiedu *et al.* 2003; Kenyon *et al.* 2003). Entre los Potyvirus del ñame se encuentran el Virus del Mosaico del Ñame (YMV) (Thouvenel y Fauquet 1979) y el Virus del Mosaico Suave del Ñame (YMMV) (Munford

y Seal 1997) que ha sido reportado como Virus de Dioscorea Alata (DAV) (Odu *et al.* 1999), los cuales causan síntomas como mosaicos, moteados, bandeos, deformación foliar y atrofia. Además, existen otros virus que afectan la producción como el Virus Baciliforme de Dioscorea Alata (DaBV) del género *Badnavirus* (Phillips *et al.* 1999) y el Virus del Mosaico del Pepino (CMV) del género *Cucumovirus* (Thottappilly 1992).

En atención a esto, se propuso determinar la capacidad de transmisión del Virus del Mosaico Suave del Ñame (YMMV) por una entidad del género *Oncometopia* (Cicadellidae: Cicadellinae: Proconiini) en plantas de ñame espinoso cv. Botón (*Dioscorea rotundata* Poir.).

Materiales y Métodos

Los muestreos de *Oncometopia* sp y de incidencia sintomática se realizaron en un cultivo de ñame espinoso cv. Botón, ubicado en el corregimiento de La Siria, en el municipio de Toluviéjo, localizado en el departamento de Sucre, en el año 2007. Los bioensayos de transmisión se llevaron a cabo en el laboratorio de Entomología de la Universidad de Sucre. Las condiciones para los bioensayos fueron: temperatura máxima - mínima de 29,8°C y 26,4°C respectivamente y humedad relativa promedio de 74,2%.

Las plantas de ñame espinoso cv Botón para los bioensayos de transmisión, se obtuvieron a partir de microtubérculos, los cuales se sembraron en sustrato compuesto por suelo negro-arena-estiércol bovino seco en proporciones 1:1:1, previamente desinfectado con formol al 2% durante 48 horas. Dos

¹ Biólogo, Correo electrónico: deivysalvarez@gmail.com. Autor para correspondencia. ² M.Sc. Entomología. ³ M.Sc. Recursos Fitogenéticos Neotropicales. ⁴ Estudiante de Maestría en Biotecnología. ⁵ Ph.D. Fitopatología. ⁶ Grupo de Biotecnología Vegetal, Universidad de Sucre, Carrera 28 No 5-67, Sincelejo-Colombia.

meses después de la germinación, las plantas se evaluaron mediante IC-RT-PCR para detectar la presencia o no del Virus del Mosaico Suave del Ñame.

Adultos del cicadélido *Oncometopia* sp se coleccionaron sobre plantas de ñame espinoso cv. Botón con síntomas de Potyvirus, mediante captura manual y con aspirador bucal (Oliveira *et al.* 2001).

Plantas de ñame espinoso cv. Botón infectadas naturalmente, ubicadas en los cultivos donde se realizaron las capturas de los insectos, se eligieron como fuente de inóculo para los bioensayos con *Oncometopia* sp. Se tomaron muestras foliares y se trasladaron en bolsas autosellantes refrigeradas (Rodríguez *et al.* 2004), hasta el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Sucre donde se analizaron mediante IC-RT-PCR para verificar la presencia del YMMV.

Se usó un período de adquisición viral (PAV) de ocho días, para ello los *Oncometopia* sp capturados se trasladaron a las plantas destinadas como fuente de inóculo en campo (Fig. 1A). Posteriormente, se transportaron hasta el laboratorio de Entomología de la Universidad de Sucre. El período de inoculación viral (PIV) fue de 11 días, utilizando plantas de ñame espinoso cv Botón libres de YMMV las cuales estuvieron aisladas en jaulas cilíndricas cubiertas con una caperuza de muselina (Fig. 1B) durante todo el ensayo. Se realizaron cinco bioensayos y cada uno consistió de una planta con un grupo de cinco individuos de *Oncometopia* sp como presión de inóculo. Finalizado el PIV, se realizó seguimiento durante 100 días para observar el desarrollo de síntomas acompañado del diagnóstico del YMMV mediante IC-RT-PCR en los insectos y las plantas. La incidencia de la enfermedad de la virosis del ñame se determinó por sintomatología visible (Sepúlveda *et al.* 2005) reportada para los *Potyvirus* en ñame. Se realizó un muestreo aleatorio en forma de zig-zag de 150 plantas en una hectárea, después de seis meses de siembra, contando cada planta muestreada y registrando el síntoma encontrado en el mismo cultivo donde se realizaron las colectas de *Oncometopia* sp.

Las pruebas de detección del YMMV mediante IC-RT-PCR se realizaron con los cebadores propuestos por Munford y Seal (1997): (CP2F: 5' GGC ACA CAT GCA AAT GAA AGC 3') y (UTR2R: 5' CAC CAG TAG AGT GAA CAT AG 3'). Los extractos se obtuvieron mediante maceración de las muestras sean tejido foliar o insectos en 10mL de tampón de

extracción general 1X (Agdia catálogo SRA 27200/0500) y clarificación por centrifugación a 8000rpm durante 5 min.

En las inmunocapturas (IC) se utilizaron anticuerpos para Potyvirus (Agdia catálogo SRA 27200/0500). El anticuerpo fue preparado en tampón de incubación (tampón ECI 1X) en una dilución de 1/200 y fijado en tubos de 0,2mL (40µL c/u) durante 12h a 4°C. Después, se realizaron tres lavados con PBS-T 1X y se adicionaron 40µL del extracto a cada tubo, se incubó 12h a 4°C y se lavó tres veces nuevamente con PBS-T 1X. La reacción de retrotranscripción (RT) se realizó adicionando a cada tubo 1µL de Oligo (dT) (500µg/µL), 1µL dNTP Mix 10mM y 10µL de agua destilada y estéril. Se incubó a 94°C/1min y 75°C/8min. Luego se agregaron 4µL de tampón primera cadena 5X [Tris-HCl 250mM (pH 8,3), KCl 375mM, MgCl₂ 15mM], 2µL de DTT 0,1M, 1µL RNasaOUT (40U/µL) y 1µL M-MLV RT (200U/µL) e incubó a 45°C/50min y 70°C/15min. Culminada la etapa RT se procedió con la PCR, para lo cual se adicionaron 5µL de tampón PCR 10X [Tris-HCl 200mM (pH 8,4), KCl 500mM], 1,5µL de MgCl₂ 50mM, 1µL dNTP Mix 10mM, 1µL de cada cebador (10µM), 0,4µL de *Taq* DNA polimerasa (5U/µL), 5µL de ADN_c y 35,1µL de agua destilada, estéril, con el siguiente perfil de temperaturas por 35 ciclos: desnaturalización (95°C/4min); desnaturalización (95°C/30s); alineamiento (58,5°C/30s); elongación (72°C/30s) y elongación final (72°C/7min). El producto del PCR se analizó mediante electroforesis en gel de agarosa 0,8% con SYBR safe y el peso de las bandas se determinó mediante el marcador molecular 100 bp DNA Ladder de Invitrogen®. Para las etapas RT-PCR se usó un termociclador MyCycler thermal cycler de BIO-RAD.

Resultados y Discusión

Las plantas de ñame espinoso cv. Botón fuentes de inóculo presentaron síntomas de infección por *Potyvirus* como el bandeo con un alto grado de severidad y los resultados del IC-RT-PCR indicaron que éstas se encontraban infectadas naturalmente con el YMMV.

De las plantas obtenidas a partir de los microtubérculos solo cinco de 28 resultaron negativas para YMMV luego de ser analizadas por IC-RT-PCR, por lo cual solo se pudo realizar igual número de bioensayos de transmisión. Todos los grupos de *Oncometopia* sp resultaron positivos para YMMV (Fig. 2A) luego de haber cumplido con el PAV y el PIV, lo anterior permitió demostrar la capacidad que tiene este cicadélido de adquirir dicho virus, al alimentarse en plantas de ñame espinoso cv. Botón infectadas naturalmente. Las plantas resultaron infectadas con el YMMV (Fig. 2B), 14 días después del PIV, desarrollando síntomas como el bandeo, limbo corrugado, mosaico y deformación foliar, reportados como la sintomatología típica producida por los *Potyvirus* en ñame (Thouvenel y Fauqueth 1979; Goudou-Urbino *et al.* 1996a; Munford y Seal 1997; Odu *et al.* 1999). Estos resultados demuestran que *Oncometopia* sp puede transmitir el Virus del Mosaico Suave del Ñame en *D. rotundata* cv. Botón, indicando así un nuevo vector de virus en esta especie y el primer informe sobre un cicadélido transmisor de virus en ñame.

Investigaciones realizadas en África, sobre virosis en ñame, demuestran que los áfidos componen el mayor número de insectos vectores, es así como *Aphis gossypii* (Glover, 1877), *Toxoptera citricidus* (Kirkaldy, 1907), *Aphis craccivora* (Koch, 1854) y *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) son capaces de transmitir el YMV en *Dioscorea cayenensis* Lam

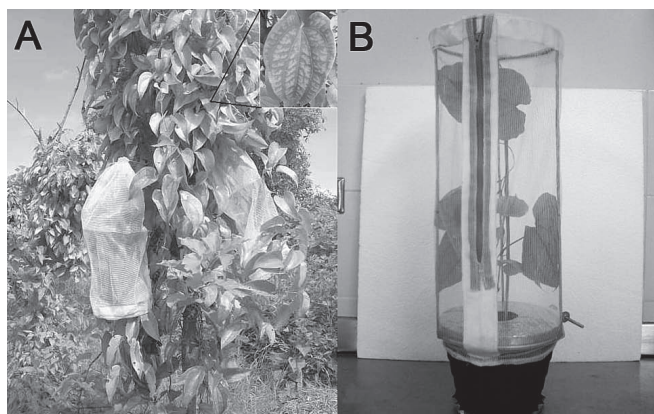


Figura 1. A. Montaje de sacos de muselina con *Oncometopia* sp para facilitar la adquisición viral, recuadro muestra hoja de Ñame con síntomas de YMMV. B. Montaje de plantas de Ñame libres de YMMV en jaula para el Periodo de Infección Viral.

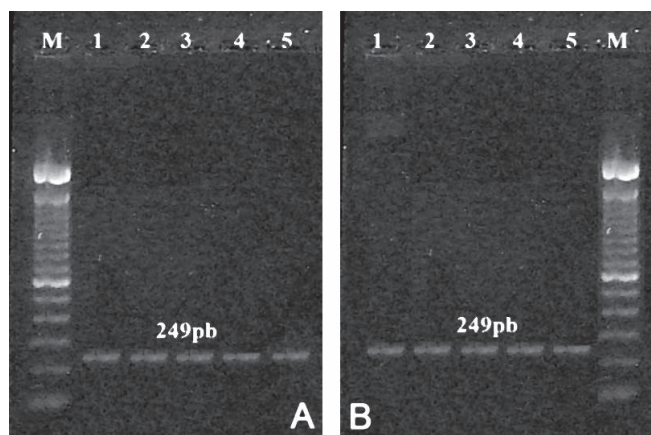


Figura 2. Cromatografías de diagnóstico mediante IC-RT-PCR de la presencia del YMMV en A. los cinco grupos de *Oncometopia* sp B. plantas de *Dioscorea rotundata*. M= marcador de peso molecular.

(Thouvenel y Fauquet 1979); *A. craccivora* y *R. maidis* son vectores del YMMV en *Dioscorea alata* L. (Odu *et al.* 1999); *A. craccivora* y *R. maidis* que transmiten el CMV en *D. alata* y *D. rotundata* (Thottappilly 1992; Odu *et al.* 2004). Además, el DaBV es transmitido por la cochinilla *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Phillips *et al.* 1999; Odu *et al.* 2004). Sin embargo, hasta la fecha, en Colombia no se conocen informes de colonias de dichos insectos en este cultivo, mientras que si se encuentran abundantes cicadélidos, entre ellos *Oncometopia* sp, asociados al agro-ecosistema ñame, lo cual permite advertir el papel que estos últimos pueden tener en la epidemiología de las virosis del ñame en la región Caribe colombiana.

La incidencia sintomática, en el cultivo de ñame espino cv. Botón ubicado en La Siria, fue del 95,4% y los síntomas encontrados coincidieron con los reportados para los Potyvirus del ñame (Thouvenel y Fauquet 1979; Thottappilly 1992; Goudou-Urbino *et al.* 1996a, 1996b). Dentro de las sintomatologías encontradas, el bandeo fue frecuente con un 83,6%, aunque también se observó mosaico, clorosis y moteado con una frecuencia de 4,5%, 4,5% y 2,7% respectivamente. Investigaciones anteriores, como la realizada por Dallot *et al.* (2001) y Guzmán *et al.* (2001), sugieren una alta incidencia de *Potyvirus* en los cultivos de ñame en la región Caribe de Colombia, reportando síntomas como moteados y mosaicos; así como también la infección de estos con el YMMV. Se ha demostrado que los *Potyvirus* del ñame pueden ser transmitidos mediante tubérculos infectados utilizados como material de siembra (Thouvenel y Fauquet 1979; Goudou-Urbino *et al.* 1996b; Guzmán *et al.* 2001; Odu *et al.* 2004), esta situación sumada a la presencia de insectos vectores sería la causa de la alta incidencia de virosis encontrada en los cultivos de ñame en el departamento de Sucre.

Literatura citada

- ÁLVAREZ, A. 2000. Prácticas agronómicas para el cultivo del ñame. p. 33-39. En: GUZMÁN, M. y BUITRAGO, G. (eds). Ñame: producción de semilla por biotecnología. Unibiblos. Bogotá. Colombia. 112 p.
- ASIEDU, R.; MIGNOUNA, H.; ODU, B.; HUGHES, J. 2003. Yam breeding. p. 466-475. In: Plant virology in sub-Saharan Africa. International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ibadan. Nigeria. 583 p.
- DALLOT, S.; BOUSALEM, M.; GUZMAN, M. 2001. Occurrence of potyviruses on yam (*Dioscorea spp*) in Colombia and first molecular characterization of Yam mild mosaic virus. Plant Disease 85 (7): 803.
- FREYTAG, F.; SHARKEY, M. 2002. A preliminary list of the leafhoppers (Homoptera) of Colombia. Biota Colombiana 3(2): 235-283.
- GOUDOU - URBINO, C.; GIVORD, L.; QUIOT, J.; BOEGLIN, M.; KONATE, G.; DUBERN, J. 1996a. Differentiation of yam virus isolates using symptomatology, western blot assay, and monoclonal antibodies. Journal of Phytopathology 144: 235-240.
- GOUDOU - URBINO, C.; KONATE, G.; QUIOT, J.; DUBERN, J. 1996b. Aetiology and ecology of a yam mosaic disease in Burkina Faso. Tropical Science 36: 34-40.
- GUZMÁN, M.; BERMUDEZ, Y.; CASTRO, C. 2001. Identificación del Virus del mosaico suave del ñame (YMMV) en muestras colombianas de *Dioscorea alata* caracterización biológica, serológica y molecular. Revista Colombiana de Biotecnología 3(1): 72-79.
- KENYON, L.; SHOYINKA, S.; HUGHES, J.; ODU, B. 2003. An overview of viruses infecting *Dioscorea* yams in sub-Saharan Africa. p. 432-439. In: Plant virology in sub-Saharan Africa. International Institute of Tropical Agriculture (IITA). Ibadan. Nigeria. 583 p.
- MUNFORD, R.; SEAL, S. 1997. Rapid single tube immunocapture RT-PCR for the detection of two yam potyviruses. Journal of Virological Methods 69: 73-79.
- NIELSON, M. 1985. Leafhopper systematic. p. 11-39. In: NAULT, L.; RODRIGUEZ, J. (eds). The Leafhoppers and planthoppers. John Wiley & Sons. New York. 500 p.
- ODU, B.; HUGHES, J.; ASIEDU, R.; NQ, N.; SHOYINKA, S.; OLADIRAN, O. 2004. Responses of white yam (*Dioscorea rotundata*) cultivars to inoculation with three viruses. Plant Pathology 53: 141-147.
- ODU, B.; HUGHES, J.; SHOYINKA, S.; DONGO, L. 1999. Isolation, characterization and identification of Potyvirus from *Dioscorea alata* L. (water yam) in Nigeria. Annals of Applied Biology 134: 65-71.
- OLIVEIRA, C.; MOLINA, R.; ALBRES, R.; LOPES, J. 2001. Disseminação de mollicutes do milho a longas distâncias por *Dalbulos maidis* (Hemiptera). Fitopatologia Brasileira 27(1): 91-95.
- PEREA, M. 2000. Utilización de los sistemas in vitro para la obtención de plantas de ñame (*Dioscorea spp*) libres de patógenos. p. 41-53. En: GUZMÁN, M.; BUITRAGO, G. Ñame: producción de semilla por biotecnología. Unibiblos. Bogotá. Colombia. 112 p.
- PEREA, M.; BUITRAGO, G. 2000. Aplicación de la biotecnología agrícola al cultivo de ñame. p. 17-32. En: GUZMÁN, M.; BUITRAGO, G. Ñame: producción de semilla por biotecnología. Unibiblos. Bogotá. 112 p.
- PHILLIPS, S.; BRIDDON, R.; BRUNT, A.; HULL, R. 1999. The partial characterization of a Badnavirus infecting the greater asiatic or water yam (*Dioscorea alata*). Journal of Phytopathology 147: 265-269.
- ROBERTO, S.R.; COUTINHO, A.; LIMA, J.; MIRANDA, V.; CARLOS, E. 1996. Transmissão de *Xylella fastidiosa* pelas cigarrinhas *Dilobopterus costalimai*, *Acrogonia terminalis* e *Oncometopia fascialis* em citros. Fitopatologia Brasileira 21: 517-518.
- RODRIGUEZ, Y.; RANGEL, E.; CENTENO, F.; MENDOZA, O.; PARRA, A. 2004. Detección de enfermedades virales afectando al pimentón en los municipios Iribarren, Jiménez y Torres del Estado Lara, Venezuela, utilizando la técnica ELISA. Revista de la Facultad de Agronomía. (Venezuela) 21(2): 105-115.
- SEPULVEDA, P.; LARRAÍN, P.; QUIROZ, C.; REBUFEL, P.; GRANA, F. 2005. Identificación e incidencia de virus en pimiento en la zona centro norte de Chile y su asociación con vectores. Agricultura Técnica. (Chile) 65(3): 235-245.
- THOTTAPPILLY, G. 1992. Plant virus diseases of importance to african agriculture. Journal of Phytopathology 134: 265-288.
- THOUVENEL, J.; FAUQUET, C. 1979. Yam mosaic Potyvirus infecting *Dioscorea cayenensis* in the Ivory coast. Annals of Applied Biology 93: 279-283.

Scientific note

Occurrence of *Poekilloptera phalaenoides* (Hemiptera: Flatidae) on *Acacia podalyriaefolia* (Mimosoideae) in Viçosa, Minas Gerais, Brazil

Presencia de *Poekilloptera phalaenoides* (Hemiptera: Flatidae) en *Acacia podalyriaefolia* (Mimosoideae) en Viçosa, Minas Gerais, Brasil

EVALDO MARTINS PIRES¹, ISABEL MOREIRA DA SILVA², ADRIANO ELIAS PEREIRA³
and JOSÉ COLA ZANUNCIO⁴

Resumen: Los adultos y las ninfas de *Poekilloptera phalaenoides* (Auchenorrhyncha: Flatidae) se encontraron en plantas de *Acacia podalyriaefolia* (Leguminosae: Mimosoideae) en Viçosa, Minas Gerais, Brasil, en octubre de 2007. Este es el primer registro para la municipalidad de Viçosa y en plantas de *A. podalyriaefolia*, sobre el cual puede completar su ciclo de vida entero.

Palabras clave: *Manguifera*. *Anona*. *Eucalyptus*. *Citrus*. *Theobroma*.

Abstract: Adults and nymphs of *Poekilloptera phalaenoides* (Auchenorrhyncha: Flatidae) were found on *Acacia podalyriaefolia* (Leguminosae: Mimosoideae) in Viçosa, Minas Gerais, in October 2007. This is the first record of this insect in the municipality of Viçosa and on plants of *A. podalyriaefolia* on which it can complete its full life cycle.

Key words: *Manguifera*. *Anona*. *Eucalyptus*. *Citrus*. *Theobroma*.

Introduction

Poekilloptera phalaenoides (L., 1758) (Auchenorrhyncha: Flatidae) is recorded from Mexico through and Brazil (Maes 2004). In Brazil it has been reported in Bahia, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Roraima, São Paulo and Sergipe states (Araújo *et al.* 1968; Querino *et al.* 2007; Silva 2009; Ferreira *et al.* 2009). *Poekilloptera phalaenoides* is characterized by having general pale yellowish color with black spots on the tegmina and wings (Figs 1C-D) (Costa Lima 1942). It is phytophagous (Maes 2004) and excretes a sticky substance that causes sooty mold to grow on the plant and cover leaves and branches, obstructing to some level the plant breathing, transpiration and photosynthesis (Querino *et al.* 2007). Plants considered as potential hosts for *P. phalaenoides* include species of the genera *Cassia*, *Delonix* (Caesalpinaceae), *Cajanus*, *Dipteryx* (Fabaceae), *Manguifera* (Anacardiaceae), *Anona* (Anonaceae), *Eucalyptus*, *Psidium* (Myrtaceae), *Rosa*, *Prunus* (Rosaceae), *Coffea* (Rubiaceae), *Citrus* (Rutaceae), *Theobroma* (Sterculiaceae), *Enterolobium*, *Pithecelobium*, *Inga*, *Albizia* and *Acacia* (*A. mangium*) (Mimosaceae) (Maes 2004; Querino *et al.* 2007).

Adults and immature stages of *P. phalaenoides* were found on plants of *A. podalyriaefolia* (Leguminosae: Mimosoideae) on October 2007, in Viçosa county, state of Minas Gerais (coordinates: 20°45'28.2"S; 42°52'26.6"W at 656 masl altitude). This is an exotic plant in the Brazilian fauna, native to Australia (Fig 1A). Specimens of *P. phalaenoides* were collected and sent to Dr. Stephen W. Wilson from Department of Agriculture of the University of Central Mis-



Figure 1. A. *Acacia podalyriaefolia* (Leguminosae: Mimosoideae) plant in Viçosa, Minas Gerais, Brazil. B. Specimens of *Poekilloptera phalaenoides* (Auchenorrhyncha: Flatidae) on branches of *A. podalyriaefolia*. C. Detail of *P. phalaenoides* and its gregarious habit. D. Nymphs of *Poekilloptera phalaenoides* (Auchenorrhyncha: Flatidae) on plants of *Acacia podalyriaefolia* (Leguminosae: Mimosoideae).

souri, USA, for identification. The plant was identified by Dr. Antônio Leis Pinheiro from the Department Plant Biology of the Federal University of Viçosa (UFV). These insects were observed feeding exclusively on branches of this plant, and the observed symptom was the presence of long, curled filaments of waxy exudate covering the branches. After this

¹ D.Sc. Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato Grosso, 78557-000 Sinop, MT, Brazil. evaldo@ufmt.br Correspondence author. ² M.Sc. Student. Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, MG, Brazil. ³ M.Sc. Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). Rua Thomas Deloney, 381. 04710-110, São Paulo, Brazil. ⁴ Ph.D. Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, MG, Brazil.

observation, it was concluded that *A. podalyriaefolia* can be a potential host for *P. phalaenoides* (Figs. 1A-B) because in addition to the adults, there were nymphs on the branches of the plant (Fig 1D, arrows), indicating that the plant can be not only a refuge or shelter but also a place to reproduction.

Cited literature

- ARAÚJO E SILVA, A.G.; GONÇALVES, C.R.; GALVÃO, D.M.; GONÇALVES, A.J.L.; GOMES, J.; SILVA, M.N.; SIMONI, L. 1968. Quarto catálogo que vivem nas plantas do Brasil; seus parasitos e predadores. Parte II, 1º tomo. Rio de Janeiro, M.A. Laboratório Central de Patologia Vegetal. 622 p.
- COSTA LIMA, A.M. 1942. Insetos do Brasil. 3º tomo (Homopteros). Rio de Janeiro, Escola Nacional de Agronomia. 327 p.
- FERREIRA, G.A.; VELOSO, V.R.S.; VELOSO NAVES, R.; NASCIMENTO, J.L.; CHAVES, L.J. 2009. Biodiversidade de insetos em Pequizeiro (*Caryocar brasiliense*, Camb.) no cerrado do Estado de Goiás, Brasil. *Agrociencia*, 13 (2): 14-31.
- QUERINO, R.B.; TONINI, H.; MARSÁRO JÚNIOR, A.L & COUCEIRO, S.R.M. 2007. O manejo de *Acacia mangium* Willd (Fabaceae) tem efeito na infestação da cigarrinha *Poekilloptera phalaenoides* L. (Hemiptera: Flatidae)? *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 04. Embrapa. 15 p.
- MAES, J.M. 2004. Insectos asociados a algunos cultivos tropicales en el Atlántico de Nicaragua. *Revista Nicaraguense de Entomología*, 64: (1): 1-134 p.
- SILVA, M.M. 2009. Diversidade de insetos em diferentes ambientes florestais no município de Cotriguaçu, estado de Mato Grosso. Master's Dissertation, UFMT, 125 p.

Recibido: 5-jul-2010 • Aceptado: 24-ene-2011

Scientific note

Oxymerus aculeatus* (Coleoptera: Cerambycidae) causing damage on corn plants (*Zea mays*) in BrazilOxymerus aculeatus* (Coleoptera: Cerambycidae) causando danos em plantas de milho (*Zea mays*) en BrasilEVALDO MARTINS PIRES¹, ISABEL MOREIRA², MARCUS ALVARENGA SOARES³, JOÃO ALFREDO MARINHO⁴, ROSENILSON PINTO⁵ and JOSÉ COLA ZANUNCIO⁶

Resumen: Los adultos y las larvas de Cerambycidae son responsables de daños en especies vegetales. Los insectos de esta familia son conocidos vulgarmente como brocas, coleobrocas, serradores, serrapaus, siendo fácilmente reconocidos por presentar antenas largas, generalmente más largas que su cuerpo. Se encontraron ejemplares de *Oxymerus aculeatus* (Coleoptera: Cerambycidae) en cultivos de maíz en la Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais estado Brasil, durante el período de floración y causando daños a la parte reproductiva de la planta.

Palabras clave: Escarabajos longicornios. Viçosa.

Abstract: The adults and larvae of Cerambycidae are responsible for damage to plant species. The insects of this family are commonly known as wood borers, being easily recognized by the presence of long antennae, usually longer than the body. Specimens of *Oxymerus aculeatus* (Coleoptera: Cerambycidae) were found in corn fields at the Federal University of Viçosa, Minas Gerais State, Brazil, during the flowering period and damaging the reproductive part of the plant.

Key words: Longhorned beetles. Viçosa.

Introduction

The Cerambycidae family is composed by eight subfamilies and most of the species are in three of them (Cerambycinae, Lamiinae and Prioninae) (Crownson 1991). The Neotropical region has approximately 5000 species of this family distributed in 1500 genera and in Brazil 4000 species from 1000 genera can be found (Costa 2000). Cerambycidae beetles can cause extensive damages such as opening mines, wholes and spots on the wood, besides the attacks on branches and stems that can promote the development of some microorganisms such as bacteria, fungi, and virus (Hosking 1977; Berti Filho *et al.* 1995; Carvalho *et al.* 1995; Zanuncio *et al.* 2009).

Individuals of Cerambycidae were recorded causing damage on forest crops with economical importance (Iturre *et al.* 1995; BertiFilho 1997; Wilcken *et al.* 2005; Zanuncio *et al.* 2009) and orchards of fruit trees (Garcia and Corseuil 1998/1999; Canettieri and Garcia 2000; Paz *et al.* 2008). The *Oxymerus* genus presents species described in the American continent, including Argentina, Bolivia, Brazil, Guyana, Jamaica, Nicaragua, Paraguay, Peru, Uruguay and Venezuela (Monné *et al.* 2006) and specifically *Oxymerus aculeatus* Dupont, 1838 (Coleoptera: Cerambycidae) has been recorded in the States of Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, and São Paulo in Brazil (Monné *et al.* 2006). This is the first report of *O. aculeatus* causing damage on corn plants (*Zea mays*



Figure 1. A. *Oxymerus aculeatus* (Coleoptera: Cerambycidae) adult feeding on the male flower of corn plants, Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais State, Brazil. **B.** Detail of *Oxymerus aculeatus* (Coleoptera: Cerambycidae) on the inflorescence.

¹ DSc. Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato Grosso, 78557-000 Sinop, MT, Brazil. evaldo.pires@gmail.com Corresponding author. ² Agronomy engineer. Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, MG, Brazil. ³ MSc. Universidade Estadual de Minas Gerais Av. Brasília, 1304 - Bairro Baú - 35930-314 João Monlevade, MG, Brazil. ⁴ PhD. Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, MG, Brazil. ⁵ DSc. Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, MG, Brazil. ⁶ PhD. Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, MG, Brazil.

L.) during the reproduction period of the plant at the Federal University of Viçosa (20°45'14"S, 42°52'55"W) Viçosa, Minas Gerais State, Brazil (Fig. 1).

These insects were recorded feeding and causing damages on the tissue of male flowers of the corn plants. Black spots were observed because of the feeding behavior of the insects. Cerambycidae species has been cited in the literature feeding on the flowers, nectar, pollen and wood of different long cycle plants species (Crownson 1981; Martins 1997; Lawrence *et al.* 1999); however, there is no record or literature about this species feeding and damaging *Z. mays*. The presence of *O. aculeatus* on plants with annual cycle can result in an adjustment of the insect to this new ecosystem that is not desirable because this insect species can reduce the reproductive capacity of the corn plants by attacking the reproductive system of them and, consequently, reducing the seed production. These observations can encourage future research and works about the establishment of *O. aculeatus* on this new host plant.

Cited Literature

- BERTI FILHO, E.; CERIGNONI, J. A.; SOUZA JÚNIOR, C. N. 1995. *Phoracantha semipunctata* (Fabricius) (Coleoptera, Cerambycidae) broca de *Eucalyptus* spp. nativa da Austrália, já ocorre no estado de São Paulo. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), 48/49 (1): 142-143.
- BERTI FILHO, E. 1997. Impacto de Coleoptera: Cerambycidae em florestas de *Eucalyptus* no Brasil. *Scientia Forestalis* 52 (1): 53-56.
- CANETTIERI, E. R. P. S.; GARCIA, A. H. 2000. Abundância relativa das espécies de Cerambycidae (Insecta, Coleoptera) em pomar de frutíferas misto. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 30 (2): 435-440.
- CARVALHO, A. G.; RESENDE, A. S.; SILVA, C. A. M. 1995. Avaliação de danos de *Oncideres dejanei* Thomsom, 1868 (Coleoptera, Cerambycidae) em *Albizia lebbbeck* Benth. (Leguminosae, Mimosoidae) na região de Seropédica, RJ. *Floresta e Ambiente* 2 (2): 6-8.
- COSTA LIMA, A. M. 1955. Insetos do Brasil. 9º tomo (Coleópteros). Rio de Janeiro. Escola Nacional de Agronomia. 289 p.
- COSTA, C. 2000. Estado de conocimiento de los Coleoptera Neotropicales. p. 99 – 114. In: Martín-Piera, F.; Morrone, J.J.; Melic, A. (Org.). Hacia un proyecto CYTED para el inventario y estimación de la diversidad entomológica en Iberoamérica. Zaragoza, Sociedad Entomológica Aragonesa. Madrid. España. 319 p.
- CROWSON, R. A. 1981. The Biology of Coleoptera. London. Academic Press, London. 745 p.
- GARCIA, F. R. M. & CORSEUIL, E. 1998/1999. Flutuação populacional de cerambycídeos e escarabaeídeos (Coleoptera) em pomares de pessegueiro no município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia* 5/6 (1): 69-81.
- HOSKING, G. P. 1977. *Xyleborus saxeseni*, its life-history and flight behaviour in New Zealand. *New Zealand Journal of Forestry Science* 3 (1): 37-53.
- ITURRE, M.; DARCHUCK, E.; DIODATO, L. 1995. Relevamiento y fluctuación de coleópteros presentes en plantación experimental de *Eucalyptus tereticornis* en Santiago del Estero. *Quebracho* 3(1): 58-64.
- LAWRENCE, F. A.; HASTING, A. M.; DALLWITZ, M. J.; PAINE, T. A.; ZURCHER, E. J. 1999. Beetles of the world. A key and information system for families and subfamilies. Version 1.0 for MS Windows. CSIRO Publishing. Melbourne. Australia.
- MARTINS, U. R. 1997. Cerambycidae Sul - Americanas (Coleoptera). Sociedade Brasileira de Entomologia. São Paulo. Brasil. P. 217.
- MONNÉ, M. A.; BEZARK, L. G.; HOVORE, F. T. 2006. Checklist of the Cerambycidae, or longhorned beetles (Coleoptera) of the Western Hemisphere. BioQuip Publications. Rancho Domingues, California. United States. 394 p.
- PAZ, J. K. S.; SILVA, P. R. R.; PÁDUA, L. E. M.; IDE, S.; CARVALHO, E. M. S.; FEITOSA, S. S. 2008. Monitoramento de coleobrocas associadas à mangueira no município de José de Freitas, Estado do Piauí. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal 30(2): 348-355.
- WILCKEN, C. F.; ORLATO, C.; OTTATI, A. L. T. 2005. Ocorrência de *Migdolus fryanus* (Coleoptera, Cerambycidae) em plantios de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*. *Revista árvore*, Viçosa, 29(1): 171-173.
- ZANUNCIO, J. C.; PIRES, E. M.; ALMADO, R. P.; ZANETTI, R.; MONNE, M. A.; PEREIRA, J. M. M.; SERRÃO, J. E. 2009. Damage assessment and host plant records of *Oxymerus basalis* (Dalman, 1823) (Cerambycidae: Cerambycinae: Trachyderini) in Brazil. *The Coleopterists Bulletin* 63(2): 687-691.

Recibido: 5-may-2010 • Aceptado: 5-oct-2010

Establecimiento de elementos predictivos acerca de la ocurrencia de mosquitos culícidos (Diptera: Culicidae)

Establishment of predictive elements concerning to the occurrence of culicid mosquitoes (Diptera: Culicidae)

RUBÉN BUENO MARÍ¹ y RICARDO JIMÉNEZ PEYDRÓ¹

Resumen: Se realizaron regresiones logísticas múltiples para identificar las variables ambientales cuantitativas y cualitativas que permitiesen predecir la ocurrencia de las diferentes especies de mosquitos culícidos (Diptera: Culicidae) recolectadas durante cuatro años de estudio (2005-2008) en el este de la Península Ibérica. Los resultados muestran que algunas variables posibilitan el alcance de óptimos porcentajes de incidencia para las especies *Ochlerotatus caspius*, *Culex pipiens*, *Culex territans* y *Culiseta longiareolata*. El estudio de posibles elementos predictivos de la ocurrencia de culícidos se postula como una herramienta útil y conveniente para el establecimiento de exitosos programas de control poblacional de mosquitos.

Palabras clave: Criaderos larvarios. *Ochlerotatus caspius*. *Culex pipiens*. *Culex territans*. *Culiseta longiareolata*.

Abstract: Multiple logistic regressions were conducted to identify the quantitative and qualitative environmental variables that best predict the occurrence of the different species of culicid mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected over four years of study (2005-2008) in the eastern Iberian Peninsula. The results show that some variables make it possible to achieve optimal percent incidence for the species *Ochlerotatus caspius*, *Culex pipiens*, *Culex territans* and *Culiseta longiareolata*. The study of possible predictive elements for the occurrence of culicids is postulated as a useful and convenient tool for the establishment of successful mosquito population control programs.

Key words: Breeding sites. *Ochlerotatus caspius*. *Culex pipiens*. *Culex territans*. *Culiseta longiareolata*.

Introducción

Profundizar en el conocimiento de los factores ambientales que afectan a la ocurrencia de las diferentes especies de mosquitos (Diptera: Culicidae) es sumamente importante para el desarrollo de exitosos programas de control poblacional (Axtell 1979; Bueno Marí y Jiménez Peydró 2011). En este sentido, existen diversos estudios que se basan en el empleo de regresiones logísticas para predecir la incidencia de los culícidos a partir de diversas variables ambientales (Udevitz *et al.* 1987), sobre todo aquellas relacionadas con las características físicas y químicas de los biotopos larvarios (Vniska y Pappas 1984; Blaustein y Margalit 1995; Sunish y Reuben 2001). Con la finalidad de profundizar en el conocimiento de estas cuestiones y aportar información interesante acerca de las variables que mejoren la predictibilidad de la ocurrencia de los culícidos mediterráneos, se investigaron las poblaciones larvianas presentes en el Levante español de estos dípteros nematóceros. El objetivo fue establecer qué variables cuantitativas y cualitativas de los biotopos larvarios se asocian mejor con la presencia de las distintas especies.

Materiales y Métodos

Área de estudio y metodología de análisis de campo. Entre los meses de marzo a octubre de los años comprendidos entre 2005 y 2008 se llevó a cabo un muestreo larvario de culícidos en la Comunidad Valenciana (Fig. 1); región de clima típicamente Mediterráneo situada en el este de la Península Ibérica, que ocupa una extensión aproximada de 23.260 km² y que

presenta una importante heterogeneidad de ambientes hidricos. La captura de larvas se realizó mediante la técnica “dipping” (Service 1993) y para la determinación específica de los ejemplares recolectados se emplearon los criterios taxonómicos de Encinas Grandes (1982), Darsie y Saminadou Voyadjoglou (1997) y Schaffner *et al.* (2001). Paralelamente a la colecta de juveniles, se procedió a la determinación del pH, temperatura, conductividad y salinidad *in situ* empleando un equipo portátil multiparamétrico (pIONneer65) con una sonda combinada para pH y temperatura (pHC5977), y otra para la conductividad y temperatura (CDC30T). La determinación de la salinidad se calculó automáticamente con

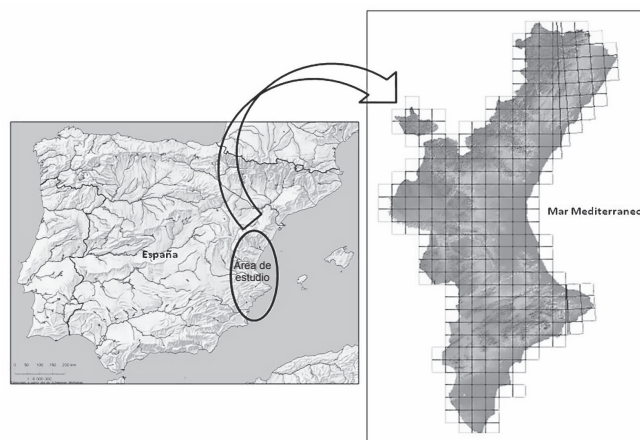


Figura 1. Ubicación del área de estudio.

¹ Ph.D. Laboratorio de Entomología y Control de Plagas Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva Universitat de València (Estudi General). Apartado oficial 22085.46071 Valencia (España). ruben.bueno@uv.es autor para correspondencia.

el instrumental basándose en el “Extended Practical Salinity Scale” de 1978 (Lewis 1980). Para la realización de estos análisis se sumergieron las respectivas sondas en el cuerpo hídrico muestreado hasta la estabilización de la medida. Del mismo modo, los puntos de muestreo fueron georreferenciados a partir de coordenadas GMS (Grados: Minutos: Segundos) establecidas mediante un geoposicionador (modelo GPS 12 de Garmin, datum WGS 84), a través del cual también se determinó la altitud. Además, se tipificó cada punto de muestreo recogiendo cuáles de las siguientes variables cualitativas se ajustaba mejor a su condición:

- Tipo de ambiente acuático
 - Léntico
 - Lótico
- Tipo de cuerpo de agua
 - Río/arroyo/riachuelo/escorrentía
 - Laguna temporal o permanente
 - Embalse
 - Encharcamiento temporal/arrozal/zona de marismas
 - Canal o acequia
 - Gran receptáculo: albergan cantidades de agua superiores a 10 litros (balsa, bidón, fuente, abrevadero, pozo, piscina,...)
 - Pequeño recipiente: albergan cantidades de agua inferiores a 10 litros (cubo, macetero, neumático,...)
- Tipo de sustrato (se considera el mayoritario en el biotopo en caso de coexistencia)
 - Rocoso
 - Pedregoso
 - Arenoso
 - Cenagoso
 - Hormigón
 - Plástico/caucho/metal
- Profundidad del foco (medición en el punto más profundo muestreado)
 - Aguas someras (menos de 40 cm)
 - Aguas profundas (más de 40 cm)
- Grado de antropización del ambiente
 - Bajo (medios naturales o salvajes, sin actividad humana aparente en áreas circundantes)

Tabla 1. Variables continuas categorizadas para su dicotomización.

Variable	Descripción
Temperatura alta	Temperatura igual o por encima de la media ($\geq 19,7^{\circ}\text{C}$)
Temperatura baja	Temperatura por debajo de la media ($< 19,7^{\circ}\text{C}$)
pH ácido	pH por debajo de 6,5.
pH neutro	pH entre 6,5 y 7,5
pH básico	pH por encima de 7,5.
Redox alto	Potencial redox igual o por encima de la media ($\geq -64\text{ mv}$)
Redox bajo	Potencial redox por debajo de la media ($< -64\text{ mv}$)
Conductividad alta	Conductividad igual o por encima de la media ($\geq 2,88\text{ mS}$)
Conductividad baja	Conductividad por debajo de la media ($< 2,88\text{ mS}$)
TDS alto	TDS igual o por encima de la media ($\geq 1,63\text{ g/l}$)
TDS bajo	TDS por debajo de la media ($< 1,63\text{ g/l}$)
Hiposalino	Salinidad entre 0 y 0,49 g/l
Oligosalobre	Salinidad entre 0,5 y 4,9 g/l
Salobres	Salinidad entre 5 y 15,9 g/l
Polisalobres	Salinidad entre 16 y 39,9 g/l
Altitud elevada	Altitud igual o por encima de la media ($\geq 393\text{ m}$)
Altitud baja	Altitud por debajo de la media ($< 393\text{ m}$)

Nota: la media hace referencia a los valores obtenidos en la totalidad de nuestro estudio.

- Medio (medios rurales, agrícolas o ganaderos que impliquen cierta actividad o asentamientos humanos en sus alrededores)
- Alto (medios urbanos o periurbanos)

Análisis estadístico. Mediante el empleo del programa estadístico SPSS 18 (SPSS 2009) se realizaron diversas regresiones logísticas binarias por pasos hacia adelante, según la razón de verosimilitud, con el objetivo de analizar la predicti-

Tabla 2. Valores observados y pronosticados acerca de la ausencia (0) y presencia (1) de *Oc. caspius*.

Observado			Pronosticado	
			<i>Oc. caspius</i>	Porcentaje correcto
			0	1
Paso 0	<i>Oc. caspius</i>	0	621	100
		1	58	0
	Porcentaje global			91,5
Paso 1	<i>Oc. caspius</i>	0	621	100
		1	58	0
	Porcentaje global			91,5
Paso 2	<i>Oc. caspius</i>	0	595	95,8
		1	19	67,2
	Porcentaje global			93,4

Tabla 3. Variables presentes en la ecuación en cada paso incorporado y principales estadísticos asociados. Datos referentes a *Oc. caspius*.

		Estadísticos asociados					I.C. 95% para EXP (B)	
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp (B)	
Paso 1	<i>TDS alto*</i>	4,361	0,484	81,211	1	<<0.01	78,354	30,347
	Constante	-	0,449	109,217	1	<<0.01	0,009	202,303
		-4,695						
Paso 2	<i>Encharcamientos*</i>	1,381	0,354	15,213	1		3,981	1,988
	<i>TDS alto</i>	4,126	0,489	71,151	1	<<0.01	61,939	7,970
	Constante	-	0,488	113,801	1	0.01	23,746	161,561
		5,209					0,005	

* Variables incorporadas en cada paso.

bilidad de la incidencia (presencia/ausencia) de las diferentes especies de culícidos capturadas, a partir de los datos cuantitativos y cualitativos registrados de cada biotopo larvario. Cada regresión logística construyó una ecuación de regresión para predecir la incidencia de cada especie, a partir de una combinación lineal de las variables predictoras cuantitativas y cualitativas que se fueron recopilando durante el presente estudio.

Dados los beneficios reportados a partir de la dicotomización (Aguayo Canela y Lora Monge 2007) de las variables continuas (físicas y químicas del agua y altitud del biotopo) y de las categóricas policotómicas (variables cualitativas de foco acuático), se decidió transformar a sistema binario (0/1) todas las variables observadas (Tabla 1).

Puesto que la decisión acerca de la inclusión definitiva de una variable en la ecuación depende únicamente de los criterios establecidos del investigador, debido a la ausencia de pruebas estadísticas al respecto, se emplearon las pautas propuestas por Aguayo y Lora (2007) para decidir qué variables quedaban incluidas en el modelo de predicción. Por tanto fueron incorporadas aquellas variables que al ser introducidas:

– Modificaron el valor de la “estimación de la medida de asociación” (Exp(B)) de la variable principal de forma considerable (la mayoría de autores afirman que este cambio debe ser de, al menos, un 10% del valor original).

– No aumentaron sustancialmente los intervalos de confianza de la Exp(B) de la variable principal, puesto que de lo contrario habría aumentado la imprecisión de la estimación.

– No cambiaron la significación estadística del contraste de Wald para el coeficiente de regresión de la variable principal.

– Presentaron un intervalo de confianza al 95% que no contenía el valor nulo (= 1).

En el presente trabajo se muestran los datos referentes a las especies de las cuales se obtuvieron óptimos valores predictivos de su incidencia. Estos valores se fijaron en un mínimo de 50%, de manera que únicamente se aportan los modelos de predicción que han permitido pronosticar correctamente por encima del 50% de las ausencias y presencias de cada especie. Además, de los múltiples modelos probados se seleccionó para cada especie aquel con mayor poder de predicción y más parsimonioso o con menor número de

Tabla 4. Valores observados y pronosticados acerca de la ausencia (0) y presencia (1) de *Cx. pipiens*.

			Pronosticado		
Observado		<i>Cx. pipiens</i>		Porcentaje correcto	
		0	1		
Paso 0	<i>Cx. pipiens</i>	0	379	0	100
		1	300	0	0
	Porcentaje global				55,8
Paso 1	<i>Cx. pipiens</i>	0	314	65	82,8
		1	161	139	46,3
	Porcentaje global				66,7
Paso 2	<i>Cx. pipiens</i>	0	306	73	80,7
		1	144	156	52
	Porcentaje global				68
Paso 3	<i>Cx. pipiens</i>	0	288	91	76
		1	120	180	60
	Porcentaje global				68,9

Tabla 5. Variables presentes en la ecuación en cada paso incorporado y principales estadísticos asociados. Datos referentes a *Cx. pipiens*.

		Estadísticos asociados					I.C. 95% para EXP(B)	
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp (B)	
Paso 1	<i>Oligosalobre*</i>	1,428	,179	63,782	1	<<0.01	4,171	2,938
	Constante	-,668	,097	47,490	1	<<0.01	,513	5,921
Paso 2	<i>Canales/acequias*</i>	1,664	,353	22,175	1	<<0.01	5,281	2,642
	<i>Oligosalobre</i>	1,299	,183	50,196	1	<<0.01	3,667	10,555
	Constante	-,762	,100	57,791	1	<<0.01	,467	5,253
Paso 3	<i>Antropización alta*</i>	1,187	,276	18,452	1	<<0.01	3,277	1,907
	<i>Canales/acequias</i>	1,593	,359	19,667	1	<<0.01	4,917	5,632
	<i>Oligosalobre</i>	1,274	,186	46,794	1	<<0.01	3,573	2,432
	Constante	-,884	,106	69,570	1	<<0.01	,413	2,481
								5,147
								-,884
								,106

*Variables incorporadas en cada paso.

variables incluidas. Las especies limnodendrúfilas no fueron analizadas debido a que su carácter arborícola estricto enmascara cualquier otra variable del criadero larvario que quiera utilizarse como predictora.

Resultados y Discusión

Se identificaron un total de 679 criaderos larvarios y se capturaron 11.279 ejemplares de culicidos pertenecientes a 29 especies así: *Anopheles algeriensis* Theobald, 1903, *Anopheles atroparvus* Van Thiel, 1927, *Anopheles claviger* (Meigen, 1804), *Anopheles maculipennis* Meigen, 1818, *Anopheles marteri* Senevet & Prunelle, 1927, *Anopheles petragani* Del Vecchio, 1939, *Anopheles plumbeus* Stephens, 1828, *Aedes vexans* (Meigen, 1830), *Aedes vittatus* (Bigot, 1861), *Ochlerotatus echinus* (Edwards, 1920), *Ochlerotatus geniculatus* (Olivier, 1791), *Ochlerotatus gilcolladoi* (Sánchez-Covisa, Rodríguez & Guillén, 1985), *Ochlerotatus berlandi* (Séguy, 1921), *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771), *Ochlerotatus detritus* (Haliday, 1833), *Ochlerotatus pulcritarsis* (Rondani, 1872), *Culex modestus* Ficalbi, 1889, *Culex latincinctus* Edwards, 1913, *Culex mimeticus* Noe, 1899, *Culex pipiens* Linnaeus, 1758, *Culex theileri* Theobald, 1903, *Culex hortensis* Ficalbi, 1889, *Culex impudicus* Ficalbi, 1890, *Culex territans* Walker, 1856, *Culiseta longiareolata* (Ma-

cquart, 1838), *Culiseta annulata* (Schrank, 1776), *Culiseta subochrea* (Edwards, 1921), *Orthopodomyia pulcripalpis* (Rondani, 1872) y *Uranotaenia unguiculata* Edwards, 1913. Sin embargo, únicamente se obtuvieron óptimos porcentajes acerca de las siguientes cuatro especies:

– *Oc. caspius*: especie paleártica muy abundante en terrenos pantanosos costeros (Edwards 1921; Rioux 1958) gracias a su destacada resistencia frente a la salinidad del agua, pudiendo incluso desarrollarse en ambientes hipersalinos, influenciados por la evaporación, con concentraciones de hasta 106 g/l (López Sánchez 1989). Es multivoltina, exófila, exofágica, eurígama y sus huevos resisten la desecación y las temperaturas extremas, siendo, consecuentemente habituales, los estados hibernante y estivante. La abundancia y distribución de estos huevos en medios concretos parece guardar cierta relación con el tipo de vegetación predominante, la cual se utilizaría como un elemento indicativo y fiable de las condiciones ambientales (López Sánchez 1989). Las hembras se alimentan preferentemente en horas diurnas, picando con gran agresividad y frecuencia al ser humano, y pueden desplazarse hasta 40 kilómetros en busca de hospedadores adecuados (Schaffner *et al.* 2001). Su interés vectorial es extenso, englobando a la transmisión de filarias (Aranda *et al.* 1998) y arbovirus como West Nile o Tahyna (Schaffner *et al.* 2001).

Tabla 6. Valores observados y pronosticados acerca de la ausencia (0) y presencia (1) de *Cx. territans*.

		Pronosticado		
Observado		<i>Cx. territans</i>		Porcentaje correcto
		0	1	
Paso 0	<i>Cx. territans</i>	0	574	100
		1	105	0
	Porcentaje global			84,5
Paso 1	<i>Cx. territans</i>	0	574	100
		1	105	0
	Porcentaje global			84,5
Paso 2	<i>Cx. territans</i>	0	516	89,9
		1	42	60,0
	Porcentaje global			85,3

Tabla 7. Variables presentes en la ecuación en cada paso incorporado y principales estadísticos asociados. Datos referentes a *Cx. territans*.

		Estadísticos asociados					I.C. 95% para EXP(B)	
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp (B)	Inferior Superior
Paso 1	<i>Ríos o arroyos*</i>	2,345	0,235	99,205	1	<<0.01	10,429	6,574 16,542
	Constante	-2,579	0,171	228,823	1	<<0.01	0,076	
Paso 2	<i>Dulce o hiposalina*</i>	1,522	0,333	20,924	1	<<0.01	4,583	2,387 8,798
	Oligosalobre	2,175	0,241	81,137	1	<<0.01	8,800	5,482 14,125
	Constante	-3,652	0,326	125,784	1	<<0.01	0,026	

* Variables incorporadas en cada paso.

La inclusión de las variables “*TDS alto*” y “*Encharcamientos*” en la ecuación de regresión permitió la correcta predicción de la presencia de *Oc. caspius* en un 67,2 % de los casos (Tablas 2 y 3). Ambas variables están íntimamente relacionadas con las características bioecológicas descritas para la especie ya que *Oc. caspius* tiende a anidar en ambientes de intermitencia hídrica de elevada salinidad (Bueno Marí 2011).

– *Cx. pipiens*: Especie distribuida por toda la región Holártica, el este y sudeste de África y Sudamérica (Stone *et al.* 1959). Es multivoltina, pudiendo completar hasta seis ciclos gonotróficos y, dada su ubicuidad, también es conocida como el “*mosquito común*”. Su adaptabilidad a los ambientes urbanos, unida a su elevada endofilia, le permite ser una especie muy frecuente en el interior de las viviendas, picando ávidamente al ser humano durante la noche. Es capaz de transmitir numerosos arbovirus, tales como West Nile, Sindbis, Tahyna, Batai y Usutu, además de filarias como *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) y plasmodios de afección aviar (Aranda *et al.* 1998; Schaffner *et al.* 2001; Bueno Marí y Jiménez Peydró 2010).

Las regresiones logísticas revelan que los “*canales y acequias*” “*oligosalobres*” caracterizados por una “*antropización alta*”, permiten el correcto pronóstico de la presencia de *Cx. pipiens* en el 60% de los casos estudiados (Tablas 4 y 5).

– *Cx. territans*: Especie propia de la región Holártica ampliamente representada en el continente europeo (Horsfall 1972). Es multivoltina, eurígama y típicamente asociada a ambientes montañosos (Bueno Marí *et al.* 2009). Las hem-

bras hibernan en cavidades tanto naturales como antrópicas, pican a reptiles y anfibios, y transmiten filarias de afección en batracios (Encinas Grandes 1982; Schaefer 2004).

Los ambientes fluviales “*ríos o arroyos*” de baja salinidad “*dulces o hiposalinos*” posibilitaron pronosticar con éxito la presencia de *Cx. territans* en el 60% de los casos (Tablas 6 y 7). Al respecto cabe señalar que Petersen y Chapman (1969) y Vniska y Pappas (1984), también evidenciaron una elevada asociación de *Cx. territans* con cuerpos hídricos de baja salinidad.

– *Cs. longiareolata*: Especie de distribución paleártica, oriental y afro-tropical (Schaffner *et al.* 2001). En Europa su presencia es más común en los países mediterráneos, siendo excepcionales sus hallazgos en regiones más norteñas del continente. Es multivoltina, estenógama, autógena, sus hábitats larvarios son muy variados y, mientras en regiones templadas hiberna en estado larvario; en áreas más frías son las hembras quienes se encargan de la supervivencia de la especie durante el periodo desfavorable (Encinas Grandes 1982; Schaffner *et al.* 2001). Se han descrito casos de canibalismo en larvas L4 de *Cs. longiareolata*, alimentándose de estados larvarios menos desarrollados de la misma u otras especies o incluso también de adultos en los momentos previos a su emergencia (Al-Saadi y Mohsen 1988). Sus preferencias hematofágicas parecen dirigirse hacia las aves, aunque ocasionalmente piquen también al hombre, y pueden transmitir el paludismo aviar y el Virus West Nile (Schaffner *et al.* 2001). Las variables cualitativas “*Gran receptáculo*” y “*Sustrato plástico*” permitieron predecir correctamente el 67% de las

Tabla 8. Valores observados y pronosticados acerca de la ausencia (0) y presencia (1) de *Cs. longiareolata*.

Observado		Pronosticado		
		<i>Cs. longiareolata</i>		Porcentaje correcto
		0	1	
Paso 0	<i>Cs. longiareolata</i>	0	461	0
		1	218	0
	Porcentaje global			67,9
Paso 1	<i>Cs. longiareolata</i>	0	398	63
		1	113	105
	Porcentaje global			74,1
Paso 2	<i>Cs. longiareolata</i>	0	388	73
		1	42	63
	Porcentaje global			78,6

Tabla 9. Variables presentes en la ecuación en cada paso incorporado y principales estadísticos asociados. Datos referentes a *Cs. longiareolata*.

		Estadísticos asociados					I.C. 95% para EXP(B)	
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp (B)	
Paso 1	Gran receptáculo*	1,770	0,192	85,218	1	<<0.01	5,870	4,031
	Constante	-1,259	0,107	139,520	1	<<0.01	0,284	8,548
Paso 2	Sustrato plástico*	2,979	0,362	67,861	1	<<0.01	19,677	9,685
	Gran receptáculo	2,137	0,205	108,822	1	<<0.01	8,470	39,979
	Constante	-1,670	0,128	171,495	1	<<0.01	0,188	12,654

* Variables incorporadas en cada paso.

presencias de *Cs. longiareolata* (Tablas 8 y 9). Por tanto, se ratifica la predilección de la especie por desarrollar su etapa preimaginal en recipientes que habitualmente se encuentran en entornos domésticos o peridomésticos (Bueno Marí *et al.* 2010). La no inclusión de variables químicas del agua en el modelo predictivo, está en concordancia con investigaciones realizadas por otros investigadores que sugieren que la especie es euriónica y eurihalina (Dimentman y Margalit 1981; Margalit *et al.* 1988).

Consideraciones Finales

Existen diferentes variables cuantificables en los biotopos larvarios de los culícidos que pueden ser utilizadas para predecir la incidencia de estos dípteros nematóceros cuyo interés sanitario es de primer orden mundial. En este sentido es necesario, no sólo profundizar en estos estudios, sino también regionalizarlos, ya que es de sobra conocido que las mismas especies pueden exhibir comportamientos claramente dispares en función de la hidrografía y clima local. En conclusión, los sistemas de predicción de mosquitos culícidos nos permiten disponer de una herramienta útil desde el punto de vista del control, ya que posibilita la identificación de criaderos de especies concretas con un elevado grado de fiabilidad.

Agradecimientos

Los autores agradecemos a Mario Sendra, Profesor Titular del Departamento de Estadística e Investigación Operativa de la Universitat de València, por su asesoramiento en el tratamiento estadístico de los datos. Asimismo, queremos indicar nuestra gratitud a la Conselleria de Medi Ambient, Aigua, Urbanisme i Habitatge de la Generalitat Valenciana, por la concesión de los permisos pertinentes para la captura de insectos. Por último, señalar que este trabajo ha sido financiado, en parte, por el proyecto CGL 2009-11364 (BOS) otorgado por el Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España.

Literatura citada

- AGUAYO CANELA, M.; LORA MONGE, E. 2007. Cómo hacer una Regresión Logística binaria "paso a paso" (II): análisis multivariante. DocuWeb-fabis. Huelva: Fundación Andaluza Beturia para la Investigación en Salud. Disponible en: http://www.fabis.org/html/?page_name=DocuWeb [Fecha revisión: 15 junio 2010]
- AL-SAADI, M.; MOHSEN, Z. H. 1998. Predatory and cannibalistic behavior of *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae) in Iraq. Journal of Biological Sciences Research 19 (2): 339-351.
- AXTELL, R. C. 1979. Principles of integrated pest management (IPM) in relation to mosquito control. Mosquito News 39 (4): 709-718.
- ARANDA, C.; PANYELLA, O.; ERITJA, R.; CASTELLA, J. 1998. Canine filariasis Importance and transmission in the Baix Llobregat area, Barcelona (Spain). Veterinary Parasitology 77 (4): 267-275.
- BLAUSTEIN, L.; MARGALIT, J. 1995. Spatial distributions of *Culiseta longiareolata* (Culicidae: Diptera) and *Bufo viridis* (Amphibia: Bufonidae) among and within desert pools. Journal of Arid Environments 29 (2): 199-211.
- BUENO MARÍ, R. 2011. Bioecología, diversidad e interés epidemiológico de los culícidos mediterráneos (Diptera, Culicidae) [tesis doctoral]. Servei de Publicacions de la Universitat de València. Valencia (España). 425 pp.
- BUENO MARÍ, R.; CHORDÁ OLMOS, F. A.; BERNUÉS BAÑERES, A.; JIMÉNEZ PEYDRÓ, R. 2009. Aportaciones al conocimiento de los mosquitos (Diptera, Culicidae) de alta montaña presentes en la Península Ibérica. Pirineos 164: 49-68.
- BUENO MARÍ, R.; JIMÉNEZ PEYDRÓ, R. 2010. Situación actual y eco-epidemiología de las arbovirosis transmitidas por mosquitos culícidos (Diptera: Culicidae) en España. Revista Española de Salud Pública 84 (3): 255-269.
- BUENO MARÍ, R.; CORELLA LÓPEZ, E.; JIMÉNEZ PEYDRÓ, R. 2010. Culicidofauna (Diptera: Culicidae) presente en los distintos enclaves hídricos de la ciudad de Valencia (España). Revista Colombiana de Entomología 36 (2): 235-241.
- BUENO MARÍ, R.; JIMÉNEZ PEYDRÓ, R. 2011. Classification of Spanish mosquitoes in functional groups. Journal of the American Mosquito Control Association 27 (1): 1-7.
- EDWARDS, E. W. 1921. A revision of the mosquitoes of the Palearctic Region. Bulletin of Entomological Research 12 (3): 263-351.
- ENCINAS GRANDES, A. 1982. Taxonomía y biología de los mosquitos del área salmantina (Diptera, Culicidae) [tesis doctoral]. CSIC, Centro de edafología y Biología aplicada. Ed. Universidad de Salamanca. Salamanca (España). 437 pp.
- DARSIE, R. F.; SAMINADOU VOYADJOGLOU, A. 1997. Keys for the identification of the mosquitoes of Greece. Journal of the American Mosquito Control Association 13 (3): 247-254.
- DIMENTMAN, C.; MARGALIT, J. 1981. Rainpools as breeding and dispersal sites of mosquitoes and other aquatic insects in the Central Negev. Journal of Arid Environments 4: 123-129.
- HORSFALL, W. R. 1972. Mosquitoes: their bionomics and relation to disease. Ed. Hafner Publications. New York (United States of America). 723 pp.
- LEWIS, E.L. 1980. The practical salinity scale 1978 and its antecedents. IEEEJ. Oceanic Engineering OE-5:3.
- LÓPEZ SÁNCHEZ, S. 1989. Control integral de mosquitos en Huelva. Ed. Junta de Andalucía, Consejería de Salud y Servicios Sociales. Sevilla (España). 340 pp.

- MARGALIT, J., DIMENTMAN, C., TAHORI, A.S. 1988. Geographical, seasonal and ecological distribution of mosquito larvae (Diptera: Culicidae) in Southern Israel. *Archives für Hydrobiologie* 112 (2): 233-249.
- RIOUX, J. A. 1958. Les culicides du midi Méditerranéen. Etude systématique et écologique. Le Chevalier. Paris (France). 304 pp.
- PETERSEN, J. J.; CHAPMAN, H. C. 1969. Chemical factors of water in tree holes and related breeding of mosquitoes. *Mosquito News* 29: 29-36.
- SCHÄEFER, M. 2004. Mosquitoes as a Part of Wetland Biodiversity [doctoral thesis]. Faculty of Science and Technology, Ed. University of Uppsala. Uppsala (Sweden). 63 pp.
- SCHAFFNER, F.; ANGEL, G.; GEOFFROY, B.; HERVY, J. O.; RHAEIM, A. 2001. The mosquitoes of Europe / Les moustiques d'Europe [programa de ordenador]. Montpellier, France: IRD Éditions and EID Méditerranée.
- SERVICE, M. W. 1993. Mosquito Ecology. Field Sampling Methods. Ed. Elsevier Science Publishers. Liverpool (United Kingdom). 988 pp.
- SPSS (STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES). 2009. Base 18.0 User's Guide. Ed. SPSS Inc., Chicago (United States of America).
- STONE, A.; KNIGHT, K.; STARCKE, H. 1959. A synoptic catalog of the Mosquitoes of the world (Diptera, Culicidae). Ed. Entomological Society of America, Thomas Say Foundation, 6. Washington (United States of America). 358 pp.
- SUNISH I. P.; REUBEN, R. 2001. Factors influencing the abundance of Japanese encephalitis vectors in rice fields in India – I. Abiotic. *Medical and Veterinary Entomology* 15 (4): 381-392.
- UDEVITZ M. S.; BLOOMFIELD P.; APPERSON, C. S. 1987. Prediction of the occurrence of four species of mosquito larvae with logistic regression on water-chemistry variables. 1987. *Environmental Entomology* 16 (1): 281-285.
- VNISKA, L. A.; PAPPAS, L. G. 1984. Chemical analysis of mosquito larval habitats southeastern Nebraska. *Mosquito News* 44: 506-509.

Recibido: 28-jun-2010 • Aceptado: 30-abr-2011

Evaluación del regulador de crecimiento Pyriproxyfen en poblaciones de *Aedes aegypti* de Trujillo, Venezuela

Evaluation of the insect growth regulator Pyriproxyfen against populations of *Aedes aegypti* from Trujillo, Venezuela

JORGE SUÁREZ¹, MILAGROS OVIEDO², LESLIE ÁLVAREZ³, ADALBERTO GONZÁLEZ⁴ y AUDREY LENHART⁵

Resumen: Se han propuesto los reguladores de crecimiento de insectos como alternativa para el control de insectos plaga, debido a que interfieren con el desarrollo normal, mimetizando la hormona juvenil y la hormona de la muda o interfiriendo con la síntesis de quitina. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia y persistencia de Sumilarv 0,5 G (pyriproxyfen) a las dosis 0,01 ppm y 0,05 ppm sobre poblaciones de *A. aegypti* de Trujillo, Venezuela. Los bioensayos se realizaron por inmersión usando larvas de IV estadio de tres localidades: Tres Esquinas, Paramito y Hatico y la cepa Rockefeller como referente. En la población de Tres Esquinas el porcentaje de inhibición de emergencia (%IE) fue de 76% a 0,01 ppm y 96% a 0,05 ppm. En las poblaciones Hatico y Paramito se obtuvieron bajos %IE (66 y 69%) con 0,01 ppm y 79 y 77% con 0,05 ppm respectivamente, mostrando una mayor eficacia del compuesto a la mayor dosis empleada. La persistencia del pyriproxyfen al 0,05 ppm a lo largo del ensayo arrojó IE superiores al 90% en todas las poblaciones durante las cuatro primeras semanas y luego de ocho semanas disminuyeron a un 59% en Tres Esquinas, 73% en Paramito y 83% en Hatico; la cepa de referencia Rockefeller mantuvo el IE al 99%. Nuestros resultados muestran la eficacia y persistencia del pyriproxyfen a la dosis 0,05 ppm sugiriendo su uso para el control de *Aedes aegypti* en las localidades estudiadas.

Palabras clave: Eficacia. Control alternativo. Dengue. Inhibición de emergencia.

Abstract: Insect growth regulators have been proposed as an alternative for the control of insect pests because they interfere with normal development, mimicking juvenile hormone and molting hormone or interfering with chitin synthesis. The objective of this study was to evaluate the efficacy and persistence of Sumilarv 0.5 G (pyriproxyfen) at the doses 0.01 ppm and 0.05 ppm on *Aedes aegypti* populations from Trujillo, Venezuela. Bioassays were carried out with the immersion technique, using fourth instar larvae from three localities: Tres Esquinas, Paramito and Hatico and the Rockefeller strain for reference. In the Tres Esquinas population the percent inhibition of emergence (%IE) was 73.5% at 0.01 ppm and 94.7% at 0.05 ppm. In the Paramito and Hatico populations the %IE were low (66 and 69%) at 0.01 ppm, and 79 and 77% at 0.05 ppm, respectively showing a higher efficacy of the compound at the higher dose used. The persistence of pyriproxyfen at 0.05 ppm over the course of the test yielded IE above 90% in all populations during the first four weeks after treatment and after eight weeks decreased to 59% in Tres Esquinas, 73% in Paramito and 83% in Hatico; the Rockefeller reference strain maintained an IE at 99%. Our results show the effectiveness and persistence of pyriproxyfen at the dose of 0.05 ppm suggesting its use for the control of *Aedes aegypti* in the study areas.

Key words: Efficacy. Alternative control. Dengue. Emergence inhibitors.

Introducción

En Venezuela, los estudios de monitoreo de susceptibilidad a insecticidas han revelado que *Aedes aegypti* (L., 1792) principal vector del dengue, ha desarrollado resistencia a diferentes líneas de insecticidas a través del tiempo. Quaterman y Schoof (1958) y Mouchet (1967) en la décadas del 50 y 60 reportaron poblaciones resistentes al DDT y al dieldrin/BHC y para los años 90 Mazzarri y Georgiou (1995) detectaron poblaciones de *Aedes aegypti* de los estados Aragua y Falcón resistentes a temefos, malatión, pirimifos metil, clorpirifos, propoxur, permetrina y lambdacialotrina. Pérez y Fernández (2001) refieren resistencia a los piretroides lambdacialotrina, cyflutrina y deltametrina en poblaciones del estado Aragua y recientemente Álvarez *et al.* (2006) encuentran en una cepa de *A. aegypti*, procedente del Estado Trujillo, resistencia al temefos, principal larvicida utilizado por el programa de control a nivel nacional.

Con estos antecedentes para el estado Trujillo y para Venezuela, se hace necesario monitorear las poblaciones de *A. aegypti* con otros controladores químicos y el uso de reguladores de crecimiento sería una alternativa con un mejor perfil de seguridad para el ambiente y para los vertebrados. La Organización Mundial de la Salud recomienda el grupo de insecticidas de cuarta generación como metopreno y pyriproxyfen (4-phenoxyphenyl (RS)-2 (2-pyridyloxy propyl ether) de los reguladores del crecimiento que mimetizan la hormona juvenil afectando la morfogénesis, reproducción y embriogénesis. Estudios recientes revelan que el pyriproxyfen es un regulador eficaz de poblaciones de *A. aegypti* en Brasil y Perú (Resende y Gama 2006; Ihuincha *et al.* 2006) con una persistencia de 45 a 90 días a concentraciones 0,01 a 0,05 ppm respectivamente.

En el presente estudio nos planteamos monitorear bajo condiciones de laboratorio la eficacia y persistencia del regu-

¹ Técnico Superior Universitario. Instituto Exp. José Witremundo Torrealba. Núcleo Universitario Rafael Rangel. Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. suarez23@cantv.net. ² Dra. en Ciencias Entomológicas. Investigador. Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba". Núcleo Universitario "Rafael Rangel". Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. Teléfono 582722362177. longipalpis@cantv.net. ³ M. Sc. en Protozoología. Investigador. Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba". Núcleo Universitario "Rafael Rangel". Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. Teléfono 582722362177. hleslieag@hotmail.com, lesliejj@ula.ve. Autora para correspondencia. ⁴ Técnico Superior Universitario. Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba". Núcleo Universitario "Rafael Rangel" Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. arelis_briceño@hotmail.com. ⁵ Doctora en Ciencias. Universidad de Liverpool, UK. alenhart@liverpool.ac.uk.

lador de crecimiento Sumilarv® 0,5G (Pyriproxyfen) en tres poblaciones de *A. aegypti* procedentes de áreas de alta endemicidad por Dengue en el Estado Trujillo que han mostrado resistencia o susceptibilidad al temefos, y así poder contar con una medida alternativa para el control de estas poblaciones.

Materiales y Metodos

Poblaciones de *A. aegypti*. Se tomaron muestras de cuatro poblaciones así: Cepa ROCKEFELLER, cepa de referencia susceptible, que fue gentilmente cedida por los Drs. Gary Clark y Roberto Barrera del Laboratorio del CDC de San Juan de Puerto Rico. Población Paramito, sector urbano adyacente al centro de la ciudad de Trujillo, a una altitud de 771 msnm. a (9°22'29" N, 70°26'04" O), con 19,4°C de temperatura media anual en un Bosque Seco premontano. Población Hatico, sector urbano al noreste de la ciudad de Trujillo a una altitud de 601 msnm (9°23'32" N, 70°25'46" O), temperatura promedio de 21,5°C zona de vida Bosque Húmedo premontano. Población Tres Esquinas, urbanización al noreste de la ciudad capital con una altitud de 472 msnm. a (9°25'48" N, 70°26'51" O) y temperatura media de 21,5°C, en un Bosque Húmedo premontano.

Establecimiento de colonias en el laboratorio. En diferentes contenedores de agua de cada localidad se recolectaron estadios inmaduros del insecto los cuales fueron trasladados separadamente en bandejas plásticas al Insectario del Instituto Experimental J.W. Torrealba del Núcleo Universitario "Rafael Rangel" de la Universidad de los Andes para establecer las respectivas colonias bajo condiciones controladas de temperatura (26°C), humedad relativa y fotoperíodo de 12h luz: 12h oscuridad. Alcanzado el estadio de pupa éstas fueron transferidas a pequeños envases dentro de una jaula para la emergencia de los adultos los cuales se mantuvieron durante 48 horas con solución de sacarosa. Transcurrido este tiempo a las hembras se les ofreció una ingesta sanguínea sobre ave para obtener las oviposturas. Simultáneamente se verificó la identidad de los especímenes por comparación de los caracteres morfológicos con claves convencionales (Rueda 2004).

Preparación de las soluciones de Sumilarv® 0,5%G (Pyriproxyfen). Se probaron dos soluciones de Sumilarv® 0,5%G 0,01ppm y 0,05 ppm las cuales fueron preparadas en contenedores metálicos de 200 L de capacidad, por ser los más utilizados por los pobladores para almacenamiento de agua en las localidades estudiadas. En ambos casos el contenido se agitó vigorosamente con una varilla de vidrio y se

dejaron a temperatura ambiente durante 24 horas con tapa de tul para evitar la ovipostura de mosquitos externos. Estas soluciones fueron mantenidas bajo sombra y resguardadas de la lluvia hasta la finalización de los ensayos.

Bioensayos de eficacia. Se emplearon ocho contenedores de plástico con capacidad de 400 ml a los cuales se les adicionaron 250 ml de la solución a ensayar y 20 a 25 larvas de *A. aegypti* de cuarto estadio temprano, para un total aproximado de 200 larvas. Las larvas fueron alimentadas diariamente con alimento para bebe Nestúm®.

Diariamente se contabilizaron las larvas muertas, las cuales fueron removidas de los contenedores. Las pupas vivas fueron trasladadas cuidadosamente a otros contenedores cubiertos con tul para la emergencia del adulto; las pupas muertas se observaron bajo lupa para determinar la presencia de malformaciones y se clasificaron según criterios de Yodbutra *et al.* (1985). El grupo control estuvo conformado por cuatro réplicas con 20 a 25 larvas, las cuales fueron tratadas bajo las mismas condiciones experimentales, con la diferencia que se utilizó agua en lugar de la solución del regulador. Este procedimiento se siguió con cada una de las cepas bajo estudio y con ambas dosis (0,01 y 0,05 ppm). Los bioensayos se realizaron bajo condiciones de temperatura entre 25-28°C y fotoperíodo de 12:12.

Los resultados se expresaron así: % de Larvas muertas = $[(Lm/Lexp) \times 100]$; % de mortalidad de pupas = $[(Pm/(Pm+Ad)) \times 100]$; Inhibición de emergencia = $[1 - (Ad/Lexp)]$. Donde: Lm: larvas muertas, L. exp.: larvas inicialmente expuestas, Pm: pupas muertas, Ad: adultos emergidos. Se realizaron ANOVA con pruebas posteriores de Tukey ($\alpha = 0,05$) para determinar diferencias significativas en los valores de inhibición de emergencia a la dosis 0,01 y 0,05 ppm en las poblaciones evaluadas.

Bioensayos de persistencia. Para evaluar la acción residual del compuesto luego de una, dos, cuatro y ocho semanas de preparadas las soluciones; se realizaron bioensayos siguiendo la metodología anteriormente descrita, teniendo el cuidado de agitar vigorosamente las soluciones para su completa homogenización.

Resultados

Bioensayos de eficacia. Hubo un mayor efecto tóxico sobre la pupa en ambas dosis para todas las poblaciones, registrándose mayor mortalidad en los ejemplares de la localidad de Tres Esquinas a la dosis de 0,01 ppm y de 0,05 ppm respectivamente (Tabla 1). La dosis de 0,01 ppm causó un bajo por-

Tabla 1. Eficacia de Sumilarv® (pyriproxyfen) 0.5 G a las concentraciones 0,01 ppm y 0,05 ppm sobre larvas de *A. aegypti*.

Población	0,01 ppm			0,05 ppm		
	% Mortalidad		% IE	% Mortalidad		% IE
	Larvas	Pupas		Larvas	Pupas	
Tres Esquinas	10,9	73,5	76	12,8	94,7	95*
Hatico	6,4	63,2	66	3,2	78,5	79
Paramito	4,2	67,4	69	4,8	75,5	77
Rockefeller	9,8	96,6	97	7,4	90,9	92

IE = Inhibición de Emergencia. * El incremento en los porcentajes IE es significativo al 5%.

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad total de *A. aegypti* según las alteraciones morfológicas presentadas por el efecto de dos concentraciones de Sumilarv®.

FASE	0,01 ppm	0,05 ppm
Larva	3,3%	3,2%
Prepupa	5,4%	1,8%
Pupa blanca	3,3%	1,8%
Pupa melanizada	3,8%	2,1%
Pupa con adulto visible	42,7%	53,2%
Pupa con adulto parcialmente emergido	41,5%	37,8%

centaje de inhibición de la emergencia (%IE) en las poblaciones de campo Hatiko (66%), Paramito (69%) y Tres Esquinas (76%) no encontrándose diferencia significativa entre ellas ($\alpha=0,05$), pero si con la población susceptible Rockefeller (97%) (Tabla 1).

De acuerdo con la clasificación de Yodbutra *et al.* (1985) se encontraron casos de incompleta pupación (prepupa), pupas blancas, pupas melanizadas y pupas con adulto interno; hubo mayor mortalidad cuando el adulto se hace visible dentro de la pupa y al momento de la emergencia del mismo (42,7% y 41,5% respectivamente a la concentración de 0,01ppm y a 0,05ppm 53,2% y de 37,8% (Tabla 2).

Bioensayos de persistencia. Al evaluar el efecto residual del regulador se encontraron porcentajes de IE en las poblaciones de campo que oscilaron entre 58 y 99% durante las primeras cuatro semanas disminuyendo significativamente a las ocho semanas encontrándose menor efecto residual con la dosis 0,01 ppm sobre la población Tres Esquinas (36%). Con la dosis 0,05 ppm el porcentaje de inhibición de la emergencia se mantuvo por encima del 90% hasta las cuatro semanas post-tratamiento y luego a las ocho semanas disminuyó a un 59% para la población Tres Esquinas, 83% para Hatiko y 73% para la población Paramito. En la cepa de referencia Rockefeller el porcentaje de inhibición se mantuvo por encima de 75% durante todo el ensayo (Figs. 1 y 2).

Discusión

Actualmente el uso de productos con baja toxicidad, alto efecto residual y elevada eficacia son los más recomendados en el control de formas inmaduras de Culicidae, por lo que los reguladores de crecimiento Pyriproxyfen y Methopreno son de gran importancia por su eficacia a baja dosificación (Resende y Gama 2006). Estudios realizados en Sri Lanka para el control de larvas de anofelinos demostraron que el Pyriproxyfen aplicado en dosis de 0,01 ppm dos veces al año sería un método más efectivo y económico que la utilización de los larvicidas tradicionales (Yapabandara y Curtis 2002).

En Estados Unidos y Japón se han llevado a cabo investigaciones para evaluar la eficacia del larvicida Pyriproxyfen contra especies de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*; estas investigaciones han demostrando claramente la superior actividad del pyriproxyfen contra un gran número de mosquitos vectores (WHO 2001). Así, tenemos que en condiciones de campo y semicampo en Florida, Estados Unidos, el pyriproxyfen a dosis de 0,02 y 0,05 ppm de ingrediente activo inhibe la emergencia de *A. aegypti* durante seis semanas

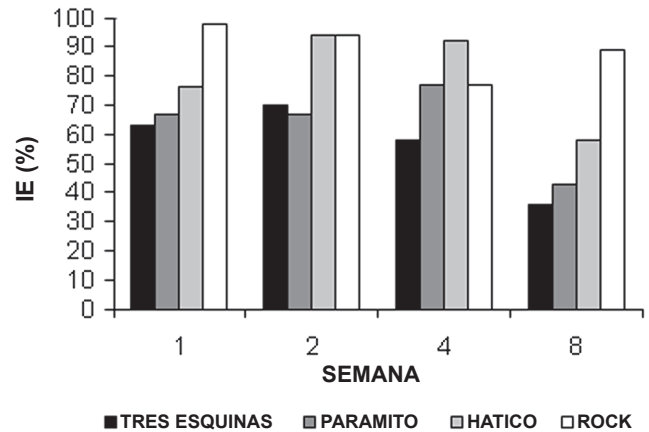


Figura 1. Inhibición de la emergencia (%) de larvas de *Aedes aegypti* en larvas tratadas con Sumilarv® 0,01ppm.

(94-100%), *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (100%), *Aedes taeniorhynchus* (Wiedemann, 1821) (98-100%), *Anopheles quadrimaculatus* (Say, 1824) (77-100%) y *Culex nigripalpus* (Theobal, 1901) (WHO 2001). En Perú también se ha demostrado el efecto de este regulador contra *Aedes aegypti* a una concentración letal media de 12×10^{-5} ppm.

En campo la eficacia y persistencia del Pyriproxyfen también ha sido reportada sobre *Aedes albopictus* (Vythilingam *et al.* 2005) logrando controlar la especie en un 100% hasta las 10 semanas luego de la aplicación de 0,02 ppm. Los bioensayos para evaluar el efecto del Pyriproxyfen en las tres poblaciones locales de *A. aegypti* del estado Trujillo demostraron que éste actúa en los estadios inmaduros tardíos inhibiendo la emergencia de adultos en más del 75% cuando se utiliza la concentración de 0,05 ppm; similares resultados han sido reportados por Resende y Gama (2006) en poblaciones de *A. aegypti* de Brasil, sin embargo en esta misma especie Vythilingam *et al.* (2005) encuentran porcentajes de inhibición de emergencia cercanos al 100% a concentraciones de 0,01 y 0,02 ppm durante cuatro meses bajo condiciones de laboratorio con reemplazo y sin reemplazo del 20% de agua.

Con respecto a la persistencia del compuesto durante las ocho semanas, se pudo observar una respuesta variable con la

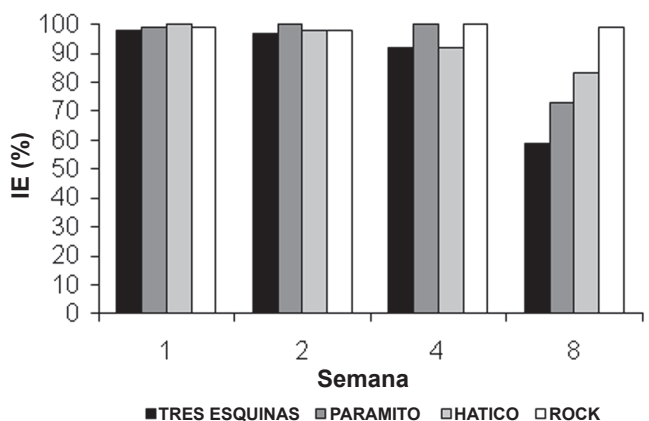


Figura 2. Inhibición de la emergencia (%) de larvas de *Aedes aegypti* en larvas tratadas con Sumilarv® 0,05ppm.

dosis 0,01 ppm tanto en las poblaciones de campo como en la Rockefeller debiéndose posiblemente a que no es la adecuada para estas poblaciones y su uso podría inducir mecanismos bioquímicos que confieran resistencia al regulador, por lo que se recomienda evaluar dosis superiores y cercanas a 0,05 ppm con la que si se obtuvieron respuestas homogéneas y porcentajes de inhibición de emergencia estadísticamente superiores en las poblaciones de campo. Los resultados de este trabajo concuerdan con los referidos por Dong-Kyu Lee (2001) en Corea, utilizando la formulación del granulado al 0,5% a concentración de 0,05 ppm sobre *Aedes togoi* (Theobald 1907) logran una inhibición de la emergencia del 80% hasta los 40 días, por lo que el autor sugiere la dosis de 0,05 ppm para el control de la especie.

Aun cuando el presente estudio fue realizado en condiciones de laboratorio, los resultados son similares a los obtenidos por Okazawa *et al.* (2002), al aplicar Pyriproxyfen en criaderos naturales y temporales para *Anopheles punctulatus*; estos autores observaron regulación de la población hasta dos meses post-tratamiento. La eficacia del Pyriproxyfen en las tres poblaciones de *A. aegypti* del estado Trujillo ponen de manifiesto la posibilidad de su utilización para el control vectorial; más aún cuando Alvarez *et al.* (2006), refieren pérdida de susceptibilidad al Temefos para la población Paramito con un FR₅₀ de 6,34. Esta zona del Paramito es altamente urbanizada, sujeta a constante presión con insecticidas y con altos índices de infestación del vector y de donde proceden la mayoría de los casos de dengue en el estado Trujillo. Otra alternativa sería la utilización de tabletas generadoras de humo que contienen Pyriproxyfen (2%) y permetrina (10%) una vez comprobada la susceptibilidad de las poblaciones al piretroide, debido a que esta formulación ha ocasionado más de 90% de inhibición de emergencia y 100% de mortalidad en adultos de *A. aegypti* en campo (Harburguer *et al.* 2009).

Finalmente, es importante acotar que la OMS reconoce que el Pyriproxyfen GR a bajas concentraciones es muy efectivo para el control de mosquitos que se crían en recipientes de agua (WHO 2001), por lo que sería un compuesto con potencial importancia para el control de las poblaciones de *A. aegypti*, susceptibles a la acción del regulador, ya que en el estado Trujillo frecuentemente este vector se cría en contenedores o recipientes para el almacenamiento de agua de consumo entre los que destacan las pipas pequeñas y grandes (Lenhart *et al.* 2006).

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la Compañía SUMITOMO por la donación del Sumilarv → 0,5%G, a los árbitros por los comentarios realizados a este manuscrito y al proyecto Misión Ciencia 2008000911-1, Venezuela por el apoyo financiero al presente estudio.

Literatura citada

- ÁLVAREZ, L.; BRICEÑO, A. y OVIEDO, M. 2006. Resistencia al temefos en poblaciones de *Aedes aegypti* del occidente de Venezuela. Revista Colombiana de Entomología 32 (2): 37-53.
- DONG-KYU LEE. 2001. Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Aedes togoi* larvae in brackish water in South Korea. Journal of Vector Ecology 26(1): 39-42.
- HARBURGUER, L.; SECCACINI, H.; ZERBA, E.; LICASTRO, S. 2009. In Gary G. Clark and Yasmin Rubio-Palis. Mosquito Vector Biology and Control in Latin America—A 19TH Symposium. Journal of the American Mosquito Control Association 25:4, 486-499.
- IHUINCHA, M.; ZAMORA-PEREA, E.; ORELLANA-RIOS, W.; STANCIL, J.D.; LOPEZ-SIFUENTES, C. VIDAL-ORE. 2005. Potential use of pyriproxyfen for the control of *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) in Iquitos, Peru. Journal of Medical Entomology 42(4): 620-30.
- LENHART, A.; CASTILLO, C.; OVIEDO, M. y VILLEGAS, E. 2006. Use of the pupal/demographic-survey technique to identify the epidemiologically important types of containers producing *Aedes aegypti* (L.) in a dengue-endemic area of Venezuela. Annals of Tropical Medicine & Parasitology 100 (Supplement 1): S53-S59.
- MAZZARRI, M.B.; GEORGHIOU, G. P. 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. Journal of the American Mosquito Control Association 11: 315-322.
- MOUCHET, J. 1967. La resistance aux insecticides chez *Aedes aegypti* et les espèces voisines. Bulletin of the World Health Organization 36: 569-577.
- OKAZAWA, T.; BAKOTEE, B.M.; SUZUKI, H.; KAWADA, H.; KERE, N. 2002. Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Anopheles punctulatus* on north Guadalcanal, Solomon Islands. Journal of the American Mosquito Control Association 18:196-201.
- PEREZ, E.; FERNANDEZ, M.D. 2001. Resistance of *Aedes aegypti* to pyrethroids in municipalities of Aragua state, Venezuela. In Clark, G., Quiroz M.H. Mosquito Control and Biology in Latin America- AN Eleventh Symposium. Journal of the American Mosquito Control Association 17(3): 166-180.
- QUATERMAN, K.D.; SCHOOF, H.F. 1958. The status of insecticide resistance in arthropods of public health importance in 1956. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 7: 74-83.
- RESENDE, M. y GAMA, R. 2006. Persistence and efficacy of growth regulator pyriproxyfen in laboratory conditions for *Aedes aegypti*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 39 (1): 72-75.
- RUEDA, L. 2004. Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission. Magnolia Press, New Zealand. 60 p.
- YAPABANDARA, A. y CURTIS C. 2002. Laboratory and field comparisons of pyriproxyfen, polystyrene beads and other larvicidal methods against malaria vectors in Sri Lanka. Acta Tropica 81:211-223.
- YODBUTRA S.; KETAVAN. C.; UPATHAM ES.; AREEKUL S. 1985. Effects of a juvenile hormone analogue on the morphology and biology of *Aedes scutellaris malayensis* Colless (Diptera: Culicidae). The southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 16: 41-48.
- VYTHILINGAM I.; BELLEZA M.; ROCHANI H.; TAN S.; TAN CH. 2005. Laboratory and field evaluation of the insect growth regulator pyriproxifen (Sumilarv 0.5G) against dengue vectors. Journal of the American Mosquito Control Association 21(3): 296-300.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2001. Review of: IR3535, KBR3023, (RS)-Methoprene 20% EC, Pyriproxyfen 0.5% GR, Lambda-cyhalothrin 2.5% CS. Report of the fourth WHOPES Working Group Meeting, WHO/HQ, Geneva, 4-5 December 2000. WHO/CDS/WHOPES/2001.2, 2001.

Recibido: 14-jul-2010 • Aceptado: 14-mar-2011

Molecular identification of forensically significant beetles (Coleoptera) in China based on COI gene

Identificación molecular de escarabajos (Coleoptera) forensicamente significativos en China basados en el gen COI

QUAN ZHUANG¹, JIFENG CAI^{1*}, MENGQI ZHANG¹, HUA FENG², YADONG GUO¹, LINGMEI LAN¹ and YAOQING CHEN³

Abstract: Precise identification of insect species plays an essential role in the accurate estimation of the postmortem interval (PMI), especially when information on the postmortem phenomenon is not available. Sarcosaphagous beetles infest and colonize human and animal remains in the late stage of decomposition, and their morphological similarity poses a great challenge for forensic entomologists, as an existing key may be incomplete or difficult for non-specialists to use. A method for easy and accurate species-level identification at any life stage is required. In this study, a 272-base pair region of the mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) gene was used to explore its utility in the identification of forensically important beetles. Twenty-four specimens were collected from 14 locations in nine provinces of China. Phenogram analysis of the sequenced segments by the unweighted pairgroup method analysis (UPGMA) method showed that all specimens were properly assigned into six species with strong similarity, which indicates the possibility of separating congeneric species with the short COI fragment. These results will be instrumental for implementation of the Chinese database of forensically relevant beetles.

Key words: Forensic entomology. Sarcosaphagous beetles. Mitochondrial DNA.

Resumen: La identificación precisa de especies de insectos juega un papel esencial en la estimación del intervalo postmortem (IPM), especialmente cuando la información sobre el fenómeno postmortem no es disponible. Los escarabajos sarcosaprófagos infestan y colonizan los restos humanos y animales en la etapa tardía de descomposición y su similitud morfológica es un gran desafío para los entomólogos forenses ya que las claves taxonómicas existentes pueden ser incompletas o difíciles para los no especialistas. Se requiere un método fácil y preciso para la identificación a nivel de especie en cualquier estadio de vida. En este estudio se exploró la utilidad de una región del gen mitocondrial COI de 272 bases para identificar escarabajos de importancia forense. Se capturaron 24 ejemplares provenientes de 14 localidades de nueve provincias de China. El análisis de conglomerados de las secuencias por el método de ligamiento promedio no ponderado (UPGMA) mostró que todos los especímenes fueron apropiadamente asignados a seis especies con fuerte similitud lo que demuestra la posibilidad de separar especies congénicas con este fragmento corto de COI. Estos resultados serán instrumentales en la implementación de una base de datos china de escarabajos importantes en el área forense.

Palabras clave: Entomología forense. Escarabajos sarcosaprófagos. ADN mitocondrial.

Introduction

The main purpose of forensic entomology is to provide information for the investigation of murders and suspicious deaths by determining the time, source, place and manner of death (Benecke 2008). The use of insects and other arthropods in forensic investigations has been increasingly gaining international recognition in the medicolegal discipline (Amendt 2004; Sukontason 2007). Some species of sarcosaphagous insects are attracted to a corpse within minutes of death, which is important for the estimation of postmortem interval (PMI) in cases of homicide, suicide or unexplained death and other forensic related issues (Catts 1992). The main advantage of the standard methods for the estimation of the early PMI is that arthropods, especially insects, can represent an accurate measure to determine time of death even in the late-stage decomposition of carcasses, when the classical forensic pathological methods fail (Byrd and Castner 2000). Additionally, the pattern of succession of insects is specific to the location and environmental conditions in which a carcass occurs. Because taxa can vary greatly with locality for pre-

cise estimation of the PMI, it is crucial to identify the forensically important insects that are specific to an area (Anderson 2000).

In forensic practice, the most common insects used for PMI are Diptera and Coleoptera (Lan *et al.* 2006). Previous studies focus mainly on blowflies. However, beetles can be also very informative (Wang *et al.* 2008). Diptera species usually appear early in the decomposition process (Peng *et al.* 2009), and Coleoptera tend to be associated with the later stage of the decomposition process, which is very important in terms of the dry bones of the body (Haskell *et al.* 1997). Some insects visit but do not colonize a carcass; rather, they exploit the carcass and developing maggots as food resources. These non-colonizing insects include predators and parasites of necrophagous species, such as beetles in the families Silphidae, Staphylinidae, and Histeridae, are useful in succession-based PMI estimations (Anderson 2000), and most of the beetles that are collected during succession studies fall into this category.

Species identification of larval specimens of both Coleoptera and Diptera, however, requires a sophisticated technique

¹ M. Sc., Ph. D., M. Sc., Ph. D., B. Sc respectively. Department of Forensic Science, School of Basic Medical Sciences, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China. cjf_jifeng@163.com *corresponding author. Tel.: +86 731 82355414; fax: +86 731 82355414. ² B. Sc., The Beijing Public Security Bureau, Beijing 100043, China. ³ M. Sc., The Changsha Public Security Bureau in Hunan, Changsha 410008, Hunan, China.

to dissect under a stereomicroscope the larval mouthpart and also vast knowledge of the cephalopharyngeal skeleton morphology (Greenberg 2002). Therefore, accurate morphologic insect identification relies on detailed examination which can require expert entomologists and are extremely difficult for almost all forensic scientists within their routine work (Sai-gusa *et al.* 2006). Under these circumstances, DNA analysis appears promising to solve the species identification problem owing to the durability and stability of the DNA (Wallman and Donnellan 2001). It also can solve the problems of morphological identification with damaged specimens (Judith and Nicola 2008). This technique is based on the mitochondrial DNA (mtDNA) encoded cytochrome oxidase I gene (COI) (Wells and Sperling 2001). Partial sequences of this COI gene have been shown to have sufficient discrimination power (Stijn and Matthias 2009), which makes it suitable for forensic applications. The COI gene has been used for inferring phenogram analysis at various taxonomic levels of many animal groups (Avise 2000). COI is not only used widely for Diptera (Alessandrini *et al.* 2008; Harvey *et al.* 2003; Wells *et al.* 2007), but also helpful for Coleoptera identification (Paul *et al.* 2009; Dirk *et al.* 2007; Fang 2009).

Studies of carrion Coleoptera have been conducted in several regions of the western world to determine species composition by different sequences of the mtDNA gene (David *et al.* 2002; David *et al.* 2001; Arnoldi *et al.* 2007; Friedric *et al.* 2003). In East Asia, the partial sequences of mtDNA, including COI (Kim *et al.* 2000; Lee *et al.* 2003), COII (Suzuki *et al.* 2002, 2004) have also been determined and used to investigate the evolutionary and biogeographic relationships of some families of Coleoptera. However, there are few published data on the forensically important beetles in China. This paper reported 24 specimens from 14 districts of nine provinces in China within the last two years.

In this study, the genetic relationships of the COI gene between the species were visualised by phenogram analysis. Intra- and interspecific divergences were both valuable to form inferences about the relationships between the species. The comparison partly enabled us to study a Chinese geographical variability based on COI gene sequences between specimens of the same species of beetles. Our study has explored the utility of the independent COI sequences to identify the Coleoptera species. We hope our study can make a little contribution to the accumulation of genetic data for the database of sarcosaphagous beetles of China.

Materials and Methods

A fragment of the mitochondrial COI gene had been studied in 24 specimens of beetles obtained from 14 districts of nine provinces in China since 2009 (Fig. 1). The specimens are representatives of two suborders (Adephaga and Polyphaga), four families (Carabidae, Scarabaeoidea, Staphylinidae, and Silphidae), including six genera and six species: three *Harpalus herbivagus* (Say, 1823) specimens, two *Temnoplectron involucre* (Matthews, 1974) specimens, seven *Aleochara pacifica* (Casey, 1893) specimens, seven *Silpha carinata* (Herbst, 1783) specimens, two *Calosilpha bicolor* (Fairmaire, 1899) specimens, and three *Creophilus maxillosus* (Linnaeus, 1758) specimens. All the specimens were collected on rabbit cadavers by chopsticks and spoons for adults, and stored at room temperature by air drying. Specimens were referred by their generic names, number of specimens, vouchers and collecting

locations (Table 1), sex was not recorded. All specimens were identified morphologically by expert entomologists through the use of relevant taxonomic keys (Lu and Wu 2003).

The thoracic muscles of each beetle were isolated for DNA extraction by the CTAB protocol used by Skevington *et al.* (2000). The head and abdomen of each specimen was retained to check its identity. DNA was resuspended in 50ml of 1×TE buffer [1×TE buffer, pH 8.0; 10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0] and stored at 4°C.

All the COI sequences were aligned using the sequence alignment program DNASTAR (Megalign version 7.1.0). Conserved regions of the alignment were evaluated and marked. The most commonly occurring nucleotides at each position of the conserved sequence were selected and inputted in the primer design program Primer Premier 5.0. The primer-binding site should lie entirely within the conserved region. The general primer-design rules were considered to avoid false priming and primer-dimer formation in cross-family PCR. Genetic identification of these beetles was performed by amplifying a 272-bp fragment of the COI gene of mtDNA, using degenerate primers. Amplification of the fragment was performed by using the primers F: 5'-CAGATCGAAATTAAATACTTC-3' and R: 5'-GTATCAACATCTATTCTAC-3' (Guo *et al.* 2010; Liu *et al.* in press).

The PCR reaction volume was 25ml, containing 1-5ml (20-40ng) of template DNA, 12.5ml 2×GoTaq® Green Master Mix (4ml dNTP (1mM/ml), 1.0ml Taq polymerase, 2.5ml 10×buffer (Mg²⁺1.5mmol/l)), 0.25-2.5ml each primer (10mM), Nuclease-Free Water added to a total volume of 25ml. PCR amplifications were performed in a Thermo Cycler (Perkin-Elmer 9600) and programmed with the following parameters: initial step at 94°C (3min), continued for 30 cycles of 94°C (30s) and 50°C (30s for mt-rDNA annealing) and 72°C (30s).

The PCR products were purified with QiaQuick columns cycle. Then sequencing was performed on both forward and reverse strands through using ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Bio-

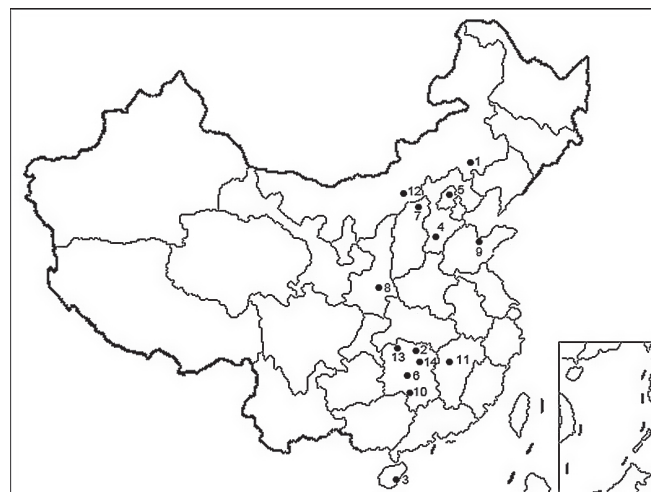


Figure 1. Map showing collecting locations of sarcosaphagous beetles in China. The locality numbers are as follows: 1. Chifeng, 2. Xiangyin, 3. Wanning, 4. Shijiazhuang, 5. Beijing, 6. Hengshan, 7. Datong, 8. Xi'an, 9. Weifang, 10. Yongzhou, 11. Yichun, 12. Hohhot, 13. Zhangjiajie, 14. Changsha.

systems). Removal of excess dye-deoxyterminator primers and buffer were executed by DYE-EX spinocolumns (Qia-gen). Sequence chromatograms were edited and discrepancies between forward and reverse sequences resolved using Sequence Navigator (v1.01, Applied Biosystems). Since the

sequences were protein coding and did not contain any indels, all resulting sequences in this study were aligned using Clustal W (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/E-mail/clustal-e.html>). Their accession numbers were listed in Table 1.

Table 1. Individuals included in the study with location and accession number.

No.	Species	Location	Accession no.
		(Latitude (°), Longitude (°))	
1	<i>H. herbivagus</i> (Say, 1823)	Chifeng, Inner Mongolia (42.26, 118.89)	GU270028
2		Xiangyin, Hunan (28.68, 112.87)	GU270027
3		Wanning, Hainan (18.80, 110.39)	GU270026
4	<i>T. involucre</i> (Matthews, 1974)	Beijing (39.92, 116.46)	GU270025
5		Hengshan, Hunan (27.25, 112.86)	GU270024
6	<i>A. pacifica</i> (Casey, 1893)	Datong, Shanxi (40.12, 113.30)	GU270002
7		Xi'an, Shannxi (34.23, 108.91)	GU270000
8		Xi'an, Shannxi (34.23, 108.91)	GU270001
9		Shijiazhuang, Hebei (38.04, 114.51)	GU270005
10		Weifang, Shandong (36.62, 119.10)	GU270003
11		Yongzhou, Hunan (26.22, 111.63)	GU270006
12		Yichun, Jiangxi (27.81, 114.38)	GU270004
13	<i>S. carinata</i> (Herbst, 1783)	Hohhot, Inner Mongolia (40.82, 111.65)	GU269994
14		Hohhot, Inner Mongolia (40.82, 111.65)	GU269998
15		Xi'an, Shannxi (34.23, 108.91)	GU269997
16		Shijiazhuang, Hebei (38.04, 114.51)	GU269999
17		Shijiazhuang, Hebei (38.04, 114.51)	FJ763719
18		Shijiazhuang, Hebei (38.04, 114.51)	GU269995
19		Zhangjiajie, Hunan (29.08, 110.29)	GU269996
20	<i>Ca. bicolor</i> (Fairmaire, 1899)	Xi'an, Shannxi (34.23, 108.91)	GU270017
21		Changsha, Hunan (28.23, 112.94)	GQ118427
22	<i>C. maxillosus</i> (Linnaeus, 1758)	Shijiazhuang, Hebei (38.04, 114.51)	GQ118409
23		Shijiazhuang, Hebei (38.04, 114.51)	GQ118419
24		Datong, Shanxi (40.12, 113.30)	FJ763716

Data analyses were conducted in MEGA4 (Tamura *et al.* 2007). Similarities were calculated by the simple matching method, and a phenogram was constructed using the unweighted pairgroup method analysis (UPGMA) as reported in Sneath and Sokal (1973).

Results

Alignment of sequences. A 272-bp fragment of the mitochondrial COI gene was successfully sequenced for all the specimens, and the alignment of all specimens considered in this study lacked any insertion or deletion and revealed 77 variable positions (59 at the codon third position, 15 at the first position, and 3 at the second position) on 272-bp analysed.

A total of six species were sequenced over COI regions. The morphological identification and original locations of all the 24 specimens are displayed in Table 1.

Nucleotide patterns of substitution. In Table 2, each entry showed the probability of substitution from one base (row) to another base (column) instantaneously. Rates of different transitional substitutions are shown in bold and those of transversional substitutions are shown in italics. The average base composition was 36.5% thymine (T), 13.3% cytosine (C), 32.4% adenine (A) and 17.8% guanine (G). The transition/transversion (ts: tv) rate ratios were $k_1 = 0.716$ (purines) and $k_2 = 3.632$ (pyrimidines). The overall transition/transversion bias was $R = 0.637$, where $R = [A * G * k_1 + T * C * k_2] / [(A + G) * (T + C)]$.

Phenogram construction. All individual sequences for a given species (as identified using morphological characters) clustered closely together with 100% similarities respectively, indicating the strong basis for species distinction in the six main clades (Fig. 2). Some species were grouped together with high similarity values but to be separated into several small branches intraspecifically like *A. pacifica*, *S. carinata*, *H. herbivagus* and *C. maxillosus*. *A. pacifica* and *H. herbivagus* formed a single grouping with low value at 53%, but separated into two distinct species groups both with 100% similarity respectively. In addition to *A. pacifica* and *H. herbivagus*, together with *S. carinata* and *T. involucre*, also formed a single group with a lower similarity of 77%. Two specimens of *H. herbivagus* from Chifeng (GU270028) and Wanning (GU270026) also formed a small clade at a good similarity at 95%. On the contrary, two specimens of *A. pacifica* from Xi'an (GU270000 and GU270001) clustered at a low similarity at 56%, as well as two specimens of *C. maxillosus* from Shijiazhuang (GQ118409) and Datong (FJ763716) at 74%, which showed their difference based on intraspecific variation. Within species *S. carinata*, three specimens from Shijiazhuang (GU269999, FJ763719 and GU269995) and one specimen from Hohhot (GU269994) were grouped well at 96%, as they were all obtained from northern China; one specimen of the same species from Zhangjiajie (GU269996) clustered with the former four specimens at a low similarity (56%).

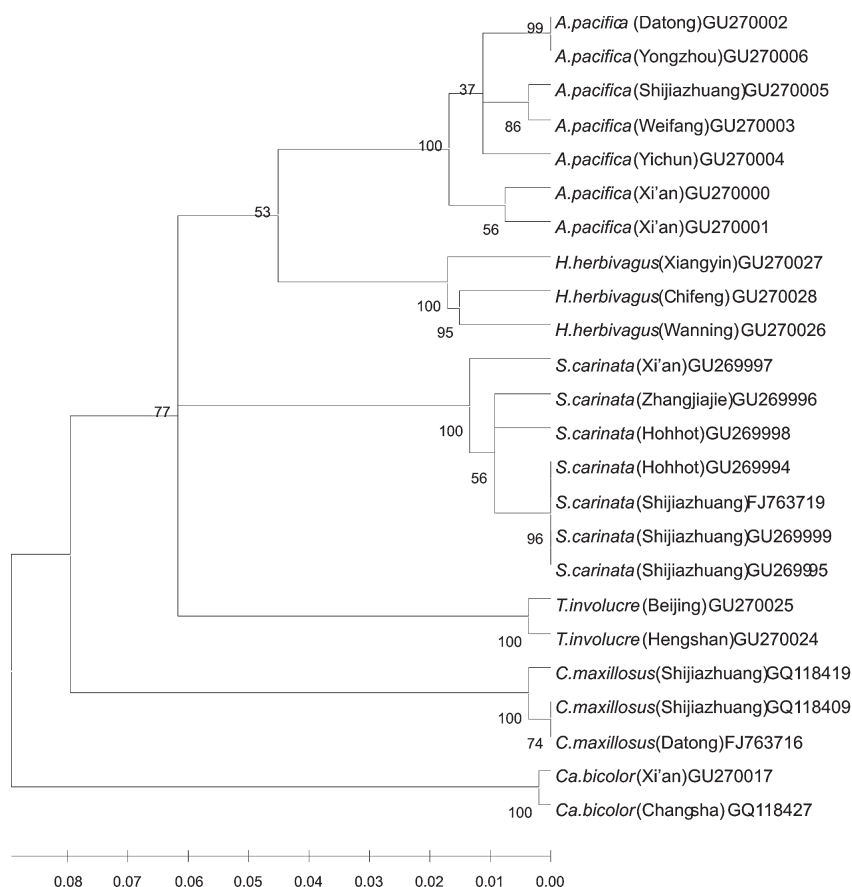


Figure 2. Phenogram from UPGMA clustering of correlation coefficients among 24 operating taxonomic units of Coleoptera in China.

Table 2. Maximum composite likelihood estimate of the pattern of nucleotide substitution.

	A	T	C	G
A	-	8.76	3.19	3.05
T	7.77	-	11.59	4.26
C	7.77	31.82	-	4.26
G	5.57	8.76	3.19	-

Intraspecific and interspecific variation. The average of base substitutions per site for all specimens was 0.109 (Table 3). The minimum intraspecific divergence mean value was found in three specimens of *C. maxillosus* from two northern cites (Shijiazhuang and Datong) of China, which was at 0.2% (Table 4). The maximum intraspecific divergence mean value was found in three specimens of *H. herbivagus* from Xiangyin (south inland), Chifeng (north inland) and Wanning (south coast) that was at 2.7%. Levels of interspecific variation varied from 9.4% to 20.1%. The highest interspecific variation was between *T. involucre* and *Ca. bicolor* (Table 5). Furthermore, in comparison with *Ca. bicolor*, the interspecific variations of the other species were all very high, all beyond 16.4%. The lowest interspecific variation was between the two species pairings of *H. herbivagus* and *A. pacifica*. There was also a low divergence between *A. pacifica* and *S. carinata* at 9.9%.

Discussion

To the best of our knowledge, there were few studies using the COI sequences to identify forensically important

beetle species in China. The major purpose of our study was to confirm that published molecular identification methods can also be applied on beetles from China. Sometimes the identification of sarcophagous insects including the species from the Coleoptera can be puzzling because of the similar morphological markers, and it can be difficult or even impossible to identify the immature stages of many species. From the correlation coefficients for each clade and the level of nucleotide divergence between groups, the 272-bp region of COI was shown as a potential marker for identification of sarcophagous beetles. And the results indicated that the used technique is as effective as morphological method in identification of Coleoptera species, while, in order to acquire correct identification, the morphologic method needs expertise in specialized taxonomy (Leclercq and Lecomte, 1978), yet the technology using mtDNA is easier to perform and saves time. Moreover, the limited amount of the insect tissue in this study made the possibility for further morphological study and genetic analyses.

The COI gene of all the specimens exhibited a high proportion of AT nucleotides, which was in agreement with previous findings made in Coleoptera and other insects (Crozier and Crozier 1993; Lunt *et al.* 1996; Simon *et al.* 1994; Daniel 1999). The AT richness increased the amount of potential transversions and led to a low proportion within the ts: tv ratio, which was also supported by Su *et al.* (2004) who used a 1059-bp fragment of COI gene of the carabid ground beetle (Carabidae).

The Coleoptera is significant in forensic studies. The main families among them are Staphylinidae, Scarabaeidae, Carabidae, Histeridae, Silphidae and Dermestidae (Goff and Catts 1990). In this study, specimens were all obtained from four families: Staphylinidae, Scarabaeidae, Carabidae

Table 3. Pairwise distance matrix of 272-bp COI sequences.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
[1]																								
[2]	0.034																							
[3]	0.015	0.034																						
[4]	0.124	0.119	0.115																					
[5]	0.124	0.119	0.115	0.007																				
[6]	0.119	0.111	0.102	0.128	0.128																			
[7]	0.090	0.081	0.073	0.111	0.111	0.038																		
[8]	0.086	0.077	0.069	0.102	0.102	0.038	0.019																	
[9]	0.098	0.090	0.082	0.107	0.107	0.019	0.019	0.019																
[10]	0.102	0.094	0.086	0.111	0.111	0.015	0.022	0.022	0.004															
[11]	0.119	0.111	0.102	0.128	0.128	0.000	0.038	0.038	0.019	0.015														
[12]	0.102	0.094	0.086	0.102	0.102	0.026	0.030	0.030	0.022	0.019	0.026													
[13]	0.119	0.119	0.111	0.124	0.124	0.115	0.090	0.106	0.102	0.098	0.115	0.086												
[14]	0.102	0.111	0.094	0.115	0.115	0.102	0.073	0.090	0.090	0.086	0.102	0.073	0.015											
[15]	0.119	0.120	0.120	0.133	0.133	0.115	0.081	0.090	0.094	0.098	0.115	0.086	0.022	0.038										
[16]	0.119	0.119	0.111	0.124	0.124	0.115	0.090	0.106	0.102	0.098	0.115	0.086	0.000	0.015	0.022									
[17]	0.119	0.119	0.111	0.124	0.124	0.115	0.090	0.106	0.102	0.098	0.115	0.086	0.000	0.015	0.022	0.000								
[18]	0.119	0.119	0.111	0.124	0.124	0.115	0.090	0.106	0.102	0.098	0.115	0.086	0.000	0.015	0.022	0.000	0.000							
[19]	0.128	0.128	0.119	0.141	0.141	0.115	0.090	0.106	0.102	0.098	0.115	0.086	0.015	0.030	0.030	0.015	0.015	0.015						
[20]	0.174	0.188	0.169	0.203	0.203	0.165	0.165	0.160	0.160	0.156	0.165	0.165	0.178	0.179	0.165	0.165	0.165	0.174						
[21]	0.169	0.183	0.165	0.198	0.198	0.170	0.169	0.165	0.165	0.161	0.170	0.160	0.160	0.174	0.174	0.160	0.160	0.169	0.004					
[22]	0.133	0.132	0.151	0.133	0.142	0.155	0.146	0.137	0.142	0.146	0.155	0.133	0.146	0.165	0.138	0.146	0.146	0.146	0.165	0.174	0.170			
[23]	0.137	0.137	0.146	0.129	0.138	0.151	0.142	0.133	0.137	0.142	0.151	0.128	0.151	0.169	0.142	0.151	0.151	0.151	0.169	0.170	0.165	0.004		
[24]	0.133	0.132	0.151	0.133	0.142	0.155	0.146	0.137	0.142	0.146	0.155	0.133	0.146	0.165	0.138	0.146	0.146	0.146	0.165	0.174	0.170	0.000	0.004	

The numbers in this table is corresponding with Table 1.

[1] *H. herbivagus* (GU270028); [2] *H. herbivagus* (GU270027); [3] *H. herbivagus* (GU270026); [4] *T. involucre* (GU270025); [5] *T. involucre* (GU270024); [6] *A. pacifica* (GU270002); [7] *A. pacifica* (GU270000); [8] *A. pacifica* (GU270001); [9] *A. pacifica* (GU270005); [10] *A. pacifica* (GU270003); [11] *A. pacifica* (GU270006); [12] *A. pacifica* (GU270004); [13] *S. carinata* (GU269994); [14] *S. carinata* (GU269998); [15] *S. carinata* (GU269997); [16] *S. carinata* (GU269999); [17] *S. carinata* (FJ763719); [18] *S. carinata* (GU269995); [19] *S. carinata* (GU269996); [20] *Ca. bicolor* (GU270017); [21] *Ca. bicolor* (GQ118427); [22] *C. maxillosus* (GQ118409); [23] *C. maxillosus* (GQ118419); [24] *C. maxillosus* (FJ763716).

Table 4. Mean intraspecific divergence expressed as a percentage of the total of 272 base pairs of COI data.

Species	Numbers of specimens	Mean (%)
<i>H. herbivagus</i>	3	2.7
<i>T. involucre</i>	2	0.7
<i>A. pacifica</i>	7	2.3
<i>S. carinata</i>	7	1.5
<i>Ca. bicolor</i>	2	0.4
<i>C. maxillosus</i>	3	0.2

and Silphidae, and the families Silphidae and Staphylinidae are the first visitors of sarcosaphagous beetles to the human and animal remains (Ozdemir and Sert 2009). According to the study by Elena *et al.* (2005), a longer fragment (759-bp) of the mitochondrial COI that was sequenced to distinguish 119 specimens of the same tribe Harpalini was shown as a credible tool to distinguish the taxonomy of beetles at the tribe level. Similar results were also found in the study of the tribe Cychrini using 1059-bp fragment of the COI gene (Su *et al.* 2004). Therefore, the identification of Chinese specimens at the tribe level should be discussed in future studies. Phenogram analysis using UPGMA tree was performed to examine the ability of the region to resolve species identities and taxonomic relationships between species of six genera owing to every species forming its own group with very high similarity respectively, and this illustrated the potential of COI sequence for use at the species level. Regional variability is one kind of the evidence to infer the geographical origin of forensically important insects species. In addition, it can also determine the scene of crime (SOC). As mentioned before in results, three specimens of *S. carinata* from Shijiazhuang and one specimen of *S. carinata* from Hohhot formed a highly supportive clade but one specimen of *S. carinata* from Zhangjiajie (a mountainous region in southern China) grouped with a relatively low support with the former four specimens (flatlands in northern China) showed that the intraspecific variation was possibly influenced by geographical and climatic differences, which is in agreement with previous estimations made in mitochondrial genomes of two luminous beetles (Li *et al.* 2007). These above might be because many beetles are hindwingless and the elytra are fused at suture, so that they cannot fly like most species of Diptera, thus revealing considerable geographically linked phenogram diversification (Su *et al.* 2004). However, one specimen of *T. involucre* from Hengshan (a mountainous region in southern China)

and another specimen of the same species from Beijing (a flatland in northern China) were grouped together at full similarity value, as well as the specimens of the same species *Ca. bicolor* from two different cities (a northern city Xi'an and a southern city Changsha), which indicated these species were hardly influenced by geographical reasons or prompted more samples are needed from these two locations to explain this phenomenon. Similar findings were also found in two specimens of *H. herbivagus* from Chifeng (an inland city in northern China) and Wanning (a coastal city in southern China) discussed above, the maximum mean intraspecific variability for all specimens was 2.7%, while the minimum interspecific variability was 9.4%, this difference between the threshold levels enabled differentiation to be observed between forensically important Coleoptera species in China. In the interspecific variation analysis, compared with *Ca. bicolor*, the interspecific variations of the other species were all very high, all beyond 16.4%. Additionally, the lowest value was between *H. herbivagus* and *A. pacifica* which belong to two different suborders Adephaga and Polyphaga. These results above are different from the classical classification of beetles, which indicated large samples should be supplied in future study.

A COI and COII, or with other gene regions like 16S rDNA, combined analysis would be carried out to explore Chinese forensically correlative beetles identification in future study. A multidisciplinary approach and the study of new taxa are needed to establish solid monophyletic lineages that eventually will lead to a more natural classification of Coleoptera.

Conclusion

Our results stress the utility of using DNA-based method for purposes of molecular identification of species. The 272-bp fragment of the mitochondrial COI gene in this study displayed that, besides the morphological method of identification, this region has potential as a discriminatory tool in identification of Coleoptera species. To some unexplained problems in this paper, further analysis is required to reveal the cause of this discrepancy. We should do new studies to obtain more specimens of different species of Coleoptera in a wider area of China, and then improve the molecular method for identification of forensically important beetles.

Acknowledgment

This study was funded by National Natural Science Foundation of China (NSFC, No. 30672354), the Graduate degree thesis Innovation Foundation of Central South Univer-

Table 5. Pairwise divergence between species expressed as a percentage of 272 base pairs of COI data.

Species	<i>H. herbivagus</i>	<i>T. involucre</i>	<i>A. pacifica</i>	<i>S. carinata</i>	<i>Ca. bicolor</i>	<i>C. maxillosus</i>
<i>H. herbivagus</i>						
<i>T. involucre</i>	0.119					
<i>A. pacifica</i>	0.094	0.113				
<i>S. carinata</i>	0.116	0.126	0.099			
<i>Ca. bicolor</i>	0.175	0.201	0.164	0.168		
<i>C. maxillosus</i>	0.139	0.136	0.143	0.152	0.171	

sity and National University Student Innovation Test Plan (NMOE, YC09139, YC10108, YC10118, and 2010ybfz101). We thank Prof. Song Dong-Bao and Ph.D. Huang Guo-Hua (Plant Protection Department, College of Bio-safety Science and Technology, Hunan Agricultural University) for identifications of insects and Prof. Wu Kun-Lu (School of Biological Science and Technology, Central South University) for designing PCR primers.

Literature Cited

- ALESSANDRINI, F.; MAZZABTI, M.; ONOFRI, V.; TURCHI, C.; TAGLIABRACCI, A. 2008. MtDNA analysis for genetic identification of forensically important insects. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 1 (1): 584-585.
- AMENDT, J.; KRETTEK, R.; ZEHNER, R. 2004. Forensic entomology. *Naturwissenschaften* 2 (91): 51-65.
- ANDERSON, G.S. 2000. Insect succession on carrion and its relationship to determining time of death, in: J.H. Byrd, J.L. Castner (Eds.), *Forensic Entomology. The utility of arthropods in legal investigations*. Boca Raton. CRC Press. 143-175 p.
- ARNOLDI, F. G.; OGOH, K.; OHMIYA, Y.; VIVIANI, V. R. 2007. Mitochondrial genome sequence of the Brazilian luminescent click beetle *Pyrophorus divergens* (Coleoptera Elateridae): mitochondrial genes utility to investigate the evolutionary history of Coleoptera and its bioluminescence. *Gene* 405 (1-2): 1-9.
- AVISE, J. C. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge. vii+453 p.
- BENECKE, M. 2008. A brief survey of the history of forensic entomology. *Acta Biologica Beurodis* 14:15-38.
- BYRD, J. H.; CASTNER, J. L. 2000. *Entomological evidence: utility of arthropods in legal investigations*. Boca Raton. CRC Press. xxiii+663p.
- CATTS, E. P. 1992. Problems in estimating the PMI in death investigations. *Journal of Agricultural Entomology* 37 (9): 253-272.
- CROZIER, R. H.; CROZIER, Y. D. 1993. The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization. *Genetics* 113 (1): 97-117.
- DANIEL, J. F. 1999. Molecular systematics of cytochrome oxidase I and 16s from *Neochlamisus* leaf beetle and the importance of sampling. *Molecular Biology and Evolution* 16 (1): 67-82.
- DAVID, C. M.; MICHAEL, P. S.; STEVEN, J. B.; COOPER, S. J.; LAURENCE, A. M. 2002. Phylogenetics of Australian Acacia thrips: the evolution of behaviour and ecology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 25 (2): 278-292.
- DAVID, J. R.; BRENT, C. E.; PEDRO, O.; GODFREY, M. H. 2001. The Diversification of the Genus *Nesotes* (Coleoptera: Tenebrionidae) in the Canary Islands: Evidence from mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21(2): 321-326.
- DIRK, A.; MICHAEL, T. M.; ALFRIED, P. V. 2007. DNA-based taxonomy for associating adults and larvae in multi-species assemblages of chafers (Coleoptera: Scarabaeidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44 (1): 436-449.
- ELENA, M.; MARTINEZ, N.; JOSE, G.; JOSE, S. 2005. Phylogeny and molecular evolution of the tribe Harpalini (Coleoptera, Carabidae) inferred from mitochondrial cytochrome-oxidase I. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 35 (1): 127-146.
- FANG, X. M. 2009. Phylogenetic analysis of Chrysomelidae in China inferred from mitochondrial COI sequences (Coleoptera: Chrysomeloidea). *Journal of Suzhou University* 24 (1): 113-117.
- FRIEDRIC, M.; MUQIM, N. 2003. Sequence and phylogenetic analysis of the complete mitochondrial genome of the flour beetle *Tribolium castaneum*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26 (3): 502-512.
- GOFF, M.; CATTS, P. 1990. Arthropods basic structure and biology. In Catts, P.; Haskell, N. (eds.). *Entomological and death a procedural guide*. Joyce's Print Shop. 38.71.
- GREENBERG, B. 2002. Key to the eggs, larvae, pupae and adults of some forensically important flies, pp. 54-153. In: B. Greenberg & J. C. Kunich (eds). *Entomology and the law flies as forensic indicators*. Cambridge University Press, Cambridge. xii+298 p.
- GUO, Y. D.; CAI, J. F.; WANG, X. H.; LAN, L. M.; LIU, Q. L.; LI, X.; CHANG, Y. F.; ZHONG, M.; WANG, X.; WEN, J. F. 2010. Identification of forensically important sarcophagid flies (Diptera: Sarcophagidae) based on COI gene in China. *Romanian Journal of Legal Medicine* 18 (3): 217-224.
- HARVEY, M. L.; DADOUR, I. R.; GAUDIERI, S. 2003. Mitochondrial DNA cytochrome oxidase I gene: potential for distinction between immature stages of some forensically important fly species (Diptera) in western Australia. *Forensic Science International* 131(2-3): 134-139.
- HASKELL, N. H.; HALL, R. D.; CERVANKA, V. J. 1997. On the body: Insects' life stage presence and their postmortem artifacts. pp. 415-448. *Forensic taphonomy: The post mortem fate of human remains*. Boca Raton. CRC Press, Florida. xxvi+636 p.
- JUDITH, A. S.; NICOLA, C. B. 2008. Molecular genetic identification of forensically important flies in the UK. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 1 (1): 620-622.
- KIM, I.; LEE, S. C.; JIN, B. S. 2000. Genetic divergence and phylogenetic relationships among the Korean fireflies, *Hotaria papariensis*, *Luciola lateralis*, and *Pyrocoelia rufa* (Coleoptera: Lampyridae), using mitochondrial DNA sequences. *Korean Journal of Applied Entomology* 39 (4): 211-226.
- LAN, L. M.; LIAO, Z. G.; CHEN, Y. Q.; YAO, Y.; LI, J. B.; LI, M. O.; CAI, J. F. 2006. Advances of forensic entomology in China. *Journal of Forensic Medicine* 22 (6): 448-450.
- LECLERCQ, M.; LECOMTE, J. 1978. Emergency treatment of insect bite complications. *Revue Médicale de Liège* 33: 240-249.
- LEE, S. C.; BAE, J. S.; KIM, I.; SUZUKI, H.; KIM, S. R.; KIM, J. G.; KIM, K. Y.; YANG, W. J.; LEE, S. M.; SOHN, H. D.; JIN, B. R. 2003. Mitochondrial DNA sequence-based population genetic structure of the firefly, *Pyrocoelia rufa* (Coleoptera: Lampyridae). *Biochemical Genetics* 41 (11-12): 427-452.
- LI, X.; OGOH, K.; OHBA, N.; LIANG, X.; OHMIYA, Y. 2007. Mitochondrial genomes of two luminous beetles, *Rhagophthalmus lufengensis* and *R. ohbai* (Arthropoda, Insecta, Coleoptera). *Gene* 392 (1-2) 196-205.
- LIU, Q. L.; CAI, J. F.; GUO, Y. D.; WANG, X.H.; GU, Y.; WEN, J.F.; MENG, F.M.; YI, W.P. 2011. Letter to Editor. Identification of forensically significant calliphorids based on mitochondrial DNA cytochrome oxidase I (COI) gene in China. *Forensic Science International*, in press.
- LU, B. L.; WU, H. Y. 2003. *Classification and identification of important medical insects of China*. Henan Science and Technology Publishing House, Zhengzhou. 800 p.
- LUNT, D. H.; ZHANG, D. X.; SZYMURA, J. M.; HEWITT, G. M. 1996. The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect Molecular Biology* 5 (3): 153-165.
- OZDEMIR, S.; SERT, O. 2009. Determination of Coleoptera fauna on carcasses in Ankara province, Turkey. *Forensic Science International* 183 (1-3): 24-32.
- PAUL, F.; RUGMAN, J.; ROBERT, W.; TOM, V. N.; RICHARD, S. 2009. Molecular differentiation of the *Psytalia concolor* (Szépligeti) species complex (Hymenoptera: Braconidae) associated with olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae), in Africa. *Biological Control* 49: 17-26.
- PENG, Q. Y.; YE, L. S.; MA, L. P.; CAI, J. F. 2009. The succession of sarcophagus beetles on carrion and its application in forensic medicine. *Journal of Forensic Medicine* 25 (6): 447-450.
- SAIGUSA, K.; TAKAMIYA, M.; MATSUMASA, M.; AOKI, Y. 2006. The forensic availability of a simple and time-saving method for the identification of dipteran species to estimate postmortem interval using entomological evidence. *Legal Medicine* 8(4): 252-254.

- SIMON, C.; FRATI, F.; BECKENBACH, A.; CRESPI, B.; LIU, H.; LOOK, P. F. 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America* 87 (6): 651-701.
- SKEVINGTON, J. H.; YEATES, D. K. 2000. Phylogeny of the Syrphoidea (Diptera) inferred from mtDNA sequences and morphology with particular reference to classification of the Pipunculidae (Diptera). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16 (2): 212-224.
- SNEATH, P.; SOKAL, R. 1973. *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco.
- STIJN, D.; MATTHIAS, G. 2009. COI sequence variability between Chrysomyinae of forensic interest. *Forensic Science International: Genetics* 3 (2): 89-95.
- SU, Z. H.; IMURA, Y. K.; MUNEHIRO, O.; SYOZO, O. 2004. Pattern of phylogenetic diversification of the Cychrini ground beetles in the world as deduced mainly from sequence comparisons of the mitochondrial genes. *Gene* 326:43-57.
- SUKONTASON, K.; NARONGCHAI, P.; KANCHAI, C. 2007. Forensic entomology cases in Thailand: a review of cases from 2000 to 2006. *Parasitology Research* 101(5): 1417-1423.
- SUZUKI, H.; SATO, Y.; OHBA, N. 2002. Gene diversity and geographic differentiation in mitochondrial DNA of the GeUPG-MAi firefly, *Luciola cruciata* (Coleoptera: Lampyridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 22 (2): 193-205.
- SUZUKI, H.; SATO, Y.; OHBA, N.; BAE, J. S.; JIN, B. R.; SOHN, H. D.; KIM, S. E. 2004. Phylogenetic analysis of the firefly, *Luciola lateralis*, in Japan and Korea based on mitochondrial cytochrome oxidase II gene sequences (Coleoptera: Lampyridae). *Biochemical Genetics* 42 (9-10): 287-300.
- TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24 (8):1596-1599.
- WALLMAN, J. F.; DONNELLAN, S. C. 2001. The utility of mitochondrial DNA sequences for the identification of forensically important blowflies (Diptera: Calliphoridae) in southeastern Australia. *Forensic Science International* 20(1-2):60-67.
- WANG, B. Q.; CAI J. F.; GE, Y.; LI, F. Z.; MAN, Y.; CHANG, Y. F. 2008. Advances of the study of sarcosaphagous insects in forensic medicine. *Journal of Forensic Medicine* 24 (3): 210-213.
- WELLS, J. D.; SPERLING, F. A. 2001. DNA-based identification of forensically important Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International* 120 (1-2): 110-115.
- WELLS, J. D.; WALL, R.; STEVENS, J. R. 2007. Phylogenetic analysis of forensically important *Lucilia* flies based on cytochrome oxidase I sequence: a cautionary tale for forensic species determination. *International Journal of Legal Medicine* 121(3): 229-233.

Received: 14-jul-2010 • Accepted: 9-may-2011

Coleópteros necrócolos (Histeridae, Silphidae y Scarabaeidae) en dos localidades de Gómez Farías, Jalisco, México

Carrion beetles (Histeridae, Silphidae and Scarabaeidae) from two localities in Gómez Farías, Jalisco, México

ALMA GABRIELA NARANJO-LÓPEZ¹ y JOSÉ LUIS NAVARRETE-HEREDIA²

Resumen: Se presenta información sobre los coleópteros necrócolos de dos localidades del Municipio de Gómez Farías, Jalisco, México, considerando su abundancia, diversidad, fenología y similitud faunística. Se realizaron colecciones mensuales de diciembre del 2004 a diciembre del 2005 con necrotrampas NTP-80, en San Andrés Ixtlán (Bosque Tropical Caducifolio) y El Rodeo (Bosque de Pino). Se registraron 34 familias de Coleoptera, de las cuales, Histeridae, Silphidae y Scarabaeidae estuvieron representadas por 2.533 ejemplares, pertenecientes a 22 géneros y 33 especies. La familia más abundante fue Histeridae (62,7%), mientras que Scarabaeidae fue la más diversa (15 especies). Las especies más abundantes fueron *Xerosaprinus* sp. 1, *Oxelytrum discicolle*, *Nicrophorus olidus* y *Deltotrilum scabriusculum* (representando el 87,11% de la abundancia total).

Palabras clave: Coleoptera. Abundancia. Fenología. Diversidad. Complementariedad.

Abstract: We provide information on the carrion beetles from two localities of Gómez Farías, Jalisco, México, including their abundance, diversity, phenology and faunistic similarity. Monthly collections were made from December 2004 to December 2005 with NTP-80 carrion traps in San Andrés Ixtlán (tropical deciduous forest) and El Rodeo (pine forest). Thirty-four Coleoptera families were recorded, represented by 2.533 specimens belonging to 22 genera and 33 species. The most abundant family was Histeridae (62.7%), whereas Scarabaeidae was the most diverse (15 species). The most abundant species were *Xerosaprinus* sp. 1, *Oxelytrum discicolle*, *Nicrophorus olidus* and *Deltotrilum scabriusculum* (representing 87.11% of the total abundance).

Key words: Coleoptera. Abundance. Phenology. Diversity. Complementary.

Introducción

En México, el estudio de coleópteros necrócolos, muestra un crecimiento importante debido en gran parte al trabajo de Morón y Terrón (1984) en donde se describe una trampa diseñada especialmente para la colecta de éstos. Dicha trampa fue denominada como necrotrampa permanente modelo 1980, mejor conocida como NTP-80. A partir de esa fecha, se han realizado varias contribuciones en localidades de diferentes estados, con una marcada tendencia hacia especies de Scarabaeoidea (p. ej. Cejudo y Deloya 2005), Silphidae (p. ej. Navarrete-Heredia y Cortés-Aguilar 2006) y Staphylinidae (p. ej. Jiménez-Sánchez *et al.* 2000; Márquez *et al.* 2003).

Para Jalisco, algunos trabajos sobre el tema hacen referencia principalmente a especies de Scarabaeoidea (Rivera y García 1998; Andresen 2005; Quiroz-Rocha *et al.* 2008) y Silphidae (Navarrete-Heredia 1995; Navarrete-Heredia y Fierros-López 1998; Fierros-López y Navarrete-Heredia 2001). Con base en esos estudios, se cuenta con información de especies sobre aspectos biológicos, particularmente detalles sobre la distribución altitudinal y por tipos de vegetación, variación estacional, preferencia de hábitos alimentarios, entre otros. Las localidades estudiadas se ubican en las provincias biogeográficas de la Sierra Madre del Sur y Eje Transmexicano (*sensu* Morrone 2005) (Casimiro Castillo, El Limón, Tuxcacuesco, Autlán, Volcán de Tequila, Nevado de Colima, Barranca del Río Santiago, Bosque de La Primavera y localidades del Municipio de Mascota).

En este trabajo se proporciona información sobre la composición de la coleopterofauna necrócola en dos ambientes característicos del estado de Jalisco (bosque tropical caducifolio y bosque de pino), determinando la variación estacional y la estructura de la comunidad durante un ciclo anual. Para el análisis de datos se enfatiza en la composición faunística de las familias Histeridae, Silphidae y Scarabaeidae.

Materiales y Métodos

Área de estudio. Para evaluar la composición de especies necrócolas, se seleccionaron dos localidades pertenecientes al municipio de Gómez Farías, Jalisco con diferente tipo de vegetación: San Andrés Ixtlán con Bosque Tropical Caducifolio (BTC) y El Rodeo con Bosque de Pino (BP).

El municipio de Gómez Farías se encuentra situado al suroeste del estado de Jalisco, entre los 19°47'15" 19°57'30"N 103°09'10" 103°39'20"W, a una altitud media de 1678msnm (Fig. 1). Pertenecen a la provincia biogeográfica del Eje Transmexicano, formando parte de la Sierra del Tigre. El clima es considerado como semiseco con otoño, invierno y primavera secos y semicálidos sin estación invernal definida. La temperatura media anual es de 15,3°C. Tiene una precipitación media anual de 1268,4 mm con régimen de lluvias de junio a septiembre (Centro Nacional de Desarrollo Municipal y Gobierno del Estado de Jalisco 2000).

En cada localidad se colocaron dos necrotrampas cebadas con calamar. El muestreo fue mensual durante un año

¹ Dr. Entomología, Centro de Estudios en Zoología, CUCBA, Universidad de Guadalajara, Apdo. Postal 134, 45100, Zapopan, Jalisco, México. nalotres@hotmail.com. ² Licenciada en Biología, Entomología, Centro de Estudios en Zoología, CUCBA, Universidad de Guadalajara, Apdo. Postal 134, 45100, Zapopan, Jalisco, México. glenusmx@yahoo.com.mx Autor para correspondencia.

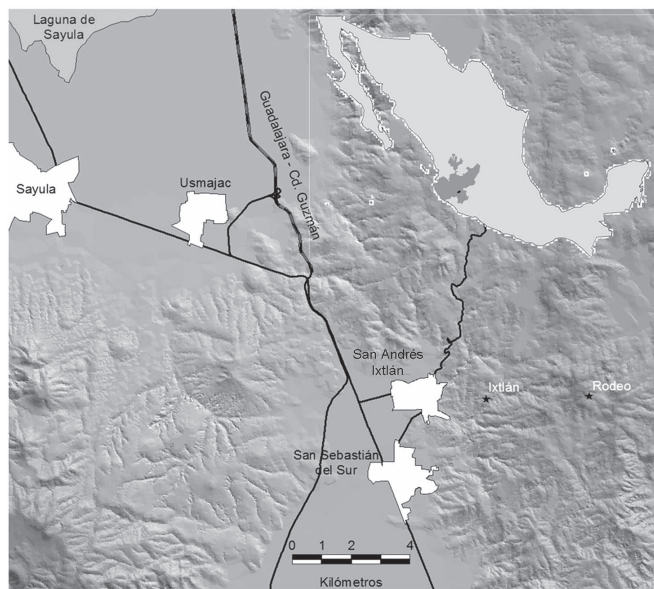


Figura 1. Área de estudio y ubicación de necrotrampas en el municipio de Gómez Farias, Jalisco.

(diciembre de 2004-diciembre 2005). Los sitios de colecta fueron designados como Ixtlán A (1567msnm, 19°49'26,1"N 103°27'30,8"W), Ixtlán B (1544msnm, 19°49'24,1"N 103°27'32,2"W), Rodeo A (2053msnm, 19°49'59,6"N 103°25'55,6"W) y Rodeo B (2059msnm, 19°49'57,7"N 103°25'58,2"W).

Las muestras obtenidas al final de cada mes se colocaron en frascos con alcohol al 70% con su respectiva etiqueta; a cada trampa se le reemplazaba el alcohol y calamar. Los especímenes se separaron en el Centro de Estudios en Zoología, Universidad de Guadalajara. Con literatura especializada se determinaron los especímenes, primero a nivel de orden y luego a familia. En tres familias, la determinación se realizó hasta la categoría taxonómica máxima posible con trabajos específicos: Histeridae (Caterino 1999; Kovarik y Caterino 2001; Mazur 2001; Yélan 2002), Silphidae (Peck y Anderson 1985) y Scarabaeidae (Delgado *et al.* 2000). Algunos ejemplares fueron comparados con la colección de referencia del Centro de Estudios en Zoología (CZUG). Los ejemplares se encuentran depositados en dicha institución.

Se obtuvieron curvas de acumulación de especies para cada localidad tomando como base los modelos exponencial y de Clench. Para ello se utilizó el programa Species Accumulation Functions, SpAcc2, Versión Beta (CIMAT 2003). Para cada una de las familias, se obtuvo el coeficiente de trabajo taxonómico (CTT) como fue sugerido por Navarrete-Heredia y Zaragoza-Caballero (2006). Considerando el tamaño de las especies como otro elemento asociado con la abundancia, los adultos fueron agrupados en dos categorías: a) pequeñas –tallas menores a 10 mm– y b) grandes –tallas mayores a 10 mm. Clasificaciones por tallas para insectos han sido referidas en varios trabajos para evaluar la posible coexistencia o competencia de especies (veáanse por ejemplo Kohlmann 1991; Hanski y Cambefort 1991). Para evaluar la diversidad se obtuvieron los valores del índice de Shannon utilizando el programa Species Diversity and Richness, versión 3.0.3 (Pisces Conservation Ltd. 2002) y el valor de

complementariedad (como se cita en Colwell y Coddington 1994).

Los coleópteros asociados a carroña o materia orgánica en descomposición de origen animal, fueron agrupados con base en la propuesta de Labrador Chávez (2005).

Necrócolos: incluye a todas las especies que están asociadas a carroña. Se les encuentra directamente en cadáveres o se colectan con necrotrampas. Se reconocen tres categorías.

Necrobios: especies que tienen una marcada dependencia por la carroña. Las larvas y adultos la utilizan como alimento. Se incluyen aquí las especies necrófagas.

Necrófilos: especies que se encuentran en la carroña para alimentarse de otros insectos o bien cuando la carroña se encuentra invadida por microorganismos; generalmente el cadáver se encuentra licuefacto. Se divide en dos subcategorías:

Necrófilos saprófagos: especies que aunque se alimentan de carroña, en general consumen materia orgánica en descomposición cuyo origen puede ser animal, vegetal o fúngico. Se incluyen aquí las especies copronecrófagas, coprófagas y en general todas aquellas que se alimentan de materia orgánica en descomposición.

Necrófilos depredadores: especies que aprovechan la presencia de presas (necrobios o necrófilos saprófagos) en la carroña.

Necroxenos: Especies que ocurren en la carroña de manera accidental. Sus hábitos y hábitats son diferentes a la carroña, aunque cercanos a la misma, por ejemplo, hojarasca, flores, hongos o bien son atraídos por el alcohol.

Resultados

Riqueza específica. Se colectaron 48 muestras, con representantes de tres Phyla: Mollusca, Arthropoda y Chordata. Los insectos fueron el grupo más rico en especies y estuvieron representados por once órdenes: Blattodea, Coleoptera, Dermaptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Neuroptera, Orthoptera, Trichoptera y Thysanura. Las pocas especies de Mollusca y Chordata fueron colectadas de manera accidental. El orden Coleoptera estuvo representado por 34 familias (Tabla 1). Se encontraron 33 especies de las familias Histeridae, Silphidae y Scarabaeidae siendo esta última la de mayor riqueza específica (Tablas 2, 3).

En el bosque tropical caducifolio (BTC) se presentó la mayor riqueza específica (28 especies) y el mayor número de especies exclusivas (18), mientras que en el bosque de pino (BP) sólo se capturaron 15 especies (Tabla 2). El mayor número de especies se presentó en junio y noviembre (21 especies cada mes) y la menor riqueza se obtuvo en febrero y septiembre (con seis especies cada uno).

Para la localidad con BTC, el modelo de Clench genera un estimado de 62 especies ($a=1,96$ y $b=0,03$) y el modelo exponencial un estimado de 31 especies ($a=2,42$, $b=0,07$). Para la zona con BP, el modelo de Clench genera un estimado de 35 especies ($a=1,09$, $b=0,03$) y el modelo exponencial un estimado de 16 especies ($a=1,80$, $b=0,11$). Tomando como base el modelo exponencial para cada uno de los sitios, los valores obtenidos son cercanos a los valores estimados, por

Tabla 1. Abundancia de coleópteros necrólicos en el municipio de Gómez Farías, Jal.

Familia	No. de organizaciones	Familia	No. de individuos
Archeocrypticidae*	3	Laemophloeidae*	143
Anobiidae	39	Lathridiidae	207
Anthicidae	2	Leiodadae	1.563
Biphylidae*	1	Melyridae*	1
Carabidae	14	Mycetophagidae	651
Chrysomelidae	17	Nitidulidae	582
Ciidae*	1	Phalacridae	18
Cleridae	6	Ptiliidae	148
Coccinellidae	1	Scarabaeidae	203
Colydiidae	2	Scydmaenidae	3
Cryptophagidae	36	Silphidae	741
Curculionidae	653	Silvanidae	76
Dermestidae	119	Staphylinidae	10.835
Endomychidae*	2	Tenebrionidae	2
Histeridae	1.589	Trogidae	9
Hydraenidae*	1	ND sp. 1?	2
Hydrophilidae	84	ND sp. 2?	1
		TOTAL	17.755

* Se registran por primera vez asociadas a necrotrampas en México.

lo que se considera como apropiado el muestreo de la zona de estudio. Con el trabajo de campo se obtuvo el 90,3% de la riqueza estimada para el BTC y el 93% para el BP.

Los CTT para estas tres familias son: Histeridae: 0,14, Silphidae: 1,0 y Scarabaeidae: 0,60. Para Silphidae, la determinación taxonómica es apropiada ya que todas las especies se determinaron a especie. En Scarabaeidae, el valor obtenido se encuentra por abajo del promedio citado por Navarrete-Heredia y Zaragoza-Caballero (2006), situación que se vió influenciada por la captura de varias especies de *Onthophagus*. Para Histeridae el valor refleja la carencia de información para la determinación específica de especímenes colectados en México y por ende la necesidad de fortalecer el trabajo taxonómico con este grupo.

Considerando la biología de las especies de Histeridae (Mazur 2001; Yélamos 2002), Silphidae (Peck y Anderon 1985; Navarrete-Heredia 2009) y Scarabaeidae Halfiter *et al.* 2007) y la obtenida en este trabajo (Tabla 3), la mayoría de las especies colectadas quedaron agrupadas como especies necroxenas y necrófilas depredadoras, seguidas por las especies necrófilas saprófagas y necrobias (Tabla 3).

Abundancia. Se colectaron 17.755 especímenes adultos de Coleoptera. Nueve familias aportaron el 95,83% de los individuos (Tabla 1). Considerando exclusivamente a las familias de interés, se colectaron 2.533 adultos, siendo las especies más abundantes *Xerosaprinus* sp. 1 (56,45%) (Histeridae), *Oxelytrum discicolle* (15,75%), *Nicrophorus olidus* (12,55%) (Silphidae), *Deltochillum scabriusculum* (2,36%), *Onthophagus guatemalensis* (1,73%), *Onthophagus* sp. 2 (1,42%) y *Phanaeus endymion* (0,94%) (Scarabaeidae). En BTC se presentó el mayor número de ejemplares (2.027), representando el 80,02% y en BP sólo se obtuvieron 506 (19,97%).

En BTC ocho especies presentan valores superiores a 20 ejemplares, cifra considerada arbitrariamente como valor mínimo de abundancia: *Euspilotus azureus*, *Xerosaprinus* sp. 1, *Xerosaprinus* sp. 3, *Oxelytrum discicolle*, *Nicrophorus olidus*, *Deltochillum scabriusculum*, *Onthophagus guatemalensis* y *Onthophagus* sp. 2. En BP sólo cuatro especies presentaron esta característica: *Xerosaprinus* sp. 1 y *O. discicolle*, *N. olidus* y *Phanaeus endymion* (Tabla 3).

Considerando el tamaño de los adultos, una de las especies consideradas como pequeñas, *Xerosaprinus* sp. 1, fue la de mayor abundancia en ambos sitios de estudio (Tabla 2). Las especies de tallas mayores estuvieron representadas por *Nicrophorus olidus*, *Oxelytrum discicolle* y *Deltochillum scabriusculum* en BTC, mientras que en BP, fueron *Nicrophorus olidus*, *Oxelytrum discicolle* y *Phanaeus endymion* (Tabla 2).

Fenología. Para las especies de Histeridae, Silphidae y Scarabaeidae, en mayo se presentó la mayor abundancia (501 especímenes) y septiembre fue el mes con menor abundancia (22). La mayor abundancia se presentó en BTC (Tabla 2; Figs. 2A-F).

Las especies de Histeridae son más abundantes en los meses secos, particularmente entre marzo y mayo, observándose un patrón similar para BTC y BP. La mayor abundancia en BTC fue en mayo mientras que para BP fue ligeramente mayor en abril (Figs. 2A-B).

Las especies de Silphidae muestran su mayor abundancia entre octubre y diciembre, aunque con una predominancia de *O. discicolle* (Figs. 2C-D). En Scarabaeidae, dos de las especies más abundantes predominan hacia la época de lluvias (*D. scabriusculum* y *Onthophagus* sp. 2) y otras dos hacia los meses de menor precipitación o secos (*O. guatemalensis* y *Ph. endymion*) (Figs. 2E-F).

Tabla 2. Fenología de tres familias necrócolas de dos localidades del municipio de Gómez Farías, Jal. En donde BTC= bosque tropical caducifolio y BP= bosque de pino.

BTC HISTERIDAE													
	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	TOTAL
<i>Bacanius</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	4
<i>Euspilotus azureus</i> Sahlberg, 1823	1	0	0	0	0	2	0	0	0	13	4	0	20
<i>Geomysaprinus</i> sp. 1	0	0	2	2	5	5	1	1	0	1	1	0	18
<i>G.</i> sp. 2	0	0	0	0	0	1	13	0	0	0	0	0	14
<i>Gnathoncus</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Hister cavifrons</i> Marseul, 1854	2	0	0	0	0	0	1	0	0	1	5	2	11
<i>Hololepta</i> sp.	2	0	0	0	4	1	1	0	0	0	1	0	9
<i>Phelister</i> sp.	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	4	0	5
<i>Saprinus</i> sp. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Teretrius</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
<i>Xerosaprinus</i> sp. 1	51	23	185	232	389	185	1	0	0	0	4	36	1106
<i>Xerosaprinus</i> sp. 2	0	0	0	2	4	0	7	0	0	0	0	1	14
<i>Xerosaprinus</i> sp. 3	0	0	6	2	13	9	0	0	0	0	1	0	31
TOTAL ABUNDANCIA	56	23	193	238	416	210	17	1	0	17	24	41	1236
TOTAL No. ESPECIES	4	1	3	4	6	6	6	1	0	4	9	5	
SILPHIDAE													
<i>Nicrophorus mexicanus</i> Matthews, 1888	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	4
<i>Nicrophorus olidus</i> Matthews, 1888	14	0	0	0	2	2	32	12	2	63	141	23	291
<i>Oxelytrum discicollis</i> (Brulléconabio, 1840)	5	0	0	0	1	4	0	0	2	47	238	42	339
<i>Thanatophilus truncatus</i> (Say, 1823)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
TOTAL ABUNDANCIA	20	1	0	0	3	6	33	12	4	110	381	66	636
TOTAL No. ESPECIES	3	1	0	0	2	2	2	1	2	2	3	3	
SCARABAEIDAE													
<i>Anomala</i> sp. 2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Coprophanaeus pluto</i> (Harold, 1863)	0	0	0	0	0	0	5	0	0	1	0	0	6
<i>Deltochilum scabriusculum</i> (Bates, 1887)	0	0	0	0	0	0	48	0	0	0	8	0	56
<i>Dichotomius amplicollis</i> Harold, 1869	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	5
<i>Onthophagus guatemalensis</i> Bates, 1887	4	1	5	2	25	7	0	0	0	0	0	0	44
<i>Onthophagus</i> sp. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
<i>Onthophagus</i> sp. 2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	13	18	34
<i>Onthophagus</i> sp. 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
<i>Phanaeus flohri</i> Nevinson, 1892	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	3
<i>Xyloryctes corniger</i> Bates, 1888	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Xyloryctes howdenorum</i> Delgado y Nájera-Rincón, 1992	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
TOTAL ABUNDANCIA	4	2	5	2	25	14	53	3	0	5	24	18	155
TOTAL No. ESPECIES	1	2	1	1	1	3	2	3	0	3	4	1	
BP HISTERIDAE													
<i>Bacanius</i> sp.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
<i>Geomysaprinus</i> sp. 1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2
<i>Phelister</i> sp.	0	0	0	0	0	4	0	0	1	2	0	1	8
<i>Saprinus</i> sp. 2	0	0	2	15	0	0	0	0	0	0	0	0	17
<i>Xerosaprinus</i> sp. 1	0	2	122	120	50	30	0	0	0	0	0	0	324

(Continúa)

(Continuación)

TOTAL ABUNDANCIA	1	2	124	135	50	36	0	0	1	2	1	1	353
TOTAL No. ESPECIES	1	1	2	2	1	3	0	0	1	1	1	1	
SILPHIDAE													
<i>Nicrophorus mexicanus</i> Matthews, 1888	2	4	3	0	0	2	0	0	0	1	1	5	18
<i>Nicrophorus olidus</i> Matthews, 1888	0	0	0	0	2	19	0	2	1	2	0	1	27
<i>Oxelytrum discicollae</i> (Brullé, 1840)	0	0	0	0	3	20	0	7	5	10	11	4	60
TOTAL ABUNDANCIA	2	4	3	0	5	41	0	9	6	13	12	10	105
TOTAL No. ESPECIES	1	1	1	0	2	3	0	2	2	3	2	3	
SCARABAEIDAE													
<i>Anomala</i> sp. 1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Deltochilum scabriusculum</i> (Bates, 1887)	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	4
<i>Oniticellus rhinocerus</i> Bates, 1887	0	0	0	0	0	0	0	3	9	2	1	0	15
<i>Onthophagus</i> sp. 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
<i>Phanaeus endymion</i> Harold, 1863	0	0	0	0	0	1	12	0	0	10	1	0	24
<i>Phyllophaga</i> sp.	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Xyloryctes howdenorum</i> Delgado y Nájera-Rincón, 1992	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
TOTAL ABUNDANCIA	0	0	0	0	0	7	12	4	9	14	2	0	48
TOTAL No. ESPECIES	0	0	0	0	0	4	1	2	1	3	2	0	

Diversidad. Tomando como base los valores del índice de Shannon, la mayor diversidad se presentó en BTC y ambas localidades muestran diferencias significativas (1,556 para BTC y 1,383 para BP; $p=0.02$). Con base en el índice de complementariedad, el valor obtenido para la zona de estudio es de 69,69. Los sitios de muestreo al encontrarse en ambientes contrastantes (BTC y BP), sugerían diferencias significativas en cuanto a su composición faunística y diversidad, aspectos que se comprobaron con los valores de diversidad y complementariedad.

Discusión

Para México se han citado 38 familias de Coleoptera con especies necrócolas (Labrador Chávez 2005). En este trabajo otras siete familias presentan hábitos y hábitats que difieren considerablemente de la necrofagia: Archeocryptidae, Biphyllidae, Ciidae, Endomychidae, Hydraenidae, Laemophloeidae y Melyridae. Su presencia en necrotrampas es accidental, por lo que son consideradas como familias necroxenas.

Por su riqueza específica, la familia Scarabaeidae ocupa el primer lugar (15 especies), seguida de Histeridae (14) y Silphidae (4), mientras que por su abundancia, Histeridae ocupa el primer lugar, seguida de Silphidae y Scarabaeidae. De las varias contribuciones que existen sobre coleópteros necrócolas de México, sólo la de Acuña-Soto (2004) incluye a las tres familias analizadas en este trabajo. En cuanto a su riqueza específica, se observa un patrón similar al observado en este trabajo, pero en su abundancia, el primer lugar se presentó en Scarabaeidae, seguido de Histeridae y Silphidae. La familia Histeridae está representada por especies principalmente depredadoras, las cuatro especies de Silphidae son necrófagas estrictas, mientras que en Scarabaeidae se tienen representantes necrófagos, saprófagos y necroxenas. Esta situación ubica a las especies de Silphidae y Scarabaeidae como los dos grupos de mayor relevancia en la descomposición de la materia orgánica de origen animal, aspecto que coincide con lo señalado en otros estudios (Andresen 2005; Arellano *et al.* 2005; Halfpeter *et al.* 2007; Reyes Novelo *et al.* 2007; Navarrete y Halfpeter 2008).

En localidades con ambientes tropicales, la riqueza específica de ambos grupos (Scarabaeidae y Silphidae) varía entre ocho y 18 especies (Andresen 2005; Halfpeter y Arellano 2002). En la zona de estudio, se colectaron 12 especies una vez excluidas aquellas de Dynastinae y Melolonthinae,

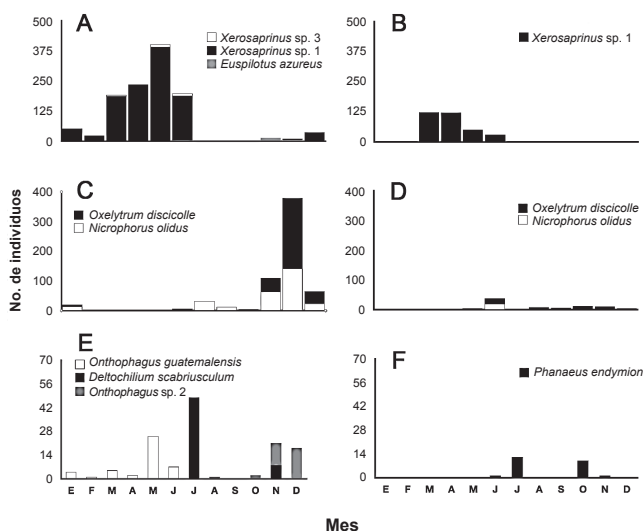


Figura 2. Fenología de las especies más abundantes en la zona de estudio. Bosque Tropical Caducifolio. A. Histeridae, C. Silphidae, E. Scarabaeidae. Bosque de Pino. B. Histeridae, D. Silphidae, F. Scarabaeidae.

Tabla 3. Especies de Histeridae, Silphidae y Scarabaeidae necrócolas en dos localidades de Gómez Farías, Jalisco. HA=hábitos alimentarios, N=necrobio/necrófago, S= Necrófalo saprófago, D= Necrófalo depredador, Nx= necroxeno; T= tamaño, P=pequeña, G=grande.

Especie	BTC		BP		BTC	BP	TOTAL	HA	T
	A 1567 m	B 1544 m	A 2053 m	B 2059 m					
<i>Bacanius</i> sp.	2	2	1	1	4	2	6	Nx	P
<i>Euspilotus azureus</i>	14	6	0	0	20	0	20	D	P
<i>Geomysaprinus</i> sp. 1	7	11	2	0	18	2	20	D	P
<i>Geomysaprinus</i> sp. 2	2	12	0	0	14	0	14	D	P
<i>Gnathoncus</i> sp.	1	0	0	0	1	0	1	Nx	P
<i>Hister cavifrons</i>	4	7	0	0	11	0	11	D	P
<i>Hololepta</i> sp.	7	2	0	0	9	0	9	Nx	P
<i>Phelister</i> sp.	3	2	4	4	5	8	13	D	P
<i>Saprinus</i> sp. 1	1	0	0	0	1	0	1	D	P
<i>Saprinus</i> sp. 2	0	0	0	17	0	17	17	D	P
<i>Teretrius</i> sp.	2	0	0	0	2	0	2	Nx	P
<i>Xerosaprinus</i> sp. 1	695	411	82	242	1106	324	1430	D	P
<i>Xerosaprinus</i> sp. 2	7	7	0	0	14	0	14	D	P
<i>Xerosaprinus</i> sp. 3	16	15	0	0	31	0	31	D	P
<i>Nicrophorus mexicanus</i>	3	1	14	4	4	18	22	N	G
<i>Nicrophorus olidus</i>	189	102	24	3	291	27	318	N	G
<i>Oxelytrum discicolle</i>	196	143	58	2	339	60	399	N	G
<i>Thanatophilus truncatus</i>	2	0	0	0	2	0	2	N	G
<i>Coprophanaeus pluto</i>	2	4	0	0	6	0	6	S	G
<i>Deltochilum scabriusculum</i>	42	14	4	0	56	4	60	N	G
<i>Dichotomius amplicollis</i>	5	0	0	0	5	0	5	S	G
<i>Onthophagus guatemalensis</i>	14	30	0	0	44	0	44	S	P
<i>Onthophagus</i> sp. 1	1	1	0	0	2	0	2	S	P
<i>Onthophagus</i> sp. 2	11	23	0	2	34	2	36	S	P
<i>Onthophagus</i> sp. 3	1	0	0	0	1	0	1	S	P
<i>Oniticellus rhinocerus</i>	0	0	5	10	0	15	15	S	G
<i>Phanaeus endymion</i>	0	0	0	24	0	24	24	S	G
<i>Phanaeus flohri</i>	3	0	0	0	3	0	3	S	G
<i>Xyloryctes corniger</i>	0	1	0	0	1	0	1	Nx	G
<i>Xyloryctes howdenorum</i>	1	0	1	0	1	1	2	Nx	G
<i>Anomala</i> sp. 1	0	0	1	0	0	1	1	Nx	G
<i>Anomala</i> sp. 2	0	1	0	0	1	0	1	Nx	G
<i>Phyllophaga</i> sp.	0	0	1	0	0	1	1	Nx	G

situación que está dentro de los patrones observados. Sin embargo, la cantidad de especies disminuye considerablemente cuando se considera el bosque de pino, cuya riqueza específica de siete especies es inferior a las conocidas para otras localidades con un tipo de vegetación similar (Cejudo y Deloya 2005; Quiroz-Rocha *et al.* 2008). Es posible que el bajo número de especies se deba a los daños que sufrieron algunas trampas durante el muestreo.

Cuatro especies muestran una marcada dominancia, particularmente en el bosque tropical caducifolio: *Xerosaprinus* sp. 1, *Nicrophorus olidus*, *Oxelytrum discicolle* y *Deltochilum scabriusculum*. Las especies de Scarabaeidae han sido citadas con mayor frecuencia y abundancia en este tipo de vegetación (Labrador Chávez 2005). Aunque se ha sugerido que la dominancia de algunas especies y su respectiva

repercusión en la equitabilidad en la comunidad de insectos necrócolas está asociada a la calidad del ambiente, particularmente con diferente grado de disturbio (Estrada *et al.* 1998; Halfiter y Arellano 2002), también se ha evidenciado que la dominancia de pocas especies necrócolas o coprófagas es un patrón característico en este tipo de comunidades (véase por ejemplo: Reyes Novelo *et al.* 2007), incluso en ambientes continuos sin disturbio (Andresen 2005).

En los sitios de estudio se muestra una marcada irregularidad en la abundancia de especies durante el ciclo anual, además de la marcada estacionalidad gremial. Las especies de Histeridae (depredadoras), fueron más abundantes durante la estación seca (diciembre-junio), mientras que la mayoría de las especies necrobias lo fueron en los meses lluviosos (julio-noviembre) o posteriores a ellos. De manera particu-

lar, las especies de Silphidae tienen un patrón de integración espacial y temporal diferente a lo observado en localidades con tipos de vegetación similar (Navarrete-Heredia y Quiroz-Rocha 2000; Quiroz-Rocha *et al.* 2008). Específicamente en la región del Volcán de Tequila donde se presentan localidades con vegetación similar a las de este estudio, *Nicrophorus olidus* y *O. discicollis* fueron menos abundantes en BTC (Navarrete-Heredia 1995), aspecto que coincide con un patrón más generalizado en donde los adultos son menos abundantes en ambientes tropicales (Navarrete-Heredia 2009). Estas diferencias en abundancia es posible que se deban a los daños parciales que sufrieron algunas de las trampas en los sitios con BP.

Finalmente, la integración de la fauna necrócola de ambos ambientes (BTC-BP) incrementa la riqueza faunística de la zona de estudio, aunque en términos de composición taxonómica, cada tipo de vegetación posee una coleopterofauna característica. Considerando que las zonas prioritarias para conservación deben ser aquellas con diversidad beta más alta (valores de complementaridad cercanos a 1) (Rodríguez *et al.* 2003), el valor de complementaridad de 0.69, sustenta la importancia de la región para fines de estudio y conservación, incluso a pesar de encontrarse a una distancia relativamente pequeña y con un considerable grado de perturbación en las tierras bajas.

Agradecimientos

Por toda la ayuda recibida durante el trabajo de campo y su apoyo incondicional, se agradece a: Dulce, Valeria e Indira Naranjo Ascencio, Sergio de Jesús Medina Naranjo, Susana Ascencio Gaspar, José Luis Martínez de la Cruz, Alfredo, Laura Patricia y María Guadalupe Naranjo López, María Esther López Trinidad y Francisco Alfredo Naranjo Preciado. Al M. en C. Leonardo Delgado por su apoyo con la confirmación en la determinación de algunas especies de Scarabaeidae. A Ana Laura González Hernández, Georgina Adriana Quiroz-Rocha, Hugo Eduardo Fierros-López y Miguel Vásquez-Bolaños por los comentarios realizados al manuscrito. A dos revisores anónimos por los comentarios al manuscrito. Al QFB Ángel Pérez Zamora, UDG, por la elaboración del mapa.

Literatura citada

- ACUÑA-SOTO, J.A. 2004. Coleópteros necrófilos (Scarabaeidae, Silphidae, Staphylinidae e Histeridae) de la Sierra Norte de Puebla, México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Estado de México. 83 pp.
- ANDRESEN, E. 2005. Effects of season and vegetation type on community organization of dung beetles in a tropical dry forest. *Biotropica* 37(2): 291-300.
- ARELLANO, L.; FAVILA, M.E.; HUERTA, C. 2005. Diversity of dung and carrion beetles in a disturbed Mexican tropical montane cloud forest and on shade coffee plantations. *Biodiversity and Conservation* 14: 601-615.
- CATERINO, M. S. 1999. Taxonomy and phylogenetics of the Hister servus group (Coleoptera: Histeridae): a Neotropical radiation. *Systematic Entomology* 24: 351-376.
- CEJUDO, E.; DELOYA, C. 2005. Coleoptera necrófilos del bosque de *Pinus hartwegii* del Nevado de Toluca, México. *Folia Entomológica Mexicana* 44(1): 67-74.
- CENTRO NACIONAL DE DESARROLLO MUNICIPAL Y GOBIERNO DEL ESTADO DE JALISCO. 2000. Gómez Farías. *Enciclopedia de México. Jalisco*. Consultada en: <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/jalisco/mpios/1>.
- CIMAT. 2003. Species accumulation functions (SpAcc2), Versión Beta. Centro de Investigación en Matemáticas, A.C. (CIMAT), Querétaro.
- COLWELL, R.K.; CODDINGTON, J.A. 1994. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B* 345: 101-118.
- DELGADO, L.; PÉREZ, A.; BLACKALLER, J. 2000. Claves para determinar a los taxones genéricos y supragenéricos de Scarabaeoidea Latreille, 1802 (Coleoptera) de México. *Folia Entomologica Mexicana* (110): 33-87.
- ESTRADA, A.; COATES-ESTRADA, R.; ANZURES DADDA, A.; CAMMARANO, P. 1998. Dung and carrion beetles in tropical rain forest fragments and agricultural habitats at Los Tuxtlas, Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 14: 577-593.
- FIERROS-LÓPEZ, H.E.; NAVARRETE-HEREDIA, J.L. 2001. Altitudinal distribution and phenology of three species of carrion beetles (Coleoptera: Silphidae) from Nevado de Colima, Jalisco, México. *Pan-pacific Entomologist* 77(1): 45-46.
- HALFFTER, G.; ARELLANO, L. 2002. Response of dung beetle diversity to human-induced changes in a tropical landscape. *Biotropica* 34: 144-154.
- HALFFTER, G.; PINEDA, E.; ARELLANO, L.; ESCOBAR, F. 2007. Instability of copronecrophagous beetle assemblages (Coleoptera: Scarabaeinae) in a mountainous tropical landscape of Mexico. *Environmental Entomology* 36(6): 1397-1407.
- HANSKI, I.; CAMBEFORT, Y. 1991. Competition in dung beetles. En: HANSKI, I.; CAMBEFORT, Y. *Dung beetle ecology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 481 pp.
- JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, E.; NAVARRETE-HEREDIA, J.L.; PADILLA, R.J.R. 2000. Estafilínidos (Coleoptera: Staphylinidae) necrófilos de la Sierra de Nanchititla, Estado de México, México. *Folia Entomológica Mexicana*. 108: 53-78.
- KOVARIK, P.W.; CATERINO, M.S. 2001. Histeridae Gyllenhal, 1808. En: ARNETT, R. H. JR.; THOMAS, M.C.; SKELLEY, P.E.; FRANK, J.H. *American beetles. Volume II. Polyphaga: Scarabaeoidea through curculionoidea*. CRC Press, USA. 861 pp.
- KOHLMANN, B. 1991. Dung beetles in subtropical North America. En: HANSKI, I.; CAMBEFORT, Y. *Dung beetle ecology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 481 pp.
- LABRADOR CHÁVEZ, G. 2005. Coleópteros necrófilos de México: distribución y diversidad. Tesis de Licenciatura, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco.
- MÁRQUEZ, J.; ASIAIN, J.; SANTIAGO-JIMÉNEZ, J. 2003. Especies de Staphylinidae (Coleoptera: Staphylinidae) de "El Mirador", Veracruz, México. *Dugesiana* 10(2): 21-46.
- MAZUR, S. 2001. Review of the Histeridae (Coleoptera) of México. *Dugesiana* 8 (2): 17-66.
- MORÓN, M. A.; TERRÓN, R. A. 1984. Distribución altitudinal y estacional de los insectos necrófilos en la Sierra Norte de Hidalgo, México. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.), 3: 1-47.
- MORRONE, J.J. 2005. Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76(2): 207-252.
- NAVARRETE, D.; HALFFTER, G. 2008. Dung beetle (Coleoptera: Scarabaeinae) diversity in continuous forest, forest fragments and cattle pastures in a landscape of Chiapas, Mexico: the effects of anthropogenic changes. *Biodiversity and Conservation* 17: 2869-2898.
- NAVARRETE-HEREDIA, J.L. 1995. Coleópteros Silphidae de Jalisco y del Volcán de Tequila incluyendo comentarios generales sobre su biología. *Dugesiana* 2(2): 11-26.
- NAVARRETE-HEREDIA, J.L.; FIERROS-LÓPEZ, H.E. 1998. Sílidos de tres localidades de Jalisco, México. *Dugesiana* 5: 49-50.
- NAVARRETE-HEREDIA, J.L.; QUIROZ-ROCHA, G.A. 2000. Necrophilous Macrocoleoptera of San Jose de los Laureles, Mo-

- relos, Mexico (Coleoptera: Scarabaeidae and Silphidae). *Folia Entomologica Mexicana* 110: 1-13.
- NAVARRETE-HEREDIA, J.L.; CORTES-AGUILAR, J. 2006. Abundance and distribution of two *Nicrophorus* species from Baja California, Mexico (Coleoptera: Silphidae). *Sociobiology* 47: 41-50.
- NAVARRETE-HEREDIA, J.L. 2009. Silphidae (Coleoptera) de México: Diversidad y distribución. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco.
- PECK, S.B.; ANDERSON, R.S. 1985. Taxonomy, phylogeny and biogeography of the carrion beetles of Latin America (Coleoptera: Silphidae). *Quaestiones Entomologicae* (21): 247-317.
- PISCES CONSERVATION LTD. 2002. Species Diversity and Richness, versión 3.0.3. Pisces Conservation Ltd., Pennington, Lymington Hants, UK.
- QUIROZ-ROCHA, G.A.; NAVARRETE-HEREDIA, J.L.; MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, P.A. 2008. Especies de Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae) y Silphidae (Coleoptera) necrófilas de Bosque de Pino-Encino y Bosque Mesófilo de Montaña en el Municipio de Mascota, Jalisco, México. *Dugesiana* 15(1): 27-37.
- REYES-NOVELO, E.; DELFÍN-GONZÁLEZ, H.; MORÓN, M.A. 2007. Copro-necrophagous beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) diversity in an agroecosystem in Yucatan, Mexico. *Revista de Biología Tropical* 55(1): 83-99.
- RIVERA, C.L.E.; GARCÍA, R.E. 1998. Análisis preliminar sobre la composición de los escarabajos necrófilos (Coleoptera: Silphidae y Scarabaeidae) presentes en dos bosques de pino (uno dañado por fuego), en la estación científica Las Joyas, Sierra de Manantlán, Jalisco, México. *Dugesiana* 5(1): 11-22.
- RODRÍGUEZ, P.; SOBERÓN, J.; ARITA, H.T. 2003. El componente beta de la diversidad de mamíferos en México. *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.) (89): 241-259.
- YÉLAMOS, T. 2002. Coleoptera. Histeridae. En: RAMOS, M. A. *Fauna Ibérica*. Vol. 17. Museo Nacional de Ciencias Naturales y Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. 411 pp.

Recibido: 12-feb-2010 • Aceptado 12-mar-2011

Sección Básica

Galling arthropod diversity in the subtropical neotropics: Espinilho savannah and riparian forests compared

Diversidad de artrópodos agalladores en el neotrópico subtropical: Sabana de Espinilho y bosques riparios comparados

MILTON DE S. MENDONÇA, JR.¹

Abstract: Xeric sites with scleromorphic vegetation appear to have higher gall-inducing arthropod richness as revealed in studies of local faunas across the world, and the harsh environment hypothesis (HEH) was proposed to explain this. However, plant richness also seems to influence galling arthropod richness positively, which appears paradoxical on a biogeographical scale. To test the HEH in southern Brazil, a sampling regime distinct from the usual local survey was adopted: eight transects were sampled during 90 min counting all galls; this was repeated three times over one year for the same transects. Xeric espinilho savannah (five transects) and mesic Uruguay River riparian forests (three transects) in subtropical Brazil were compared. Fifty-nine gall morphotypes on 15 host families were recognized out of 12,355 individual galls. Riparian forests were richer (individual-based rarefaction) and had higher gall equitabilities (bootstrapped 95% CIs); this contradicted the HEH. The plant richness hypothesis was generally supported because forests were recorded as richer in both plants and host plants. Vegetation types had different galling and host plant compositions; the latter may drive the former. Species pools appear distinct among environments, even adjacent ones, given the low similarities found. This further negates the ecological process of preference for xeric sites proposed in the HEH.

Key word: Cecidomyiidae. Eryophidae. Host plant. Community similarity. Brazil.

Resumen: Sitios xéricos con vegetación escleromórfica parecen tener mayor riqueza de artrópodos inductores de agallas de acuerdo con estudios de faunas locales en todo el mundo, y la hipótesis del estrés higrótermal (HSH) fue propuesta para explicarlo. No obstante, la riqueza de plantas también parece influenciar la riqueza de inductores de agallas positivamente, lo que parece paradójico en una escala biogeográfica. Para probar la HSH en el sur de Brasil, se adoptó un régimen de muestreo distinto de los acostumbrados inventarios locales: se muestrearon ocho transectos por 90 min contando todas las agallas; esto se repitió tres veces a lo largo de un año en los mismos transectos. Se compararon sabana espinilho xérico (cinco transectos) y bosques ribereños mesícos del Río Uruguay (tres transectos) en el Brasil subtropical. Se reconocieron 59 morfotipos de agallas en 15 familias de hospederos de los 12,355 agallas individuales. Los bosques ribereños fueron más ricos (según la rarefacción basada en individuos) y tuvieron equitabilidades más elevadas (según los intervalos de confianza de 95% por bootstrap); esto contradujo la HSH. La hipótesis de la riqueza de plantas fue soportada de modo general ya que se registraron los bosques con más riqueza en términos de plantas y plantas hospederas. Los tipos de vegetación tuvieron diferentes composiciones de agallas y de plantas hospederas; esta última puede ser responsable de la primera. Los conjuntos de especies parecen distintos entre ambientes, incluso los adyacentes, dadas las bajas similitudes encontradas. Esto también niega el proceso ecológico de preferencia por sitios xéricos propuesto en la HSH.

Palabras clave: Cecidomyiidae. Eryophidae. Planta hospedera. Similitud de la comunidad. Brasil.

Introduction

Studies on the biodiversity of arthropod gall-makers have increased in numbers in later years, with work in many geographical regions and with different approaches to measure diversity (Wright and Samways 1996, 1998; Price *et al.* 1998; Blanche 2000; Blanche and Ludwig 2001; Gonçalves-Alvim and Fernandes 2001a,b; Yukawa *et al.* 2001; Fernandes *et al.* 2002; Veldtman and McGeoch 2003; Cuevas-Reyes *et al.* 2003, 2004; Dalbem and Mendonça 2006). The first ideas on global patterns of diversity for insect gall-makers emerge from the work of Fernandes and Price with data on altitudinal and latitudinal gradients from different parts of the world (Fernandes and Price 1988, 1991; Price *et al.* 1998). Fernandes and Price hypotheses have been variedly tested and discussed, leading to an intense debate.

The hygrothermal stress or harsh environment hypothesis considers that xeric sites harbour higher local gall-in-

ducing insect richness than mesic sites because of a combination of abiotic stress such as a dry climate would benefit endophytophages such as gallers, decrease predators and parasitoid attack (Fernandes and Price 1992) and the suite of morphological and physiological characters shown by scleromorphic plants in these sites, such as resistant and long-lived leaves, low levels of plant defence investment. The plant richness hypothesis explains differences in gall-inducing taxa diversity among sites by arguing that the more plant species are in a site, the higher the number of gall-inducing species can be. Some sources give credit to this view (Wright and Samways 1996, 1998; Veldtman and McGeoch 2003; Gonçalves-Alvim and Fernandes 2001a; Dalbem and Mendonça 2006), while the pattern seen by Price *et al.* (1998) does not conform to this hypothesis on a global scale; however this pattern emerges from comparing local samples for a single diversity variable, species density (*sensu* Gotelli and Colwell 2001).

¹ Ph.D. Biología Animal & Departamento de Zoología, Instituto de Biociências, UFRGS. present address: Departamento de Ecologia, Instituto de Biociências, UFRGS; Av. Bento Gonçalves, 9500, CEP 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil. milton.mendonca@ufrgs.br

Comprehensive hypotheses on the origin of arthropod galler species diversity, especially including speciation and extinction processes, must depend on a series of assumptions about population and community ecology of such gallers, along with explicit treatments of the spatial scales considered (Mendonça 2001). Thus, a hierarchical view of hypotheses for species richness, with evolutionary explanations initiating at behavioural and population levels up to community factors is needed, along with more detailed information on diversity at local, regional and global scales; this is a recently adopted framework to attempt producing a general theory for biodiversity (Hubbell 2001). Localized small-scale biodiversity surveys will rarely be able to test wide-scale hypotheses; however, insights can be gained for general patterns.

Gall-inducing arthropod diversity was evaluated for two contrasting vegetation types, the xeric espinilho savannah and the adjacent mesic riparian forests of the western portion of the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil, within a Conservation Unit (Espinilho State Park). Diversity was evaluated through different variables and with two distinct analytical approaches: comparing individual samples and pooling samples for sites. The expectation under the harsh environment hypothesis is that species richness would be higher in xeric than in mesic sites; abundance was also expected to be higher in xeric sites, accompanying species richness, although data on this aspect has been rarely gathered in the literature; perhaps the only example in this case being Fernandes and Price (1992), but only considering species found on both environments. Gall identification by morphotyping allows analysis of beta diversity patterns among vegetation types, an essential aspect for the understanding of galling species richness that only recently has been given attention (Gonçalves-Alvim and Fernandes 2001b; Dalbem and Mendonça 2006).

Materials and Methods

Study area. The Espinilho State Park is located on the westernmost part of Rio Grande do Sul state in southern Brazil (30°13'S 51°13'W) and was established to protect the rare espinilho savannah vegetation at the only spot it occurs in Brazilian territory (SEMA 2002). The Park used to be smaller than today and only recently (2002) the area of the Park has been increased to its current 1617 ha. Under the ecoregion classification of WWF Conservation Science (Olson *et al.* 2001), this formation is within the Uruguayan savannah ecoregion (NT 0710) but has close links to the Espinal (NT 0801) and Chaco (NT 0210) vegetation types of neighbouring Argentina. It is similar in its outlook to the African savannah, with a continuous grass cover interspersed with rare shrubs and regularly spaced trees (parkland vegetation). Five tree species dominate this formation: *Acacia caven* (Molina), the espinilho, *Prosopis nigra* Griseb and *Prosopis affinis* Sprengel, all three Mimosaceae, *Parkinsonia aculeata* L., 1753 (Fabaceae) and *Aspidosperma quebrachoblanco* Schltr. (Apocynaceae), with the heliophyte Mimosaceae dominating (Galvani and Baptista 2003). The explanation for such plant formation apparently lies in soil water drainage as first suggested by Tortorelli (1956), and not in climate since this is mild and rainfall abundant (climate is Cfa in the Köppen classification, humid subtropical with no dry season and 1300 to 1500 mm rainfall per year). The dominant trees are deciduous, have small leaves, grow with twisted branches and have abundant thorns. Most shrubs are also thorny and twisted in

habit, thus characterising a scleromorphic syndrome for the vegetation.

Riparian forests run alongside most of the medium to large-sized rivers in this region, although most brooks have been deprived of them by human influence. The vegetation is semi-deciduous; canopies rarely reach higher than 10 m. These forests are richer in plant species than the savannah and some of the most common thorny shrub species in the latter formation also occur in the riparian forests (Galvani and Baptista 2003).

Sampling. Representative sampling sites of the two vegetation types were chosen (espinilho savannah: 30°11'16"S, 57°27'07"W; 30°12'07"S, 57°29'41"W; 30°03'50"S, 57°23'02"W; 30°11'06"S, 57°29'54"W; 30°11'50"S, 57°29'42"W; riparian forest, 30°10'14"S, 57°33'14"W; 30°11'03"S, 57°35'41"W; 30°11'07"S, 57°35'47"W). However, logistic reasons prevented reaching an ideal sampling balance: there were three sites for forests and five sites for espinilho. The same sites were visited three times along a year covering all seasons but winter, but three of the five espinilho sites had only two visits.

Sampling consisted of transecting through the sites for 1h 30min searching the vegetation for galls (as used by Dalbem and Mendonça 2006). All galls found in the field were attributed to provisional morphotypes and counted; a few galls from each morphotype were collected and brought to the laboratory. Sampling was always carried out by the author, so sampling experience was not an issue. Because the vegetation types sampled here were not very tall (see above), the question of galls up in the canopy being missed during sampling is minimised. Collected galls were used to confirm morphotyping, being photographed and described in terms of external and internal morphology, considering aspects such as organ attacked, gall and chamber size, shape, colour, and other characteristics, and occupants. Gallers were identified to family level, however many gall types were found unoccupied and thus taxonomic identification was impossible, although undoubtedly such galls were caused by arthropods. Host plants were identified to the lowest level possible as well, however, the lack of comprehensive plant surveys and botanical specialists in the region means identification is difficult and tentative. Plants, galls and its occupants are kept in the reference insect collection of the Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

Analysis. Vegetation types were compared for galling diversity using two methods: samples (visits) as units and transects (samples pooled) as units. Diversity with sample as unit was analysed through a MANOVA (calculated with SPSS 13.0) with field trip order (first, second or third sample on a site) and vegetation type as factors, with gall species density (*sensu* Gotelli and Colwell 2001), overall gall abundance and equitability as variables.

Site diversity comparison was hampered by the differing sampling efforts among sites (some with two and some with three visits). To provide an illustration of the regional species density, data from each vegetation irrespective of site and sampling date was pooled with sample-based rarefaction (using *EstimateS* 8.0, Colwell 2005). Species richness between vegetation types was compared with an individual-based rarefaction with all samples and sites pooled for each vegetation type; bootstrap-generated confidence intervals for equitabil-

ity were compared (both performed by *PASt* 1.86, Hammer *et al.* 2001). Because both methods use abundance data to estimate deviations, no comparison for galler abundance is possible at this level.

Beta diversity patterns were illustrated for each vegetation type with non-metric multidimensional scaling analysis (nMDS), a preferred form of ordination for best showing in few dimensions the relationships among sites in species composition studies (Legendre and Legendre 1998). Simpson and Morisita similarity indexes were used (also performed by *PASt* 1.86) for both individual samples and pooled samples for each site. The Simpson index is recommended among presence/absence indexes (Koleff *et al.* 2003) because it takes species richness differences into account when comparing two samples. The Morisita index is recommended among quantitative measures, that is, those taking species abundance into account (Hammer *et al.* 2001). Significance for differences in species composition between vegetation types was accessed by ANOSIM tests (Analysis of Similarity, randomised 10,000 times, again calculated by *PASt* 1.86). The same analyses were performed on host plant family and host plant species composition between vegetation types, although only for the site level, not the sample level. ANOSIM is in some ways equivalent to MANOVA (comparing within group similarity to between group similarity), but using a randomisation technique that leads to a robust test (Clarke and Green 1998). A Mantel test (correlation between matrices) was used to compare similarity in galling species and host plant family among sites (with *PASt* 1.86).

Results

After 21 samples (31.5 h of sampling) on eight sites, 59 gall morphotypes were found out of 12355 galls counted. On average, there were 10.5 (± 0.51 SE) gall morphotypes per sample, of 588.3 galls counted per sample (± 145.70 SE). One morphospecies was dominant, with 5,820 galls: this is an unknown small Eryophidae gall on the leaflets of *Acacia caven* Molina (Mimosaceae).

Fifty-three of the host plants were identified to family level resulting in 23 host plant species. Fifteen plant families were found galled (Anacardiaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Malvaceae, Mimosaceae, Myrtaceae, Rhamnaceae, Rubiaceae, Sapindaceae, Smilacaceae, Tiliaceae, and Verbenaceae). Only 24 of the gallers were identified to order level, most belonging to the Diptera (eight spp., six of these are Cecidomyiidae), followed by Hemiptera, Acari, Hymenoptera (two being Cynipidae, an infrequent group for the Neotropics), Lepidoptera and a single Coleoptera (Curculionidae).

There were no differences between the two vegetation types (MANOVA, Pillai's Trace=0.162, $F_{3,13}=0.835$, $P=0.498$), for any of the variables: abundance, species richness and equitability. Sampling order was non-significant either (Pillai's Trace=0.415, $F_{6,28}=1.223$, $P=0.324$), indicating no effect of sampler experience: the repeated visits to the sites did not lead to detection of more galls or gall types as time went by. However, pooling samples reveals a different picture. Sample-based rarefaction shows mesic riparian forests having significantly more species (Fig. 1A) than xeric espinilho savannah, and a steeper accumulation curve as well. The individual-based rarefaction confirms a significantly higher

species richness for forests than savanna (Fig. 1B), and the bootstrap shows forests to have significantly higher equitabilities for gallers than savanna (Fig. 1C).

Of the 59 galling morphospecies, only 16 were common to the two vegetation types, 33 were exclusive to the forest and 10 to the savanna. The qualitative comparison of species composition (Simpson index) shows two separate clouds for the vegetation types but two riparian forest samples close to the savanna cloud (Fig. 2A). When a quantitative index is used (Morisita), the result is analogous but now the two clouds slightly overlap each other (Fig. 2B). With samples pooled for each site, both indexes show quite separate clouds (Fig. 2C, D), with espinilho sites quite close together. The ANOSIM tests confirm the above picture of vegetation type as the important factor segregating sites in terms of species

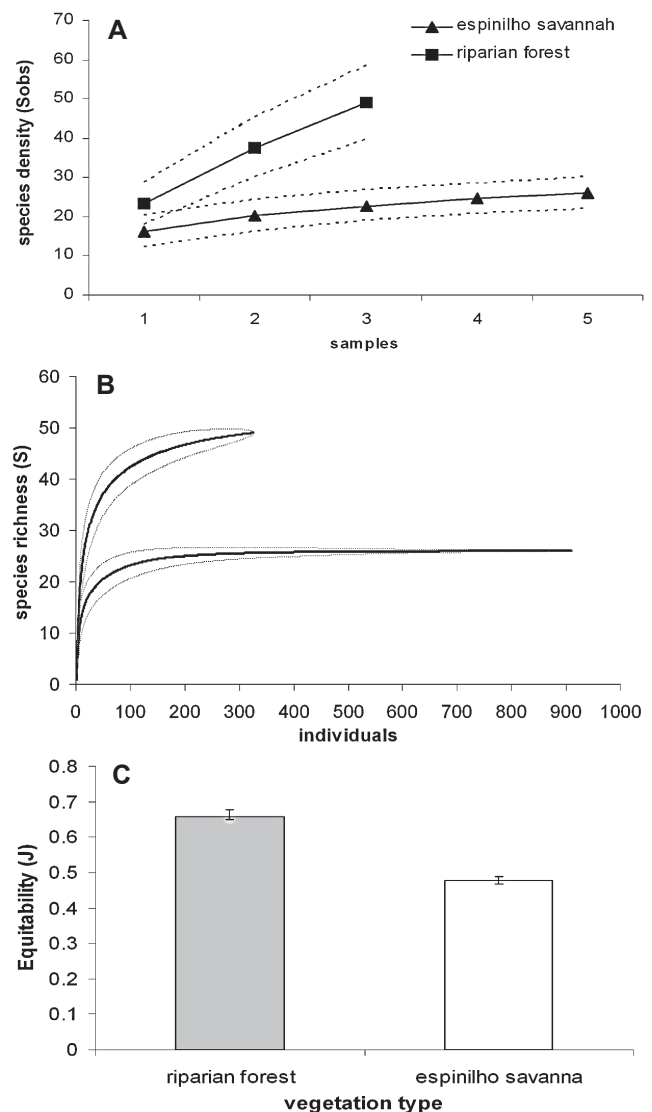


Figure 1: Galler diversity comparing adjacent vegetation types: **A)** sample-based rarefaction curve (calculated with EstimateS 8.0, Colwell 2001) for observed species density (Sobs) in riparian forest (open squares) and espinilho savannah (closed squares) vegetation types; **B)** individual-based rarefaction, riparian forest is the curve above and espinilho savannah the curve below; **C)** community equitability (Pielou's J) for riparian forests (grey bar) and espinilho savannah (open bar). Dotted lines (in A and B, analytical solution) and error bars (in C, obtained by bootstrapping) are 95% confidence intervals.

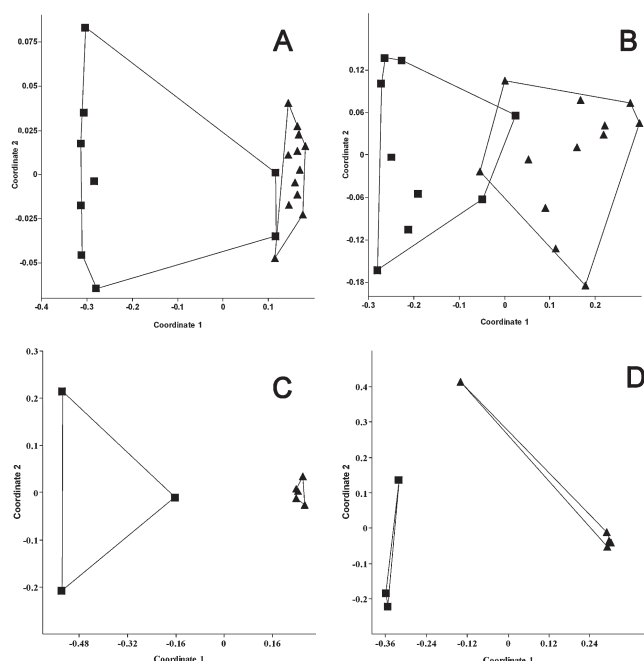


Figure 2. Non-metric multidimensional scaling analysis for galling arthropod species composition among sampling sites in different vegetation types (riparian forest: triangles; espinilho savannah: squares): **A** individual samples for each site, qualitative similarity index (Simpson); **B** individual samples for each site, quantitative similarity index (Morisita); **C** samples pooled for each site, qualitative similarity index (Simpson); **D** samples pooled for each site, quantitative similarity index (Morisita). Polygons are convex hulls drawn through outermost points of a group.

composition to be statistically significant (Table 1) for both individual and pooled samples, for both qualitative and quantitative indexes.

Of the 15 host plant families, only eight appeared on the savanna, whilst all appeared in the forests. Considering host species, 22 were found in the forest and only 11 in the savanna. Host plant family and host plant species composition with samples pooled for each site returns the same picture as for the gallers above, with visible (Fig. 3) and significant differences between the two types of vegetation (Table 1). The analyses at the sample level (no pooled samples) were very similar in pattern and values and are thus not shown, there were clear differences between vegetation types, although not between sites, as happened for gallers. The Mantel tests

revealed a high correlation between site similarity for galling species and for host plant families ($R^2 = 0.654$; $P = 0.008$) and a very high correlation for galling species and for host plant species ($R^2 = 0.969$; $P < 0.001$), as expected.

Discussion

Most information on arthropod galler diversity come from species richness gathered from local samples, even for different research groups, for example Fernandes and Price (1991), Yukawa *et al.* (2001), Blanche (2000); that is, sampled sites are visited only once and data on species richness are considered only without gall counting or identifying galls, gallers or host plants across sites. The easy standardisation of galler sampling has allowed a comparative global picture of local species richness to emerge (Price *et al.* 1998), which lead to interesting questions and raised a debate on the processes behind the pattern (Mendonça 2001; Ribeiro 2002). However, biodiversity data are difficult to scrutinize and many different avenues for analysis exist. Here it is shown how different statistical treatments can lead to contrasting answers to the same question; most work on gallers cannot employ sample-based or individual-based methods, because of this sampling method issue.

Although for samples considered as units no differences were detected for either arthropod galler species richness, overall abundance or community equitability between two contrasting adjacent vegetation formations, the pooling methods showed these differences to exist. The mesic riparian forest has more species of arthropod gallers and equitabilities were higher for these galler communities than for adjacent xeric espinilho savannah. The latter can be attributed to the strong dominance exerted by the Eryophid species in espinilho, an unreported pattern perhaps common to xeric vegetation types. Data on overall abundance and relative abundance among species (equitability) are rare in the gall-inducer literature, and this paper probably constitutes the first analytical comparison of these variables in diversity studies.

Under the hygrothermal stress hypothesis (Price *et al.* 1998), the expectation would be for xeric sites to be richer in species and higher in abundance, but no hypothesis on arthropod galler diversity attempts to predict patterns for community equitability. Not only the expectation of the above hypothesis was not met at the scale the prediction is made (local diversity), it was reversed for the pooled data, with more species in the mesic environment.

Table 1. ANOSIM test results for galling arthropod species composition and host plant family and species composition differences between riparian forest and espinilho savannah vegetation types (with either individual samples or pooled samples, for details see text) for two similarity indexes, Simpson (S, qualitative) and Morisita (M, quantitative). Calculations done with *PASSt* software v. 1.86 (Hammer *et al.* 2001).

	Gall species composition				Host plant family composition		Host plant species composition	
	Individual		Pooled		Pooled		Pooled	
	S	M	S	M	S	M	S	M
mean rank within	65.25	67.5	8	7.769	11.04	10.08	10.35	7.692
mean rank between	143.5	141.4	20.13	20.33	17.5	18.33	18.1	20.4
<i>R</i>	0.7453	0.7037	0.8667	0.8974	0.4615	0.5897	0.5538	0.9077
<i>P</i>	< 0.0001	0.0001	0.0184	0.0172	0.0386	0.0348	0.052	0.0159

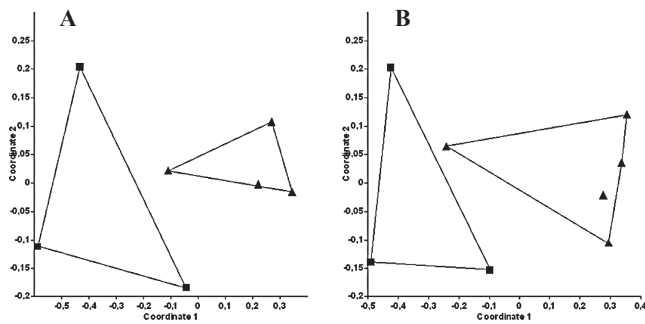


Figure 3: Non-metric multidimensional scaling analysis for host plant family composition among sampling sites in different vegetation types (riparian forest: triangles; espinilho savannah: squares): **A)** qualitative similarity index (Simpson); **B)** quantitative similarity index (Morisita).

The remaining question is the generality of this pattern for arthropod gallers, an apparent paradox raised by Mendonça (2001) in which xeric sites could have more species “locally” but not “regionally”. This led Espírito-Santo and Fernandes (2007) to predict that tropical forests would probably have in a large scale more species of gallers than savannas or equivalent xeric tropical vegetation formations, although on a very local scale the latter are richer. This equates to saying that alpha diversity is high but beta diversity is low for xeric sites compared to mesic environments. There are increasing amounts of data on mostly mesic tropical systems showing beta diversity to be lower than expected for insect herbivores (e.g. Novotny *et al.* 2007): if gallers can be shown to consistently have high beta diversity on mesic tropical sites this would be in contrast to these other tropical herbivores.

The results for host plants indicate that plant richness is also a component of the pattern found. Although no standardised plant survey was employed to demonstrate differences in plant richness on the sampled sites, there are large differences in family and species richness of host plants between vegetation types. The literature also indicates riparian forests to be richer (Galvani and Baptista 2003), but no standardised methods were used in this case either. These data seem to support the plant richness hypothesis in this case.

Gall morphotyping across sites requires a more intense sampling effort, but it also allows analysis of beta diversity, that is, comparisons of the species composition of the sites and vegetation types besides species richness. The analysis of similarity showed species composition to significantly differ between vegetation types at the two scales used here, with sites in the espinilho savannah quite similar among themselves. This may seem obvious given that there are always differences in plant composition among vegetation types, as detected in the Mantel test. Compositional differences between vegetation types can be interpreted either as differences in galls or in host plants, but nevertheless they demonstrate that the differences detected for galling species richness are not due to differential environment preference, as suggested by Fernandes and Price (1988). These authors demonstrated that in six insect gall-inducing species most perform better on hygrothermal stressed plants, and thus they suggested female preference for xeric sites as one possible mechanism to explain the higher richness of gallers on xeric sites. However, in the case presented here the difference in galler species

composition between the two vegetation types contradicts the idea of a single galler species pool with most species having a preference for xeric sites, that is, an ecological process as chance or directional dispersal may not be involved.

Developing a spatially and temporally multi-scale perspective on arthropod galler species richness and other diversity variables such as overall community abundance and equitability is perhaps a necessary step in the direction of a better understanding of the ecological patterns of these organisms. Since complete taxonomic identification would be too cumbersome for wide scale work, especially in the Neotropics, using at least explicitly defined morphospecies at all scales would also allow a deeper exploration of beta diversity patterns, largely unknown. Analyses at larger spatial scales than those used here may also help to define which processes may be responsible for these patterns, generating more insights into speciation and colonisation/extinction dynamics.

Acknowledgements

I would like to thank Helena Romanowski and the people of the entomology laboratories of UFRGS for help in the field and lab and for useful discussions. Sincere thanks to G. Wilson Fernandes for helpful comments on an earlier version of this paper. Thanks to ProDoc-CAPES and CNPq (Brazilian National Science Council) for funding. This is contribution no. 495 to Departamento de Zoologia, UFRGS.

Cited Literature

- BLANCHE, K.R. 2000. Diversity of insect-induced galls along a temperature-rainfall gradient in the tropical savannah region of the Northern Territory, Australia. *Austral Ecology* 25: 311-318.
- BLANCHE, K.R.; LUDWIG, J.A. 2001. Species richness of gall-inducing insects and host plants along an altitudinal gradient in Big Bend National Park, Texas. *American Midland Naturalist* 145: 219-232.
- CLARKE, K.R.; GREEN, R.H. 1998. Statistical design and analysis for a “biological effects” study. *Marine Ecology Progress Series* 46: 213-226.
- COLWELL, R.K. 2005. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 8.0 [Internet]. Storrs (CT): University of Connecticut; [cited 2009 Jun 10] Available from: <http://purl.oclc.org/estimates/>
- CUEVAS-REYES, P.; SIEBE, C.; MARTÍNEZ-RAMOS, M.; OYAMA, K. 2003. Species richness of gall-forming insects in tropical rain forest: correlations with plant diversity and soil fertility. *Biodiversity & Conservation* 12: 411-422.
- CUEVAS-REYES, P.; QUESADA, M.; HANSON, P.; DIRZO, R.; OYAMA, K. 2004. Diversity of gall-inducing insects in a Mexican tropical dry forest: the importance of plant species richness, life-forms, host plant age and plant density. *Journal of Ecology* 92: 707-716.
- DALBEM, R.V.; MENDONÇA, M. DE S., Jr. 2006. Diversity of galling arthropods and host plants in subtropical forests of Porto Alegre, southern Brazil. *Neotropical Entomology* 35: 616-624.
- ESPIRITO-SANTO, M.M.; FERNANDES, G.W. 2007. How many species of gall-inducing insects are there on Earth, and where are they? *Annals of the Entomological Society of America* 100: 95-99.
- FERNANDES, G.W.; PRICE, P.W. 1988. Biogeographical gradients in gall-inducing species richness. Tests of hypotheses. *Oecologia* 76: 161-167.
- FERNANDES, G.W.; PRICE, P.W. 1991. Comparison of tropical and temperate gall-inducing species richness: the roles of environmental harshness and plant nutrient status. In: Price PW, Lewinsohn TM, Fernandes GW, Benson WW (eds) *Plant-Animal*

- Interactions: Evolutionary Ecology in Tropical and Temperate Regions. New York (NY): John Wiley and Sons, p. 91-115.
- FERNANDES, G.W.; PRICE, P.W. 1992. The adaptive significance of insect gall distribution: survivorship of species in xeric and mesic habitats. *Oecologia* 90: 14-20.
- FERNANDES, G.W.; JULIÃO, G.R.; ARAUJO, R.C.; ARAUJO, S.C.; LOMBARDI, J.A.; NEGREIROS, D.; CARNEIRO, M.A. 2001. Distribution and morphology of insect galls of the Rio Doce Valley, Brazil. *Naturalia* 26: 211-244.
- FERNANDES, G.W.; VARELA, O.; BUCHER, E.H.; CHANI, J.M.; ECHEVARRIA, A.L.; ESPÍRITO-SANTO, M.M.; LIMA, J.; NEGREIROS, D.; TOLEDO, C.S. 2002. Gall-forming insects on woody and herbaceous plant species of the semi-arid chaco forest, Argentina. *Lundiana* 3: 20-30.
- GALVANI, F.R.; BAPTISTA, L.R. DE M. 2003. Flora do Parque Estadual do Espinilho – Barra do Quaraí/RS. *Revista da Faculdade Zootécnica Veterinária e Agronômica de Uruguaiana* 10: 148-168.
- GONÇALVES-ALVIM, S.J.; FERNANDES, G.W. 2001a. Biodiversity of gall-inducing insects: historical, community and habitat effects in four neotropical savannas. *Biodiversity & Conservation* 10: 79-98.
- GONÇALVES-ALVIM, S.J.; FERNANDES, G.W. 2001b. Comunidade de insetos galhadores (Insecta) em diferentes fisionomias do cerrado em Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 18(suppl. 1): 289-305.
- GOTELLI, N.; COLWELL, R.K. 2001. Quantifying biodiversity: Procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* 4: 379-391.
- HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 9 pp.
- HUBBELL, S.P. 2001. The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography. Monographs in Population Biology no. 32, 1st ed. Princeton (NJ): Princeton University Press.
- KOLEFF, P.; GASTON, K. J.; LENNON, J. J. 2003. Measuring beta diversity for presence-absence data. *Journal of Animal Ecology* 72: 367-382.
- LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. 1998. Numerical Ecology. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier.
- MENDONÇA, M. DE S.; JR. 2001. Gall-inducing insect diversity patterns: the resource synchronisation hypothesis. *Oikos* 95: 171-176.
- NOVOTNY, V.; MILLER, S.E.; HULCR, J.; DREW, R.A.I.; BASSET, Y.; JANDA, M.; SETLIFF, G.P.; DARROW, K.; STEWART, A.J.A.; AUGA, J.; ISUA, B.; MOLEM, K.; MANUMBOR, M.; TAMIAT, E.; MOGIA, M. WEIBLEN, G.D. 2007. Low beta diversity of herbivorous insects in tropical forests. *Nature* 448: 692-697.
- OLSON, D.M.; DINERSTEIN, E.; WIKRAMANAYAKE, E.D.; BURGESS, N.D.; POWELL, G.V.N.; UNDERWOOD, E.C.; D'AMICO, J.A.; ITOUA, I.; STRAND, H.E.; MORRISON, J.C.; LOUCKS, C.J.; ALLNUTT, T.F.; RICKETTS, T.H.; KURA, Y.; LAMOREUX, J.F.; WETTENGEL, W.W.; HEDAO, P.; KASSEM, K.R. 2001. Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth. *BioScience* 51: 933-938.
- PRICE, P.W.; FERNANDES, G.W.; LARA, A.C.F.; BRAWN, J.; BARRIOS, H.; WRIGHT, M.G.; RIBEIRO, S.P.; ROTHCLIFF, N. 1998. Global patterns in local number of insect gall-inducing species. *Journal of Biogeography* 25: 581-591.
- RIBEIRO, S.P. 2002. Insect herbivores in the canopies of savannas and rainforests: revisiting Fernandes and Price's Harsh Environment hypothesis. In: Basset, Y., Novotny, V., Miller, S., Kitching, R. (eds). *Arthropods of Tropical Forests: Spatio-Temporal Dynamics and Resource Use in the Canopy*. Cambridge (MA): Cambridge University Press, p. 234-245.
- SEMA (Secretaria Estadual do Meio Ambiente) 2002. Unidades de Conservação: Parque Estadual do Espinilho [Internet]. Porto Alegre (RS): [cited 2010 Mar 12]. Available from: <http://www.sema.rs.gov.br/sema/html/bioconh9.htm>
- TORTORELLI, L.A. 1956. Maderas y bosques Argentinos, 1st ed. Buenos Aires (BA): ACME Editora.
- VELDTMAN, R.; MCGEOCH, M.A. 2003. Gall forming insect species richness along a non-scleromorphic vegetation rainfall gradient in South Africa: the importance of plant community composition. *Austral Ecology* 28: 1-13.
- WRIGHT, M.G., SAMWAYS, M.J. 1996. Gall-insect species richness in African Fynbos and Karoo vegetation: the importance of plant species richness. *Biodiversity Letters* 3: 151-155.
- WRIGHT, M.G.; SAMWAYS, M.J. 1998. Insect species richness tracking plant species richness in a diverse flora: gall-insects in the Cape Floristic Region, South Africa. *Oecologia* 115: 427-433.
- YUKAWA, J.; TOKUDA, M.; UECHI, N.; SATO, S. 2001. Species richness of galling arthropods in Manaus, Amazon and the surroundings of the Iguassu Falls. *Esakia* 41: 11-15.

Recibido: 8-jun-2010 • Aceptado: 31-mar-2011

Factibilidad de cría de *Pteronymia zerlina* y *P. medellina* (Lepidoptera: Danainae: Ithomiini)

Breeding feasibility of *Pteronymia zerlina* and *P. medellina* (Lepidoptera: Danainae: Ithomiini)

IVÓN ANDREA BOLAÑOS-MARTÍNEZ¹ y GISELLE ZAMBRANO-GONZÁLEZ²

Resumen: El conocimiento de la biología de las diferentes especies de mariposas es de gran importancia para proponer planes de desarrollo sostenible, ecoturismo, educación ambiental y conservación de ecosistemas. En este estudio de factibilidad de cría se suministra información sobre la supervivencia bajo dos sistemas de cría, *in situ* y *ex situ*, de *Pteronymia zerlina* y *P. medellina*. Se realizó colección manual de los estados inmaduros de las mariposas. Para la cría *in situ*, se identificaron en el bosque plantas huésped con huevos y se realizó el seguimiento del ciclo de vida allí. Para la cría *ex situ* se coleccionaron huevos y se transportaron a un laboratorio de cría. La factibilidad de cría se determinó por medio de tasas de mortalidad y tasas de supervivencia. La cría *ex situ* de *P. zerlina* presentó el 64,7% de supervivencia, e *in situ* 22,9%. La cría *ex situ* de *P. medellina* presentó 63% y 42% bajo condiciones *in situ*. La cría *ex situ* mostró mayores probabilidades de cría.

Palabras clave: Conservación. Zoocría. Biocomercio. Cauca.

Abstract: Knowledge of the biology of the different species of butterflies is of great importance to propose plans of sustainable development, ecotourism, environmental education and conservation of ecosystems. In this study of breeding feasibility, information is provided on survivability under two breeding systems, *in situ* and *ex situ*, of *Pteronymia zerlina* and *P. medellina*. A manual collection of the immature butterfly stages was conducted. For the *in situ* breeding, host plants with eggs were identified in the forest and the life cycle was followed there. For the *ex situ* breeding, eggs were collected and transported to a breeding laboratory. The breeding feasibility was determined by means of mortality rates and survival rates. The *ex situ* breeding of *P. zerlina* presented 64.7% survival and the *in situ* 22.9%. The *ex situ* breeding of *P. medellina* presented 63% and 42% under *in situ* conditions. The *ex situ* breeding showed higher breeding probabilities.

Key words: Conservation. Zoocría. Bio-commerce. Cauca.

Introducción

La zoocría señala un mecanismo ventajoso de aprovechamiento de la diversidad por la fuerte unión entre la conservación y el desarrollo sostenible (Claro 2005). Colombia es el segundo país más rico del mundo en mariposas diurnas (Amat *et al.* 1999), pero se tiene poca información sobre la biología, así como sobre las condiciones de cría de diferentes especies de interés comercial. Esto es preocupante puesto que no existe un protocolo que garantice el éxito de las crías que se van a realizar en cada zona de trabajo (Constantino 1997; Prieto *et al.* 1999; Fagua *et al.* 2002; Gómez-S. y Fagua 2002; Sánchez-López 2004; Vélez-Arango 2005).

Los itóminos (Danainae: Ithomiini) o mariposas alas de cristal, son diurnas de distribución Neotropical que presentan vuelo lento y se alimentan de néctar de flores de diversas plantas (Boraginaceae y Asteraceae) de las cuales adquieren alcaloides pirrolizílicos que después son usados para atraer a las hembras (Brown 1984; Brower *et al.* 2006). Durante los estados inmaduros sus plantas huésped son principalmente de la familia Solanaceae (Drummond y Brown 1987). La tribu Ithomiini es objeto de estudio taxonómico, pues la mayor parte de sus especies se ven envueltas en anillos de mimetismo (Joron y Mallet 1998; DeVries *et al.* 1999) y los estados inmaduros han permitido un mejor conocimiento sistemático de algunos géneros como *Hyaleanna* (Willmott y Lamas

2006), *Pachacutia* (Willmott y Lamas 2007) y *Megoleria* (Willmott y Lamas 2008).

Algunos estudios indican que las mariposas son un valioso recurso de comercialización industrial en decoración y accesorios, puesto que tienen un amplio rango de distribución y se encuentran en diferentes condiciones ecológicas (Morris *et al.* 1991; Parsons 1992). Para establecer sistemas de cría se ha propuesto la cría *ex situ* e *in situ*, siendo la más usada la *ex situ* por ser un sistema intensivo artificial que implica alta productividad (Constantino 1996). Mientras que la cría *in situ* se puede implementar como un método de conservación de ecosistemas (Parson 1992).

En este estudio se recurrió a un sistema de cría *in situ* y *ex situ*. La cría *in situ* propuesta consiste en la identificación de la planta huésped que presente postura de huevos (solitaria o gregaria), para luego cubrirla con una malla de tela cuando los individuos estén en la fase pupal, realizando allí el seguimiento del ciclo hasta que los adultos emerjan. La cría *ex situ* aplicada es la combinación de la cría *ex situ* convencional (Gómez-S. 2006) y el rancho.

La determinación de la factibilidad de cría calculando las tasas de mortalidad y supervivencia mediante la técnica demográfica de tablas de vida (Begon *et al.* 1999), permite entender la dinámica poblacional de un grupo de organismos (Cividanes 2002) y estudiar algunos aspectos de la biología de los insectos, como tiempo de desarrollo y supervivencia

¹ Bióloga; Universidad del Cauca; Grupo de Investigación Biología Molecular Ambiental y Cáncer BIMAC: Cra. 4C N° 19BN-12 Popayán, Cauca, Colombia. ivonand_30@hotmail.com. Autora para correspondencia. ² M.Sc. Departamento de Biología Universidad del Cauca. Colombia. Grupo de estudios en Geología, Ecología y Conservación-GECO-UC. Casa 237 Aída Lucia Popayán Cauca, Colombia. gzambranog@unicauca.edu.co

(Kazak *et al.* 2002). Se presentan datos de la duración de los ciclos de vida y factibilidad de cría para dos especies del género *Pteronymia*, comparando la cría *in situ* y *ex situ*. Esta información es de utilidad para quien pretenda iniciar proyectos de zoocría y de conservación a corto y mediano plazo.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en la Finca Bellavista (3,2°36'40, 35356"N 76°31'27N, 93483"W), ubicada en el municipio de Cajibío (Cauca) a una altitud de 1900 msnm, temperatura media anual de 18,5°C y precipitación media anual de 2260 msnm. Es clasificada como zona de vida de Bosque húmedo Premontano (bh-p) según el sistema de clasificación de Holdridge (1963). Los muestreos para coleccionar las diferentes fases de desarrollo se realizaron durante los meses de enero, febrero y marzo de 2009. Se hicieron 16 muestreos por mes, cada uno de 6h. Los huevos, larvas y pupas, al igual que las plantas huésped se coleccionaron de forma manual y se llevaron a condiciones *in situ* y *ex situ*, para el establecimiento del ciclo de vida e identificación en fase adulta.

El material se identificó a especie con la ayuda de claves, registros fotográficos y la colaboración de los especialistas Keith Willmott y Marianne Elias. Finalmente se etiquetaron los ejemplares y se depositaron en la colección de Entomología del Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca (MHNUC EN 10.076- EN 10.080).

Cría *in situ*: Se escogieron las plantas que presentaron posturas para iniciar el seguimiento de los ciclos de vida. Una vez alcanzada la fase pupal, las plantas se cubrieron con una malla de tela para evitar el escape de los adultos. Se realizó registro fotográfico cuatro veces por día y se cuantificaron los individuos para determinar la mortalidad y duración de cada instar.

Cría *ex situ*: La metodología *ex situ* (Prieto *et al.* 1999) consistió en coleccionar los parentales del medio natural y confinarlos en un vivario adecuado con plantas huésped para la ovoposición de las hembras, luego los huevos se trasladan a un laboratorio para realizar el seguimiento del ciclo y así determinar la duración exacta de cada fase. Sin embargo, no se obtuvieron posturas suficientes y se optó por combinarla con el ranqueo (Gómez-S. 2006).

Se coleccionaron en el bosque individuos en diferentes fases de desarrollo y se llevaron al laboratorio de cría donde se colocaron en recipientes plásticos tapados con malla de tela y con partes frescas de la planta huésped. Para evitar la desecación de la planta huésped se roció con agua y la base de las hojas se cubrió con algodones humedecidos. En el interior de los recipientes se colocaron servilletas para facilitar la limpieza diaria y evitar el crecimiento de hongos (Gómez-S. 2006). Una vez inicia la fase pupal se trasladaron a jaulas de empupado (Gómez-S. 2006). Este tipo de cría no requiere grandes inversiones en la construcción de invernaderos debido a que la abundancia de la planta huésped para las dos especies es alta en la zona de estudio.

Para establecer la duración de cada fase se tuvieron en cuenta los cambios morfológicos a través del tiempo tales como: longitud corporal, ancho de las cápsulas cefálicas, vestigios de corion y exuvias de piel y de cápsulas cefálicas.

Para determinar la factibilidad de cría *in situ* y *ex situ* se contabilizaron los individuos en cada fase, determinando la

cantidad inicial y final de huevos, larvas, pupas y adultos emergidos. Al finalizar cada fase se realizó el conteo de individuos que pasaban a la siguiente fase, de este modo se calcularon las tasas de mortalidad y supervivencia. Se procesaron datos de 435 individuos de *P. zerlina* (Hewitson, 1855) (217 *in situ* y 218 *ex situ*) y 200 de *P. medellina* (Haensch, 1905) (100 *in situ* y 100 *ex situ*).

Resultados y Discusión

Se encontraron 200 posturas individuales de *P. medellina* y diez posturas gregarias de *P. zerlina* en el envés de las hojas de *Solanum aphyodendron* (Knapp, 1985) (Solanaceae). Gracias a su característica gregaria las posturas de *P. zerlina*, adquieren mayor valor comercial puesto que generan mayor número de individuos a partir de una postura y según Gómez-S. (2006), al colocar más larvas por recipiente, se reduce el tiempo invertido en su cuidado, minimizando los costos.

Duración de los ciclos de vida en cría *in situ* y *ex situ*: La duración promedio del ciclo de vida bajo condiciones *in situ* de *P. zerlina* es de 37 días y de 38 días bajo condiciones *ex situ* (Tabla 1). Para *P. medellina* es de 43 días bajo condiciones *in situ* y de 44 días bajo condiciones *ex situ* (Tabla 1). Este tiempo del ciclo es conveniente para los criaderos que quieren obtener individuos rápidamente. Los datos muestran que los individuos criados bajo condiciones *ex situ* presentan mayor duración del ciclo.

Utilizando la metodología descrita por Prieto *et al.* (1999) las hembras no ovipositaron en las plantas huésped, esto ocurrió posiblemente debido a la sensibilidad que presentan estas especies frente a cambios en su hábitat y su asociación con fuentes de agua, estas condiciones representan un desafío para la cría pues los vivarios deben ser acondicionados para brindar las mínimas condiciones para la fecundación y ovoposición.

Factibilidad y supervivencia: De los 435 individuos de *P. zerlina* criados bajo condiciones *ex situ* sobrevivió el 64,7% mientras 22,9% sobrevivió bajo condiciones *in situ*. De los 200 individuos de *P. medellina* criados bajo condiciones *ex situ* sobrevivió el 63% y bajo condiciones *in situ* el 42%. Constantino (1996) estima que en la naturaleza alrededor del

Tabla 1. Duración en días de los estadios del ciclo de vida de *P. zerlina* y *P. medellina*.

	<i>P. zerlina</i> (días)		<i>P. medellina</i> (días)	
	<i>in situ</i>	<i>ex situ</i>	<i>in situ</i>	<i>ex situ</i>
Huevo	8	9	9	9
Primer instar	5	5	4	4
Segundo instar	3	3	4	5
Tercer instar	3	3	4	4
Cuarto instar	3	3	4	4
Quinto instar	5	5	7	7
Prepupa	1	1	1	1
Pupa	9	9	10	10
Duración total del ciclo	37	38	43	44

Tabla 2. Tasas de supervivencia (sx) y mortalidad (mx) de *P. zerlina* y *P. medellina*

	<i>P. zerlina</i>				<i>P. medellina</i>			
	sx		mx		sx		mx	
	<i>in situ</i>	<i>ex situ</i>	<i>in situ</i>	<i>ex situ</i>	<i>in situ</i>	<i>ex situ</i>	<i>in situ</i>	<i>ex situ</i>
Huevo	0,93	0,94	0,07	0,66	0,9	0,7	0,1	0,3
Primer ínstar	0,8	0,88	0,2	0,12	0,88	0,92	0,12	0,08
Segundo ínstar	0,96	0,97	0,04	0,33	0,93	0,96	0,07	0,04
Tercer ínstar	0,84	0,92	0,16	0,08	0,8	1	0,2	0
Cuarto ínstar	0,68	0,97	0,32	0,03	0,88	1	0,12	0
Quinto ínstar	0,78	0,94	0,22	0,06	0,9	1	0,1	0
Pupa	0,69	0,92	0,31	0,08	0,87	1	0,13	0

La tasa de sobrevivencia se definió como la proporción de individuos sobrevivientes de cada estadio. La tasa de mortalidad se definió como la proporción de individuos que mueren de la edad x a la $x+1$.

5% de las mariposas alcanzan el estado adulto debido a enemigos naturales, pero con el sistema de cría rancheo (*ex situ*) se puede lograr que un 80% lleguen a la madurez.

Los individuos de *P. zerlina* y *P. medellina* presentan una reducción en la proporción de individuos vivos durante la fase de huevo y el primer y segundo ínstar. Este fenómeno se debe a los huevos no eclosionados o por la parasitación de las larvas. Una de las variables que más influye en la cría *ex situ* es la humedad, debido a que algunas de las larvas quedan atrapadas en las paredes de los recipientes de cría (humedad generada por rociar agua a la planta huésped); estos resultados concuerdan con lo registrado por Calvo (1999) en la cría de *Caligo atreus* (Kollar, 1849) (Nymphalidae).

De acuerdo con la tasa de mortalidad (mx) y supervivencia (sx) (Tabla 2) los individuos criados bajo condiciones *in situ* tienen menor probabilidad de sobrevivir frente a aquellos criados bajo condiciones *ex situ* debido a la presencia de enemigos naturales y parasitoides en el medio (Mazanec 1987). *Apanteles* sp. (Hymenoptera: Braconidae, Microgastrine) se encontró como el principal parasitoide de larvas de *P. zerlina*. Boscán y Godoy (1982) y Anaya *et al.* (2005) mencionan a *Apanteles* como uno de los parásitos de larvas de *Stenoma catenifer* (Walshingham, 1912) (Stenomidae) y de *Leptophobia aripa* (Boisduval, 1836) (Pieridae). Además se encontraron individuos de la familia Chalcididae (Hymenoptera) parasitando pupas de *P. medellina*. Los parasitoides de *P. zerlina* y *P. medellina* se encontraron en larvas y pupas, por esto es recomendable coleccionar los individuos en la fase de huevo y si se coleccionan estados más avanzados mantenerlos alejados y vigilados para evitar la parasitación de todo el pie de cría (Gómez-S. 2006).

La tasa de mortalidad para la fase de pupa es baja para las dos especies (Tabla 2). La mayor parte de pupas no registraron defecto en su estructura, ni tampoco formación de hongos en su exterior; sólo el 7% de adultos presentaron malformaciones, pues no consiguieron extender las alas o no lograron emerger. De acuerdo con esto, las pupas obtenidas se podrían categorizar como sanas y convierte a *P. zerlina* y *P. medellina* en especies indicadas para la comercialización.

Conclusiones

El sistema de cría *ex situ*-rancheo permitió la obtención de un mayor número de adultos, superior en un 42% para *P. zerli-*

na y 21% para *P. medellina* en comparación con el método *in situ*. Por tal razón es importante considerar este sistema de cría para proyectos de zoocría. Aunque las especies de la tribu Ithomiini son susceptibles a los cambios ambientales, *P. zerlina* y *P. medellina* pueden ser consideradas buenas candidatas para proyectos de zoocría, en especial *P. zerlina* por sus posturas gregarias.

Agradecimientos

A el Doctor Keith Willmott (Universidad de Florida) y a la Doctora Marianne Elias (Universidad de Cambridge) por la identificación de los ejemplares, a los profesores Bernardo Ramírez y Diego Macías por la identificación de las especies vegetales, a Patricia Mosquera y la Unidad de Microscopia Electrónica de la Universidad del Cauca, a los grupos GECO y BIMAC por su apoyo, al Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca. A el señor Ivan Rebolledo y Alma Castro propietarios de la finca Bellavista. A la Doctora Patricia E. Vélez, al Doctor Liodegar Martínez y al M. Sc. Carlos E. Giraldo por sus valiosos aportes. Este trabajo se realizó con el apoyo financiero de la Sociedad Colombiana de Entomología por concepto de beca de apoyo a la investigación en las Universidades Colombianas.

Literatura citada

- AMAT, G.; ANDRADE-C., M. G.; FERNÁNDEZ, F. 1999. Insectos de Colombia. Volumen II. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Jorge Álvarez Lleras. No. 13. Editora Guadalupe Ltda. Bogotá. Colombia. 433 p.
- ANAYA, J. E.; SANHUEZA, A.; VIÑUELA, E.; GERRERO, A. F. 2005. "*Apanteles glomeratus*", parasitoide de larvas de la mariposa blanca de la col, "*Pieris brassicae*". Phytoma 169: 58-64.
- BEGON, M.; HARPER, J. L.; TOWNSEND, C. R. 1999. Ecología: individuos, poblaciones y comunidades. Ediciones Omega S.A., Barcelona. 886 p.
- BOSCÁN, N.; GODOY, F. 1982. *Apanteles* sp. (Hymenoptera: Braconidae) parásito del taladrador del fruto del aguacate *Stenoma catenifer* Walsingham (Lepidoptera: Stenomidae) en Venezuela. Agronomía Tropical 32(1-6): 319-321.
- BROWN, K. 1984. Adult-obtained pyrrolizidine alkaloids defend Ithomiinae butterflies against a spider predator. Nature 309: 707-709.

- BROWER, A. V. Z.; FREITAS, A. V. L.; LEE, M.; SILVA-BRANDAO, K. L.; WHINNETT, A.; WILLMOTT, K. R. 2006. Phylogenetic relationships among the Ithomiini (Lepidoptera: Nymphalidae) inferred from one mitochondrial and two nuclear gene regions. *Systematic Entomology* 31(2): 288-301.
- CALVO, R. 1999. Éxito reproductivo de *Caligo atreus* (Lepidoptera: Nymphalidae) en condiciones de cultivo. *Revista de Biología Tropical* 47 (3): 539-544.
- CIVIDANES, F. J. 2002. Tabelas de vida de fertilidade de *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) em condições de campo. *Neotropical Entomology* 31(3): 419-427.
- CLARO, C. R. A. 2005. Manual Cría de mariposas. Una actividad rentable. Fundación Hogares Juveniles Campesinos, editorial San Pablo, Colombia. 112 p.
- CONSTANTINO, L. M. 1996. Ciclos de vida y plantas hospederas de lepidópteros diurnos de Colombia, con potencial en condiciones de Colinas bajas del Choco biogeográfico. p. 75-86. En: Libro de memorias II Seminario Investigación y manejo de fauna para la construcción de sistemas sostenible. INCIVA, Universidad Javeriana, IMCA, CIPAV, WWF, Instituto Alexander Von Humboldt. Cali. 237 p.
- CONSTANTINO, L. M. 1997. Conocimiento de los ciclos de vida y plantas hospederas de lepidópteros diurnos de Colombia, como estrategia para el manejo, uso y conservación de poblaciones silvestres. p. 57- 89. En: Libro de memorias I Seminario nacional Aconteceres Entomológicos. GEUN-Universidad Nacional. Medellín. 282 p.
- DeVRIES, P. J.; LANDE, R.; MURRAY, D. 1999. Associations of co mimetic Ithomiinae butterflies on small spatial and temporal scales in Neotropical forests. *Biological Journal of the Linnean Society* (67): 73-85.
- DRUMMOND, B. A.; BROWN, J. R. 1987. Ithomiinae (Lepidoptera: Nymphalidae): summary of known larval food plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74: 341-358.
- FAGUA, G.; GÓMEZ, R.; GÓMEZ-MEJÍA, A. 2002. Estudio de viabilidad para la cría de mariposas y coleópteros como alternativa productiva para la regeneración del bosque en territorios dedicados a la siembra de cultivos ilícitos en San José del Guaviare (Colombia). *Aracnet 9 - Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa* (30): 223-224.
- GÓMEZ-S., M. R. 2006. Plan de manejo propuesto para la cría de mariposas promisorias como alternativa productiva para comunidades indígenas de la Amazonía colombiana. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa* 1 (38): 451-460.
- GÓMEZ-S., M. R.; FAGUA, G. 2002. Ciclo de desarrollo y hospederos de *Heraclidas anchisiades* (Lepidoptera: Papilionidae) un modelo exploratorio para evaluar la sostenibilidad de la cría de mariposas ornamentales en la comunidad indígena de Peña Roja. *Revista Colombiana de Entomología* 28(1): 69-81.
- HOLDRIDGE, L. R. 1963. Memoria sobre el mapa geológico de Colombia. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá. 258p.
- JORON, M.; MALLET, J. L. B. 1998. Diversity in mimicry: paradox or paradigm? *Trends in Ecology and Evolution* (13): 461-466.
- KAZAK, C.; YILDIZ, S.; SEKEROGU, E. 2002. Biological characteristics and life tables of *Neoseiulus umbraticus* Chant (Acari, Phytoseiidae) at three constant temperatures. *Anzeiger für Schadlingskunde* 75(5): 118-121.
- MAZANEC, Z. 1987. Enemigos naturales de *Perthida glyphopa* común (Lepidoptera: Incurvariidae). *Australian Journal of Entomology* 26(4):303-308.
- MORRIS, N. M.; COLLINS, N. M.; VANE-WRIGHT, R. T.; WANGE, J. 1991. The utilisation and value of non-domesticated insects. p. 319-347. En: *The Conservation of Insects and their Habitats*. Royal Entomological Society of London. Academic press Ltd. London. 450 p.
- PARSONS, M. J. 1992. The Butterfly Farming and Trading Industry in the Indo-Australian Region and its role in Tropical Forest Conservation. Glandele, USA. *Tropical Lepidoptera* (1): 1-31.
- PRIETO, A. V.; CONSTANTINO, L. M.; CHACÓN, U. P. 1999. Estudios sobre cría de seis especies de mariposas (Lepidoptera: Rhopalocera) del Bajo Anchicayá, Valle y contribución al conocimiento de su historia natural. *Revista Colombiana de Entomología* 25(1,2): 23-32.
- SÁNCHEZ-LOPEZ, R. 2004. Protocolo de cría para dos especies de mariposas *Asia monuste* y *Leptophobia aripa* (Lepidoptera: Pieridae) bajo condiciones controladas en el municipio de la mesa Cundinamarca. Tesis de grado, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. 159 p.
- VÉLEZ-ARANGO, A. 2005. Ciclo de vida de la mariposa de “marcas metálicas” *Mesosemia mevania* (Lepidoptera: Riodinidae) en el Parque Ecológico Piedras Blancas Colombia. Tesis de grado, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. 62 p.
- WILLMOTT, K.; LAMAS, G. 2006. A phylogenetic reassessment of *Hyalenna* Forbes and *Dircenna* Doubleday, with a revision of *Hyalenna* (Lepidoptera: Nymphalidae: Ithomiinae). *Systematic Entomology* 31(3): 419-468.
- WILLMOTT, K.; LAMAS, G. 2007. A revision of *Pachacutia*, a new genus of rare Andean Ithomiinae butterflies (Nymphalidae: Ithomiinae), with the description of two new species. *Annals of the Entomological Society of America* 100(4): 449-469.
- WILLMOTT, K.; LAMAS, G. 2008. A revision of the genus *Megoleria* (Lepidoptera: Nymphalidae, Ithomiinae). *Tropical Lepidoptera Research* 18(1):46-59.

Recibido: 8-may-2010 • Aceptado: 23-mar-2011

Forrajeo en colonias de *Melipona eburnea* (Hymenoptera: Apidae) en el piedemonte llanero (Meta, Colombia)

Foraging of *Melipona eburnea* (Hymenoptera: Apidae) colonies in the foothills of the western plains (Meta, Colombia)

GUIOMAR NATES-PARRA¹ y ÁNGELA RODRÍGUEZ C.²

Resumen: Estudiamos la actividad de vuelo de *Melipona eburnea* en Acacias (Meta, Colombia), en época lluviosa y seca. Registramos las actividades en cinco colonias; durante cada época hicimos 15 días de observaciones, tres días para cada nido, desde las 5:30 hasta las 17:00 h. cada hora, durante 10 minutos. Tanto la actividad externa como la recolección de polen fueron máximas en las primeras horas de la mañana. La recolección de polen disminuye considerablemente conforme avanza el día, y fue casi nula hacia las 10:00 h. Las forrajeras de *M. eburnea* invirtieron 11 horas diarias en sus actividades externas generales en ambas épocas. El porcentaje de obreras de *M. eburnea* que entró con carga fue bastante reducido respecto al total de abejas que llegan a los nidos (11,4%). En las horas de la tarde se incrementó el porcentaje de abejas entrando con barro (2,1%). Hubo diferencias significativas en el ingreso de materiales de construcción en las dos épocas climáticas. El porcentaje de obreras que entraron con carga fue mayor en época lluviosa que en época seca. El incremento de temperatura influyó tanto en la actividad general como en la recolección de polen.

Palabras clave: Abejas sin aguijón. Actividad externa. Forrajeras. Polen. Meliponini.

Abstract: We studied the flight activity of *Melipona eburnea* in Acacias (Meta, Colombia) over the rainy and the dry seasons. We recorded the activity in five colonies; during each season we made 15 days of observations, three days for each nest, from 5:30 to 17:00 hours, each hour for 10 minutes. Both external activity and pollen collection were maximized in the first hours of the morning. Pollen collection decreased considerably as the day advanced, and was almost nil toward 10:00 h. Foragers of *M. eburnea* spent 11 hours daily in their general external activities in both seasons. The percentage of *M. eburnea* workers that entered with loads was quite reduced compared to total bees that arrived at the nests (11.4%). In the afternoon hours the number of bees entering with mud (2.1%) increased. There were significant differences in the entry of building materials in the two climate seasons. The percentage of workers that entered with loads was greater in the rainy season than in the dry season. The increase in temperature influenced overall activity as well as pollen collection.

Key words: Stingless bees. Foragers. External activity. Pollen. Meliponini.

Introducción

La actividad de forrajeo en las abejas sociales depende de las condiciones internas de la colonia, su estado poblacional, distancia de vuelo de las obreras y de variables ambientales como temperatura, humedad relativa, intensidad luminica, precipitación, velocidad del viento (Kleinert-Giovannini y Imperatriz-Fonseca 1986; Bruijn y Sommeijer 1997; Hilário *et al.* 2003). Los ciclos de floración, la disponibilidad, forma y distribución de los recursos también son factores determinantes en la actividad de forrajeo (Marques-Souza *et al.* 1996).

La información sobre la actividad de vuelo en las abejas es importante porque proporciona datos fundamentales para el conocimiento de la biología de las especies, potencial genético de la colonia, comportamiento de forrajeo y su aplicación en la implementación de programas de manejo para polinización (Iwama 1977; Hilário *et al.* 2000).

Los comportamientos de forrajeo de las abejas varían dependiendo de las estrategias de cada especie para consecución de recursos, preferencia floral y fenología de las plantas (Ramalho *et al.* 1989). Aspectos de la actividad externa se conocen para algunas especies del género *Melipona*: *M. asilvai* Moure, 1971 (Souza *et al.* 2006), *M. beecheii* Bennett, 1831 (Biesmeijer *et al.* 1999), *M. bicolor* Lepeletier, 1836 (Hilário *et al.* 2000, Hilário y Imperatriz-

Fonseca 2009), *M. crinita* Moure y Kerr, 1850 (Cortopassi-Laurino, 2004), *M. compressipes* (Fabricius, 1804) (Kerr 1996), *M. eburnea fuscopilosa* Friese, 1900, *M. flavolineata* Friese, 1900, *M. grandis* Guérin-Ménéville, 1844, (Cortopassi-Laurino 2004), *M. marginata* Lepeletier, 1836 (Kleinert-Giovannini y Imperatriz-Fonseca 1986; Borges y Blochtein 2005), *M. quadrifasciata* Lepeletier, 1836 (Guibu *et al.* 1988), *M. seminigra* Friese, 1903 (Carvalho-Zilse *et al.* 2007) *M. subnitida* Ducke, 1910 (Bruening 1990), y *M. scutellaris* Latreille, 1811 (Kerr *et al.* 1996; Pierrot y Schlindwein 2003; Ramalho *et al.* 2007).

De las aproximadamente 70 especies de abejas del género *Melipona* en el neotrópico (Camargo y Pedro 2008) en Colombia hay algo más de 20 especies, algunas de las cuales son muy utilizadas en producción de miel (Nates-Parra 1995; Nates-Parra 2005). *Melipona eburnea* es una de las especies más comunes y se encuentra en Colombia, Perú, Bolivia y Brasil (Camargo y Pedro 2008). En nuestro país se distribuye en la Amazonia, la Orinoquia y los Andes, desde los 800 hasta los 2100 msnm (Nates-Parra 2007). Según Camargo y Pedro (2008) la especie hace parte del grupo Eburnea, típicamente amazónico. Sin embargo en Colombia hemos encontrado especies del grupo en la zona Andina (Nates-Parra 1995). La especie conocida como “ala”, “guare”, “abeja-real” es muy apreciada por la calidad de su miel; a pesar de su importancia y de ser una especie que se adapta muy bien a cría en cajas

¹ M. Sc. Profesora Titular. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. mgnatesp@unal.edu.co. Autora para correspondencia.

² Bióloga, Universidad Nacional de Colombia, atrodriquezc@unal.edu.co

racionales, está afectada por procesos de degradación de los ecosistemas, lo cual reduce sus sitios de nidificación y recursos alimenticios, además de actividades de “cazadores de miel” quienes contribuyen a la reducción de nidos en ecosistemas naturales. *Melipona eburnea* está reportada dentro de la categoría VU de la UICN (Nates-Parra 2007).

El objetivo de este trabajo es documentar aspectos de la biología de *Melipona eburnea*, especialmente en cuanto a su actividad externa y materiales recolectados en épocas secas y lluviosas en el piedemonte llanero de Colombia.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en la vereda San José del Municipio de Acacias (Meta, Colombia) a 8km del casco urbano entre los ríos Acacias y Guamal (498msnm; 26°C). El área hace parte del piedemonte llanero (3°55' 4°10'N 73°28' 73°49'W), una región importante porque representa la transición entre la cordillera Oriental y la llanura, donde se encuentran zonas de vida como el bosque húmedo tropical (bh-T), bosque muy húmedo tropical (bmh-T), bosque muy húmedo montaño bajo (bmh-MB) y zona de transición entre bosque húmedo y seco; pero también es una región donde se observa una marcada y acelerada modificación de los ambientes naturales por la expansión de la frontera agrícola y ganadera y por la creciente urbanización.

La zona particular se caracteriza por la presencia de fincas de grandes extensiones, algunos pocos fragmentos de bosque secundario y cultivos, jardines y huertas. El pastizal es el estrato predominante. Bignoniaceae, Caesalpinaceae, Euphorbiaceae, Moraceae y Verbenaceae son las familias vegetales más abundantes.

Se estudiaron cinco colonias de *Melipona eburnea*, dos de las cuales se encontraban en estado natural en árboles vivos (*Pouroma* sp y *Psidium guajava*) y eran bastante fuertes. Las otras tres se obtuvieron en el Municipio de Guamal, Vereda Monserrate y se transfirieron a cajas racionales en el Colegio Departamental Agropecuario de Acacias donde se estableció un Meliponario piloto; uno de estos nidos estaba débil y los otros dos presentaban un estado razonablemente bueno (Tabla 1).

Se registraron las actividades de las abejas y se tomaron muestras en época seca (enero-febrero de 2004) y en época lluviosa (abril-mayo de 2004). Durante cada época se hicieron 15 días de observaciones distribuidas en tres días para cada nido desde las 5:30 hasta las 17h. cada hora, durante 10 minutos. En total se hicieron 361 periodos de observación de 10 minutos cada uno. Utilizando un contador manual se re-

gistró el número de abejas entrando y saliendo de cada nido, anotando tipo de material transportado (polen, barro, resinas). Se consideró que cuando las abejas entraban sin ningún material en la corbícula (“sin carga aparente”) esto podría corresponder a cargas de néctar o agua (Cortopassi-Laurino 2004; Carvalho-Zilse *et al.* 2007). Simultáneamente se hicieron mediciones de temperatura y humedad relativa cada hora. Ocasionalmente se tomaron muestras de polen de corbículas para análisis posteriores. Para estimar las diferencias de actividad de forrajeo entre colonias, por épocas climáticas y durante el día se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. La relación entre la actividad de forrajeo y las características ambientales como temperatura y humedad se analizó mediante la correlación no paramétrica de Spearman (Gibbons y Chakraborti 2003).

Resultados y Discusión

Actividad de forrajeo durante el día. La actividad de forrajeo de *M. eburnea*, se inicia al amanecer y el forrajeo de polen es particularmente intenso en las primeras horas del día, al igual que en otras especies del género *Melipona* (Bruijn y Sommeijer 1997; Hilário *et al.* 2003; Cortopassi-Laurino 2004; Borges y Bochtein 2005; Souza *et al.* 2006, Carvalho-Zilse *et al.* 2007). Las obreras de *M. eburnea* inician su actividad entre las 5:30 y 5:45 a.m. El forrajeo es mayor en las horas de la mañana particularmente entre las 6:00 y 7:00 horas; la tendencia general es a disminuir actividad en las horas de la tarde (Figs.1A, B). El 60,7% de las abejas entran en el día, lo hace en las horas de la mañana y el 39,3% en las horas de la tarde (Tabla 2). Hay diferencias significativas tanto en la entrada ($H=23.697$, $P<0,001$) como en la salida ($H=21.487$, $P<0.001$) de obreras en horas de la mañana y la tarde. De la misma forma se presentan diferencias en el número de entradas de abejas en las diferentes horas del día ($H=42.723$, $P<0,001$).

El hecho que las abejas inicien muy temprano por recursos alimenticios es un comportamiento común que puede haber aparecido evolutivamente como adaptación a las condiciones ambientales del entorno (Guibu y Imperatriz-Fonseca 1984; Cortopassi-Laurino 2004) o como estrategia para obtener recursos en un espacio libre de enemigos y competidores, como se da en otros grupos de abejas con comportamiento vespertino o crepuscular (Wcislo *et al.* 2004).

El porcentaje de obreras de *M. eburnea*, que entran con carga, es bastante reducido (8,02-22,14%) respecto al total de abejas que llegan a los nidos (Tabla 1) indicando que, en pro-

Tabla 1. Características de los nidos de *M. eburnea* estudiados en el piedemonte llanero (Acacias, Meta).

No. Nido	Localización definitiva	Origen	Condiciones de las colonias	Número de forrajeras entrando	Frecuencia forrajeras entrando con carga (%)
1	Colegio Agropecuario de Acacias Caja racional	Municipio Guamal, Vereda Monserrate	Medio, en recuperación	4.357	8,12
2	Colegio Agropecuario de Acacias Caja racional	Municipio Guamal, Vereda Monserrate	Medio, en recuperación	4.700	22,14
3	Colegio Agropecuario de Acacias Caja racional	Municipio Guamal, Vereda Monserrate	Débil	1.720	8,02
4	Natural, en árbol vivo de <i>Pouroma</i> sp. en relicto de bosque secundario	Municipio Acacias Vereda San José	Fuerte	6.277	8,87
5	Natural, en árbol vivo de <i>Psidium</i> <i>guajava</i> en potrero.	Municipio Acacias Vereda San José	Fuerte	5.419	8,37

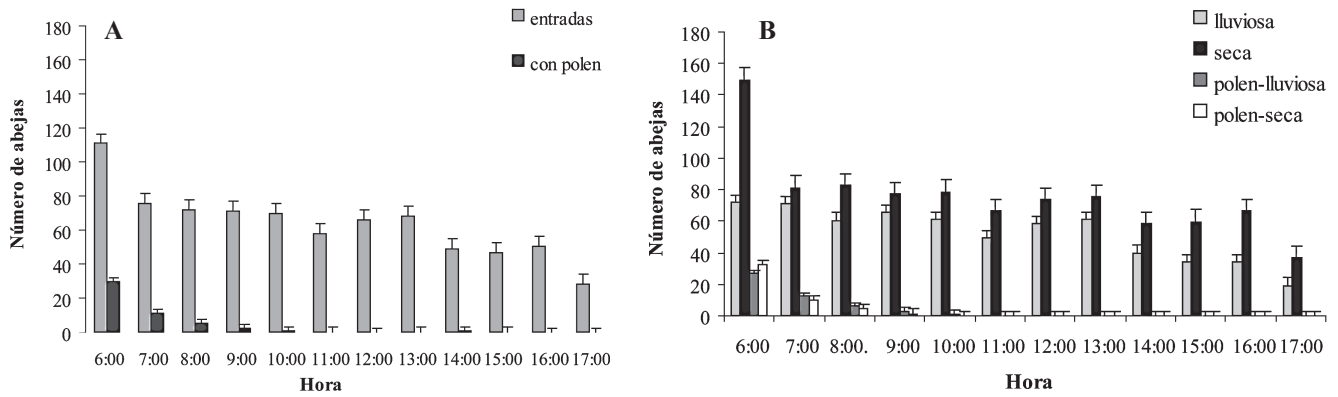


Figura 1. Número de forrajeras promedio de *M. eburnea* entrando a los nidos y el número de abejas entrando por hora: **A.** a lo largo del día. **B.** Actividad general comparada en dos épocas climáticas y actividad de entrada de polen en las mismas épocas. Se incluyen barras de Error Estándar.

medio, el 91,6% de las abejas que llegan lo hacen sin carga aparente (excepto la colonia No. 2 en la cual ese porcentaje fue de apenas 77,8%) (Tabla 1); la “carga aparente” puede estar constituida por agua, néctar o ningún material. Cortopassi-Laurino (2004) y Carvalho-Zilse *et al.* (2007) utilizan este valor como una medida arbitraria para indicar la entrada de néctar/agua a las colonias. Para *M. seminigra*, en sistemas agroforestales de la Amazonia, Carvalho-Zilse *et al.* (2007) registraron un menor porcentaje de abejas (6%) entrando con néctar/agua de lo registrado en este trabajo para *M. eburnea* (Fig. 2); Cortopassi-Laurino (2004) por su parte observó que para *M. crinita*, el menor porcentaje de entradas con néctar fue de 21,3% en época lluviosa; para las otras especies (*M. flavolineata*, *M. eburnea fuscopilosa* y *M. grandis*) esa autora reporta porcentajes superiores al 49%. Esto puede deberse a la metodología utilizada, puesto que mientras Carvalho-Zilse *et al.* (2007) mencionan que consideraban abejas entrando con cargas cuanto tenían “cierta distensión abdominal”, ni Cortopassi-Laurino (2004), ni en este trabajo se tuvo en cuenta esa característica. Pierrot y Schlindwein (2003) trabajando en *M. scutellaris*, interpretan el regreso de forrajeras con corbículas vacías solamente como forrajeo de néctar; esa actividad oscila entre el 50 y el 80% de todas las abejas que retornan a los nidos, valor inferior al encontrado en este trabajo para *M. eburnea*.

No se observaron diferencias importantes entre el porcentaje de abejas que llegan “sin carga aparente” en la mañana y en la tarde o entre época seca y lluviosa (Fig. 2), aunque en la tarde tanto en época seca como en época lluviosa hay incremento en el porcentaje de abejas entrando “sin carga aparente” (94,9% y 96,2% respectivamente). En términos generales, los meliponinos recolectan polen en las horas de la mañana y néctar posteriormente cuando ha pasado el pico de recolección de polen, después de las 10 de la mañana (Bruijn y Sommeijer 1997; Hilário *et al.* 2003; Cortopassi-Laurino 2004; Borges y Bochtein 2005; Souza *et al.* 2006). Esta división horaria parece debida al incremento gradual de concentración de azúcar en el néctar a medida que avanza el día; las forrajeras prefieren concentraciones entre el 40 y 65% (Biesmeijer *et al.* 1999).

En cuanto al número de abejas que salen no hay diferencias significativas respecto a las que entran.

Durante los viajes de forrajeo las abejas recolectan además, materiales para construcción. Del total de abejas que

regresaron solamente el 11,31% entraron con cualquier material: el mayor porcentaje de forrajeras entra con polen, seguido de resinas (con y sin semillas) y barro (Tabla 2). Este porcentaje es claramente diferente entre la mañana y la tarde cuando disminuye la actividad general; se incrementa el porcentaje de abejas entrando con barro (2,1%) y decrece considerablemente la entrada de polen (0,16%), como también la de resinas (Tabla 2; Fig. 3).

El forrajeo de polen por obreras de *M. eburnea* se inicia temprano en la mañana (5:30h) con un pico muy marcado entre las primeras horas de la mañana al igual que en obreras de *M. scutellaris* (Pierrot y Schlindwein 2003), *M. seminigra* (Carvalho-Zilse *et al.* 2007), o de *M. rufiventris* (Fidalgo y Kleinert 2007); disminuye gradualmente a medida que avanza el día y es casi nulo después de las 10 am; ocasionalmente se presenta un aumento en la recolección por este recurso en las horas de la tarde (3 pm), pero son pocas las abejas que realizan esta actividad y se presenta por pocos minutos (Figs. 1 A - B); Pierrot y Schlindwein (2003) registraron alta actividad de recolección de polen, durante una tarde en *M. scutellaris*, debido quizás, a un florecimiento masivo de una determinada especie vegetal. En general existen diferencias significativas en el porcentaje de abejas que regresan al nido con cargas de polen ($H=9,128$, $P=0,002$) en las diferentes ho-

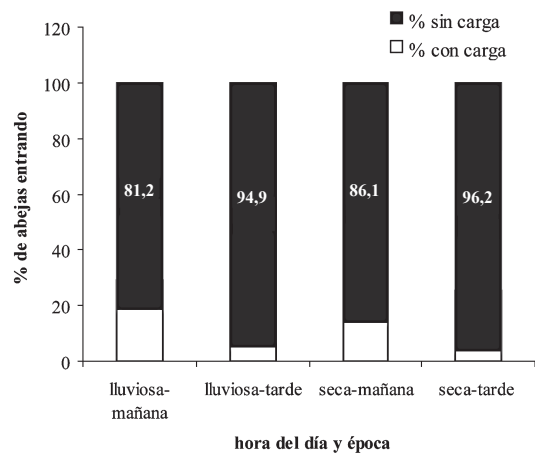


Figura 2. Porcentaje de abejas entrando con cualquier carga (polen, barro, resinas) y sin carga aparente en dos épocas climáticas (mañana y tarde).

Tabla 2. Número y porcentaje de obreras de *M. eburnea* entrando con diversas cargas durante el día, en la mañana y en la tarde.

Actividad	Día total		Mañana		Tarde	
	Suma	%	Suma	%	Suma	%
Entradas totales	22.473	100	13.645	100	8.828	100
Con polen	1.450	6,45	1.436	10,52	14	0,16
Resinas (con y sin semillas)	649	2,88	472	3,45	177	2
Con barro	445	1,98	256	1,87	189	2,14
Sin carga	19.929	88,68	11.481	84,14	8.448	95,7

ras (mañana y tarde, Fig. 3). Roubik (1989) atribuye los picos de recolección de polen en la mañana a disponibilidad de recursos. El polen generalmente es abundante en la mañana y disminuye en la tarde como consecuencia del forrajeo por obreras. Sin embargo es posible que ante una “explosión” en floración de una especie vegetal particular, en las horas de la tarde, las abejas aprovechen ese recurso e incrementen su recolección de polen en esas horas del día.

Gran cantidad de alimento en la colonia (polen) sugiere mayor estímulo de postura de huevos por parte de la reina y mayor crecimiento de la colonia (Souza *et al.* 2006), tal como se observa en las colonias 2, 4 y 5 (Fig. 4).

En cuanto a recolección de otros materiales las obreras entran barro, resinas (con y sin semillas) y lo transportan en las corbículas. A diferencia de la entrada de polen, que está concentrada en las primeras horas de la mañana, estos otros materiales entran durante todo el día, en diferentes intensidades; la recolección de resinas y de barro se realiza desde las 6:00h. hasta las 17:00h. aproximadamente, y con mayor actividad entre las 8:00h. y las 11:00h., cuando ha pasado el pico de actividad de forrajeo de polen (Fig. 5). Dentro de las resinas las obreras de *M. eburnea* transportan hasta el nido entre ocho y 15 semillas en sus corbículas y mandíbulas; allí, junto con el barro, son utilizadas para recubrir paredes o entradas del nido, tapar grietas, o son almacenadas en cúmulos para ser usadas después (Rodríguez y Nates-Parra, en preparación).

A diferencia de la recolección de resinas se presentan picos de actividad de recolección de barro entre las 8-10, a las 12 y a las 15 horas (Fig. 5). El número máximo de abejas entrando con barro fue 19 y se dio hacia las 15 horas; hubo

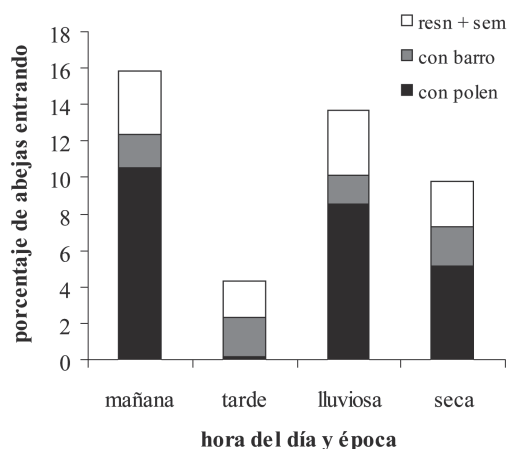
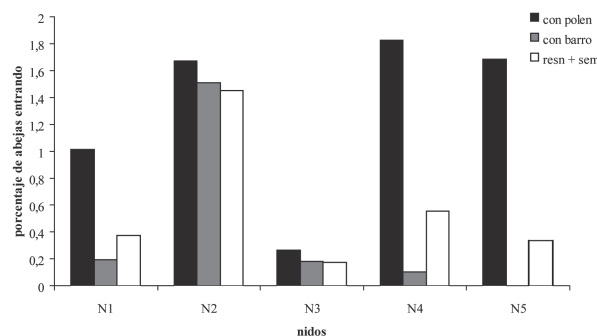
diferencias en la tarde respecto a la colecta de barro en la mañana ($H=8,067$, $P=0,004$).

La entrada de resinas también se observó durante todo el día, pero en mayor intensidad que la entrada de barro y tiene a disminuir considerablemente después de las 15 horas, aunque tampoco se presentan diferencias entre la recolección de resinas en la mañana y la tarde ($H=0,042$, $P=0,838$). El pico máximo de recolección de resinas fue a las ocho de la mañana. El número máximo de forrajeras entrando con resinas fue 11 y se dio hacia las 6 de la mañana.

Actividad de forrajeo en las dos épocas climáticas. La tendencia general es a disminuir la actividad a medida que avanza el día en los dos periodos. En las dos épocas climáticas hay diferencias en la actividad de las abejas a la entrada del nido (abejas entrando $H=28,912$, $P<0,001$) y saliendo ($H=25,072$, $P<0,001$). El porcentaje de obreras que entran con cargas es mayor en época lluviosa (11,9%) que en época seca (8,8%) (Fig. 3).

Si bien la entrada de polen es mayor que la entrada de otros materiales en las dos épocas, en la estación seca se incrementa la entrada de barro y se reduce la entrada de abejas con polen y resinas. El porcentaje de abejas entrando con resinas es ligeramente mayor en época lluviosa. Al contrario, el porcentaje de obreras entrando con barro es mayor en época seca (Fig.3), lo cual difiere de los resultados registrados para otras especies de *Melipona*, en donde incrementan la recolección de barro en época lluviosa (Cortopassi-Laurino 2004).

La lluvia afecta la actividad de forrajeo, pero no la paraliza del todo a menos que sea muy intensa y prolongada; en esos días las abejas recolectan principalmente néctar y materiales para construcción; la actividad de forrajeo de polen no se reanuda en la tarde aunque la lluvia se haya presentado en horas tempranas de la mañana. Hilário y Imperatriz-Fonseca

**Figura 3.** Porcentaje de abejas entrando con diferentes cargas durante la mañana y la tarde y en las dos épocas climáticas.**Figura 4.** Porcentaje de obreras de *M. eburnea* entrando a los diferentes nidos con cualquier carga. (resn + sem) corresponde a la entrada de resinas junto con semillas.

(2009) señalan que las diferencias estacionales en recolección de polen por parte de obreras de *M. bicolor* estarían relacionadas con la producción de sexuales, el número de individuos y el tamaño corporal.

El porcentaje de obreras de *M. eburnea* que llegan con polen en época lluviosa (8,53%) es mayor que en época seca (5,11%); con la lluvia se incrementa la floración de plantas y por tanto la disponibilidad de alimento, además en época lluviosa disminuye la temperatura y aumenta la humedad, condiciones que favorecen la recolección de polen por esta especie en esta región, semejante a lo observado por Lorenzon *et al.* (2003) en Piauí (Brasil) donde la mayor floración se da en época lluviosa y es en esa época donde hay mayor actividad de las abejas sobre las flores. Durante la época seca en esa misma región la actividad de forrajeo de las abejas decrece.

Inversión del tiempo en las diferentes actividades. Las forrajeras de *M. eburnea* invierten 11 horas diarias en sus actividades externas generales en las dos épocas climáticas (Fig. 1B). Sin embargo hay diferencias en el tiempo invertido en recolección de polen y otros materiales dentro de cada época. En época lluviosa hay una mayor amplitud en el tiempo de recolección de polen en los diferentes nidos (4 a 10 horas) mientras en época seca este valor se reduce (2 a 4 horas). En cuanto a la recolección de otros materiales no hay mucha variación: en época lluviosa se invierten entre 9-10 horas mientras que en época seca utilizan 8 a 10 horas. Nuestros datos difieren de los presentados por Borges y Blochtein (2005) para *M. marginata obscurior* porque el tiempo invertido depende de la época del año: entre 9 y 13 horas en primavera-verano, mientras que en otoño-invierno fue de 10 horas. *M. m. obscurior* recolectó polen durante 8 horas en primavera-verano y 10 horas en otoño-invierno).

Diferencias entre colonias. Las cinco colonias difieren en su comportamiento de forrajeo y el número de abejas que entran y salen es un indicativo de su estado de desarrollo, tal como ya fue observado por Hilario *et al.* (2000) en *Melipona bicolor*. El resultado de las pruebas de Kruskal-Wallis demuestran que el número de forrajeras de *M. eburnea* que entran y salen es diferente entre colonias ($P < 0,0001$); se forman tres grupos según su grado de actividad: grupo 1 (nidos 1 y 2, alojados en colmenas racionales y en franca recuperación, actividad media), grupo 2 (nido 3; alojando en colmena racional, débil, actividad baja) y grupo 3 (nidos 4 y 5, en cavidades naturales y fuertes, gran actividad) (Tabla 1, Fig. 4). En la región tropical la disponibilidad de polen no

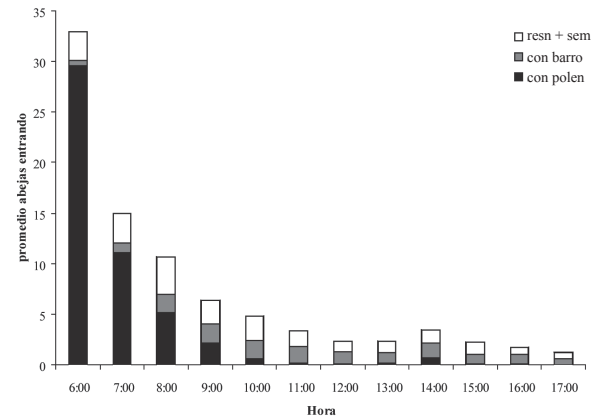


Figura 5. Número promedio de forrajeras de *M. eburnea* entrando con cargas (10 minutos) durante el día.

es factor limitante, pero si hay una competencia intraespecífica entre colonias fuertes, medias y débiles de la misma especie. En colonias fuertes la colección de polen se presenta más temprano que en colonias medias o débiles (Hilário *et al.* 2000). Sin embargo nuestros datos muestran que el valor máximo de forrajeras entrando con polen se da siempre a las 6 de la mañana, independiente del estado de desarrollo de las colonias, a diferencia de las entradas generales en donde se pueden presentar picos de actividad temprano en la mañana (6 am), en horas diferentes en el transcurso del día y en las dos épocas climáticas (Fig. 6 A, B).

También hay diferencias significativas en el porcentaje de abejas entrando con polen, barro, resinas ($P < 0,001$, para todos los casos) y en las horas de actividad máxima en las dos épocas climáticas (Fig. 4, 6 A, B).

En cuanto al tiempo invertido en recolección de recursos entre colonias las mayores diferencias se observan en entradas con polen, porque mientras el nido cinco es el que más tiempo utiliza (10 horas), los otros nidos gastan 4 horas en la misma actividad. Para el periodo seco los nidos uno y cinco reducen el tiempo invertido mientras que los otros nidos lo incrementan. La recolección de otros recursos no muestra variaciones importantes entre nidos. Cada nido tienen sus particularidades que influyen sobre el comportamiento general de las obreras (al interior y exterior del nido); aspectos fisiológicos y morfológicos de las obreras como su ciclo de desarrollo y el tamaño de los individuos están directamente relacionado con su capacidad e intensidad de forrajeo (Ramalho *et al.* 1994, 1998).

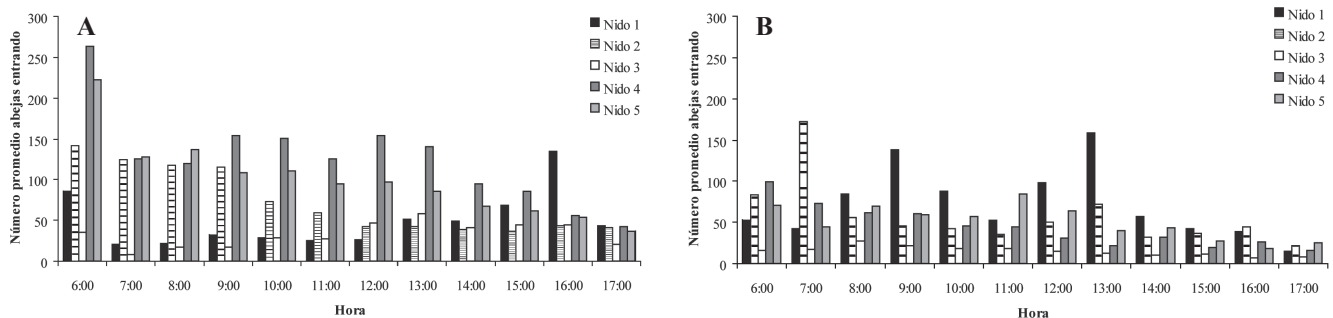


Figura 6. Promedio de abejas que entran a cada nido a lo largo del día. **A:** Época seca. **B:** Época lluviosa.

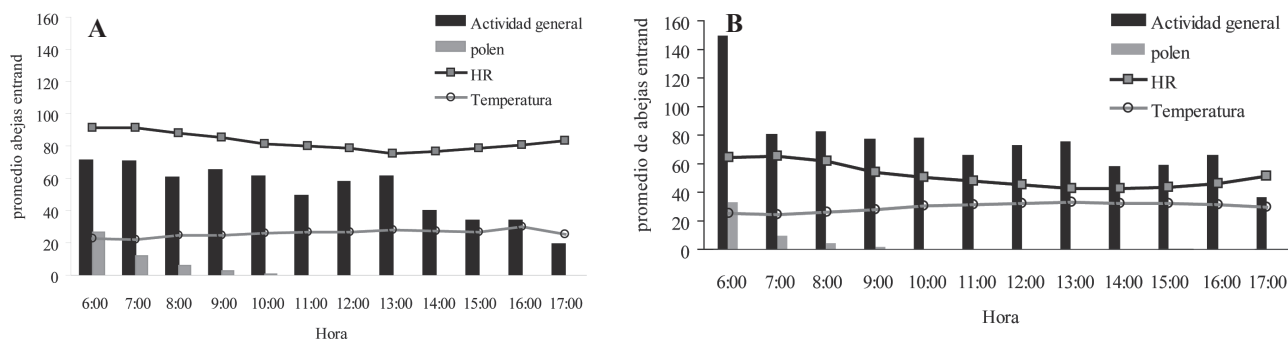


Figura 7. Actividad de forrajeo (general y de polen) a lo largo del día y según la temperatura y humedad relativa (HR). **A:** Época lluviosa. **B:** Época seca.

Efecto de la Temperatura y humedad sobre la actividad de forrajeo. En la época lluviosa la humedad es alta (75,1% -92,6%) y la temperatura oscila entre 22,4 y 29,9°C. En este periodo la actividad externa de las abejas es menor que en época seca. Por el contrario la actividad de las abejas es mayor cuando la humedad es más baja (42,2%- 65,1%) y la temperatura se incrementa (24,7 a 33,2 grados) durante el período seco. En las dos épocas la actividad general y la recolección de polen disminuyen a lo largo del día con el aumento de temperatura. (Fig. 7).

Tanto en época seca como lluviosa el incremento de temperatura se traduce en disminución del porcentaje de obreras entrando con polen (seca: $r_s = -0,612$, $P = 0,034$; lluviosa: $r_s = -0,682$, $P = 0,021$). La temperatura también afecta las entradas totales ($r_s = -0,615$, $P = 0,03$) y la entrada de resinas durante la época seca ($r_s = -0,887$, $P < 0,001$).

La HR no influye en la actividad de las abejas en época lluviosa; sin embargo en época seca si hay correlación negativa con entrada de polen ($r_s = -0,581$, $P = 0,048$).

Nuestros datos corroboran otras observaciones en las cuales la temperatura parece ser el factor ambiental más importante para la actividad externa de las abejas (Iwama 1977; Corbet *et al.* 1993). En *M. bicolor* hay mayor actividad externa cuando HR es alta y temperatura moderada (Hilario *et al.* 2000). Souza *et al.* (2006) encontraron que en *M. asilvae* (abeja de bioma de sabana), a diferencia de lo encontrado en este trabajo, existe una correlación positiva entre la temperatura con la entrada de abejas y recolección de polen; por su parte la HR se relacionó directamente con la recolección de barro, aunque no tuvo ninguna relación con la actividad general. Oliveira (1973) menciona que cuando pasa de día soleado a cubierto, así se incrementa la temperatura, la actividad decrece.

Para *M. eburnea* nunca observamos actividad por debajo de los 20,8 grados, y la HR mínima fue de 27%. La temperatura óptima estuvo entre 21 y 26 grados lo cual está dentro de los rangos reportados para otras especies de *Melipona* (Guibu y Imperatriz 1984; Kleinert-Giovannini y Imperatriz 1986; Biesmeijer *et al.* 1999; Hilario *et al.* 2000; Borges y Blochtein 2005; Souza *et al.* 2006).

Conclusiones

El comportamiento de las forrajeras de *M. eburnea* es muy similar al comportamiento de otras especies de *Melipona* en otras regiones, aunque se presentan algunas diferencias, particularmente en cuanto al efecto de factores climáticos sobre

su actividad externa. Con la disminución de la temperatura y el aumento de humedad en época lluviosa el forrajeo de polen se incrementa; y en general hay mayor actividad de regreso de obreras con cargas a los nidos. Las actividades de forrajeo de *M. eburnea* están concentradas en las horas de la mañana y el polen es el recurso más colectado. El porcentaje de abejas regresando con néctar o agua, medido por el número de abejas que regresan sin carga aparente, es mucho más alto que el registrado para otras especies de *Melipona*. Es evidente que el comportamiento de las abejas depende en gran parte de las condiciones internas de sus nidos, lo cual se traduce en que las forrajeras deben suplir necesidades diferentes (alimento o materiales de construcción) y por eso se observa variabilidad en las actividades en los cinco nidos de *M. eburnea* estudiados.

Agradecimientos

Las autoras agradecen a los integrantes del LABUN que participaron en las salidas de campo (P. Baquero, A. Parra, M. I. Gómez, D. Velez, E. Palacio, B. Mantilla); a J.M.F. Camargo *in memoriam* por la identificación de algunas especies. A Víctor Solarte por el apoyo en los análisis estadísticos. A dos evaluadores anónimos por las sugerencias para mejorar este trabajo. A la comunidad de la vereda de S. José de Acacias y a las directivas del colegio Agropecuario de Acacias. A la Estación de Biología Tropical Roberto Franco de la Universidad Nacional (Villavicencio) por el apoyo logístico. A la Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología (sede Bogotá) por su apoyo y a la División de Investigaciones de Bogotá (DIB) de la UN por la financiación del proyecto Cría y manejo de abejas sin aguijón en el Piedemonte llanero a G. Nates-Parra (convocatoria Pro-meteo No.201010024542003).

Literatura citada

- BIESMEIJER, J. C.; BORN, M., LUCÁCS, S.; SOMMEIJER, M. J. 1999. The response of the stingless bee *Melipona beecheii* to experimental pollen stress, worker loss and different levels of information input. *Journal of Apicultural Research*, 38:33-41.
- BORGES, F., B. BLOCHTEIN. 2005. Actividades externas de *Melipona marginata obscurior* Moure (Hymenoptera, Apidae) en distintas épocas del año, en San Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22(3): 680-686.
- BRUENING, H. 1990. Abelha jandaira. *Coleção Mossoroense*, serie C, volume 557. 181 pág.

- BRUIJN, L. M. de; SOMMEIJER, M.J. 1997. Colony foraging in different species of stingless bees (Apidae, Meliponinae) and the regulation of individual nectar foraging. *Insectes Sociaux* 44: 35-47.
- CAMARGO, J.M.F.; PEDRO, S.R.M. 2008. Meliponini Lepeletier, 1836. In: Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region (Moure JS, Urban D and Melo GAR, Eds.). Available at [http://www.moure.cria.org.br/catalogue]. Accessed January 26, 2009.
- CARVALHO-ZILSE, G.; PORTO, E.L.; SILVA, C.G.; PINTO, M.F.C. 2007. Atividades de voo de operarias de *Melipona seminigra* (Hymenoptera: Apidae) em um sistema agroflorestal da Amazonia. *Bioscience Journal*, Universidade Federal de Uberlândia, v 23 Sup 1 : 94-99.
- CORBET, S. A.; FUSSELL, M.; AKE, R.; FRASER, A.; GUNSON, C. ; SAVAGE, A. ; SMITH, K. 1993. Temperature and pollination activity of social bees. *Ecological Entomology* 8(1): 17-30.
- CORTOPASSI-LAURINO, M. 2004. Seasonal strategies of harvesting by *Melipona* sp. in the Amazon region. In: Proceedings of the 8th IBRA International Conference on Tropical Bees and VI Encontro sobre Abelhas. Ribeirão Preto (SP), Brazil, p 258-263.
- FIDALGO A.O.; KLEINERT A.M. 2007. Foraging behavior of *Melipona rufiventris* Lepeletier (Apidae; Meliponini) in Ubatuba, SP, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 67(1): 133-140.
- GIBBONS, D.; CHAKRABORTI, S. 2003. Nonparametric Statistical inference 4 Ed. New York: Marcel Dekker.
- GUIBU, L. S.; RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. 1988. Exploração dos recursos florais por colônias de *Melipona quadrifasciata* (Apidae, Meliponinae). *Revista Brasileira de Biologia* 48: 299-305.
- GUIBU, L. S.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. 1984. Atividade externa de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Ciência e Cultura* 36 supl. (7): 623.
- HILÁRIO, S. D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. 2009. Pollen foraging in colonies of *Melipona bicolor* (Apidae, Meliponini): effects of season, colony size and queen number. *Genetics and Molecular Research* 8(2):664-671.
- HILÁRIO, S.D.; GIMENES, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. 2003. The influence of colony size in diel rhythms of flight activity of *Melipona bicolor* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). In: Apoidea Neotropica (Mello GAR and Alvesdos-Santos I, eds.) Editora UNESC, Criciúma: 191-197.
- HILÁRIO, S.D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; KLEINERT A.M.P. 2000. Flight activity and colony strength in the stingless bee *Melipona bicolor bicolor* (Apidae, Meliponinae) *Revista Brasileira de Biologia* 60(2): 299-306.
- IWAMA, S.A. 1997. A influência de fatores climáticos na atividade externa de *Tetragonisca angustula* (Apidae Meliponinae). *Boletim do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo* 2: 189-201.
- KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. (org). 1996. *Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação*. Fundação Acangaú. Paracatu-MG. 144 p.
- KERR, W. E. *Biologia e Manejo de Tiúba: a Abelha do Maranhão*. 1996. EDUFMA. São Luis-MA. 156 p.
- KLEINERT-GIOVANNINI, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. 1986. Flight activity and responses to climatic conditions of two subspecies of *Melipona marginata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae). *Journal of Apicultural Research* 25(1): 3-8.
- LORENZON, M. C. A.; MATRANGOLO, C. A. R.; SCHOEREDER, J. H. 2003. Flora visitada pelas abelhas eussociais (Hymenoptera, Apidae) na Serra da Capivara, em Caatinga do Sul do Piauí. *Neotropical Entomology* 32 (1): 27-36.
- MARQUES-SOUZA, A.C.; MOURA, C.O.; NELSON, B.W. 1996. Pollen collected by *Trigona williana* (Hymenoptera, Apidae) in Central Amazonia. *Revista de Biologia Tropical* 44(2):567-573.
- NATES-PARRA, G. 2007. Abejas Hymenoptera:Apidae Libro rojo de los Invertebrados Terrestres de Colombia /edts. Amat, G.G., M.G. Andrade, y E. Amat G. Bogotá, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Conservación Internacional, Colombia, Instituto A. von Humboldt, Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial: 144-179.
- NATES-PARRA G. 2005. Abejas corbiculadas de Colombia (Hymenoptera:Apidae). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá 156 pág.
- NATES-PARRA, G. 1995. Las abejas sin aguijón del género *Melipona* (Hymenoptera: Meliponinae) en Colombia. *Boletín Museo. Entomológico Universidad del Valle* 3(2): 21-33.
- OLIVEIRA, M. A. C. 1973. Um método para avaliação das atividades externas de vôo em *Plebeia saiqui* (Friese) (Hymenoptera, Meliponinae). *Boletim de Zoologia e Biologia*, São Paulo, 30: 625-631.
- PIERROT, L.M.; SCHLINDWEIN, C. 2003 Variation in daily flight activity and foraging patterns in colonies of urucu- *Melipona scutellaris* Latreille (Apidae, Meliponini). *Revista Brasileira de Zoologia* 20(4): 565-571.
- RAMALHO, M., SILVA, M.; CARVALHO, E. 2007. Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), no Domínio Tropical Atlântico. *Neotropical Entomology* 36(1), pp. 38-45.
- RAMALHO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; GIANNINI, T. C. 1998. Within-colony variation of foragers' size and pollen load capacity in stingless bees (Apidae, Hymenoptera). *Apidologie* 29: 221-228.
- RAMALHO, M.; GIANNINI, T. C.; MALAGODI-BRAGA, K. S.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., 1994. Pollen harvests by stingless bee foragers (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Grana* 33: 239-244.
- RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. 1989. Utilization of floral resources by species of *Melipona* (Apidae, Meliponinae): floral preferences. *Apidologie* 20(3): 185-195.
- ROUBIK, DW. 1989. *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK.
- SOUZA, B.A; CARVALHO, C.A; ALVES R.M. 2006. Flight activity of *Melipona asilvai* Moure (Hymenoptera: Apidae). *Brazilian Journal of Biology* 66 (2B): 731-737.
- WCISLO, W.; L. ARNESTON; K.ROESCH; V. GONZÁLEZ; A..SMITH; H. FERNÁNDEZ. 2004. The evolution of nocturnal behaviour in sweat bees, *Megalopta genalis* and *M. ecuadoria* (Hymenoptera: Halictidae): an escape from competitors and enemies? *Biological Journal of the Linnean Society* 83: 377-387.

Recibido: 15-oct-2010 • Aceptado: 9 may-2011

Géneros de Myodochini (Hemiptera: Lygaeoidea: Rhyparochromidae) en Colombia y clave con ilustraciones

The genera of Myodochini (Hemiptera: Lygaeoidea: Rhyparochromidae) from Colombia and a key with illustrations

LAURA ALEXANDRA RENGIFO-CORREA¹ y RANULFO GONZÁLEZ OBANDO²

Resumen: Se reportan por primera vez ocho géneros de la tribu Myodochini (Hemiptera: Rhyparochromidae: Rhyparochrominae) en Colombia, en adición a los diez géneros registrados previamente para el país. Estos son: *Catenes*, *Cholula*, *Dushinckanus*, *Neomyocoris*, *Paracholula*, *Pephysena*, *Pseudoparomius*, *Stridulocoris*. Se enumeran los 18 géneros de Myodochini reportados para Colombia. Para 16 de estos géneros se da una sinopsis de las localidades de colecta y rango de elevación. Se presenta una clave para la determinación de los géneros de Myodochini para Colombia, ilustraciones de los caracteres usados y fotografías de cabeza - pronoto.

Palabras clave: Chinchas. Fauna neotropical. Nuevos registros. Parques Naturales de Colombia.

Abstract: Eight genera from the tribe Myodochini (Hemiptera: Rhyparochromidae: Rhyparochrominae) are reported for the first time in Colombia, in addition to the ten genera recorded previously for this country. Those are: *Catenes*, *Cholula*, *Dushinckanus*, *Neomyocoris*, *Paracholula*, *Pephysena*, *Pseudoparomius*, *Stridulocoris*. The 18 genera of Myodochini recorded from Colombia are listed. An overview of the collection localities and altitudinal range for 16 of those genera are provided. A key to the genera of Colombian Myodochini is presented with illustrations of the characters used and pictures of the head-pronotum.

Key words: True bugs. Neotropical fauna. New records. Natural Parks of Colombia.

Introducción

Myodochini es el grupo más destacado de Rhyparochromidae en el Neotrópico y una de las tribus más diversas de dicha familia con 72 géneros y más de 300 especies en el mundo (Slater 1986; Dellapé y Henry 2010). Harrington (1980) realizó una revisión taxonómica para los géneros de dicha tribu y reporta 27 géneros para la región neotropical. En adición a este trabajo, se han descrito ocho géneros más para Centro y Sudamérica: *Acrolophyses* Dellapé y Henry, 2010, *Ashlockobius* Slater y Slater, 1999, *Bergicoris* Dellapé, 2008, *Dushinckanus* Brailovsky, 1979, *Neomyocoris* Dellapé y Montemayor, 2008, *Paisana* Dellapé, 2008, *Scintillocoris* Slater y Brailovsky, 1993 y *Villalobosothignus* Brailovsky, 1984. No obstante la gran diversidad de Myodochini en el Neotrópico, para Colombia no se han realizado trabajos taxonómicos.

La tribu se diagnostica por la posición dorsal de los espiráculos abdominales II al IV y ventral en los restantes, combinada con la ausencia de laterotergitos internos (Harrington 1980). Son chinchas pequeños, opacos, con fémures anteriores engrosados y frecuentemente mirmecomórficos. Se alimentan de semillas maduras (Schuh y Slater 1995) y se encuentran fundamentalmente sobre el suelo, pudiéndose observar también sobre hierbas, árboles u hojarasca (Slater 1977). En el presente trabajo se listan los géneros de Myodochini para Colombia y se ofrece una clave con ilustraciones. La lista fue elaborada a partir de la revisión de especímenes, trabajos sobre taxones particulares e información de los catálogos mundiales para el grupo. De esta manera se amplía el conocimiento de este taxón de Colombia.

Materiales y Métodos

Los especímenes provienen de 10 Parques Nacionales Naturales, una Reserva Natural, una estación biológica y ocho zonas suburbanas, todas estas incluidas en 11 departamentos de Colombia: Amazonas, Caldas, Cauca, Caquetá, Chocó, Magdalena, Meta, Putumayo, Tolima, Valle del Cauca y Vaupés. Las colectas se realizaron en el marco del proyecto “Diversidad de Insectos de Colombia” desarrollado entre los años 2000 al 2004. Para este propósito, miembros del Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt Colombia (IAvH) y la Unidad Administrativa Especial del Sistema de Parques Nacionales Naturales (UAESPNN) usaron trampas malaise. Entre todos los especímenes colectados, los Rhyparochromidae se separaron y curaron por los autores. Adicionalmente, se revisaron los especímenes de la Colección Entomológica de la Universidad del Valle, Colombia (MUSENUV). Los ejemplares se depositaron en las colecciones del IAvH y MUSENUV. En el material examinado se omite el nombre del depositario cuando proviene del IAvH.

Los géneros se identificaron siguiendo los trabajos de Harrington (1980), Dellapé y Melo (2005) y Dellapé y Montemayor (2008). Como características diagnósticas de los géneros de la tribu se utilizan principalmente las variaciones en las estructuras de la cabeza y el tórax. Las proporciones entre las medidas de algunas estructuras son también informativas por lo que se indica aquí la forma correcta de medirlas (Fig. 1A). Los caracteres de los genitales son importantes para la determinación de algunos géneros de Myodochini. Ashlock (1956) define las partes fundamentales de los genitales como

¹ Bióloga con énfasis en entomología. Grupo de Investigaciones Entomológicas, Universidad del Valle, Carrera 100 Calle 13, Cali, Valle, Colombia. larecorr@gmail.com. Autora para correspondencia. ² Ph. D. Grupo de Investigaciones Entomológicas, Universidad del Valle, Carrera 100 Calle 13, Cali, Valle, Colombia.

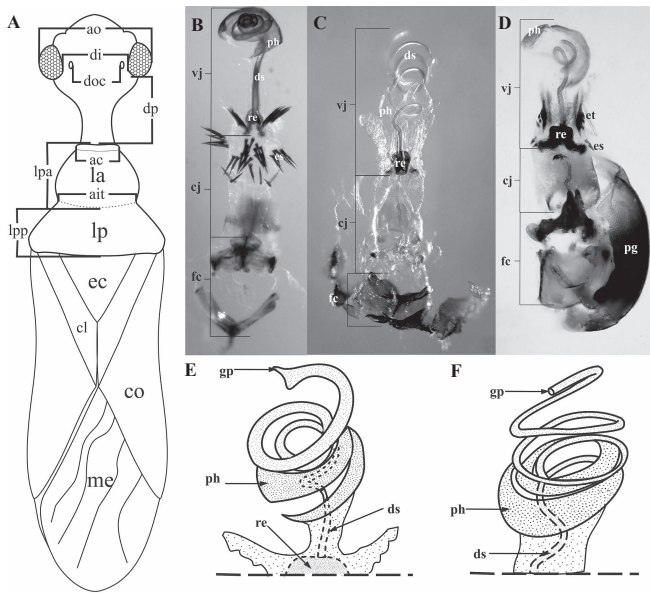


Figura 1. A. Estándar para medir las diferentes proporciones requeridas para identificación genérica de Myodochini. Vista dorsal. B-F. Genitales en Myodochini. B. Falo tipo III *Neomyocoris*. C y D. Falo tipo IV *Neopamera*. E. Vejiga de *Orthaea*. F. Vejiga de *Neopamera*. ac = ancho del collar. ait = ancho de la impresión transversa. ao = ancho a través de los ojos. cl = clavo. cj = conjuntiva. co = corio. di = distancia interocular. doc = distancia entre ocelos. dp = distancia postocular. ds = ducto seminal. ec = escutelo. es = espina. et = esclerito. fc = faloteca. gp = gonoporo. la = lóbulo pronotal anterior. lp = lóbulo pronotal posterior. lpa = longitud del lóbulo pronotal anterior. lpp = longitud del lóbulo pronotal posterior. me = membrana. pg = pigóforo. ph = proceso helicoidal. re = reservorio de esperma. vj = vejiga.

el pigóforo, los parámetros y el falo para Lygaeoidea incluyendo los Myodochini. En el falo, la conjuntiva y la vejiga proveen información para discriminar géneros. En estas estructuras la presencia de escleritos, lóbulos membranosos, espinas y su forma y número son de gran valor taxonómico y son la base para diferenciar los cuatro tipos de genitales en la tribu, de los cuales el III y el IV (Fig. 1B-1F) son mencionados en la clave. En el tipo III hay un reservorio de esperma reducido y alargado, escleritos de sostén ausentes, vejiga sin espinas y conjuntiva con muchas espinas, algunas agrupadas en hileras o parches (Fig. 1B). En el tipo IV el reservorio de esperma está bien desarrollado, los escleritos de sostén aunque usualmente presentes son cortos, aplanados y engrosados distalmente, y la conjuntiva no tiene espinas (Fig. 1C) o cuando las hay, aunque raramente, son pequeñas y muy diferentes a las del tipo III (Fig. 1D) (Harrington 1980).

Cuando se consideró necesario, se realizaron disecciones de genitales de machos. Para esto, se extrajo el pigóforo de especímenes blandos haciendo presión en el séptimo esternito abdominal, provocando su expulsión; éste se calentó en hidróxido de potasio al 10% hasta alcanzar el punto de ebullición y después se enjuagó con agua destilada durante unos minutos. El pigóforo brinda importante información a especie, pero es difícil realizar la disección completa sin abrirlo pues se corre el riesgo de dañar el falo; por tal motivo, se tomaron fotos del pigóforo antes de abrirlo. Las articulaciones entre el falo y el pigóforo deben separarse, teniendo el cuidado de no rasgar el falo. Para observar las estructuras completas del falo se necesita estirarlo completamente sosteniendo la faloteca y

el proceso helicoidal, que son partes esclerotizadas, y se hala cuidadosamente hacia lados opuestos hasta que la membrana tenga una apariencia uniformemente transparente. La nomenclatura utilizada corresponde a Aschlock (1956) y Harrington (1980).

Las observaciones de estructuras de animales completos o de preparaciones se realizaron con un estereoscopio Nikon modelo SMZ645 a 20X (ocular 10X y lupa 2X) y un microscopio compuesto Nikon modelo ECLIPSE E200. Las fotografías se realizaron con una cámara Sony modelo Cyber shot Dsc - h7 adaptada al estereoscopio. La clave dicotómica se modificó de Harrington (1980). El listado de géneros se elaboró con base en los especímenes examinados y revisión de literatura.

Resultados y Discusión

En Colombia la tribu Myodochini está representada por 18 géneros (Tabla 1), de los cuales ocho son reportados por primera vez. Se presentan los primeros registros en suramérica de *Cholula*, *Paracholula* y *Stridulocoris*, y se reporta Colombia como la localidad más al norte de los géneros suramericanos *Neomyocoris* y *Pseudoparomius*. Además, se extiende la distribución de *Catenes australis*. Los nuevos registros restantes corresponden a *Dushinckanus* y *Pephyssena*. No se encontraron ejemplares de *Froeschneria* ni de *Orthaea*.

Bacacephalus Harrington, 1980

Se colectó *B. globiceps* Stål, 1874 (Fig. 2A) en los departamentos de Amazonas, Valle del Cauca y Vaupés en un rango de elevación de 12 a 200 msnm. Esta especie se ha registrado en Bogotá (Cundinamarca) (Stål 1874, Slater y O'Donnell 1995).

Ejemplares examinados: *B. globiceps*. COLOMBIA. **Amazonas.** 1M. PNN. Amacayacu. Caña Brava. 3°3'S70°3'W. 200 msnm. 29-ago-2001. Campos, D. **Valle del Cauca.** 1M, 1H. Buenaventura. 03°52'N76°59'W. 12 msnm mar-08. Rengifo, L. [MUSENUV]. **Vaupés.** 1M, 1H. Estación Biológica Mosiro-Itajura (Caparú). Centro Ambiental. 1°04'S69°31'W. 60 msnm 20-ene-1-feb-2003. Sharkey, M. y D. Arias.

Catenes Distant, 1893

Nuevo registro. Se colectó *C. australis* Dellapé y Melo, 2008 (Fig. 2B) en el departamento de Putumayo a una elevación de 210 msnm. Para el género hay registros en Bolivia, Brasil, Ecuador, Guatemala, Panamá, Perú, República Dominicana (Slater 1964; Slater y O'Donnell 1995; Dellapé y Melo 2008). Para *C. australis* los registros provienen de Brasil, Ecuador y Perú (Dellapé y Melo 2008) y se adiciona Colombia.

Ejemplares examinados: *C. australis*. COLOMBIA. **Putumayo.** 4M. PNN La Paya. Resguardo Cecilio Cocha. 0°11'S74°55'W. 210 msnm. 20-24-ene-2001. Sarmiento, C.

Cholula Distant, 1882

Nuevo registro. Se colectaron especímenes del género *Cholula* (Fig. 2C) en los departamentos de Cauca, Magdalena y Meta en un rango de elevación de 30 a 730 msnm. El género se ha registrado para Guatemala, Honduras, Panamá y México (Cervantes-Peredo y Pacheco-Rueda 2006). Este registro es el primero en Suramérica.

Tabla 1. Géneros de Myodochini registrados para Colombia.

Géneros	Fuente
<i>Bacacephalus</i> Harrington, 1980	Stål (1874) como <i>Pamera globiceps</i> Stål, 1874 ^{1,2}
<i>Catenes</i> Distant, 1893	Nuevo registro
<i>Cholula</i> Distant, 1882	Nuevo registro
<i>Dushinckanus</i> Brailovsky, 1979	Nuevo registro
<i>Froeschneria</i> Harrington, 1980	Swezey (1945) como <i>Orthaea vicinalis</i> Swezey, 1945 ^{1,2}
<i>Heraeus</i> Stål, 1862	Stål (1874) ¹
<i>Ligyrocoris</i> Stål, 1872	Stål (1862) como <i>Plociomera litigiosa</i> Stål, 1862 ¹
<i>Myodocha</i> Latreille, 1807	Distant (1882) ¹
<i>Neomyocoris</i> Dellapé y Montemayor, 2008	Nuevo registro
<i>Neopamera</i> Harrington, 1980	Stål (1874) como <i>Pamera costalis</i> Stål, 1874 ¹
	Distant (1882) como <i>Pamera bilobata</i> Say, 1831 ¹
	Barber (1953) como <i>Pachybrachius albocinctus</i> Barber, 1953 ¹
<i>Orthaea</i> Dallas, 1852	Dallas (1852) ¹
<i>Paracholula</i> Harrington, 1980	Nuevo registro
<i>Paromius</i> Fieber, 1860	Stål (1874) ¹
<i>Pephsena</i> Distant, 1882	Nuevo registro
<i>Prytanis</i> Distant, 1893	Distant (1893) ¹
<i>Pseudopachybrachius</i> Malipatil, 1978	Distant (1882) como <i>Pamera vincta</i> Say, 1831 ^{1,2}
<i>Pseudoparomius</i> Harrington, 1980	Nuevo registro
<i>Stridulocoris</i> Harrington, 1980	Nuevo registro

¹ En Slater (1964), ² En Slater y O'Donnell (1995).

Ejemplares examinados: *Cholula* spp. COLOMBIA. **Cauca.** 1 M. PNN. Gorgona. Alto el Mirador. 2°58'N78°11'W. 180 msnm 18-jun-3-ago-2000. Sharkey, M. **Magdalena.** 1 M. PNN. Tayrona. Cañaveral. 11°20'N74°02'W. 30 msnm 3-22-nov-2000. Henríquez, R. COLOMBIA. **Meta.** 1 M. PNN. Sumapaz. Jardín Botánico. 3°48'N73°56'W. 730 msnm 4-24-ene-2002. Vargas, H.

***Dushinckanus* Brailovsky, 1979**

Nuevo registro. Se colectaron especímenes del género *Dushinckanus* (Fig. 2D) en los departamentos de Amazonas y Valle del Cauca en un rango de elevación de 12 a 925 msnm. El género se ha registrado para Argentina, Brasil, Ecuador, Guatemala (Dellapé y Melo 2005).

Ejemplares examinados: *Dushinckanus* spp. COLOMBIA. **Amazonas.** 1 M. PNN. Amacayacu. Matamata. 3°41'S70°15'W. 150 msnm. 25-ago-3-sep-2001. Chota, D. **Valle del Cauca.** 1 H. Buenaventura. 03°33'49"N76°45'31"W. 925 msnm. 28-oct-2006. Calero, D. [MUSENUV]. 1 H. Buenaventura. 03°52'N76°59'W. 12 msnm. Mar-08. Rengifo, L. [MUSENUV]. 1 H. Dagua. Alto Anchicayá. 03°33'3.7"N76°53'24"W. 693 msnm. 4-oct-2008. Castaño, K. [MUSENUV].

***Froeschneria* Harrington, 1980**

Para Colombia se ha registrado *F. vicinalis* Distant, 1882 (Stål 1874, Slater 1964).

***Heraeus* Stål, 1874**

Se colectaron especímenes del género *Heraeus* (Fig. 2E) en los departamentos de Cauca, Meta, Tolima y Valle del Cauca

en un rango de elevación de 12-1508 msnm. Para Colombia se ha registrado *H. cincticornis* Stål, 1874 en Bogotá (Cundinamarca) (Stål 1874, Slater & O'Donnell 1995).

Ejemplares examinados: *Heraeus* spp. COLOMBIA. **Cauca.** 1 M. PNN. Gorgona. Antigua Laguna. 2°58'N78°11'W. 70 msnm. 3-18-ene-2001. Torres, H. **Meta.** 1 H. PNN. Sierra de la Macarena. Borde Río Guejar. 3°20'N73°56'W. 460 msnm. 28-dic-2001 -4-ene-2002. Campos, D. **Tolima.** 1 M, 1 H. Fresno. Vereda Colombia, finca Las Perlas. 5°12'N75°2'W. 1508 msnm. 23-26-dic-2002. Arias, T., D. Arias y S. Arias.

Valle del Cauca. 1 H. PNN. Farallones de Cali. Anchicayá. 3°26'N76°48'W. 650 msnm. 17-31-jul-2001. Sarria, S. 1 H. Mismos datos, excepto 900 msnm. 14-18-ago-2001. 3 H, 1 M. Mismos datos, excepto 900 msnm. 28-ago-11-sep-2001. 2 M. Buenaventura. 03°52'N76°59'W. 12 msnm. Mar-2008. Rengifo, L. [MUSENUV]. 1 M, 1H. Cali. La Buitrera. 03°22'19,8"N76°34'12,2"W. 1150 msnm. 15-feb-09. Rengifo, L. [MUSENUV].

***Ligyrocoris* Stål, 1872**

Se colectaron especímenes del género en el departamento de Tolima a una elevación de 1508 msnm. (Fig. 2F). Para Colombia se ha registrado *L. litigiosus* Stål, 1874 en Bogotá (Cundinamarca) (Stål 1874, Slater 1964).

Ejemplares examinados: *Ligyrocoris* sp. COLOMBIA. **Tolima.** 1 H, 6 M. Fresno. Vereda Colombia. Finca Las Perlas. 5°12'N75°2'W. 1508 msnm. 26-26-dic-2002. Arias, T., D. Arias y S. Arias.

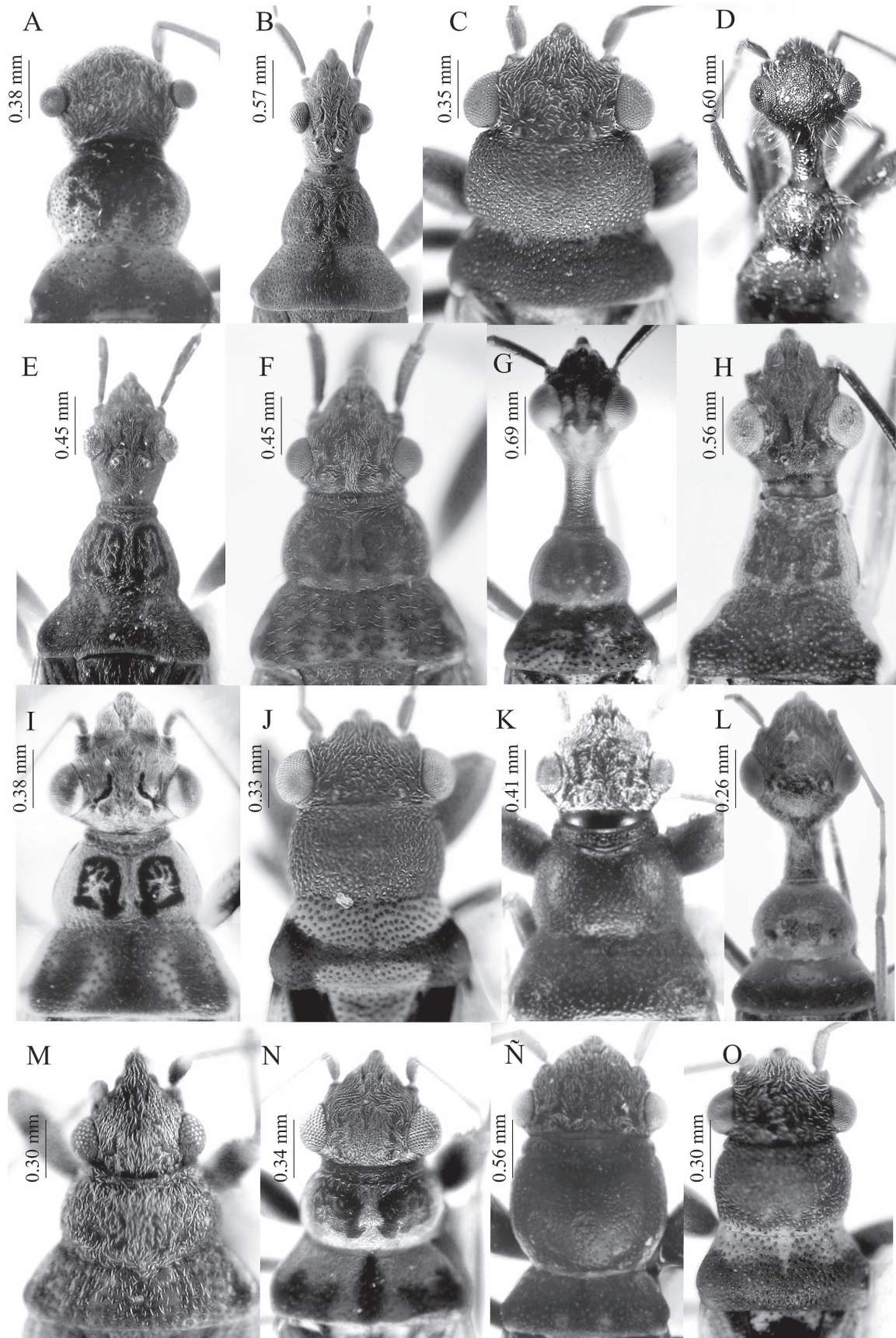


Figura 2. Vista dorsal de cabeza y pronoto. **A.** *Bacacephalus*. **B.** *Catenes*. **C.** *Cholula*. **D.** *Dushinckanus*. **E.** *Heraeus*. **F.** *Ligyrocoris*. **G.** *Myodocha*. **H.** *Neomyocoris*. **I.** *Neopamera*. **J.** *Paracholula*. **K.** *Paromius*. **L.** *Pephysena*. **M.** *Prytanes*. **N.** *Pseudopachybrachius*. **Ñ.** *Pseudoparomius*. **O.** *Stridulocoris*.

Myodocha Latreille, 1807

Se colectaron especímenes del género *Myodocha* en los departamentos de Amazonas, Caquetá, Cauca, Putumayo, Valle del Cauca y Vaupés en un rango de elevación de 5-1250 msnm (Fig. 2G). Para Colombia se han registrado *M. unispinosa* Stål, 1874 (Putumayo y Cundinamarca), *M. intermedia* Distant, 1882 (Chocó) y *M. longicollis* Stål (Santander) (Slater 1964; Cervantes - Peredo 2005).

Ejemplares examinados: *M. intermedia*. COLOMBIA. **Cauca.** 1 M. PNN. Gorgona. El Saman. 2°58'N78°11'W. 5 msnm. 30-ene-14-feb-2002. Duque, R. **Valle del Cauca.** 1 M. Alto Anchicayá. Murrupal. 3°33'3,7"N76°53'53,23,6". *Myodocha* spp. COLOMBIA. **Amazonas.** 1 H. PNN. Amacayacu. Cabaña Lorena. 3°0'S 69°59'W. 210 msnm. 1-15-sep-2001. Deaza, D. **Caquetá.** 1 M. San José de Fragua. Vereda la Esmeralda. Alto del Río Yurayaco. 1°20'N76°06'W. 1250 msnm 9-11-abr-2000. González, E. **Cauca.** 1 M. PNN. Gorgona. Alto el Mirador. 2°58'N78°11'W. 180 msnm. 1-4-mar-2000. Sharkey, M. 1 M. PNN. Gorgona. Antigua Laguna. 2°58'N78°11'W. 70 msnm. 3-18-ene-2001. Torres, H. 1 M. Mismos datos, excepto 18-dic-2000-3-ene-2001. 1 M. Mismos datos, excepto 18-ene-3-feb-2001. 4 H. PNN. Gorgona. El Helechal. 2°58'N78°11'W. 30 msnm. 23-12-jun-2001. Duque, R. 1 M. Mismos datos, excepto 23-jun -15-jul-2001. Torres, H. 1 M. Mismos datos, excepto 6-22-mar-2001. 1 H. 2 M. Mismos datos, excepto 13-abr-7-may-2001. Helmer, T. 1 M. Mismos datos, excepto 6-22-mar-2001. 1 M. Mismos datos, excepto 7-20-feb-2001. Torres, H. 1 H. PNN. Gorgona. El Roble. 2°58'N78°11'W. 130 msnm. 7-20-feb-2001. Torres, H. 3 M. Mismos datos, excepto 22-mar-13-abr-2001. Duque, R. 1 H. Mismos datos, excepto 7-25-may-2001. 1 M. PNN. Gorgona. Mancora. 2°58'N78°11'W. 60 msnm. 18-ene-3-feb-2001. Torres, H. 1 H. PNN. Gorgona. Mancora. 2°58'N78°11'W. 60 msnm. 8-30-nov-2000. Torres, H. 1 H. Mismos datos, excepto 29-feb-4-mar 2000. Sharkey, M. **Putumayo.** 1 H. PNN La Paya. Cabaña Chagra. 0°7'S74°56'W. 320 msnm. 15-30-oct-2001. Cobete, R. **Valle del Cauca.** 1 H. PNN. Farallones de Cali. Anchicayá. 3°26'N76°48'W. 900 msnm. 24-abr-8-may-2001. Sarria, S. 1 H. Mismos datos, excepto 2-16-ene-2001. 1 M. Mismos datos, excepto 17-31-jul-2001. 1 H. Mismos datos, excepto 28-ago -11-sep-2001. 1 M. Mismos datos, excepto 13-nov-11-dic-2001. **Vaupés.** 1 M. Estación Biológica Mosiro-Itajura (Capurí). 1°4'S69°31'W. 60 msnm. 20-ene-1-feb-2003. Sharkey, M. y D. Arias.

Neomyocoris Dellapé & Montemayor, 2008

Nuevo registro. Se colectó *N. arnaudi* Dellapé y Montemayor, 2008 (Fig. 2H) en el departamento de Amazonas a una elevación de 150 msnm. De acuerdo con Dellapé y Montemayor (2008) esta especie está distribuida en Ecuador y Perú. Aquí se registra su presencia en Colombia.

Ejemplares examinados: *N. arnaudi*. COLOMBIA. **Amazonas.** 1 H, 1 M. PNN. Amacayacu. Matamata. 3°41'S70°15'W. 150 msnm. 17-abr-2000. Parente, A. 1 M. Mismos datos, excepto 9-jun-2001. Chota, D.

Neopamera Harrington, 1980

Se colectaron especímenes del género *Neopamera* en los departamentos de Amazonas, Caldas, Cauca, Chocó, Huila, Magdalena, Meta, Putumayo, Valle del Cauca y Vaupés en un rango de elevación de 5 - 1980 msnm (Fig. 2I). Para Colom-

bia se ha registrado *N. costalis* Stål, 1874 en Bogotá (Cundinamarca) (Stål 1874, Slater 1964).

Ejemplares examinados: *Neopamera* spp. COLOMBIA. **Amazonas.** 1 M. PNN Amacayacu. Matamata. 3°41'S70°15'W. 150 msnm. 25-ago-3-sep-2001. Chota, D. **Caldas.** 2 M. y 1 M. R.N. Río Manso. Vereda San Roque. Norcasia (Bosque). 5°39'N74°46'W y 5°39'40"N74°46'98"W. 160-220 msnm. 6-8-ago-2004. González, E., L. Arango y J. M. Montes. 2 M. Mismos datos, excepto 5°39'40"N74°46'98"W. 7-9-jul-2004. **Cauca.** 1 M. Caloto. Morales. 02°59'N76°24'W. 1101-1300 msnm. Mar-2009. [MUSENUV]. 3 M. PNN Gorgona. El Saman. 2°58'N78°11'W. 5 msnm. 28-jun-15-jul-01. Torres, H. 1 M. Mismos datos, excepto 7-5-feb-2001. 2 M. Mismos datos, excepto 27-ago -12-sep-2001. 5 M. Mismos datos, excepto 15-jul-9-ago-2001. 1 M. Mismos datos, excepto 13-abr-7-may-2001. Helmer, T. 2 M. Mismos datos, excepto 22-mar-13-abr-2001. Duque, R. 1 M. Mismos datos, excepto 30-ene-14-feb-2001. **Chocó.** 6 M, 6 H. PNN Los Katíos. Centro Administrativo Sautatá. Fuera del Bosque. 7°51'N77°8'W. 30 msnm. 29-may-13-jun-2003. López, P. 10 M, 3H. Mismos datos, excepto Borde del Bosque. 13-29-jun-2003. **Huila.** 2 H. PNN Cueva de Los Guácharos. Alto el Mirador. 1°38'N76°6'W. 1980 msnm. 6-21-abr-2002. Malaise. Fonseca, J. **Magdalena.** 1 M. PNN. Tayrona. Zaino. 11°20'N74°02'W. 50 msnm. 2-22-ene-2001. Henríquez, R. 1 M. Mismos datos, excepto Cañaveral. 30 msnm. 22-30-ene-2001. 1 M. Mismos datos, excepto Pueblito. 225 m. 31-ene-21-feb-2001. 1 H. Mismos datos, excepto Palangana. 30 msnm. 17-29-sep-2001. 1 H. Mismos datos, excepto Neguanje. 10 msnm. 31-oct-15-nov-2001. **Meta.** 3 M. PNN Sierra de La Macarena. Cabaña Cerrillo. 3°21'N73°56'W. 460 msnm. 4-17-ene-2003. Herrera, A. y W. Villalba. 2 M. Sierra de La Macarena Caño Curía. Parcela. 3°21'N73°56'W. 460 msnm. 24-26-dic-2001. Herrera, A. 2 M. Mismos datos, excepto 29-dic-2001-1-ene-02. Campos, D. 2 M. Mismos datos, excepto 9-24-feb-2003. Villalba, W. 4 M. Mismos datos, excepto 17-ene-9-feb-2003. Villalba, W. 1 M. Mismos datos, excepto 24-feb-10-mar-2003. Villalba, W. 1 M. PNN Sumapaz. Cabaña Las Mirlas. 3°48'N73°52'W. 710 msnm. 3-abr-2002. Vargas, H. **Putumayo.** 1 M. PNN La Paya. Resguardo Cecilio Cocha. 0°11'S74°55'W. 200 msnm. 24-ene-2003. Sarmiento, C. & M. Macanilla. 1 M. Mismos datos, excepto Sarmiento, C. 1 M. Mismos datos, excepto 190 msnm. 20-24-ene-2003. Sarmiento, C. 1 M. PNN La Paya. Cabaña La Paya. 0°2'S75°12'W. 330 msnm. 20-nov-5-dic-2001. Lozano, E. **Valle del Cauca.** 4 M, 6 H. Buga. Laguna de Sonso. 03°52'S9°N76°21'9,7"W. 963 msnm. 28-feb-2009. Rengifo, L. [MUSENUV]. **Vaupés.** 1 M. Estación Biológica Mosiro-Itajura (Capurí). Centro Ambiental. 1°04'S69°31'W. 60 msnm. 20-ene-1-feb-2003. Sharkey, M. y D. Arias.

Orthaea Dallas, 1852

Para Colombia se han registrado *O. consuta* Dallas, 1852 y *O. meloae* Dellapé y Montemayor, 2008. (Slater 1964, Dellapé y Montemayor 2008). *O. consuta* se ha registrado en los departamentos de Cundinamarca, Meta (Villavicencio) y Nariño (Mocoa) mientras que para *O. meloae* no se especifica (Dellapé y Montemayor 2008).

Paracholula Harrington, 1980

Nuevo registro. Se colectaron especímenes del género *Paracholula* en los departamentos de Magdalena, Meta y Valle del

Cauca en un rango de elevación de 390 a 970 msnm (Fig. 2J). Hay registros del género para América Central (Guatemala, Honduras, Panamá) y América del Norte (México) (Slater 1964, Slater y O'Donnell 1995). Este primer registro para Colombia, lo es también para Sudamérica.

Ejemplares examinados: *Paracholula* spp. COLOMBIA. **Magdalena.** 1 H, 1 M. PNN. Tayrona. Cerro San Lucas. 11°19'N73°59'W. 450 msnm. 11-16-ene-2003. Sarmiento, C. **Meta.** 1 H. PNN. Tinigua. Caño Nevera. 2°11'N73°48'W. 390 msnm. 23-ene-7-feb-2002. Sanchéz, C. **Valle del Cauca.** 1 H. Cali. Universidad del Valle. 03°22'N76°32'W. 970 msnm. 5-mar-2009. Rengifo, L. [MUSENUV].

***Paromius* Fieber, 1860**

Se colectaron especímenes del género *Paromius* en los departamentos de Cauca, Meta y Valle del Cauca en un rango de elevación de 417 a 991 msnm (Fig. 2K). Para Colombia se ha registrado *P. trivialis* Stål, 1874 en Bogotá (Cundinamarca) (Stål 1874, Slater 1964).

Ejemplares examinados: *Paromius* spp. COLOMBIA. **Cauca.** 1 H. Villa Rica. Agua Azul. Cerro San Lucas. 3°11'8"N73°26'15.2"W. 991 msnm. 15-sep-2007. Vásquez, A. A. [MUSENUV]. 1 H. Mismos datos, excepto 29-feb-2008. Perea, J. A. [MUSENUV]. **Meta.** 3 M. Villavicencio.

San Martín. 03°41'40"N73°41'37"W. 417 msnm. 28-ene-2008. Tenório, E. [MUSENUV]. **Valle del Cauca.** 1 M. Cali. Universidad del Valle. 03°22'N76°32'W. 970 msnm. 23-dic-1984. Burbano, M. E. [MUSENUV].

***Pephysena* Distant, 1882**

Nuevo registro. Se colectaron especímenes del género *Pephysena* en los departamentos de Cauca y Valle del Cauca en un rango de elevación de 5-972 msnm (Fig. 2L). Se han registrado especies del género en: Antillas (Trinidad), Brasil, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, Honduras, México, Panamá, Venezuela (Slater 1964, Slater and O'Donnell 1995). Se registra la presencia de este género en Colombia.

Ejemplares examinados: *Pephysena* spp. COLOMBIA. **Cauca.** 1 M. PNN Gorgona. El Samán. 2°58'N; 78°11'W. 5 msnm. 20-feb-6-mar-2001. Torres, H. **Valle del Cauca.** 1 M. Buenaventura. La Delfina. 03°49'21,8"N76°46'51,8"W. 210 msnm. 6-oct-2006. Osorio, D. [MUSENUV]. 1 M. Buenaventura. 03°52'N76°59'W. 12 msnm. Mar-2008. Rengifo, L. [MUSENUV]. 1 M. Vía Queremal. 03°33'55,3"N76°45'31,6"W. 972 msnm. 8-sep-2008. Cabra, J. [MUSENUV]. 1 H. Cali. Universidad del Valle. 03°22'N76°32'W. 970 msnm. 5-feb-2002. Gutiérrez, C. [MUSENUV].

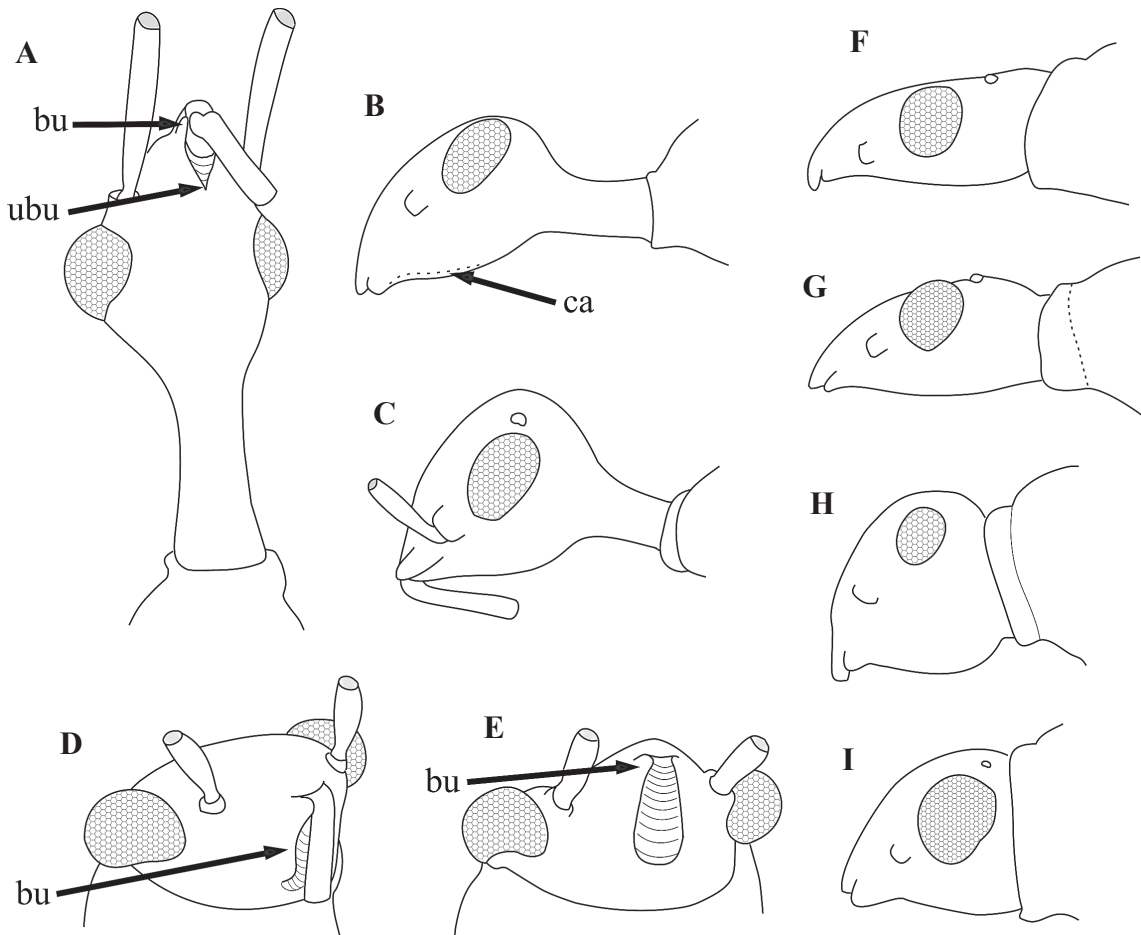


Figura 3. Cabezas de Myodochini. **A.** *Myodocha*, vista ventral. **B.** *Pephysena*, vista lateral. **C.** *Dushinckanus*, vista lateral. **D.** *Paracholula*, vista lateral. **E.** *Cholula*, vista ventral. **F.** *Catenes*, vista lateral. **G.** *Heraeus*, vista lateral. **H.** *Bacacephalus*, vista lateral. **I.** *Pseudophachybachius*, vista lateral. bu= búcula. ca= carena. ubu= unión de las búculas.

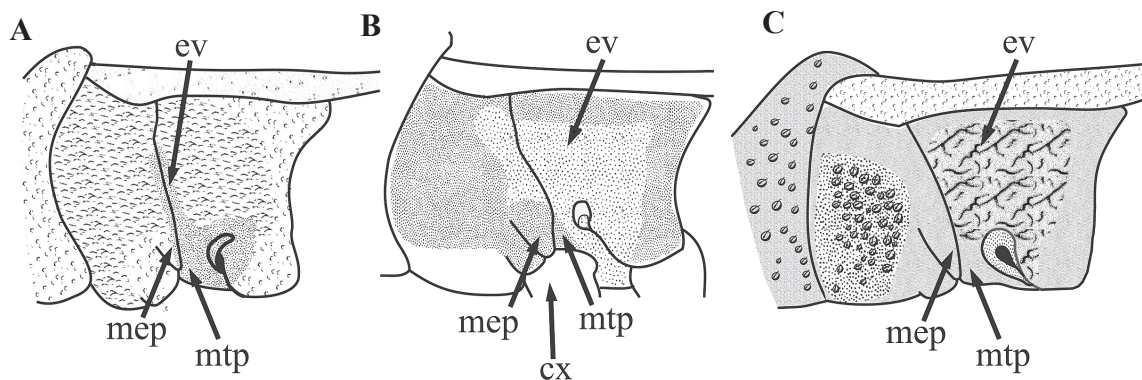


Figura 4. Tórax en Myodochini, vista lateral. **A.** *Prytanes*. **B.** *Neomyocoris*. **C.** *Cholula*. cx = coxa. ev = área evaporatoria. mep = mesoepímero. mtp = metaepisterno.

Prytanes Distant, 1893

Se colectaron especímenes del género *Prytanes* en el departamento de Magdalena a una elevación de 10 msnm (Fig. 2M). Para Colombia se han registrado *P. tumens* Stål, 1874 y *P. globosus* Distant, 1893 (Stål 1874, Slater 1964).

Ejemplares examinados: *Prytanes* sp. COLOMBIA. **Magdalena.** 1 H. PNN. Tayrona. Neguanje. 11°20'N74°2'W. 10 msnm. 18-31-oct-2001. Henríquez, R.

Pseudopachybrachius Malipatil, 1978

Se colectaron especímenes del género *Pseudopachybrachius* en los departamentos de Cauca, Magdalena y Valle del Cauca en un rango de elevación de 12 a 991 msnm (Fig. 2N). Para Colombia se ha registrado *P. vinctus* Say, 1874.

Ejemplares examinados: *P. vinctus*. COLOMBIA. **Valle del Cauca.** 1 H. Buenaventura. 03°52'N76°59'W. 12 msnm. Mar-2008. Rengifo, L. [MUSENUV]. 1 H. Cali. Universidad del Valle. 03°22'N76°32'W. 970 m. 9-nov-2004. Entomophilo. [MUSENUV]. 15 M, 24 H. Mismos datos, excepto 14-feb-2005. 5M, 2 H. Mismos datos, excepto 9-feb-2005. 3M, 8 H. Mismos datos, excepto Jun-2005. 3 H. Mismos datos, excepto Ago -2005. *Pseudopachybrachius* spp. COLOMBIA. **Magdalena.** 1 H. PNN. Tayrona. Cerro San Lucas. 11°19'N73°59'W. 600 msnm. 6-11-ene-2003. Sarmiento, C. **Cauca.** 1 H. Villa Rica. Agua Azul. 03°11'8"N76°26'15,2"W. 991 msnm. 29-feb-2008. Perea, J. A. [MUSENUV].

Pseudoparomius Harrington, 1980

Nuevo registro. Se colectó *P. bimaculatus* en el departamento de Putumayo a una elevación de 330 msnm (Fig. 2Ñ). Hay representantes del género en Argentina, Brasil, Bolivia, Paraguay, Uruguay. El registro en Colombia corresponde a la localidad más al norte de Sudamérica.

Ejemplares examinados: *P. bimaculatus*. COLOMBIA. **Putumayo.** 1 M, 1 H. PNN La Paya. Bocana Mamansoya. 0°6'S74°58'W. 330 msnm. 23-sep-2001. Campos, D.

Stridulocoris Harrington, 1980

Nuevo registro. Se colectaron especímenes del género *Stridulocoris* (Fig. 2O) en el departamento de Magdalena en un rango de elevación de 450 a 600 msnm. Se registra por pri-

mera vez para un país diferente al de la localidad tipo (Guatemala) (Slater y O'Donnell 1995).

Ejemplares examinados: *Stridulocoris* sp. COLOMBIA. **Magdalena.** 1 H. PNN. Tayrona. Cerro San Lucas. 11°19'N73°59'W. 600 msnm. 6-11-ene-2003. Sarmiento, C. 1 M. Mismos datos, excepto 450 m. 11-16-ene-2003.

Comentarios para usar la clave

La clave que se presenta a continuación es una modificación de la de Harrington (1980) para los Myodochini del mundo. Para una mayor certeza en la determinación se recomienda que su uso se acompañe con la diagnosis de los géneros (Brailovsky 1979; Harrington 1980; Slater y Brailovsky 1993; Dellapé y Melo 2005; Dellapé 2008a, 2008b; Dellapé y Montemayor 2008; Dellapé y Henry 2010).

Clave para la identificación de adultos de géneros de la tribu Myodochini de Colombia.

1. Distancia interocular menor que la distancia postocular (Figs. 1A, 3A-3C) **2**
- 1'. Distancia interocular igual o mayor que la distancia postocular (Figs. 3D-3I) **4**
- 2(1) Cabeza con puntos suaves o inconspicuos; ojos redondeados (Fig. 2G) **Myodocha**
- 2'. Cabeza con puntos muy profundos; ojos longitudinalmente ovales (Figs. 2D, 2L) **3**
- 3(2'). Unión de las búculas prolongada en una carena medioventral, poco a muy desarrollada (Fig. 3B); falo tipo IV **Pepysena**
- 3'. Unión de las búculas no prolongada en una carena medioventral (Fig. 3C); falo tipo III **Dushinckanus**
- 4(1'). Área evaporatoria de la glándula de olor reducida (Fig. 4A) **Prytanes**
- 4'. Área evaporatoria de la glándula de olor extensa (Figs. 4B-4C) **5**
- 5(4'). Cabeza y pronoto con puntos profundos y uniformes, ancha, parte posterodorsal de los ojos próximos a los ángulos anteriores del pronoto; collar estrecho, poco conspicuo, nunca demarcado posteriormente por un surco (Figs. 2C, 2J, 2O); área anterior del esternito II con hilera de celdas prolongadas dorsoventralmente (Fig. 5A) **6**
- 5'. Cabeza y pronoto con puntos suaves o inconspicuos, parte posterodorsal de los ojos generalmente separados de los án-

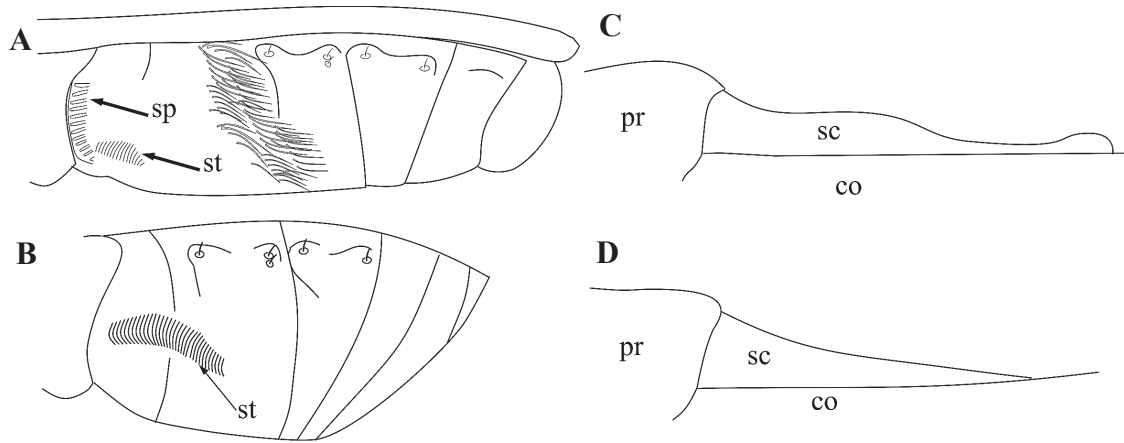


Figura 5. Abdomen y escutelo en Myodochini. Vista lateral. **A.** *Stridulocoris*. **B.** *Ligyrocoris*. **C.** *Paracholula*. **D.** *Cholula*. co = corio. pr = pronoto. ec = escutelo. st = área estridulatoria. sp = hilera de celdas.

gulos anteriores del pronoto; collar ancho, demarcado posteriormente por un surco (Fig. 2F); área anterior del esternito II sin hilera de celdas prolongadas dorsoventralmente, si presente, no visible (Fig. 5B) **8**
6(5).Clavo con tres filas de puntos; ápice del escutelo redondeado, elevado (Fig. 5C) y abruptamente claro; búcula con una proyección posterior (Fig. 3D) **Paracholula**
6'.Clavo con más de tres filas de puntos; ápice del escutelo agudo, plano (Fig. 5D) y de un solo color; búcula sin una proyección posterior (Fig. 3E) **7**
7(6').Abdomen con área glabra en la porción lateral de los esternitos II y III (es un área estridulatoria difusa); esternito abdominal IV con una densa banda de setas largas plateadas (Fig. 5A) **Stridulocoris**
7'.Abdomen con patrón de setas uniforme, sin área glabra ni banda plateada **Cholula**
8(5').Con área estridulatoria sobre los esternitos abdominales II a IV (Fig. 5B) **9**
8'.Sin área estridulatoria sobre los esternitos abdominales II a IV **10**
9(8).Pronoto con impresión transversa profundamente marcada; siempre macrópteros; antenómero IV con una banda proximal clara; espinas de la margen ventral del fémur frontal en los bordes externo e interno **Froeschneria**
9'.Pronoto con impresión transversa poco marcada (Fig. 2F), antenómero IV usualmente uniformemente oscuro, si claro, entonces las espinas de la margen ventral del fémur frontal se encuentran sólo en el borde interno **Ligyrocoris**
10(8').Mesoacetábulo con mesoepímero emergente, entre mesoepisterno y metaepisterno (Fig. 4B) **11**
10'.Mesoacetábulo con mesoepímero encerrado (Figs. 4A y 4C), metaepisterno tocando el mesoepisterno **15**
11(10).Distancia postocular igual o mayor que la distancia entre los ocelos (Figs. 2B, 2E) **12**
11'.Distancia postocular menor que la distancia entre los ocelos (Figs. 2H, 2I) **13**
12(11).Ocelo aproximadamente equidistante entre la margen posterior de los ojos y de la cabeza, o más cerca de la margen posterior de la cabeza (Fig. 2B); superficie de la cabeza en vista lateral casi plana, no presenta una constricción gradual desde los ojos hasta la margen posterior de la cabeza (Fig. 3F) **Catenes**

12'.Distancia entre la margen posterior de la cabeza al ocelo mayor que (dos o tres veces) la distancia entre el ocelo al margen posterior de los ojos (Fig. 2E); superficie de la cabeza en vista lateral convexa, presenta una constricción gradual desde los ojos a la margen posterior de cabeza (Fig. 3G) **Heraeus**
13(11').Conjuntiva del falo con muchas espinas, algunas de estas agrupadas en hileras o parches (fallo tipo III) (Fig. 1B) **Neomyocoris**
13'.Conjuntiva del falo sin espinas (Fig. 1C), si las hay son diferentes al anterior (Fig. 1D) (falo tipo IV) **14**
14(13').Cabeza con vertex redondeado; fémur frontal alargado y delgado, ancho mayor es aproximadamente 1/5 de la longitud; gonoporo de la vejiga con proceso, engrosado distalmente (Fig. 1E) **Orthaea**
14'.Cabeza con vertex plano; fémur frontal alargado y delgado o engrosado, ancho mayor es aproximadamente 1/3 o más de la longitud; gonoporo de la vejiga sin proceso, diámetro similar al restante ducto seminal (Fig. 1F) **Neopamera**
15(10').Grandes, mayores que 6 mm de longitud **16**
15'.Pequeños, menores o iguales que 5 mm de longitud **17**
16(15).Ancho de la cabeza al nivel de los ojos menor que el ancho de la impresión transversa del pronoto (Fig. 2K), hemielitros claros en la totalidad de su extensión o con una pequeña área oscura en el ápice del corio **Paromius**
16'.Ancho de la cabeza al nivel de los ojos mayor que el ancho de la impresión transversa del pronoto (Fig. 2Ñ), hemielitros con una amplia banda transversa negra **Pseudoparomius**
17(15').Cabeza globosa (Fig. 3H); ojos sobresalen de la cabeza como esferas (Fig. 2A) **Bacacephalus**
17'.Cabeza y ojos diferentes al anterior (Figs. 2N, 3I) **Pseudopachybrachius**

Agradecimientos

Agradecemos a los revisores anónimos por sus valiosos comentarios al manuscrito. A Pablo Dellapé (Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata-Argentina) por su atenta colaboración al confirmar la determinación de algunos especímenes, suministrar importante literatura e imágenes a partir de las cuales se realizaron

algunos esquemas. A Dimitri Forero (Heteropteran Systematics Laboratory, University of California Riverside - USA) por suministrarnos literatura valiosa. Apreciamos el préstamo de especímenes del Instituto de Investigaciones Biológicas Alexander von Humboldt y a la Colección de referencia de la Universidad del Valle. Este trabajo fue parcialmente financiado por Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, COLCIENCIAS, a través del programa Joven Investigador e Innovador.

Literatura citada

- ASHLOCK, P. D. 1956. An investigation of the taxonomic value of the phallus in the Lygaeidae (Hemiptera - Heteroptera). *Annals Entomological Society of America* 30 (4): 407-426.
- BRAILOVSKY, H. 1979. A new Neotropical genus Myodochini (Heteroptera: Lygaeidae) with description of a new species. *Bulletin Entomologique de Pologne* 49: 547-551.
- BRAILOVSKY, H. 1984. Un nuevo género y una nueva especie sudamericanos de la tribu Myodochini (Hemiptera: Heteroptera: Lygaeidae). *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México* 54 (1983). Serie Zoológica 1: 79-83.
- CERVANTES-PEREDO, L. 2005. Two New Species of *Myodocha* (Lygaeoidea: Rhyparochromidae: Myodochini) with a Key to Species. *Annals Entomological Society of America* 98(4): 458-469.
- CERVANTES-PEREDO, L.; PACHECO-RUEDA, I. 2006. Biología y descripción de los estados ninfales de *Cholula maculatus* Distant (Hemiptera: Heteroptera: Lygaeoidea: Rhyparochromidae: Myodochini). *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.) 22(3): 67-73.
- DELLAPÉ, P. M.; MELO, M. C. 2005. *Dushinckanus mesopotamicus*, a new species of Myodochini from Argentina (Heteroptera: Lygaeoidea: Rhyparochromidae). *Zootaxa* 901: 1-6.
- DELLAPÉ, P. M.; MELO, M. C. 2008. A new species of *Catenes* Distant from South America (Hemiptera: Heteroptera: Lygaeoidea: Rhyparochromidae). *Deutsche Entomologische Zeitschrift* 55 (2): 245-248.
- DELLAPÉ, P. M. 2008a. *Bergicoris*, a new genus for neotropical species previously placed in *Cnemodius* Herrich-Schaeffer, and a new species from Argentina (Heteroptera, Lygaeoidea, Rhyparochromidae). *Deutsche Entomologische Zeitschrift* 55 (1): 101-107.
- DELLAPÉ, P. M. 2008b. *Paisana*: A new genus of Neotropical Rhyparochromidae (Hemiptera: Heteroptera) to accommodate *Neopamera brachialis* (Stål) and four new species. *Zootaxa* 1958: 17-30.
- DELLAPÉ, P. M.; HENRY, T. J. 2010. A new genus and two new species of Myodochini (Hemiptera: Heteroptera: Rhyparochromidae) from canopy of Ecuador and Peru. *Insects Systematics and Evolution* 41: 75-89.
- DELLAPÉ, P. M.; MONTEMAYOR, S. I. 2008. A revision of the genus *Orthaea* Dallas (Heteroptera: Rhyparochromidae), with the description of two new species and a new genus: *Neomyocoris*, to accommodate *O. arnaudi* Brailovsky. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 43(2): 147-157.
- HARRINGTON, B. J. 1980. A generic level revision and cladistic analysis of the Myodochini of the world. (Hemiptera, Lygaeidae, Rhyparochrominae). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 167: 45-116.
- SCHUH, R. T.; SLATER, J. A. 1995. True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera). Classification and natural history. Cornell University. 336 p.
- SLATER, J. A. 1964. A catalogue of the Lygaeidae of the world. University of Connecticut. 1668 p.
- SLATER, J. A. 1977. The incidence and evolutionary significance of wing polymorphism in lygaeid bugs with particular reference to those of South Africa. *Biotropica* 9: 217-229.
- SLATER, J. A. 1986. A synopsis of the Zoogeography of the Rhyparochrominae (Heteroptera: Lygaeidae). *Journal of New York Entomological Society* 94: 262-280.
- SLATER, J. A.; BRAILOVSKY, H. 1993. *Scintillocoris*, a new genus of Myodochini from Mexico (Hemiptera: Lygaeidae). *Insecta Mundi* 7: 125-127.
- SLATER, J. A.; O'DONNELL, J. E. 1995. A catalogue of the Lygaeidae of the world (1960 - 1994). University of Connecticut. 410 p.
- SLATER, J. A.; SLATER, A. 1999. *Ashlockobius*, a new genus of Myodochini from Venezuela (Hemiptera: Lygaeoidea: Rhyparochromidae: Myodochini). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 101(1), 138-142.
- STAL, C. 1874. Enumeratio hemipterorum: bidrag till en förteckning öfver alla hittills kända hemiptera, jemte systematiska meddelanden. 4: 142-154. Stockholm: P. A. Norstedt, 1870-1876. Disponible en: <http://www.biodiversitylibrary.org/item/45975> [Fecha revisión: 9 noviembre 2010].

Recibido: 22-abr-2010 • Aceptado: 1-feb- 2011

Primer registro de un himenóptero thrasorino para la fauna colombiana y descripción de una especie nueva

First record of a thrasorinae hymenopteran in the Colombian fauna and description of a new species

JULI PUJADE-VILLAR¹

Resumen: Se describe una nueva especie del género *Myrtopsen* a partir de un material depositado en la colección de insectos de Universidad Nacional de Colombia. Este registro representa la primera especie de dicho género para la fauna colombiana y el primer registro de la subfamilia Thrasorinae para Colombia. *Myrtopsen colombiensis* n. sp. es una especie que presenta peculiaridades morfológicas que la hacen inconfundible respecto a las otras 10 especies que contemplan dicho género. Se ilustran los principales rasgos morfológicos de esta nueva especie.

Palabras clave: Hymenoptera. Figitidae. Thrasorinae. *Myrtopsen colombiensis* n. sp. Colombia.

Abstract: A new species of the genus *Myrtopsen* is described from material deposited in the insect collection of the National University of Colombia. This record represents the first species of this genus in the Colombian fauna, and the first record of the subfamily Thrasorinae in Colombia. *Myrtopsen colombiensis* n. sp. is a species with particular morphological characters that make it unmistakable from the other ten species that comprise this genus. The main morphological characters of this new species are illustrated.

Key words: Hymenoptera. Figitidae. Thrasorinae. *Myrtopsen colombiensis* n. sp. Colombia.

Introducción

Ronquist (1999) indicó que la familia Thrasoridae definida por Kovalev (1994) debía ser considerada como una subfamilia de Figitidae y en ella incluyó los géneros *Thrasorus* Weld, 1944, *Myrtopsen* Rübsaamen, 1908, *Euceroptres* Ashmead, 1896, *Plectocynips* Díaz, 1976, y *Pegascynips* Brèthes, 1928 y excluyó el género *Riekynips* Kovalev, 1994, al considerarlo 'nomen nudum'. Recientemente, Ros-Farré & Pujade-Villar (2007) describieron un género nuevo de Thrasorinae, *Scutimica* con dos especies, y propusieron una nueva subfamilia, Plectocynipinae, para incluir los géneros *Pegascynips* y *Plectocynips* y al mismo tiempo que excluyeron al género *Euceroptres* de los Thrasorinae. *Euceroptres* ha sido incluido en una subfamilia independiente, Euceroptrinae, por Buffington & Liljeblat (2008). Buffington (2008) define el género *Mikeius* dentro de los Thrasorinae, pero Paretas-Martínez *et al.* (2010) lo separan de esta subfamilia al no presentar la impresión circumtorular que caracteriza a los Thrasorinae (Ros-Farré & Pujade-Villar 2007).

La subfamilia Thrasorinae, es un grupo natural que incluye los géneros: *Thrasorus*, *Myrtopsen*, *Scutimica* y dos géneros nuevos procedentes de la región austral Paretas-Martínez *et al.* (2010). Además de la carena circumsutelar, otros caracteres presentes en los Thrasorinae, aunque no de forma exclusiva, son: presencia de un surco malar coriáceo, una carena mesopleural conspicua y lisa, la placa pronotal que se estrecha y se proyecta hacia delante, las carenas del propodeo extremadamente anchas y robustas, y finalmente, el tercer tergo abdominal en forma de pestaña.

Rübsaamen (1908) describió el género *Myrtopsen* a partir de ejemplares obtenidos de agallas desconocidas recolectadas sobre *Eugenia* sp (Myrtaceae) en Brasil. Recientemente ha sido publicada la revisión del género *Myrtopsen* (Ros-Farré & Pujade-Villar 2009) donde este género, de distribu-

ción americana, incluye un total de 10 especies, la mayoría de ellas del Neotrópico.

La biología de *Myrtopsen* es confusa, sin embargo, parece estar relacionada con agallas producidas probablemente por calcidoideos. Aunque de varias especies no se conoce el huésped vegetal, los datos indican que las especies neotropicales atacan agallas de Fabaceae (*Blepharocalyx* sp., *Myrciaria* sp. y posiblemente *Eugenia* sp.). El objetivo de este estudio es describir una especie nueva del género *Myrtopsen*, la cual corresponde además a la primera cita para Colombia.

Material y Métodos

El material estudiado está depositado en la colección de insectos del Instituto de Ciencias Naturales (ICN) de la Universidad Nacional de Colombia (UN). Las imágenes que ilustran este estudio fueron tomadas en la UN con Microscopio electrónico de barrido marca FEI modelo Quanta 200 a bajo voltaje y sin cubrir el ejemplar con oro ni carbón y con el Estereomicroscopio Leica modelo S8Apo con cámara digital Leica 8mp.

Las estructuras morfológicas se nombran según Richards (1977), Ronquist y Nordlander (1989), Ronquist (1995) y Ros-Farré & Pujade-Villar (2007), la terminología de la escultura según Harris (1979). Las medidas y abreviaturas incluidas en este estudio son: en lo que se refiere a las antenas, escapo, pedicelo (A2) y flagelo (F1-F11 en hembras primer y subsiguientes flagelómeros), se indicó la longitud de cada artejo, y a continuación, el ancho, entre paréntesis; POL, distancia entre el ocelo medio y uno de los laterales; OOL, distancia entre ocelos laterales y OCO distancia entre un ocelo lateral y el ojo compuesto. El surco circumtorular, carenado o no, se encuentra dorsal y lateralmente rodeando cada tórulo y no está presente en el área entre ellos (Ros-Farré & Pujade-Villar 2007).

¹ Ph.D. Universitat de Barcelona. Facultat de Biologia. Departament de Biologia Animal. Avda. Diagonal, 645. 08028-Barcelona. España. jpujade@ub.edu.

Resultados

Myrtopsen colombiensis n. sp. (Figs. 1-3)

Material tipo. Holotipo ♀, COLOMBIA, depositado en ICN (Bogotá, Colombia) con las siguientes etiquetas: “Región de Colorados, Gachantiva (Boy.), Col. I. de Arévalo, 31.I.78” (etiqueta blanca), “Holotype” (etiqueta roja), “ICN 046877 más un código de barras” (etiqueta blanca), “*Myrtopsen colombiensis* n. sp. det. J. P-V 2010” (etiqueta blanca).

Etimología. El epíteto alude al país de origen, al ser la primera especie colombiana detectada del género *Myrtopsen*.

Diagnosis. *Myrtopsen colombiensis* pertenece al grupo de especies con surcos paraescutales y notaulos anchos posteriormente junto con *M. luederwaldti* Dettmer, 1928, *M. dettmeri* Ros-Farré, 2009, *M. rodvalhoi* Dettmer, 1928, *M. platensis* Díaz, 1975 y *Myrtopsen mayri* Rübsaamen, 1908. De todas ellas se separa por la puntuación del escudo y de la cabeza, y por la gran escotadura escutelar. Solo una especie de *Myrtopsen* presenta el escudo puntuado, *M. punctatus* Ros-Farré, 2009, pero en *M. colombiensis* la puntuación es mucho más conspicua, los notaulos son anchos posteriormente y la escotadura del escutelo es muy profunda, a diferencia de *M. punctatus*.

Distribución. Especie recolectada únicamente en Colombia.

Huésped. Desconocido.

Descripción

Tamaño. Hembras 2,5 mm; machos desconocidos. **Coloración** (Fig. 1). Cabeza castaño oscura, más clara en la zona que rodea la boca y las mandíbulas que son amarillo anaranjado. Mesosoma y metasoma negros a excepción de las tégulas y de algunos esternitos que son rojizo-amarillentos. Antenas castaño oscuras. Patas castañas a excepción de las coxas, los trocánteres I-II y parcialmente el III, la articulación fémur-tibia del primer y segundo par de patas que son amarillentos; fémur, tibia y tarsos del último par de patas castaño oscuros. Venación alar castaña. **Cabeza** (Fig. 2B, 3). Cara sin carenas, brillante, lisa y con puntos pilíferos bien visibles; frente y occipucio casi lisos, puntuación escasa; mejillas por detrás del surco malar y parte posterior de los ojos con una banda completamente lisa, posteriormente puntuado y pubescente. Espacio malar 0,5 veces la longitud del ojo compuesto. Surco malar, coriáceo, estrecho. Clípeo bien diferenciado, liso. Surco circumtorular estrecho, con algunas carenas finas y profundas. Relación POL: OOL: OCO de 13: 9: 4; diámetro máximo del ocelo lateral 7. **Antenas** (Fig. 2A). Fórmula antenal: 9(3,5): 6(3): 12(3,5): 9(3): 8(3): 7(3): 7(3): 6(3,5): 5(4): 5(4): 5(4): 10(4); A2 en forma de copa y F1 muy ligeramente más ancho distalmente. Sensilas ubicadas ventralmente en todos los flagelómeros, escasas en F1 y dorsalmente muy evidentes en los cinco últimos. **Mesosoma** (Fig. 1A, 1D, 3). Placa pronotal conspicua, pubescente, poco proyectada hacia adelante. Superficie lateral del pronoto ventralmente coriácea; en la mitad superior ligeramente rugosa; lisa posteriormente. Mesoescudo brillante, con escasas y débiles carenas transversales. Notaulos percurrentes, lisos, ensan-

chados posteriormente. Surco medio corto, poco profundo. Carena paraescutal lisa, ligeramente ensanchada en su parte posterior, mucho más estrecha anteriormente. Mesopleura ligeramente rugosa en el tercio anterior, con pubescencia laxa; surco mesopleural estrecho, superficial y poco diferenciado. Escutelo rugoso, escotado posteriormente. Fosetas escutelares oblicuas, separadas por un punto, ligeramente esculturadas. Carenas del propodeo anchas; margen externo angulado; margen interno curvado. **Patatas.** Espina metatibial interna corta, alcanza el primer tercio de la longitud del primer tarsómero. Uñas simples. **Alas anteriores** (Fig. 1C). Celda radial cerrada; 2,4 veces más larga que ancha. Areola inexistente. **Metasoma** (Figs. 1A, 1B, 2C). Gran terguito metasomal con escasa pubescencia latero-anterior, puntuado lateralmente en el tercio distal sin llegar al margen del segmento. Sigüientes terguitos puntuados.

Discusión

Brasil es el país sudamericano donde más especies de *Myrtopsen* han sido citadas: *M. dettmeri*, *M. luederwaldti*, *M. ma-*

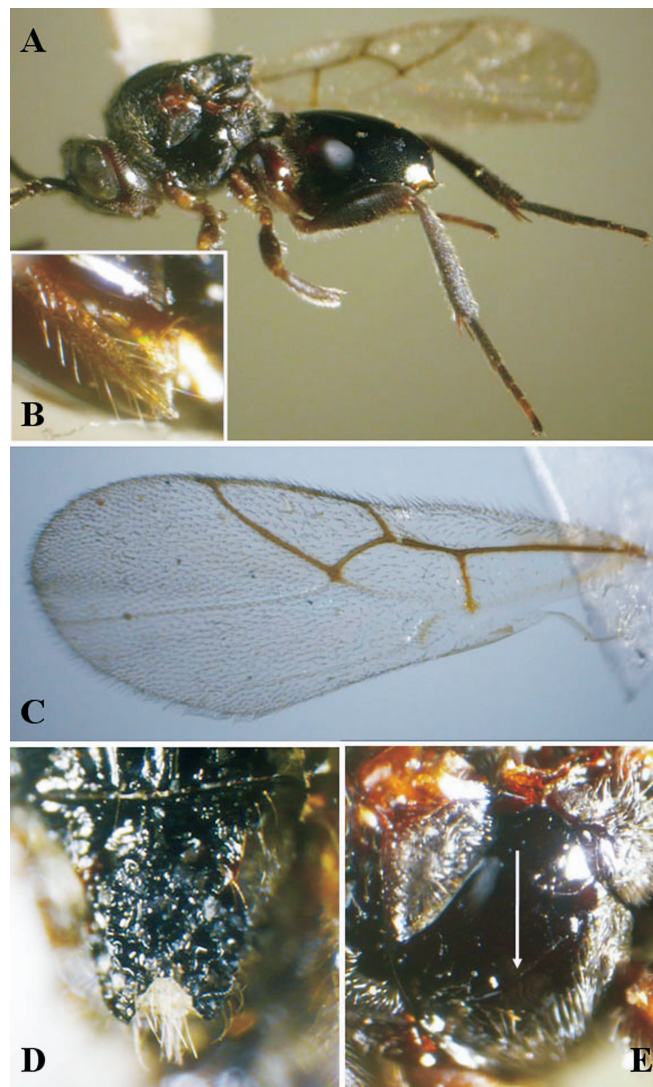


Fig. 1. Aspecto general de *Myrtopsen colombiensis* A. detalle de la espina ventral B. primer par de alas C. escutelo D. mesopleura E. en la que se indica el débil surco mesopleural.

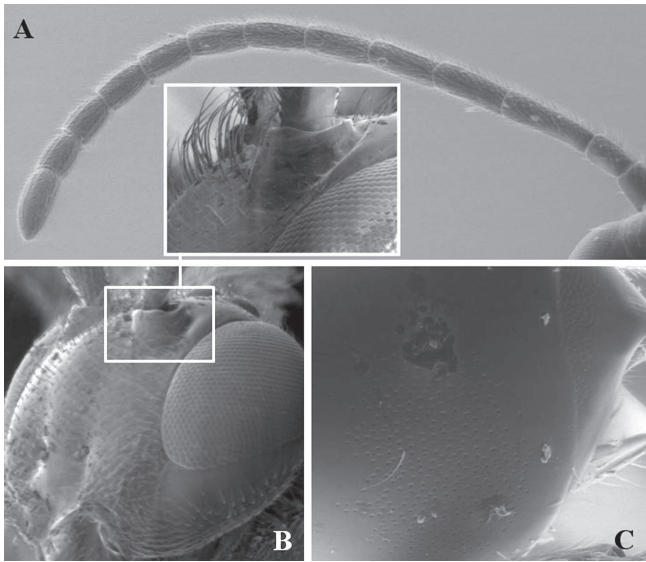


Fig. 2. Antena de *Myrtopsen colombiensis* **A**, cabeza en el que se observa un detalle del surco circuntorular **B**, metasoma en el que se aprecia las puntuaduras en la parte distal del gran segmento metasomal **C**.

yri, *M. rodovalhoi*, y *M. platensis*, esta última también conocida de Argentina y Paraguay; la colecta de *M. colombiensis* representa la cita más al norte de Sudamérica y llena en parte el vacío de colectas existente del género *Myrtopsen* desde Brasil hasta América central. Las otras especies que incluye el género se distribuyen en Nicaragua (*M. maesi* Ros-Farré y Pujade-Villar, 2009), México (*M. punctuatus* Ros-Farré, 2009 y *M. rufipes* (Cameron, 1884)) y Estados Unidos en el estado de Arizona (*M. levisulcus* Ros-Farré y Pujade-Villar, 2009 y *M. mimosae* Weld, 1926).

Atendiendo a la reciente revisión de las especies de *Myrtopsen*, en la que describen especies nuevas y se redescubren todas las existentes (Ros-Farré y Pujade-Villar 2009), *M. colombiensis* al presentar los notaulos anchos posteriormente y el surco medio corto (alcanzando a lo sumo la mitad del escudo), se aproxima morfológicamente a *M. luederwaldti* y *M. dettmeri*. No obstante, *M. colombiensis* se diferencia de ambas especies por presentar la cara y escudo lisos, brillantes y con una puntuación pilífera muy aparente y por la coloración que es predominantemente negra, en contraposición a las otras dos especies mencionadas que presentan la cara y escudo coriáceos, más o menos estriados y una coloración castaño claro, castaño rojizo o castaño oscuro.

Agradecimientos

Estamos en deuda con Carlos Eduardo Sarmiento (UNC, Bogotá Colombia) por todas las facilidades mostradas para la realización de este estudio y por consultar algunos detalles de la descripción de la especie. También agradecemos muy sinceramente a Hugo Sánchez del laboratorio de Microscopía Electrónica de la Universidad Nacional de Colombia por su dedicación más allá de su obligación en la realización de las fotografías electrónicas que ilustran este manuscrito.

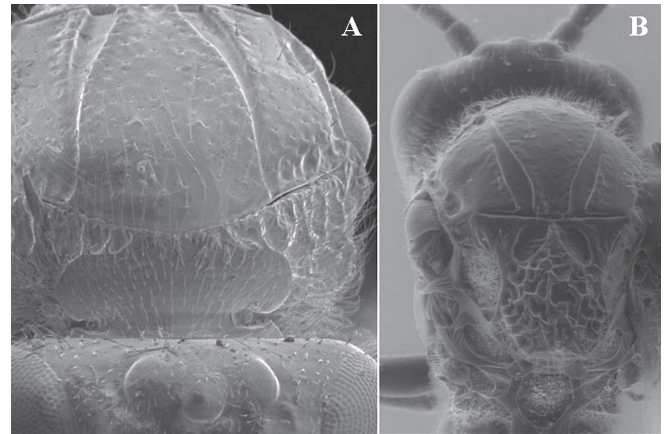


Fig. 3. Mesosoma de *Myrtopsen colombiensis* en la que destaca la placa pronotal **A**, mesosoma y propodeo **B**.

Literatura citada

- BUFFINGTON, M. L. 2008. A revision of Australian Thrasorinae (Hymenoptera: Figitidae) with a description of a new genus and six new species. *Australian Journal of Entomology* 47: 203-212.
- BUFFINGTON, M. L.; LILJEBLAD, J. 2008. The description of Euceroptinae, a new subfamily of Figitidae (Hymenoptera), including a revision of *Euceroptres* Ashmead, 1896 and the description of a new species. *Journal of Hymenoptera Research* 17: 44-56.
- HARRIS, R. A. 1979. A glossary of surface aculpturing. *Occasional papers of Laboratory Services/Entomology* 28: 1-31.
- KOVALEV, O. 1994. Paleontological history, phylogeny and the system of brachycleistogastromorphs and cynipidomorphs (Hymenoptera, Brachycleistogastromorpha infraorder n., Cynipidomorpho infraorder n.) with description of new fossil and recent families, subfamilies and genera. *Entomologicheskoe Obozrenie* 73 (2): 385-426.
- PARETAS-MARTINEZ, J.; RESTREPO-ORTIZ, C.; BUFFINGTON, M.; PUJADE-VILLAR, J. 2010. Systematics of Australian Thrasorinae (Hymenoptera: Cynipoidea: Figitidae) with a description of Mikeiinae, new subfamily, and two new genera. *ZooKeys* (en prensa).
- RICHARDS, O. W. 1977. Hymenoptera. Introduction and key to families. 2nd ed. *Handbooks for the identification of British Insects* 6(1): 1-100.
- RONQUIST, F.; NORDLANDER, G. 1989. Skeletal morphology of an archaic cynipoid (Hymenoptera: Ibaliidae). *Entomologica Scandinavica, Supplements* 33: 1-40.
- RONQUIST, F. 1995. Phylogeny and early evolution of the Cynipoidea (Hymenoptera). *Systematic Entomology* 20: 309-335.
- RONQUIST, F. 1999. Phylogeny, classification and evolution of the Cynipoidea. *Zoologica Scripta* 28 (1-2): 139-164.
- ROS-FARRÉ, P.; PUJADE-VILLAR, J. 2007. Plectocynipinae, a new subfamily of Figitidae and description of a new Neotropical genus of Thrasorinae (Hymenoptera: Cynipoidea). *Zootaxa* 1583: 1-13.
- ROS-FARRÉ, P.; PUJADE-VILLAR, J. 2009. Revisión del género *Myrtopsen* Rübsaamen, 1908 (Hymenoptera: Figitidae: Thrasorinae). *Dugesiana* 16(1): 21-33.
- RÜBSAAMEN, E. H. 1908. Beiträge zur Kenntnis aussereuropäischer Zooeciden. III Beitrag. Gallen aus Brasilien und Peru. *Marcellia* 6: 110-173.

Recibido: 2-ago-2010 • Aceptado: 2-nov-2010

Una vibrante y luminosa combinación de colores: nuevas especies de saltamontes payaso *Paramastax* (Orthoptera: Eumastacidae)

A vibrant and bright combination: new species of clown grasshoppers *Paramastax* (Orthoptera: Eumastacidae)

MITZY F. PORRAS¹

Resumen: El análisis de caracteres en la anatomía externa e interna, específicamente en el complejo fálico, revelan tres nuevas especies del género *Paramastax*. Las especies presentan caracteres en la anatomía externa similares a los de especies descritas para el género, sin embargo los escleritos que constituyen el complejo fálico son extremadamente diferentes a las conocidas. Actualmente, diez de las 16 especies del género son reportadas en Colombia. Con base en los individuos estudiados el rango altitudinal de distribución ha sido extendido desde 77 hasta 2600 m.

Palabras clave: Entomofauna Neotropical. Complejo fálico. Acridomorpha.

Abstract: The analysis of characters in the external and internal anatomy, specifically in the phallic complex, reveals three new species of the genus *Paramastax*. The species present characters in the external anatomy similar to the species previously described for the genus, however the sclerites that constitute the phallic complex are extremely different from those recognized. Currently, ten of the 16 species of the genus are reported from Colombia. Based on individuals studied, the altitudinal range of distribution has been extended from 77 to 2600 m.

Key words: Neotropical entomofauna Phallic complex. Acridomorpha.

Introducción

El género *Paramastax* Burr, 1899 es actualmente representado por 13 especies neotropicales (Varón 2000) y siete de estas especies fueron reportadas en Colombia: *P. aprilei* Descamps, 1971, *P. duquei* Descamps, 1971, *P. lingulata* Descamps, 1973, *P. mariaetheresia* Descamps, 1971, *P. mutilata* (Serville, 1839), *P. poecilosoma* Hebard, 1923, y *P. rosebergi* (Burr, 1899) (Carbonell *et al.* 2007).

Según Descamps (1973a) los caracteres de las especies varían significativamente, tanto en su morfología externa como en su complejo fálico. La condición alar puede variar desde macróptero, braquíptero, micróptero a subáptero. El complejo fálico tiene variaciones extraordinarias interespecíficas, como los individuos estudiados en este trabajo. Las nuevas especies aquí descritas difieren tanto en su morfología externa como en los genitales de las especies anteriormente descritas. El objetivo del presente estudio es describir tres nuevas especies para el género *Paramastax*, ampliando el conocimiento de la biodiversidad de eumastácidos en Colombia.

Dentro de las especies posiblemente cercanas a las nuevas especies descritas se encuentran *P. nigra*, *P. aprilei*, y *P. poecilosoma*. Según Descamps (1973b) *P. nigra* se caracteriza por tener élitros monocromos más largos que el abdomen, ectofalo bidigitiforme con cuatro pares de válvulas y epifalo redondeado en la parte anterior, con lophis gruesos de punta bifurcada. Por otro lado, *P. aprilei* no presenta banda postocular, los élitros se extienden hasta el cuarto tergito y la placa subgenital tiene forma de "W" con margen dentado. La especie *P. poecilosoma* presenta élitros que llegan hasta el primer tergito y el octavo tergito se proyecta sobre el noveno. El complejo fálico presenta ectofalo que se eleva en la parte posterior y termina en punta aguda, el epifalo es robusto y redondeado en la parte anterior con lophis largos igualmente

robustos, cada uno presenta una pequeña proyección espiniforme. Estos caracteres son aquellos en donde difieren las nuevas especies que se describen a continuación.

Materiales y Métodos

Los especímenes se preservaron en etanol (70%). Se estudiaron nueve individuos en total. La morfología externa y la anatomía de los genitales se analizaron bajo estereoscopia Nikon SMZ-10. Los dibujos se hicieron con ayuda de oculares con retícula y una cámara lúcida. Las mediciones del largo del fastigio al final de la tegmina, largo del fastigio al final del abdomen, largo de la prozona, largo de la metazona, largo total del pronoto, ancho del pronoto, ancho del fémur posterior, largo del fémur posterior, largo de la tegmina, diámetros del ojo (a: pequeño, b: grande), distancia interocular y ancho de la cabeza gena-gena, se realizaron con un calibrador de acuerdo con el trabajo de Carbonell (2002) y Rowell y Bentos-Pereira (2001a), en los que estas dimensiones, resultan importantes debido a que indican variaciones relevantes. Después de la disección, los complejos fálicos fueron expuestos a una solución de KOH al 10% durante 24 horas aproximadamente, con el fin de eliminar el tejido graso. Los complejos fálicos se estudiaron en un medio de glicerina y fueron preservados en un vial pequeño con 0,005 ml de glicerina ubicado junto a cada espécimen. Los ejemplares se colectaron en campo en las siguientes localidades: Huila. PNN Cueva de los Guacharos, Cedros, 76°20'12.45"W 1°18'39.47"N. 1655msnm; Santander, Barrancabermeja, 73°51'51.33"W 7°04'13.22"N; Meta. Acacias, 73°46'00.96"W 3°59'14.15"N. 542 msnm; Boyacá. Otanche. Serranía las Quinchas. 74°15'01.26"W 5°45'01.88"N. 1075msnm.

Para la descripción se utilizó la nomenclatura propuesta por Descamps (1971) y Rowell y Bentos-Pereira (2001a, 2001b). Los tipos fueron depositados en la colección entomológica del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, en Bogotá (ICN).

¹ Bióloga. Mitzy.porras@gmail.com

Descripción

Paramastax montealegre n. sp. (Figs. 1 - 2)

Holotipo ♂: COLOMBIA. Huila. PNN Cueva de los Guacharos, Cedros, 76°20'12,45''W 1°18'39,47''N. 1655 msnm. Hernández. Dic-2006. MFP n° 134. Depositado en la colección del Instituto de Ciencias Naturales [ICN 46085].

Paratipos Dos ♂: COLOMBIA. Mismos datos del holotipo. MFP n°135. Depositado en la colección del Instituto de Ciencias Naturales [ICN-46086]; Santander, Barrancabermeja, 73°51'51,33''W 7°04'13,22''N. 77msnm. C. Arango. Jul-2008. MFP n° 136. Depositado en la colección del Instituto de Ciencias Naturales [ICN-46087].

Etimología: Especie dedicada a Fernando Montealegre-Z.

Diagnosis: Macho. Antena con 12 antenómeros, pronoto sin carina media, subáptero, élitros bicromos, tarso posterior con espinas en ambos lados. Cercos delgados y agudos. Complejo fálico: redondeado, lophis con terminación aguda dirigida hacia abajo. Esclerito endofálico con extremos agudos dirigidos hacia el centro.

Descripción: Macho de medidas: Largo del fastigio al final de la tegmina 9,15; largo del fastigio al final del abdomen 13,3; largo de la prozona 1,35; largo de la metazona 0,5; largo

total del pronoto 1,8; ancho del fémur posterior 2,05; largo del fémur posterior 13,8; largo de la tegmina 5,1; diámetro del ojo a 1,1; diámetro del ojo b 1,7; distancia ocular 0,7; ancho de la cabeza gena-gena 1,95.

Cabeza. Antenas de 12 antenómeros color marrón oscuro, escapo y pedicelo color amarillo. Ojos globosos, color marrón. Ocelo medio bordeado por carenas. Frente color marrón oscuro. Banda postocular color amarillo. Triángulo fronto-clipeal color amarillo. Fastigio poco pronunciado. Vertex con tegumento liso color marrón oscuro y presencia de dos bandas postoculares (Fig. 1A).

Tórax. Pronoto: En vista dorsal sin carena media. Zonas pronotales subdivididas por suturas laterales. Margen anterior convexo, ligeramente elevado, margen posterior cóncavo. Regiones laterales desde la parte anterior hasta la parte posterior color marrón oscuro. En vista lateral con margen curvo en la parte anterior, hacia la parte inferior forma un ángulo obtuso. El margen inferior proyectado en forma casi recta hasta el margen posterior formando un ángulo recto. Sutura diagonal en la zona pronotal proyectada desde la parte superior hasta la inferior, seguida por una sutura de menor longitud (1/2 de la anterior), y sutura vertical cercana al margen posterior. Tarsos posteriores con una espina en el borde posterior externo. Alas coriáceas proyectadas hasta el cuarto tergito. Franja media color marrón oscuro, franjas laterales color amarillo (Fig. 1A).

Abdomen. Tegumento color marrón claro. Placa subgenital redondeada (Fig. 1B). Cercos delgados con ápice agudo en vista dorsal, dirigidos hacia el centro (Fig. 1C), extremo subcuadrado en vista axial (Fig. 2B). Complejo fálico: Esclerito ectofálico con bordes laterales dirigidos hacia abajo (Fig. 2A) y con curvaturas (Fig. 2A). Esclerito epifálico robusto y redondeado (Fig. 2A). Brazos de los lophis con proyecciones agudas, extremos de los lophis agudos (Fig. 2B). Esclerito

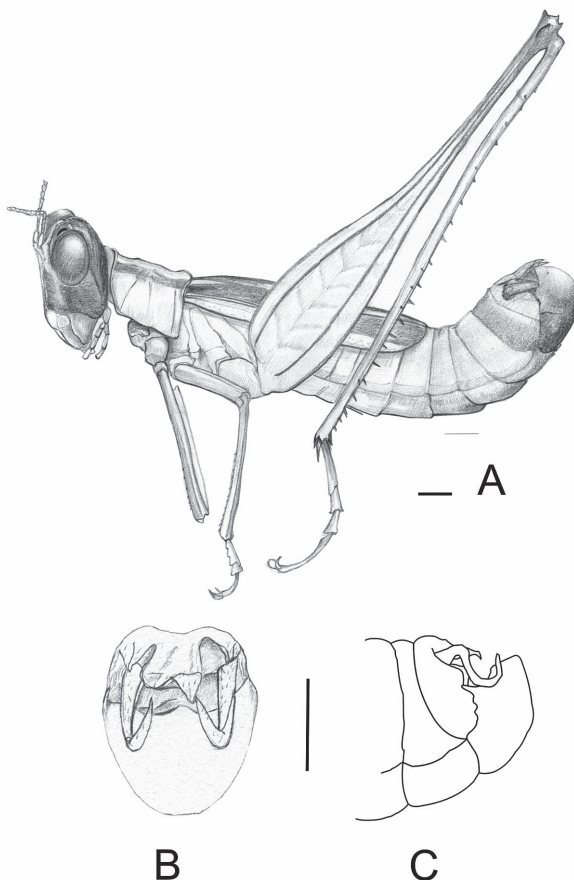


Figura 1. *Paramastax montealegre* n. sp. ♂. A. Habitus. B. Placas subgenitales en vista axial. C. Placas subgenitales en vista lateral. Escala 1mm.

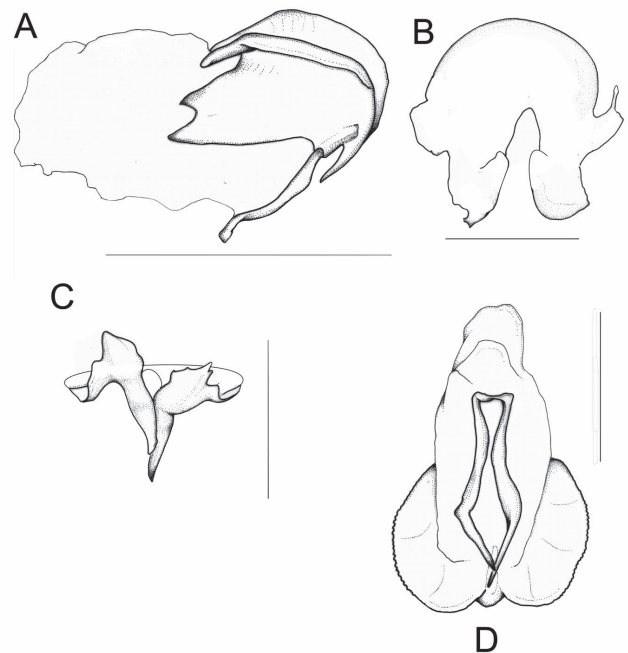


Figura 2. *Paramastax montealegre* n. sp. ♂. A. Esclerito ectofálico. B. Esclerito epifálico en vista dorsal. C. Esclerito epifálico en vista axial. D. Esclerito endofálico. Escala 1mm.

endofálico con dos curvas hacia la parte anterior, extremos agudos, dirigidos hacia el centro (Fig. 2C).

Paramastax alba n. sp. (Figs. 3 - 4)

Holotipo ♂: COLOMBIA. Meta. Acacias, 73°46'00,96''W 3°59'14,15''N. 542 msnm. C. Arango. Jul-2008. MFP n° 137. Depositado en la colección del Instituto de Ciencias Naturales [ICN-46088].

Paratipos Dos ♂ (MFP n°138, MFP n° 139) y una ♀ (MFP n° 140): COLOMBIA. Mismos datos del holotipo. Depositados en la colección del Instituto de Ciencias Naturales [ICN-46089, 46090, 46091].

Etimología: Especie dedicada a la profesora Alba Bentos-Pereira de la Universidad de la República, Uruguay.

Diagnosis: Macho. 12 antenómeros. Espina sobre el noveno segmento antenal. Tarso posterior sin espinas. Macroptero, élitros monocromos que sobrepasan el extremo del abdomen. Carinulas medias de la frente continuas con los bordes laterales del fastigio. Complejo fálico: rectangular con lophis cortos y agudos. Endofalo curvo en la parte anterior, con márgenes externos irregulares.

Descripción: Macho de medidas: Largo del fastigio al final de la tegmina 15,7; largo del fastigio al final del abdomen 14,8; largo de la prozona 1,1; largo de la metazona 1,05; largo total del pronoto 2,15; ancho del pronoto 1,75; ancho del fémur posterior 1,6; largo del fémur posterior 10,2; largo de la tegmina 11,45; diámetro del ojo a 1,3; diámetro del ojo b 1,6; distancia interocular 0,05; ancho de la cabeza gena-gena 1,9. **Cabeza.** Antenas con 12 segmentos, color marrón. Escapo y pedicelo amarillos. Ojos globosos, bicromos. Blanco en la parte inferior y el resto del ojo color negro (Fig. 3 A). Fastigio con bordes elevados unidos con las carinulas medias de la frente. Frente color amarillo. Genas color amarillo hasta la mitad, a partir de allí color marrón claro. Vertex color marrón. Genas y franjas laterales del vertex color azul con una franja central color negro. Franja color negro en la región posterior inferior del ojo proyectadas hasta el occipucio.

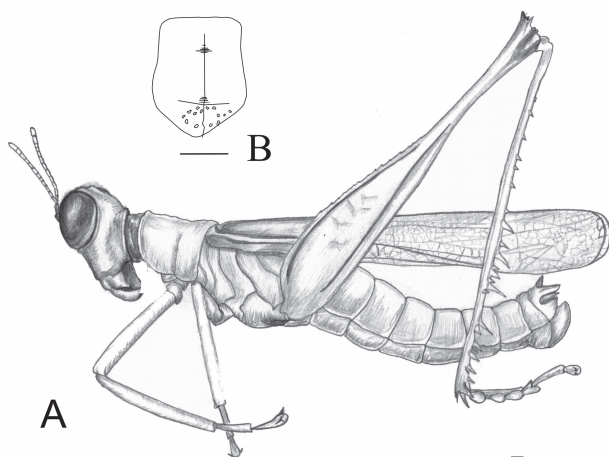


Figura 3. *Paramastax alba* n. sp. ♂. A. Habitus. B. Pronoto en vista dorsal. Escala 1mm.

Tórax. Pronoto. Zonas pronotales divididas, por un sulcus que intercepta la carena media. Tegumento rugoso, color amarillo. Margen anterior casi recto, color marrón. Borde posterior triangular color marrón, en vista dorsal (Fig. 3B). En vista lateral margen anterior con borde curvo, margen posterior recto y en la parte posterior forma un ángulo de 90°. Tres suturas verticales ubicadas una en la prozona y dos en la metazona. Macroptero, élitros más largos que el abdomen, color marrón (Fig. 3A).

Abdomen. Tergitos noveno y decimo no sobresalientes. Tegumento color marrón claro. Regiones membranosas conservan la forma aguda. Placa subgenital con borde superior agudo y en la parte inferior redondeada (Fig. 4A, 4B), en la parte axial color negro. Cercos rectos, con punta roma, color marrón oscuro (Fig. 4A). Complejo fálico: Esclerito ectofálico con terminación aguda, axialmente, fuertemente esclerotizado (Fig. 4C). Epifalo rectangular, bordes de los lophis en su primera curva con una espina o terminación aguda, proyectados hacia abajo formando una segunda curva en la que posteriormente los extremos se curvan y se proyectan hacia el centro (Fig. 4D). Esclerito endofálico curvo en la parte anterior, con márgenes externos irregulares, proyecciones subcuadradas. Brazos delgados, el derecho más delgado que el izquierdo, con terminación aguda (Fig. 4E).

Paramastax hirsutum n. sp. (Figs. 5 - 6)

Holotipo ♂: COLOMBIA. Boyacá. Otanche. Serranía las Quinchas. 74°15'01,26''W 5°45'01,88''N. 1075 msnm. Nov-2008. J. M. Carvajalino. MFP n°141 [ICN-46092].

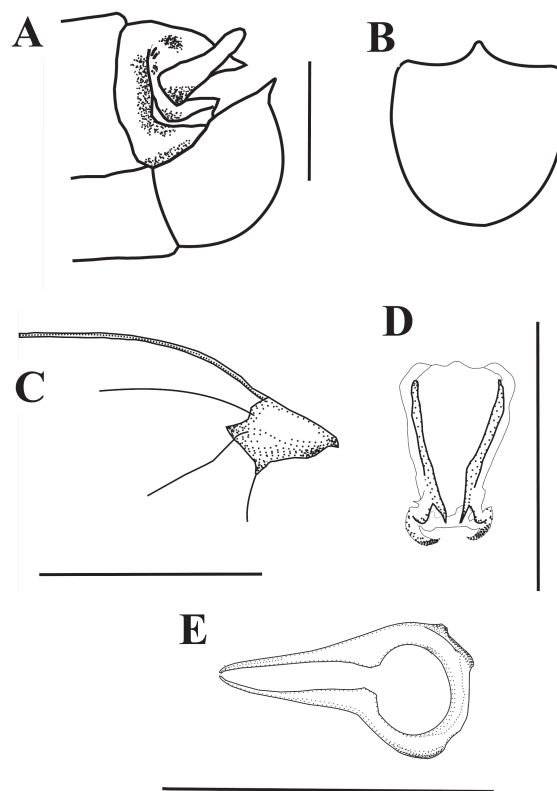


Figura 4. *Paramastax alba* n. sp. ♂. A. Placas subgenitales en vista lateral. B. Placa subgenital inferior en vista axial. C. Esclerito ectofálico en vista lateral. D. Esclerito epifálico en vista dorsal. E. Esclerito endofálico en vista dorsal. Escala 1mm.

Paratipo ♂: COLOMBIA. Mismos datos del holotipo. MFP n°142. [ICN-46093].

Etimología: El epíteto *hirsutum* hace referencia a la presencia de setas en las placas subgenitales.

Diagnosis: Macho. 12 antenómeros. Espina móvil. Espina inmóvil en la parte axial de la tibia. Tarsos posteriores con una espina sobre el borde interno. Micróptero. Espina prosternal.

Descripción: Macho de medidas: Largo del fastigio al final de la tegmina 5; largo del fastigio al final del abdomen 11,35; largo de la prozona 0,9; largo de la metazona 1,1; largo total del pronoto 2; ancho del pronoto 1,95; ancho del fémur posterior 1,5; largo del fémur posterior 8,8; largo de la tegmina 0,9; diámetro del ojo a 1,15; diámetro del ojo b 1,4; distancia interocular 0,25; ancho de la cabeza gena-gena 1,75.

Cabeza. Antenas con 12 antenómeros, color negro. Escapo y pedicelo color amarillo. Ojos globosos color negro (Fig. 5A). Fastigio con bordes elevados, unidos con las carinulas medias de la frente. Ocelo medio, Frente y triangulo fronto-clipeal color negro. Genas de tegumento liso, color negro. Vetex con setas, tegumento liso, color azul metálico hacia los márgenes, el resto color negro.

Tórax. Pronoto. Carena media visible $\frac{3}{4}$ del pronoto. Zonas pronotales divididas, por un sulcus en forma recta, formando una "V", en vista dorsal. Tegumento no uniforme en la prozona y rugoso en la metazona (Fig. 5B). Setas distribuidas en todo la parte dorsal del pronoto. Tegumento color azul en vista dorsal, color amarillo en vista lateral. Margen anterior semirecto, margen posterior triangular, en vista dorsal (Fig. 5B). En vista lateral borde superior de la parte anterior se proyecta formando una curva que se une con la parte inferior formando un vértice de ángulo obtuso. El borde inferior recto, el vértice posterior formando un ángulo de 90° que hacia la parte superior forma una curva que se proyecta hasta la región dorsal y forma el triangulo. Espina prosternal. Micróptero, élitros bicromos con venas color azul y membranas color negro (Fig. 5B).

Abdomen. Tergitos color azul en vista dorsal, esternitos color amarillo. Cercos rectos (Fig. 6A). Placa subgenital con setas abundantes (Fig. 6A), depresión en el borde superior y parte inferior deprimida (Fig. 6B). Complejo fálico: Esclerito ectofálico delgado en la parte superior e inferior, en la región central presenta dos espinas fuertemente esclerotizadas (Fig. 6C). Apifálico en forma de "M" fuertemente esclerotizado (Fig. 6D). Lophis delgados y largos, en vista dorsal y lateral. Los

lophis descendientes y posteriormente se elevan, sus extremos son subcuadrados (Fig. 6E). Esclerito endofálico delgado y largo, 2 veces el largo del (Fig. 6G). Los brazos son delgados dirigidos ligeramente hacia afuera (Fig. 6F).

Discusión

A pesar del desconocimiento de la diversidad de eumastácidos en Colombia, es posible afirmar que el género *Paramastax* está distribuido en varias zonas de vida de los andes colombianos. Con base en los resultados del presente trabajo, en Colombia actualmente se registran diez especies, distribuidas en los departamentos del Putumayo, Cauca, Valle del Cauca, Antioquia, Meta, Boyacá y Huila. Por tanto, la distribución horizontal del género se amplía, pues ahora es reportado en Huila, Meta y Boyacá. En cuanto a la distribución altitudinal, Descamps (1973b) dudó acerca de la veracidad de la baja altitud reportada para la *P. annulipes*, 530m, en Ecuador (Descamps 1973b). Pero el presente estudio reporta a una altura cercana, 542 msnm, a *P. alba*. Incluso la cota altitudinal mínima para el género descende a 77 msnm con el reporte de *P. montealegre*.

El género habita en Colombia desde 77 hasta 2600 msnm, a saber: *P. alba* 542msnm, *P. mariatheresia* 1500 msnm, *P. montealegre* 77-1655 msnm, *P. hirsutum* 1075 msnm, *P. aprilei* 2200 msnm, *P. rosenbergi* 1600-2000 msnm, *P. duquei* 1900-2300 msnm y *P. poecilosima* 1700-2300 msnm. Los datos de localización de las especies *P. lingulata* Descamps 1973 y *P. mutilata* (Serville, 1839) no son reportados en la bibliografía (Carbonell *et al.* 2007). Las especies de *Paramastax* se encuentran en siete zonas de vida según la distribución de Holdridge (1978). La gran variabilidad de zonas de vida en donde se encuentra el género sugiere gran disponibilidad de recursos en relación a alimento, refugio, sitios de percha, entre otras diferentes dimensiones de nicho (Hutchinson 1958). Esta hipótesis debe ser evaluada a nivel especie específico y entre poblaciones debido a la ausencia de información sobre la historia natural de las especies y a la gran heterogeneidad de hábitats en donde se han hallado el género *Paramastax*. En cuanto a la caracterización de la anatomía externa del género *Paramastax* los caracteres más relevantes son: 12 an-

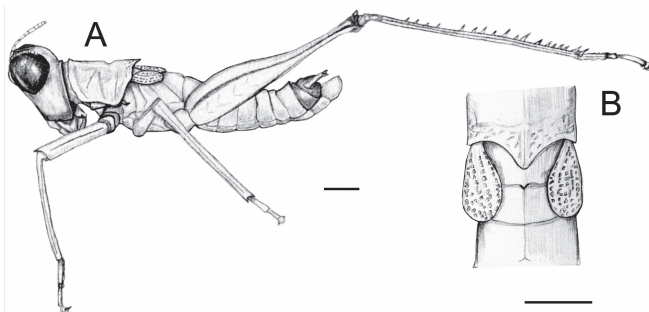


Figura 5. *Paramastax hirsutum* n. sp. ♂. A. Habitus. B. Pronoto y élitros en vista dorsal. Escala 1mm.

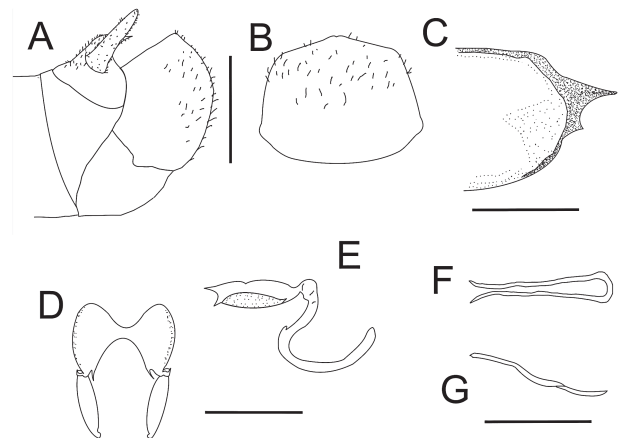


Figura 6. *Paramastax hirsutum* n. sp. ♂. A. Placas subgenitales en vista lateral. B. Placa subgenital inferior en vista axial. C. Esclerito ectofálico en vista lateral. D. Esclerito epifálico en vista dorsal. E. Esclerito epifálico en vista lateral. F. Esclerito endofálico en vista dorsal. G. Esclerito endofálico en vista lateral. Escala 1mm.

tenómeros, carinulas medias de la frente son continuas con los bordes del fastigio, las partes laterales de los terguitos noveno y decimo se proyectan fuertemente hacia atrás, pueden ser macrópteros, micrópteros, subapteros o braquípteros. La identificación de especies del género *Paramastax* es complicada pues aunque se presentan diferencias en la anatomía externa éstas no permiten una identificación acertada en la mayoría de los casos. Por lo tanto es necesario estudiar el complejo fálico, ya que es un carácter que varía con cada especie. La clave para la identificación de las especies de este género, planteada a continuación, involucra caracteres de la anatomía externa e interna, los patrones de coloración utilizados por Descamps (1973b) son omitidos ya que son susceptibles a variaciones en función al método de conservación en las colecciones biológicas.

Clave para las especies del género *Paramastax*

- 1 Insectos macrópteros..... 2
- Insectos micrópteros..... 7
- 2 Élitros monocromos que sobrepasan el extremo del abdomen..... 3
- Élitros que no sobrepasan el extremo del abdomen 4
- 3 Lóbulos laterales del pronoto con una banda inferior roja-anaranjada. complejo fálico: El ectofalo bidigitiforme de cuatro pares de válvulas, epifalo redondeado en la parte anterior, con lophis gruesos de punta bifurcada*P. nigra* (Scudder, 1875)
- Complejo fálico: ectofalo con extremos anteriores es muy delgada y la parte posterior tiene forma triangular, epifalo subrectangular con lophis delgados de punta aguda proyectadas hacia el centro*P. alba* n. sp.
- 4 Ángulo posterior de los lóbulos laterales del pronoto muy proyectados hacia atrás, ángulo anterior redondeado, capsula cefálica amarilla excepto el extremo del vertex. Élitros hasta la base de la placa subgenital, banda ancha color amarillo sobre el borde anterior *P. exigai* (Descamps, 1971)
- Ángulo posterior de los lóbulos laterales del pronoto no proyectados hacia atrás..... 5
- 5 Ángulo anterior del pronoto redondeado, cápsula cefálica policroma, élitros no sobrepasan el octavo tergito, los bordes anterior y posterior presentan una banda color verde-amarillo. Complejo fálico: Epifalo subcuadrado, lophis proyectados hacia el centro, endofalo muy grueso en la parte anterior *P. mariatheresia* (Descamps, 1971)
- Élitros hasta el cuarto tergito 6
- 6 Banda postocular. Placa subgenital redondeada. Complejo fálico: epifalo redondeado, lophis proyectados hacia el exterior, endofalo delgado con los extremos dirigidos hacia el centro *P. montealegre* n. sp.
- Sin banda postocular, pronoto sin color negro, sólo el borde posterior tiene una banda ancha color verde-amarilla. Placa subgenital en forma "W" con margen dentado *P. aprilei* (Descamps, 1971)
- 7 Insectos micrópteros 8
- Insectos subápteros 11
- 8 Borde posterior del octavo tergito cóncavo, élitros no sobrepasan el borde posterior del metanoto, tergitos 6,7 y 8 color anaranjado, pronoto color anaranjado *P. rosenbergi* (Burr, 1899)
- Borde posterior del octavo tergito fuertemente proyectado hacia atrás, élitros sobrepasan el borde posterior del primer tergito abdominal, tergitos séptimo y octavo color rojo, disco

- del pronoto negro o marrón..... 9
- 9 Tergito octavo ligeramente proyectado hacia atrás dorsalmente, placa subgenital fuertemente reducida, con extremos redondeados *P. duquei* (Descamps, 1971)
- Tergito octavo proyectado hacia atrás 10
- 10 Tergito octavo proyectado hacia atrás y arriba. Complejo fálico: epifalo es robusto y redondeado en la parte anterior con lophis largos igualmente robustos que hacia la parte posteriores hacen delgados y cada uno presenta una pequeña proyecciones espiniforme *P. poecilosoma* Hebard, 1923
- Tergito octavo proyectado hacia atrás. Placa subgenital con setas. Complejo fálico: epifalo forma de "M" y los lophis son largos, en la base presenta una espina y posteriormente descienden y luego se elevan, sus extremos terminan en punta roma *P. hirsutum* n. sp.
- 11 Ángulo posterior de los lóbulos laterales del pronoto fuertemente proyectados hacia atrás, élitros ausentes *P. annulipes* Hebard, 1924.
- Ángulo posterior de los lóbulos laterales del pronoto no proyectados hacia atrás, élitros vestigiales *P. cordillerae* (Saussure, 1903).

Agradecimientos

A F. Becerra por todo su apoyo. A. Chautá por su apoyo en la parte gráfica, a J. C. Pinzón por su ayuda en los gráficos de los complejos fálicos y uno de los hábitos. A Hernández, C. Arango y J. Carvajalino por la donación de especímenes. A E. Flórez por su ayuda en la designación de los nombres de las especies. A Corpoica y Fulbright-Colombia. A los evaluadores de este artículo por sus valiosos comentarios.

Literatura citada

- CARBONELL, C. S. 2002. The grasshopper tribe Pheopariini (Acridoidea: Romaleidae) The Orthopterists' Society. USA. 148 p.
- CARBONELL, C. S.; ROWELL, C.H.F.; BENTOS-PEREIRA, A.; PORRAS, M.F. 2007. Checklist of Orthoptera Caelifera from Colombia. Zootaxa 1594: 39-59.
- DESCAMPS, M. 1971. Les Eumastacidae de Colombia Révision des Paramastacinae y Eumastacinae (Acridomorpha, Eumastacoidea). Calsidia 11 (51): 99-192.
- DESCAMPS, M. 1973a. Diagnoses et signalisations d'Eumastacoidea (Orth). IV Amérique. Annales de la Société Entomologique de France 9 (4): 943-974.
- DESCAMPS, M. 1973b. Révision des Eumastacoidea aux échelons des familles et des sous-familles (genitalia, répartition, phylogénie). Acrida 2: 161-29.
- HOLDIDGE, L. R. 1978. Ecología basada en zonas de vida / L. R. Holdridge. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José, Costa Rica. 215 p.
- HUTCHINSON, G. E. 1958. Concluding remarks. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology 22: 415-427.
- ROWELL, C. H. F.; BENTOS-PERIERA, A. 2001a. Review of genus Homeomastax (Eumastacinae, Eumastacoidea, Orthoptera) with a new species. Journal of Orthoptera Research 10: 209-254.
- ROWELL, C. H. F.; BENTOS-PERIERA, A. 2001b. Helicomastax a new genus of Central American eumastacid grasshoppers. Journal of Orthoptera Research 10(2): 255-262.
- VARON, A. 2000. Saltamontes Eumastácidos (Insecta: Orthoptera: Caelifera: Eumastacidae) de Colombia. Biota Colombiana 1 (3) 261-266.

Tres especies nuevas de *Enicospilus* (Ichneumonidae: Ophioninae) de Colombia

Three new species of *Enicospilus* (Ichneumonidae: Ophioninae) from Colombia

ALEXANDER GARCÍA GARCÍA¹

Resumen: Se describen tres especies nuevas de avispas parasitoides del género *Enicospilus* (Ophioninae: Ichneumonidae) encontradas a partir de la revisión de ejemplares depositados en colecciones entomológicas de Colombia. Las especies fueron recolectadas en los municipios de Chiquinquirá (Boyacá), Tocaima (Cundinamarca) y el Parque Nacional Natural La Paya (Putumayo). Cada taxón cuenta con información sobre variación morfológica y morfométrica, así como su distribución en Colombia.

Palabras clave: Morfometría. Análisis de componentes principales. Análisis de función discriminante.

Abstract: Three species of parasitoid wasps of the genus *Enicospilus* (Ophioninae: Ichneumonidae) are described; these were found after a revision of specimens deposited in the entomological collections of Colombia. The species were collected in the municipalities of Chiquinquirá (Boyacá), Tocaima (Cundinamarca) and the National Natural Park La Paya (Putumayo). Each taxon has information on morphological and morphometrical variation, as well as their distribution in Colombia.

Key words: Morphometrics. Principal component analysis. Discriminant function analysis.

Introducción

Los Ophioninae son en su mayoría especies de gran tamaño, de textura delgada, colores anaranjados a marrón y casi todos son nocturnos o crepusculares. Al parecer, son cenobiontes con un rango limitado de hospederos (Gauld 1988). Se han descrito 32 géneros de Ophioninae para el mundo, de los cuales 12 están presentes en el Neotrópico (Gauld 1988). Recientemente Quicke y colaboradores 2005, usando datos morfológicos y moleculares proponen ubicar a *Hellwigia* y *Skiapus* dentro de Ophioninae para el viejo mundo, sin embargo, es incierta dicha ubicación.

Gauld (1985) propone una reconstrucción filogenética de los géneros de la subfamilia Ophioninae a partir de la evaluación de caracteres morfológicos, allí se definen y reorganizan dentro del grupo *Enicospilus* cinco linajes subordinados en subgrupos: *Orientospius*, *Ophiogastrella*, *Stauropectonus*, *Leptophion* y *Enicospilus*. Estos subgrupos, son aparentemente monofiléticos, soportando dicha propuesta se propone el carácter pérdida del primer laterotergito. Además, se incluyen taxones semejantes entre sí, por la presencia común de un gran número de características derivadas.

Enicospilus es uno de los géneros más ricos dentro de la subfamilia Ophioninae, con 678 especies descritas cuya distribución es principalmente pantropical con 117 especies, en las zonas boscosas desde el sur México hasta Brasil (Gauld y Lafranco 1987). Para Mesoamérica, Gauld (1988) registra 136 especies, Fernández-Triana (2005) describe seis especies más, para un total de 142 especies. En Colombia se reportan 23 especies.

Las especies mesoamericanas de *Enicospilus* fueron asignadas por Gauld (1988) a cinco grupos preexistentes entre los más distintivos están: *Undulatus* que es cosmopolita y está representado por 27 especies; *Ramidulus* también cosmopolita y cuenta con tres especies; el grupo *Trilineatus*, que

está confinado en el Nuevo Mundo y en Mesoamérica está representado por siete especies; el grupo *Columbianus*, endémico para el Neotrópico y que cuenta con dos especies; y por último el grupo *Dispilus* para el cual se han registrado 76 especies con una distribución Neotropical (Gauld 1988).

En Colombia, el género se encuentra distribuido desde el Amazonas hasta zonas costeras, con una mayor representación en la Región Andina pero a la fecha no se han publicado estudios sobre este grupo. A partir de la revisión del material depositado en las colecciones colombianas se encontraron tres nuevas especies que se describen a continuación.

Materiales y Métodos

Se estudiaron 384 ejemplares que se encuentran depositados en trece colecciones de referencia del país: Instituto de Ciencias Naturales, Museo de Historia Natural, Colección de Entomología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (ICN), Museo entomológico, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (UNAB), Colección Entomológica del Departamento de Biología de la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá (MUJ), Museo de Entomología de la Universidad del Valle, Cali (MUSENUV), Colección de Insectos, Instituto Alexander von Humboldt, Villa de Leyva (IAVH), Colección Taxonómica Nacional "Luis María Murillo" ICA- Tibaitatá, Bogotá (CTNLMM), Colección "Francisco Luis Gallego", Universidad Nacional de Colombia, Seccional Medellín (UNCM), Museo de Historia Natural, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá D.C (MHN-UD), Museo de la Universidad de la Salle, Bogotá D.C. Colombia (MLS), Centro Internacional de Agricultura Tropical, sede Palmira. Valle del Cauca (CIAT), Colección Entomológica de la Universidad Nacional, sede Palmira. Valle del Cauca (CEUNP), Colección Económica. Laboratorio de Entomología del programa Manejo Integrado

¹ M. Sc. en Ciencias Agrarias, énfasis Entomología. Docente Asistente Completo. Proyecto Curricular de Licenciatura en Biología. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá. Colombia. alexgarcia45@hotmail.com

de Plagas. Centro de Investigación, Palmira. Valle del Cauca (CORPOICA) y Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal (CONIF).

Todos los ejemplares se identificaron usando las claves y revisiones de Gauld (1988) y Gauld y Lafranco (1987). Seis de éstos no se ubicaron en ninguna de las especies del género descritas hasta la fecha. Además de los caracteres discretos que separan cada especie nueva, un análisis de Función Discriminante y uno de Componentes Principales con 124 caracteres en el que se incluyeron las 36 especies del género registradas para Colombia, fueron consistentes con el estatus de las especies propuestas (García y Sarmiento en prep). La matriz de caracteres para la descripción de las especies se construyó utilizando el programa DELTA (Dallwitz *et al.* 2000). Para los caracteres continuos se tomaron medidas en milímetros mediante una reglilla calibrada en estereoscopia y para los caracteres discretos de esculturación se siguió la propuesta nomenclatural de Harris (1979).

Las fotografías son montajes compuestos tomados en un estereoscopia Advanced Optical con cámara digital; cada imagen es un compuesto de entre ocho y 12 fotos que son integradas con el programa Combine Z5 (Hadley 2006) que anula los problemas de profundidad de campo generados con imágenes magnificadas. Una vez se obtienen dichas fotos se elaboraron láminas para cada una de las estructuras fotografiadas de las especies con los software Photoshop y Fireworks MX 2004 (Peña 2004). Los mapas de distribución por localidades se elaboraron con los software Global Gazetteer Versión 2.1 (Falling Rain Genomics 2006) y Aquarius Geomar (Weinelt 2006).

De cada especie se presenta la siguiente información: la descripción que incluye entre paréntesis los rangos de variación expresados en milímetros obtenidos de otros ejemplares de la especie, la localidad típica, diagnosis, especies similares, variación, biología y hospederos, distribución y material examinado, finalmente se adicionó el acrónimo del Instituto o Museo donde se encuentra depositado el holotipo y el paratipo.

Resultados y Discusión

Enicospilus florarum n. sp. (Figs 1A-1K)

Diagnosis. Esta especie se puede reconocer por los siguientes caracteres: Esculturación del cuerpo ligeramente punteada; carena epicnemial fuertemente curvada y angulada basalmente (Fig. 1F); carena longitudinal lateral del propodeo ausente, solamente se observa como un surco débil (Fig. 1G); carena del margen espiracular ausente (Fig. 1G); carena transversa anterior del propodeo ausente lateralmente (Fig. 1G y H); carena transversa posterior del propodeo ausente (Fig. 1H); área espiracular y área posterior propodeal finamente punteada (Fig. 1H); alas anteriores con el esclerito proximal fuertemente pigmentado y subtriangular (Fig. 1C); mesonoto con tres bandas pardas oscuras (Fig. 1D); cuerpo finamente pubescente. La esculturación ligeramente punteada del cuerpo en esta especie es poco frecuente dentro del género en el Neotrópico.

Descripción

Cabeza. (Fig. 1A) Longitud de la mandíbula (0,6–0,65 mm). Área medial de la superficie externa mandibular plana. Pubescencia mandibular con respecto al diente inferior más corta y dispersa. Cavidad mandibular presente y desarrollada.

Longitud del diente mandibular superior (0,17–0,2 mm). Longitud del diente mandibular inferior (0,2–0,25 mm). Espacio malar 0,1 mm. Ancho basal mandibular 0,4 mm. Alto del labro (0,2–0,25 mm). Ancho del labro 0,6 mm. Alto del clipeo 0,45 mm. Ancho del clipeo (0,8–0,85 mm). Clipeo en perfil convexo. Margen del clipeo subagudo. Longitud de la parte alta de la cara 1,35 mm. Longitud de la parte baja de la cara 1,05 mm. Alto de la cara 0,8 mm. Índice frontal de la cabeza (FI) 53–61 %. Ocelo posterior contiguo al ojo compuesto (Fig. 1B). Antena con 58 flagelómeros. **Mesosoma.** Mesoescudo punteado (Fig. 1D), brillante y en perfil fuertemente redondeado. Notaulos ausentes. Mesopleura en perfil punteada y brillante (Fig. 1F). Carena epicnemial no llega al margen pleural (Fig. 1F). Escutelo en vista dorsal: Longitud 1 mm, ancho máximo 0,75 mm, ancho mínimo 0,4 mm, en perfil convexo, parte anterior punteada, parte posterior estriada (Fig. 1E), en vista lateral carenado menos del 50%. Metapleura: convexa, márgenes dorsal y ventral punteados (Fig. 1G), superficie brillante. Carena submetapleural ancha en la parte anterior (Fig. 1G). Carena transversa posterior del mesosterno completa. Carena transversa anterior del propodeo ausente lateralmente (Fig. 1G y H). Carena transversa posterior del propodeo ausente (Fig. 1H). Área anterior propodeal con estrías gruesas centralmente, o punteada lateralmente. Área espiracular finamente punteada y brillante (Fig. 1H). Área posterior propodeal punteada (Fig. 1H). Carena longitudinal lateral del propodeo ausente o marcada como un surco (Fig. 1G). Carena del margen espiracular ausente (Fig. 1G). Longitud de las alas anteriores (19,8–20,1 mm). Índice alar del ala anterior (AI) 0,62–0,69. Índice cubital del ala anterior (CI) 0,45–0,5. Índice intercubital (ICI) 0,59–0,61. Índice de la segunda celda discoidal (SDI) 1,23–1,27. Fenestra mediana, su máximo diámetro de igual a 1,5 veces la longitud de la *3rs-m*. Esclerito proximal fuertemente pigmentado. Esclerito central ausente. Esclerito distal débilmente pigmentado (Fig. 1C). Pilosidad de la celda marginal dispersa pero más densa distalmente. Pilosidad de la primera celda subdiscal uniforme. Número de hamuli 7–9. Segunda abscisa de *Rs* del ala posterior ligeramente arqueada. Primera abscisa de *Rs* del ala posterior ligeramente arqueada. Longitud de la vena *Cua* del ala posterior 0,25–0,3 mm. Longitud de la abscisa *Cu-1* del ala posterior 1 mm. Tibia anterior ligeramente aplanada (Fig. 1K). Número de espinas en la superficie externa de la tibia anterior 20–22, más densas en la mitad y distalmente. Longitud de las espinas tibiales corta y larga de la pata media, 0,75 mm y 1 mm, respectivamente. Ancho de la coxa posterior en perfil (0,85–0,9 mm). Longitud de la coxa posterior en perfil 1,65 mm. Longitud del trocántero posterior en vista dorsal 0,15 mm. Ancho del trocántero posterior en vista dorsal 0,35 mm. Longitud del cuarto tarsómero posterior 0,55 mm. Ancho del cuarto tarsómero posterior 0,25 mm. Uñas abruptamente curvadas. Pectinación de las uñas de la pata posterior separada. **Metasoma.** Longitud del tergito 2 en perfil (4,6–4,85 mm). Ancho máximo del tergito 2 en perfil 0,65 mm. Ancho mínimo del tergito 2 en perfil 0,4 mm. Longitud del tiridio 0,35 mm. Ancho del tiridio 0,1 mm. Tiridio elíptico (Fig. 1I). Longitud del margen anterior del segmento hasta el tiridio 1,6 mm.

Coloración. Predominante amarillo pardusca. Antenas anaranjadas (Fig. 1A). Área interocelar amarilla (Fig. 1B). Área entre los ocelos posteriores pardo clara (Fig. 1B). Cara amarilla o anaranjada (Fig. 1A). Clipeo amarillo o anaranjado

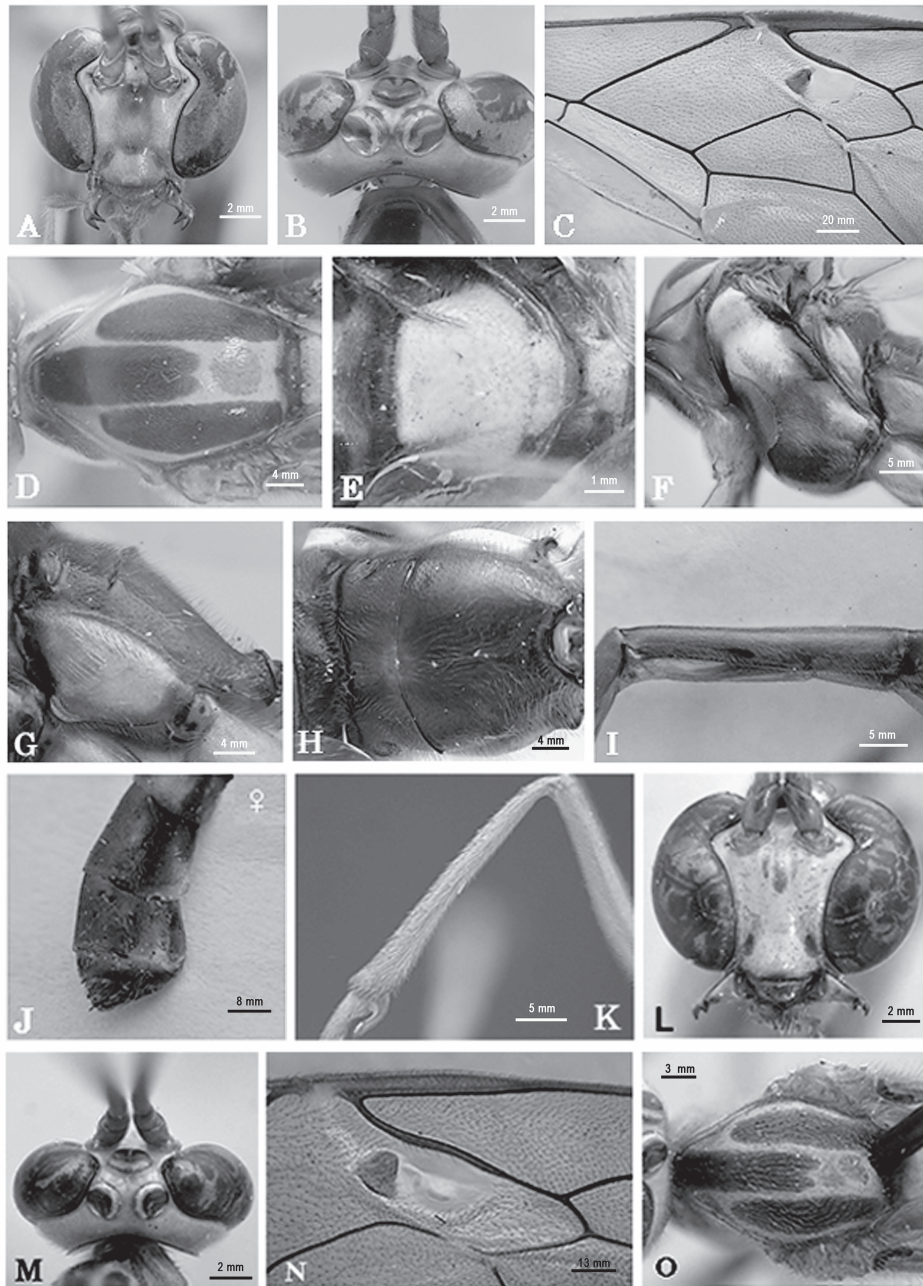


Figura 1. *E. florarum* n. sp. **A.** Cabeza en vista frontal, **B.** Región interocelar, **C.** Ala anterior, **D.** Mesonoto, **E.** Escutelo en vista dorsal, **F.** Mesopleura, **G.** Metapleura, **H.** Propodeo, **I.** Segundo segmento metasomal, **J.** Metasoma, **K.** Tibia anterior, *E. tocaimensis* n. sp. **L.** Cabeza en vista frontal, **M.** Región interocelar, **N.** Ala anterior, **O.** Mesonoto.

(Fig. 1A). Protórax amarillo o anaranjado. Mesonoto amarillo. Tres bandas longitudinales del mesonoto de color pardo oscuro (Fig. 1D). Mesopleura amarillo o marrón oscuro en la parte baja (Fig. 1F). Escutelo amarillo (Fig. 1E). Postescutelo amarillo (Fig. 1E). Metapleura amarillo o marrón amarillento (Fig. 1G). Área espiracular marrón. Área anterior propodeal marrón amarillenta. Área posterior propodeal marrón (Fig. 1H). Alas hialinas. Esquina proximal de la celda marginal hialina (Fig. 1C). Pterostigma anaranjado (Fig. 1C). Patas marrón amarillentas (Fig. 1K). Primeros dos tergitos del metasoma anaranjado rojizos (Fig. 1I). Metasoma anaranjado rojizo o marrón (Fig. 1I, J). Ovipositor anaranjado rojizo.

Valvas del ovipositor marrón. Placa subgenital marrón. Longitud del mesosoma 5.8 mm.

Especies similares. *E. florarum* n. sp., se ubica en el grupo *trilineatus* por presentar el labro 0,4 veces tan largo como el ancho basal (Fig. 1A). Difiere de las otras especies del grupo por presentar esculturación general del cuerpo ligeramente punteada y carecer de carena longitudinal lateral del propodeo (Fig. 1F, G, H).

Biología y hospederos. No se conoce información sobre la biología de esta especie.

Distribución. Solo hay registros de la localidad tipo en Chiquinquirá (Boyacá) a los 2588 msnm.

Etimología. Esta especie se nombra en honor no solo a dos mujeres importantes en mi vida, mi madre Flor Delina García y mi hermana Flor Angelly García García; también se establece para reconocer la fortaleza, pujanza, inteligencia y belleza de la mujer colombiana.

Material examinado. Holotipo ♀. COLOMBIA. Boyacá. Chiquinquirá. Batallón Sucre. 5°37'N 73°49'W. 2588

msnm. 23-Abr-1979. De Arévalo, I. [ICN]. Parátipo 1 ♀. COLOMBIA. Boyacá. Chiquinquirá. Batallón Sucre. 5°37'N 73°49'W. 2588 msnm. 23-Abr-1979. De Arévalo, I. [ICN].

Enicospilus tocaimensis n. sp. (Figs 1L-2E)

Diagnosis. *E. tocaimensis* n. sp., se caracteriza por presentar el esclerito central del ala anterior moderadamente pigmentado y dividido en dos, la parte anterior con forma de “coma” y la parte posterior elíptica (Fig. 1N).

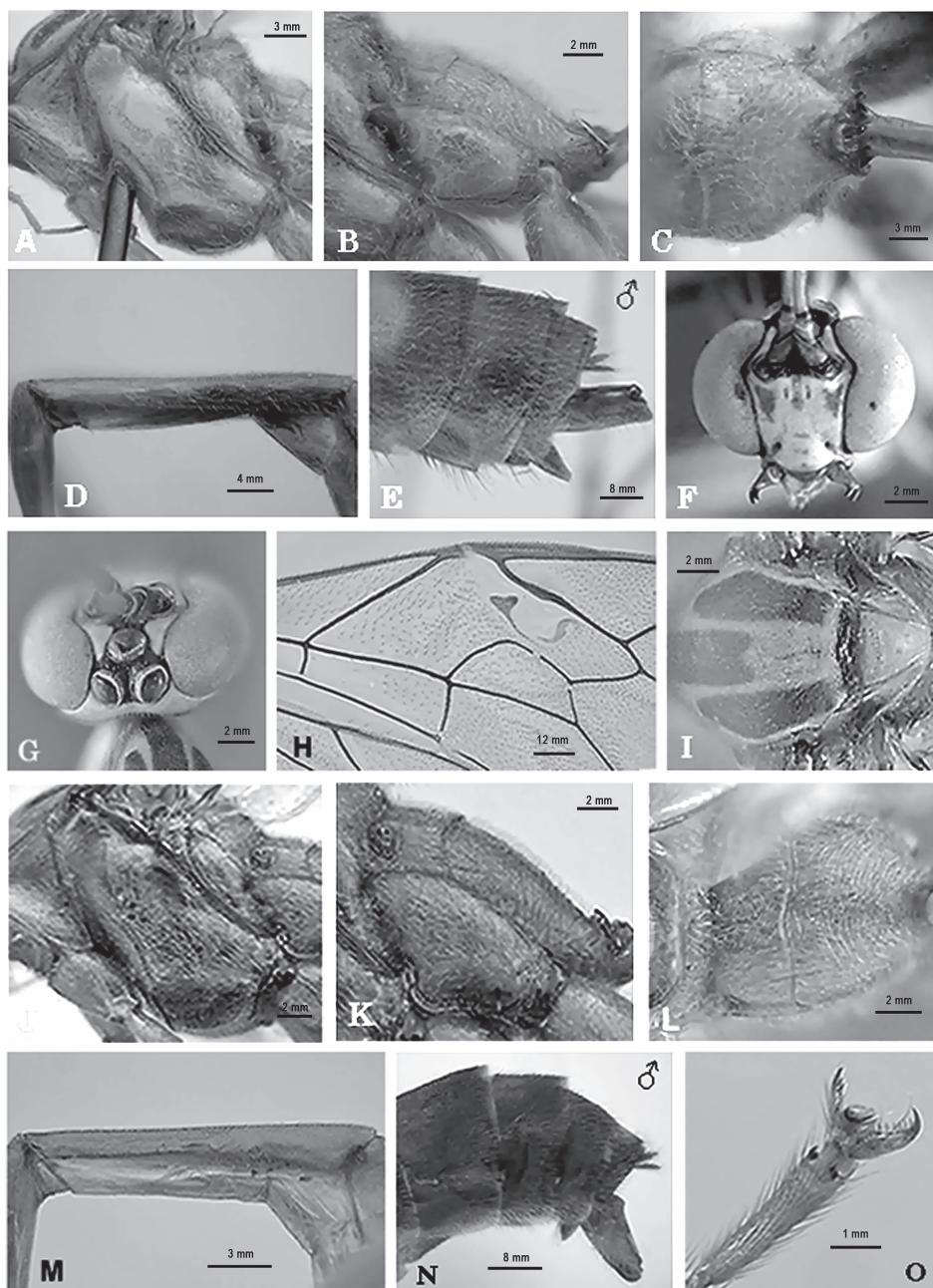


Figura 2. *E. tocaimensis* n. sp. A. Mesopleura, B. Metapleura, C. Propodeo, D. Segundo segmento metasomal, E. Metasoma, *E. migueli* n. sp. F. Cabeza en vista frontal, G. Región interocelar, H. Ala anterior, I. Mesonoto, J. Mesopleura, K. Metapleura, L. Propodeo, M. Segundo segmento metasomal, N. Metasoma, O. Pectinación de las uñas de la pata posterior.

Descripción

Cabeza. (Fig. 1L). Longitud de la mandíbula 0,55 mm. Área medial de la superficie externa mandibular plana. Pubescencia mandibular con respecto al diente inferior más corta y dispersa. Cavidad mandibular presente y débil. Longitud del diente mandibular superior 0,2 mm. Longitud del diente mandibular inferior 0,55 mm. Espacio malar 0,15 mm. Ancho basal mandibular 0,35 mm. Alto del labro 0,2 mm. Ancho del labro 0,45 mm. Alto del clipeo 0,35 mm. Ancho del clipeo 0,55 mm. Clipeo en perfil convexo. Margen del clipeo obtuso. Longitud de la parte alta de la cara 1,1 mm. Longitud de la parte baja de la cara 0,75 mm. Alto de la cara 0,65 mm. Índice frontal de la cabeza (FI) 66 %. Ocelo posterior contiguo al ojo compuesto (Fig. 1M). Antena con 63 flagelómeros. **Mesosoma.** Mesoescudo punteado (Fig. 1O), brillante y en perfil débilmente redondeado. Notaulos ausentes. Mesopleura en perfil: Parte alta punteada, parte baja punto-estriada (Fig. 2A), superficie brillante. Carena epicnemial no llega al margen pleural (Fig. 2A). Escutelo en vista dorsal: Longitud 0,6 mm, ancho máximo 0,4 mm, ancho mínimo 0,35 mm, en perfil convexo, parte anterior punteada, parte posterior estriada, lateralmente carenado más del 70%. Metapleura convexa, punteada (Fig. 2B) y brillante. Carena submetapleural ancha en la parte anterior (Fig. 2B). Carena transversa posterior del mesosterno completa. Carena transversa anterior del propodeo completa (Fig. 2C). Carena transversa posterior del propodeo ausente (Fig. 2C). Área anterior propodeal estriada. Área espiracular finamente punteada y brillante. Área posterior propodeal rugosa concéntricamente (Fig. 2C). Carena longitudinal lateral del propodeo presente y completa (Fig. 2B). Carena del margen espiracular presente (Fig. 2B). Longitud de las alas anteriores 12,9 mm. Índice alar del ala anterior (AI) 0,57. Índice cubital del ala anterior (CI) 0,27. Índice intercubital (ICI) 0,38. Índice de la segunda celda discoidal (SDI) 1,34. Fenestra mediana, su máximo diámetro de igual a 1,5 veces la longitud de la *Rs-m* (Fig. 1N). Esclerito proximal fuertemente pigmentado. Esclerito central presente, fuertemente pigmentado y dividido en dos partes contiguas, la primera en forma de coma, la segunda ovalada (Fig. 1N). Esclerito distal presente y débilmente pigmentado (Fig. 1N). Celda marginal con pilosidad dispersa y densa distalmente. Pilosidad de la primera celda subdiscal densa distalmente. Número de hamuli 7. Segunda abscisa de *Rs* del ala posterior recta. Primera abscisa de *Rs* del ala posterior recta. Longitud de la vena *Cua* del ala posterior 0,3 mm. Longitud de la abscisa *Cu-1* del ala posterior 0,7 mm. Tibia anterior subcilíndrica. Número de espinas en la superficie externa de la tibia anterior 24 y dispersas. Longitud de las espinas tibiales corta y larga de la pata media, 0,55 mm y 0,8 mm, respectivamente. Ancho de la coxa posterior en perfil 0,65 mm. Longitud de la coxa posterior en perfil 1,3 mm. Trocanelo posterior en vista dorsal con una longitud de 0,1 mm y un ancho de 0,25 mm. Cuarto tarsómero posterior con una longitud de 0,4 mm y un ancho de 0,2 mm. Uñas abruptamente curvadas. Pectinación de las uñas de la pata posterior separada. **Metasoma.** Tergito 2 en perfil con una longitud de 3,4 mm, ancho máximo de 0,45 mm y ancho mínimo de 0,3 mm. Tiridio elíptico (Fig. 2D), con 0,3 mm de longitud y 0,05 mm de ancho. Gonosquama ancho distalmente (Fig. 2E).

Coloración. Predominante amarillo pardusca. Antenas doradas. Área interocelar amarilla (Fig. 1M). Coloración entre los ocelos posteriores amarilla (Fig. 1M). Cara amarilla (Fig.

1L). Clipeo amarillo (Fig. 1L). Protórax amarillo (Fig. 1O). Mesonoto amarillo. Tres bandas longitudinales del mesonoto pardo oscuras (Fig. 1O). Mesopleura amarilla o con una banda marrón que se extiende hasta la carena epicnemial (Fig. 2A). Escutelo amarillo. Postescutelo amarillo. Metapleura amarilla. Área espiracular amarilla. Área anterior propodeal amarilla o marrón. Área posterior propodeal amarilla (Fig. 2C). Coloración de las alas hialina. Esquina proximal de la celda marginal hialina. Pterostigma amarillento (Fig. 1N). Patas amarillas. Primeros dos tergitos del metasoma anaranjados. Metasoma amarillo o marrón. Gonosquama marrón (Fig. 2E). Placa subgenital marrón. Longitud del mesosoma 4,5 mm.

Especies similares. *E. tocaimensis* n. sp., pertenece al grupo *trilineatus* por presentar el labro 0,4 veces tan largo como el ancho basal (Fig. 1L). Difiere de *E. trilineatus* (Brullé, 1846) por la presencia y forma del esclerito central (Fig. 1N), que también permite separarla de *E. porteri* Gauld, 1988, además de presentar el área interocelar amarilla.

Biología y hospederos. No se conoce sobre la biología de esta especie.

Distribución. *E. tocaimensis* n. sp., se conoce de la localidad tipo en Tocaima (Cundinamarca) a los 400 msnm.

Etimología. El nombre de esta especie hace referencia al lugar de recolección.

Material examinado. Holotipo: ♂. COLOMBIA. Cundinamarca. Tocaima. 4°27'N 74°38'W. 400 msnm. 11-Oct-1974. Piza, M. H. [UNAB].

Enicospilus migueli n. sp. (Figs 2F-2O)

Diagnosis. *E. migueli* n.sp., presenta el esclerito central en forma de "S" alargada, moderadamente desarrollado, pigmentado y ubicado al margen distal de la fenestra, esclerito distal ausente (Fig. 2H); labro menos que 0,2 veces tan largo como el ancho basal (Fig. 2F); exhibe tres bandas pardas oscuras sobre el mesonoto (Fig. 2I); coloración del área interocelar negra (Fig. 2G).

Descripción

Cabeza. (Fig. 2F). Longitud de la mandíbula (0,4–0,45 mm). Área medial de la superficie externa mandibular plana o cóncava. Pubescencia mandibular con respecto al diente inferior más corta y dispersa. Cavidad mandibular débil. Longitud del diente mandibular superior 0,2 mm. Longitud del diente mandibular inferior (0,15–0,16 mm). Espacio malar 0,15 mm. Ancho basal mandibular 0,25 mm. Alto del labro (0,075–0,1 mm). Ancho del labro (0,25–0,4 mm). Alto del clipeo (0,2–0,3 mm). Ancho del clipeo (0,5–0,55 mm). Clipeo en perfil convexo. Margen del clipeo obtuso. Longitud de la parte alta de la cara 0,9–1 mm. Longitud de la parte baja de la cara (0,75–0,8 mm). Alto de la cara (0,6–0,65 mm). Índice frontal de la cabeza (FI) 50–61 %. Ocelo posterior contiguo al ojo compuesto (Fig. 2G). Antena con 59–62 flagelómeros. **Mesosoma.** Mesoescudo liso (Fig. 2I) y brillante, en perfil fuertemente redondeado. Notaulos ausentes. Mesopleura en perfil: parte alta punteada (Fig. 2J), parte baja punto-estriada, superficie brillante. Carena epicnemial no llega al margen

pleural (Fig. 2J). Escutelo en vista dorsal: longitud 0,5–0,6 mm, ancho máximo (0,4–0,45 mm), ancho mínimo (0,2–0,25 mm), parte anterior punteada, parte posterior estriada, en perfil convexo, lateralmente completamente carenado o carenado más del 70% (Fig. 2I). Metapleura convexa con el margen dorsal punteado o punto-estriado, margen ventral punteado (Fig. 2K) y brillante. Carena submetapleural ancha en la parte anterior (Fig. 2K). Carena transversa posterior del mesosterno completa. Carena transversa anterior del propodeo completa. Carena transversa posterior del propodeo ausente. Área anterior propodeal con estrías gruesas centralmente. Área espiracular finamente punteada o lisa y brillante. Área posterior propodeal rugosa o rugosa concéntrica (Fig. 2L). Carena longitudinal lateral del propodeo completa. Carena del margen espiracular ausente (Fig. 2K). Longitud de las alas anteriores (9,5–11,8 mm). Índice alar del ala anterior (AI) 1,43–1,66. Índice cubital del ala anterior (CI) 0,16–0,33. Índice intercubital (ICI) 0,37–0,5. Índice de la segunda celda discoidal (SDI) 1,05–1,14. Fenestra mediana, su máximo diámetro de igual a 1,5 veces la longitud de la *3rs-m*. Esclerito proximal fuertemente pigmentado. Esclerito central fuertemente pigmentado y con forma de “S”. Esclerito distal ausente. Pilosidad de la celda marginal densa y ausente en la esquina proximal o uniforme. Pilosidad de la primera celda subdiscal uniforme o ausente en la esquina posterior (Fig. 2H). Número de hamuli 4–5. Segunda abscisa de *Rs* del ala posterior recta. Primera abscisa de *Rs* del ala posterior ligeramente arqueada. Longitud de la vena *Cua* del ala posterior (0,13–0,2 mm). Longitud de la abscisa *Cu-1* del ala posterior (0,5–0,56 mm). Tibia anterior ligeramente aplanada. Superficie externa de la tibia anterior con 15 a 21 espinas más densas en la mitad y distalmente. Longitud de las espinas tibiales corta y larga de la pata media entre 0,3–0,4 mm y 0,55–0,65 mm, respectivamente. Ancho de la coxa posterior en perfil (0,55–0,65 mm). Longitud de la coxa posterior en perfil (1,1–1,2 mm). Longitud del trocántero posterior en vista dorsal (0,05–0,15 mm). Ancho del trocántero posterior en vista dorsal (0,2–0,25 mm). Longitud del cuarto tarsómero posterior 0,4 mm. Ancho del cuarto tarsómero posterior (0,1–0,15 mm). Uñas abruptamente curvadas. Pectinación de las uñas de la pata posterior cerrada (Fig. 2O). **Metasoma.** Tergito 2 en perfil: longitud (2,65–3,3 mm), ancho máximo (0,35–0,5 mm), ancho mínimo (0,2–0,3 mm). Tiridio con forma elíptica u ovalada (Fig. 2M), longitud (0,2–0,35 mm), ancho (0,05–0,08 mm). Longitud del margen anterior del segmento hasta el tiridio (1,2–1,45 mm). Gonosquama ancho distalmente (Fig. 2N).

Coloración. Predominante anaranjada. Antenas doradas. Área interocelar negra. Coloración entre los ocelos posteriores negra (Fig. 2G). Cara amarilla. Clipeo amarillo (Fig. 2F). Protórax amarillo. Mesonoto amarillo con tres bandas longitudinales pardo oscuras (Fig. 2I). Mesopleura amarilla o marrón oscuro en la parte baja. Escutelo amarillo o marrón amarillento (Fig. 2I). Postescutelo amarillo o marrón amarillento. Metapleura amarilla o marrón amarillenta (Fig. 2K). Área espiracular amarilla o anaranjada. Área anterior propodeal amarilla o anaranjada. Área posterior propodeal amarilla o anaranjada (Fig. 2L). Coloración de las alas hialina. Esquina proximal de la celda marginal hialina. Pterostigma anaranjado (Fig. 2H). Patas anaranjadas. Primeros dos tergitos del metasoma anaranjados (Fig. 2M). Metasoma amarillo o marrón o 5+ marrón oscuro (Fig. 2N). Ovipositor anaranjado

rojizo. Valvas del ovipositor marrón o negras. Gonosquama amarillo (Fig. 2N). Placa subgenital marrón. Longitud del mesosoma 3,2–4,1 mm.

Especies similares. *E. migueli* n. sp., es similar a la especie cubana *E. iangauldi* Fernández-Triana, 2005; difiere de ésta en la forma de los escleritos del ala anterior, el esclerito proximal presenta una forma de hacha y el esclerito central una forma de “S” alargada, además de encontrarse desplazado hacia el margen distal de la fenestra (Fig. 2H). La longitud de las alas anteriores (9,5–11,8 mm), el índice frontal de la cabeza (FI= 50–61%), el índice cubital del ala anterior (CI= 0,16–0,33) y el índice de la segunda celda discoidal (SDI= 1,05–1,14) son menores que: la longitud de las alas anteriores (15–16 mm) y los índices que presenta *E. iangauldi* (FI= 69–70 %, CI = 0,32–0,53, SDI = 1,24–1,41, respectivamente). El índice alar del ala anterior (AI= 1,43–1,66) es mayor que el descrito para *E. iangauldi* (AI = 0,90–0,98) y el índice intercubital (ICI= 0,37–0,5) es ligeramente menor que la especie cubana (ICI = 0,46–0,57).

Variación. *E. migueli* n. sp., puede presentar el costado del escutelo completamente carenado o al menos en el 70% de su longitud (Fig. 2I). El margen dorsal de la metapleura puede ser punteado o punto-estriado; el área espiracular varía entre finamente punteada a lisa y el área posterior propodeal puede ser rugosa o rugosa concéntrica.

Biología y hospederos. No hay información sobre la biología de esta especie.

Distribución. *E. migueli* n. sp., ha sido recolectada a los 320 msnm en bosques de galería, en el Parque Nacional Natural La Paya (Putumayo, Colombia).

Etimología. El nombre de esta especie es en honor a mi padre Miguel García Nariño y hermanos.

Material examinado. Holotipo ♂. COLOMBIA. Putumayo. PNN La Paya. Cabaña Viviano Cocha. 0°7'S 74°56'W. 320 m. 30-Jul-2002. Morales, A. [IAvH]. Paratipos 1 ♀. COLOMBIA. Putumayo. PNN La Paya. Cabaña Chagra. 0°7'S 74°56'W. 320 m. 15-Dic-2001. Lozano, E. [IAvH]. 1 ♀. COLOMBIA. Vichada. Gaviotas. Bosque de Galería. 02-Nov-1995. Cortes, F. [ICN].

Los estudios sobre Ichneumonidae en Colombia son escasos, de ahí la importancia de trabajos de reconocimiento de la diversidad de esta familia, en especial de aquellos géneros poco estudiados y de gran importancia económica. La presente investigación contribuye al conocimiento del género *Enicospilus* describiendo tres especies nuevas, de esta manera, se amplía el listado de especies descritas para el Neotrópico por Gauld (1988) y Fernández-Triana (2005). Se destaca que la especie *E. florarum* n.sp. presenta esculturación en el cuerpo ligeramente punteada, lo que no es común dentro de las especies descritas del Neotrópico, por lo que puede ser una especie aislada. No obstante, ésta situación pone en evidencia que es necesario realizar investigaciones que abarquen gran parte del territorio nacional, no solo para buscar ejemplares con características similares, sino para poner a prueba la monofilia de los grupos propuestos mediante análisis filogenéticos formales; así como también, estudiar el comportamiento de las especies y su posible utilización en programas de Ma-

nejo Integrado de Plagas (MIP), dada su importancia como parasitoides.

Agradecimientos

A Carlos Sarmiento por su continua colaboración y sugerencias en el manuscrito. A Edgard Palacio por sus aportes en la sistemática y conocimiento de la familia Ichneumonidae. Al Instituto Alexander von Humboldt e Instituto de Ciencias Naturales por el préstamo de los especímenes.

Literatura citada

- DALLWITZ, M.; PAINE, T.; ZURCHER, E.; WATSON, L. 2000. The DELTA System. Website: <http://delta-intkey.com>. Fecha última revisión: 23 Febrero 2008. Fecha último acceso: [24 Febrero 2008].
- FALLING RAIN GENOMICS. 2006. Global Gazetteer versión 2.1. Website: <http://www.fallingrain.com/world/> Fecha última revisión: 23 Enero 2009. Fecha último acceso: [24 Enero 2009].
- FERNÁNDEZ-TRIANA, J. L. 2005. The taxonomy and biogeography of Cuban Ophioninae (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Zootaxa* 1007: 1-60.
- GAULD, I.D. 1985. The phylogeny, classification and evolution of parasitic wasps of the subfamily Ophioninae (Ichneumonidae). *Bulletin of the British Museum (Natural History). Entomological series.* 51 (2): 62-71.
- GAULD, I.D.; LAFRANCO D. 1987. Los géneros de Ophioninae de Centro y Sudamérica. *Revista Biología Tropical* 35 (2): 257-267.
- GAULD, I.D. 1988. A survey of the Ophioninae (Hymenoptera: Ichneumonidae) of tropical Mesoamerica with special reference to the fauna of Costa Rica. *Bulletin of the British Museum Natural History. Entomology Series* 57 (1): 74-301.
- HADLEY, A. 2006. CombineZ5 web site. www.hadleyweb.pwp.blueyonder.co.uk/CZ5/combinez5.htm. Fecha última revisión: 23 Enero 2006. Fecha último acceso: [24 Enero 2006].
- HARRIS, R. 1979. A glossary of surface sculpturing. Board. Sacramento California E.E.U.U. 28 pg.
- PEÑA, O. 2004. Fireworks MX 2004. Dreamweaver MX. Versión 7.0. Madrid, España. Anaya Multimedia.
- QUICKE, D.; FITTON, M.; BROAD, G.; CROCKER, B.; LAURENNE, N. y MIAH, M. 2005. The parasitic wasp genera *Skiapus*, *Hellwigia*, *Nonnus*, *Chriodes*, and *Klutiana* (Hymenoptera, Ichneumonidae): recognition of the Nesomesochorinae stat. rev. and Nonninae stat. nov. and transfer of *Skiapus* and *Hellwigia* to the Ophioninae. *Journal of Natural History* 39: 2559-2578.
- WEINELT, M. 2006. Aquarius Geomar web site. http://www.aquarius.geomar.de/omc/make_map.html. Fecha última revisión: 23 Enero 2009. Fecha último acceso: [24 Enero 2009].

Recibido: 19-ago-2009 • Aceptado: 5-ene-2011

Nota científica

Descripción de larva y pupa de *Dyscinetus dubius* (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae: Cyclocephalini)

Description of the larva and pupa of *Dyscinetus dubius* (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae: Cyclocephalini)

JHON CÉSAR NEITA-MORENO¹ y FRANCISCO YEPES²

Resumen: Se describen la larva del tercer estadio y la pupa de *Dyscinetus dubius* (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae: Cyclocephalini). Se presentan nuevos datos sobre la biología y distribución de esta especie en Colombia y una clave para la identificación de las larvas del tercer estadio de las especies conocidas para el género *Dyscinetus*.

Palabras clave: Escarabajos inmaduros. Clave taxonómica. Chizas.

Abstract: The third instar larvae and the pupa of *Dyscinetus dubius* (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae: Cyclocephalini) are described. New data on the biology and distribution of this species in Colombia are reported and a key to identification of third instar larvae of the known species of *Dyscinetus* is provided.

Key words: Immature scarabs. Taxonomic key. White grubs.

Introducción

El género *Dyscinetus* contiene 15 especies que se distribuyen desde el centro de los Estados Unidos a Argentina (Endrödi 1966, 1985; Ratcliffe 2003). En Colombia se han registrado seis especies (Restrepo *et al.* 2003). Las larvas de *Dyscinetus* Harold, se diferencian de otros géneros en Cyclocephalini y Dynastinae por la siguiente combinación de caracteres (Ritcher 1966; Vincini *et al.* 2000): Sedas frontales posteriores y externas presentes, sedas anteriores ausentes. Ocelos presentes, no pigmentados. Haptómero entero. Bordes anteriores de la epifaringe angulados. Epifaringe con algunas sensilas entre las sedas. Laeotorma dilatada apicalmente. Lacinia con tres unci fusionados en la base; área estriduladora maxilar con siete dientes truncados y proceso ventral anterior presente. Área incisiva de la mandíbula izquierda con el cuarto diente presente. Dos áreas sensoriales dorsales en el último artejo antenal. Palidia ausente. Abertura anal ligeramente curvada. El presente trabajo tiene como objetivos describir los estados inmaduros de la especie *Dyscinetus dubius* (Olivier, 1789) (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae: Cyclocephalini) y presentar una clave para la identificación de las larvas de tercer estadio del género *Dyscinetus*.

Materiales y Métodos

Las larvas descritas en el presente artículo fueron capturadas durante la investigación "Taxonomía y distribución de chizas (Coleoptera: Melolonthidae) asociadas a cinco cultivos de importancia agrícola en Cundinamarca, Colombia" entre los años 2003-2006. El 50% de los especímenes de los estados inmaduros obtenidos en el campo se fijaron en solución de Pampel (Stehr 1987) y el otro 50% se utilizó para obtener exuvias larvales, pupas y adultos en el laboratorio y así corroborar su identidad taxonómica. Cada larva se colocó en un

recipiente de 200 ml. con tierra y plántulas de trigo para que culmine su desarrollo. Se ubicaron en un cuarto con temperatura controlada acorde con las condiciones de humedad (78 a 90%) y temperatura (28°C) del hábitat natural de las larvas. Esta actividad se realizó durante 12 meses.

De las muestras se tomaron seis larvas de tercer estadio para realizar las descripciones e ilustraciones, y 14 ejemplares para obtener las mediciones de cápsula cefálica y longitud del cuerpo. Las observaciones, ediciones e ilustraciones se realizaron con la ayuda de estereoscopio. Los caracteres y la terminología utilizada en las descripciones se basan en las propuestas por Böving (1936, 1942), Ritcher (1966) y Morón (1987, 1996). Los especímenes tanto larvas como adultos se depositaron en la Colección de Formas Inmaduras del Museo Entomológico Universidad Nacional Agronomía Bogotá (UNAB).

Resultados

Descripción de larva y pupa

Larva de tercer estadio. Cabeza (Fig. 1A): Amplitud de la cápsula cefálica: 4,6-4,7 mm. Superficie del cráneo ligeramente rugosa de color pardo oscuro. Frente con 3-4 sedas en los ángulos frontales anteriores, dos sedas dorsoepicraneales, 16 sedas epicraneales irregularmente distribuidas y 8-10 sedas paraocelares a cada lado. Una seda frontal posterior y una seda frontal exterior. Sedas frontales anteriores ausentes. Ocelos pequeños, bien definidos. Clípeo con dos sedas centrales y dos sedas laterales a cada lado. **Labro:** Ligeramente asimétrico con cuatro sedas laterales, dos sedas centrales y cuatro sedas posteriores. **Epifaringe** (Fig. 1B) 1,4 mm de ancho por 0,9 mm de largo. Borde lateral posterior izquierdo angulado. Proceso haptomeral prominente y entero. Acanthoparia con 11-14 sedas espiniformes cortas recurvadas. Corypha con cinco sedas delgadas y cortas. Acroparia con

¹ M.Sc. Entomología. Grupo de Sistemática de Insectos Agronomía. Museo Entomológico Universidad Nacional Agronomía Bogotá (UNAB), Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Carrera. 30 No. 45-03, Bogotá. Investigador Asociado al Instituto de Investigaciones Ambientales del Pacífico IIAP. cneitaj@unal.edu.co. Autor para correspondencia. ² M.Sc. Entomología. Profesor Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Ciencias Agronómicas, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. fcyepes@unalmed.edu.co.

29 sedas delgadas. Dexiotorma delgadas y extremo mesal aguzado. Laetotorma más corta que la dexiotorma; extremo mesal dilatado proyectándose hacia el pedium, con pterotorma redondeada y pronunciada. Placa esclerosada grande y angulosa; cono sensorial ancho y prominente con cuatro sensillas. Laeophoba consistente en 18 sedas delgadas y cortas ligeramente esparcidas entre el haptolechus y la laetotorma. Crepis fino, ligeramente esclerosado y bien definido. Pedium amplio. Chaetoparia izquierda con 60-62 sedas. Chaetoparia derecha con 66-68 sedas. Mandíbula derecha (Figs. 1C, 1D): Forma falcada. Área incisiva con tres dientes (S_1 y S_2) fusionado y S_3 después de la escotadura incisiva. Scrobis con cinco sedas delgadas y largas. Superficie dorsal con una línea de ocho sedas dorsomolares. Mandíbula izquierda (Figs. 1E-1F). Área incisiva con tres dientes $S_1 + S_2$ fusionados, S_3 separado por la escotadura postincisiva y S_4 truncado, scrobis con cinco sedas largas y delgadas. Superficie dorsal con una línea de seis sedas dorsomolares; bien desarrollada, alargada y triangular, con tres sedas apicales cortas y delgadas. Superficie ventral con un área estriduladora ovalada con 30 líneas estriduladoras; proceso ventral desarrollado, brustia con nueve sedas moderadamente largas y gruesas dispuesta en forma de "U" y sedas basolaterales ausentes. Área molar con tres lóbulos, el primero más desarrollado que el segundo y el tercero.

Superficie ventral con área estriduladora ovalada con 30 líneas; proceso ventral desarrollado; brustia con cuatro sedas moderadamente largas y gruesas. Calix prominente; sedas basolaterales ausentes. Área molar con tres lóbulos, el primero más desarrollado. Maxila (Figs. 1G-H): Cardo subtriangular. Estipe más largo que ancho. Galea con muchas sedas gruesas y un uncus bien desarrollado, rodeado por seis heli gruesos. Lacinia con muchas sedas gruesas, delgadas, mezcladas y tres unci unidos en la base, rodeados por ocho heli gruesos. Palpos de cuatro artejos. Área estriduladora maxilar (Fig. 1I) con siete dientes truncados y un proceso anterior. Labio (Fig. 1J). Superficie de la glosa con 47 sedas delgadas y largas laterales; 36 sedas gruesas y cortas en el centro. Escleroma hipofaríngeo asimétrico, cóncavo mesalmente y un proceso dorsal en el lado derecho. Lóbulo lateral derecho con 13 sedas cortas y delgadas. Lóbulo lateral izquierdo con once sedas delgadas y moderadamente largas, una línea de 22 sedas moderadamente largas y gruesas rodean el escleroma con dirección hacia el centro; tres sedas gruesas en la base del escleroma. Palpos labiales con dos artejos, el segundo dos veces mas largo que el primero. Antena. Compuesta de cuatro artejos: Artejo apical con dos áreas sensoriales dorsales (Fig. 2A) y dos áreas sensoriales ventrales (Fig. 2B).

Tórax. Pronoto con un escleroma lateral de bordes obtusos, con seis sedas delgadas y largas. Los estigmas respiratorios

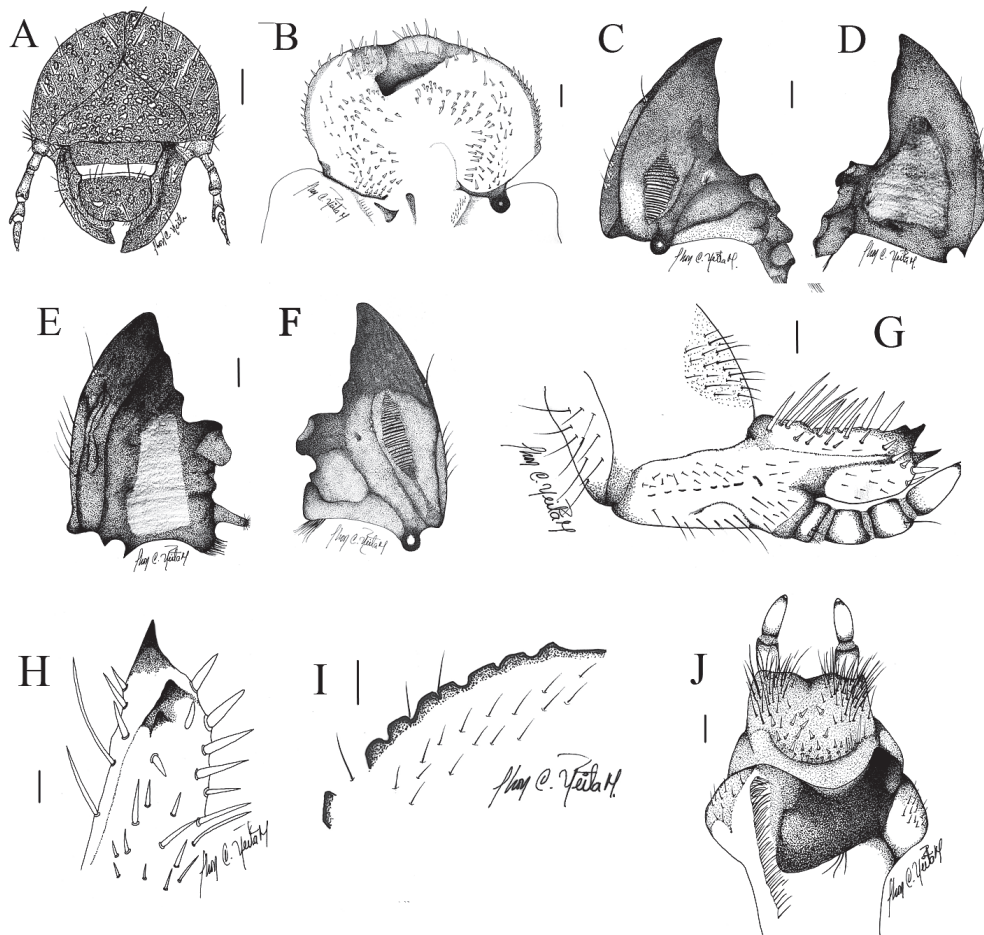


Figura 1. *Dyscinetus dubius* A. Cabeza vista frontal. B. Epifaringe. C. Vista dorsal de la mandíbula derecha. D. Vista ventral de la mandíbula derecha. E. Vista dorsal de la mandíbula izquierda. F. Vista ventral de la mandíbula izquierda. G. Maxila. H. Vista interna. I. Dientes estriduladores de la maxila. J. Labio hipofaríngeo. Escala 0,1 mm.

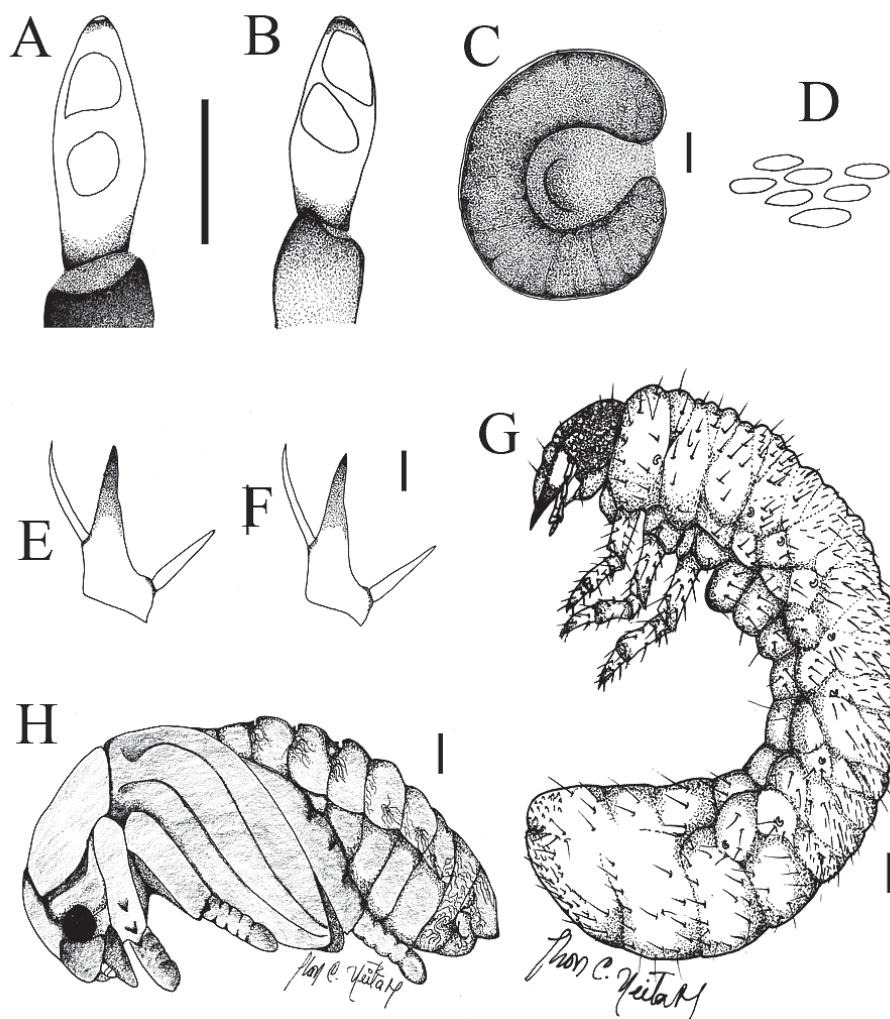


Figura 2. *Dyscinetus dubius* A. Superficie dorsal del último artejo antenal. B. Superficie ventral del último artejo antenal. C. Espiráculo protorácico. D. Perforaciones de la placa respiratoria. E. Mesotarsungulo. F. Metatarsungulo. G. Larva de tercer estadio. H. Vista lateral de la pupa macho. Escala 0,1 mm.

(0,37 mm de largo por 0,23 mm de ancho) en forma de “C” (Fig. 2C), la distancia entre los lóbulos de la placa respiratoria es menor que el diámetro dorso-ventral de la bulla poco prominente; con 27 perforaciones en promedio en el radio de la placa respiratoria (Fig. 2D) placa respiratoria con bordes definidos. Dorso del protórax con una línea de ocho sedas delgadas y largas; prescudo mesotorácico con una línea irregular de seis sedas delgadas y largas; escutelo mesotorácico con seis sedas delgadas y largas; prescudo metatorácico con cuatro sedas largas, delgadas y con seis sedas cortas espiniformes; escudo metatorácico con 16 sedas delgadas, largas y 17 sedas cortas espiniformes; escutelo metatorácico con 12 sedas delgadas, largas y cuatro sedas cortas espiniformes. Patas. Pro y metatarsungulos más pequeños que los mesotarsungulos, alargados con el ápice agudo, con una seda basal interna y una seda prebasal externa (Figs. 2E-2F).

Abdomen. Estigmas del primer segmento abdominal más pequeños (0,32 mm de largo por 0,20 mm de ancho) que los estigmas de los II-VIII; estigmas de los segmentos II-VI ligeramente más pequeños (0,32 mm de largo por 0,25 mm de an-

cho) que los estigmas VII y VIII (0,32 mm de largo por 0,28 mm de ancho); placas respiratorias de color marrón oscuro, regularmente recurvada en forma de “C”, la distancia entre los lóbulos de las placa respiratoria es menor que el diámetro dorso-ventral de la bulla poco prominente. Área espiracular con nueve sedas delgadas y largas. Segmento abdominal I, prescudo con 18 sedas delgadas, largas y dos sedas cortas espiniformes; subescudo sin sedas; escudo con seis sedas delgadas, largas y 46 sedas cortas espiniformes; escutelo con ocho sedas delgadas, largas y 38 sedas cortas espiniformes. Área espiracular con nueve sedas delgadas y largas. Segmento abdominal II, prescudo con cuatro sedas delgadas, largas y 29 sedas cortas, espiniformes; subescudo con cuatro sedas largas y delgadas; escudo con diez sedas delgadas, largas y 75 sedas cortas espiniformes; escutelo con ocho sedas delgadas, largas y 52 sedas cortas espiniformes. Área espiracular con nueve sedas delgadas y largas. Segmento abdominal III, prescudo con cuatro sedas delgadas, largas y 40 sedas cortas, espiniformes; subescudo con cuatro sedas largas y delgadas; escudo con cuatro sedas delgadas, largas y 40 sedas cortas espiniformes; escutelo con ocho sedas delgadas, largas y 54 sedas cortas espiniformes. Área espiracular con nueve sedas

delgadas y largas. Segmento abdominal IV, prescudo con cuatro sedas delgadas, largas y 53 sedas cortas espiniformes; subescutum con cuatro sedas largas y delgadas; escudo con ocho sedas delgadas, largas y 73 sedas cortas, espiniformes; escutelo con ocho sedas delgadas, largas y 57 sedas cortas espiniformes. Área espiracular con nueve sedas delgadas y largas. Segmento abdominal V, prescudo con cuatro sedas delgadas, largas y 32 sedas cortas, espiniformes; subescudo con cuatro sedas largas y delgadas; escudo con diez sedas delgadas, largas y 69 sedas cortas espiniformes; escutelo con ocho sedas delgadas, largas y 57 sedas cortas espiniformes. Área espiracular con nueve sedas delgadas y largas. Segmento abdominal VI, prescudo con dos sedas delgadas, largas y 78 sedas cortas espiniformes; subescudo con cuatro sedas largas y delgadas; escudo con 16 sedas delgadas, largas y 63 sedas cortas espiniformes; escutelo con cuatro sedas delgadas, largas y 47 sedas cortas espiniformes. Área espiracular con nueve sedas delgadas y largas. Segmento abdominal VIII con dos líneas transversales, línea anterior con ocho sedas delgadas y largas; línea posterior con ocho sedas delgadas, largas y seis sedas cortas espiniformes. Área espiracular con nueve sedas delgadas y largas. Segmento abdominal IX con una línea anterior de seis sedas largas y delgadas; línea posterior con diez sedas delgadas y largas. Sedas cortas ausentes. Segmento abdominal X con 158 sedas delgadas, largas y 142 sedas cortas espiniformes. Lóbulos pleurales con nueve sedas largas y delgadas, sedas cortas espiniformes ausentes. Raster: Sin palidia; campus con seis sedas delgadas y cortas; teges con 74 sedas hamate; barbula con 26-36 sedas delgadas y largas. Abertura anal transversa. Longitud de la larva 44 mm (Fig. 2G).

Pupa (Fig. 2H) (Macho). 19,5 mm de largo por 8,5 mm de ancho. Cabeza. Con cobertura tomentosa fina, fuertemente inclinada hacia abajo; piezas bucales claramente diferenciadas, frente con superficie irregular. Clípeo convexo fusionado al labro; canthus ocular aparente; ojos hundidos, poco prominentes; teca antenales engrosados, claramente visibles. Tórax. Pronoto convexo, ligeramente elevado hacia los bordes laterales; meso y metanoto bien diferenciados; teca elitrales más cortas que las teca alares; teca elitrales se proyectan hasta la mitad del tercer segmento abdominal, teca alares proyectándose hasta el cuarto segmento abdominal. Abdomen. Segmentos III-X (vista ventral) bien definidos; segmento VIII 0,25 veces más grande que el VII; segmentos IX y X fusionados. Segmentos I-X (vista dorsal) con órganos dioneiformes bien definidos entre los segmentos I-II, II-III, III-IV, IV-V, V-VI, VI-VII. Lóbulos pleurales redondeados. Espiráculo I elongado con un peritrema fino y cubierto por el teca alar; espiráculos de II-IV ovalado, prominentes con un peritrema fuertemente esclerosado; espiráculos V-VIII cerrados, espiráculos del segmento VIII se proyectan con sentido mesial. Urogomphi ausentes, sin lóbulos laterales pleurales, ápices redondeados con cobertura tomentosa, doradas; ámpula genital ligeramente pronunciada en el macho.

Clave para la identificación de las larvas de tercer estadio del género *Dyscinetus*

1. Dorso del epicráneo con 4-7 sedas. Ángulo frontal anterior con una seda. Epifaringe con numerosas sensilas entre las sedas *D. morator* (Fabricius, 1758)

1'. Dorso del epicráneo con dos sedas. Ángulo frontal anterior con más de dos sedas. Epifaringe con pocas sensilas esparcidas entre las sedas 2
2(1'). Ángulo frontal anterior con 3-4 sedas. Laeophoba con 18 sedas. Labro con cuatro sedas laterales
..... *D. dubius* (Olivier, 1782)
2'. Ángulo frontal anterior con dos sedas. Laeophoba con ocho sedas. Labro con tres sedas laterales
..... *D. rugifrons* (Burmeister, 1847)

Biología. Las larvas pupan a una profundidad de 25-38 cm. Es posible capturar las pupas entre noviembre y finales de enero. Las pupas quedan retenidas en las exuvias larvales al igual que en otros géneros de la tribu Cyclocephalini. Los adultos son de hábitos nocturnos y son atraídos por las fuentes de luz, vuelan entre las 7:00 PM a 6:00 AM. La emergencia de los adultos coincide con las primeras lluvias del año (marzo-junio). Su ciclo de vida es anual.

Distribución. Esta especie es conocida de México a Argentina (Endrödi 1966, 1985; Ratcliffe 2003) cuyo rango de distribución altitudinal abarca desde el nivel del mar a los 1700 m. En Colombia esta especie se encuentra en los departamentos de Antioquia, Cauca, Córdoba, Chocó, Cundinamarca, Meta, Risaralda, Santander y Valle del Cauca.

Material examinado. 150 larvas de tercer estadio y 106 pupas (68 ♀ y 38 ♂). COLOMBIA. Cundinamarca. Fusagasugá. Vereda Jordán Bajo. Finca Santa Ana. 74°21'W 4°20'N. 1731 msnm. En kikuyo (*Pennisetum clandestinum*)—Poaceae. 8-feb-2005. Neita, J. C. [UNAB]. COLOMBIA. Cundinamarca. San Francisco. Vereda Arrayanes. Finca Los Tibabuyes. 74°17'W 4°58'N, 1770 msnm. En yuca (*Manihot esculenta*)—Euphorbiaceae. 14-mar-2005. Neita, J. C. [UNAB]. COLOMBIA. Cundinamarca. Manta. Vereda Las Palmas. 73°32'W 5°00'N. 1924 msnm. En yuca (*Manihot esculenta*)—Euphorbiaceae. 4-abr-2005. Neita, J. C. [UNAB]. COLOMBIA. Cundinamarca. Gama. Finca Los Cerezos. 73°36'W 4°45'N. 2180 msnm. En yuca (*Manihot esculenta*)—Euphorbiaceae. 5-may-2005. Neita, J. C. [UNAB]. COLOMBIA. Antioquia. Apartadó. Finca bananera. 7°53'N 76°40'W. 30 msnm. En suelo (*Musa* sp.)—Musaceae. 2-ene-2004. González, J. C. [UNAB].

Agradecimientos

El primer autor agradece a la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, principalmente al Museo Entomológico UNAB por el apoyo logístico brindado, a las familias que colaboraron y brindaron su valiosa colaboración durante el trabajo de campo en los municipios estudiados en Cundinamarca. Este trabajo hace parte del proyecto Plagas Subterráneas de América del Sur (Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT y la Agencia Alemana AGZ).

Literatura Citada

- BÖVING, A. G. 1936. Description of the larva of *Plectris aliena* Chapin and explanation of new terms applied to the epipharynx and raster. Proceedings of the Entomological Society of Washington 38: 169-185.
BÖVING, A. G. 1942. Descriptions of the larvae of some West Indian Melolonthinae beetles and a key to the known larvae of the

- tribe. Proceedings of the United States National Museum 92: 167-176.
- ENDRÖDI, S. 1966. Monographie der Dynastinae (Coleoptera, Lamellicornia). I. Teil. Entomologische Abhandlungen 33: 1-460.
- ENDRÖDI, S. 1985. The Dynastinae of the world. Dr. W. Junk Publ., Dordrecht. 800 p. 46 plates.
- MORÓN, M. A. 1987. Los estados inmaduros de *Dynastes hyllus* (Chevrolat) (Coleoptera: Melolonthidae: Dynastinae); con observaciones sobre biología y el crecimiento alométrico del imago. Folia Entomología Mexicana 72: 33-74.
- MORÓN, M. A. 1996. Melolonthidae (Coleoptera). p. 287-307. En: Llorente-Bousquets, J. L.; García-Aldrete, A. N.; González-Soriano, E. (eds.). Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México. Hacia una síntesis de su conocimiento. CONABIO y UNAM. México. 660 p.
- RATCLIFFE, B. C. 2003. The scarab beetles of Nebraska. Bulletin University of Nebraska State Museum 12: 1-333.
- RESTREPO, H.; MORÓN, M. A.; VALLEJO L. F.; LÓPEZ, A.; PARDO, L.C. 2003. Catálogo de Coleoptera: Melolonthidae (Scarabaeidae: Pleurosticti) en Colombia. Folia Entomológica Mexicana 42 (2): 239-263.
- RITCHER, P. O. 1966. White Grubs and Their Allies. Oregon State University Press. Corvallis. Oregon. 219 p.
- STEHR, F. 1987. Immature insects I. Department of Entomology. Michigan State University. 974 p.
- VINCINI, A. M.; LÓPEZ, A. N.; MANETTI, P-L.; ÁLVAREZ-CASTILLO, H.; CARMIONA, D. M. 2000. Descripción de los estados inmaduros de *Dyscinetus rugifrons* (Burmeister, 1847) (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae). Elytron 14: 91-98.

Recibido: 1-may-2009 • Aceptado: 3-mar-2011

Nota científica

Primer registro de Oncopoduridae (Collembola: Entomobryomorpha) para Colombia

First report of Oncopoduridae (Collembola: Entomobryomorpha) from Colombia

DANIEL AVILA A.¹ y YENDA JARAMILLO C.²

Resumen: Se registra por primera vez para Colombia la familia Oncopoduridae (Entomobryomorpha: Arthropleona) representada por la especie *Harlomillsia oculata*. Los ejemplares se recolectaron en cultivo de mora y pastizal de kikuyu circunscritos a bosque alto andino de la cordillera oriental a 2600 msnm de altitud.

Palabras clave: Bosque alto andino. *Harlomillsia*. Cundinamarca.

Abstract: The family Oncopoduridae (Entomobryomorpha: Arthropleona), represented by the species *Harlomillsia oculata*, is reported for the first time in Colombia. The samples were collected in blackberry crops and kikuyu grass pastures belonging to the Andean high forest of the eastern cordillera at 2600 m elevation.

Key words: Andean high forest. *Harlomillsia*. Cundinamarca.

Introducción

Los Collémbolos son individuos pequeños que miden desde 250µ hasta 10 mm de longitud (Palacios-Vargas *et al.* 1998). Son individuos ápteros que presentan desarrollo amétabolo. Sus cuerpos son alargados o globosos y están poco esclerotizados. Se reconocen por la presencia de apéndices abdominales como el colóforo o tubo ventral ubicado en el primer segmento abdominal o por la presencia de una fúrcula u órgano saltador ubicado en el cuarto segmento abdominal, que se ancla en reposo al tenáculo o hámula, estructura bífida de amarre situada en el tercer esternito abdominal (Vázquez y Palacios 2004). Los Collémbolos tienen una distribución geográfica mundial con cerca de 7800 especies (Bellinger *et al.* 2004), agrupadas en 28 familias, que se han registrado en todos los continentes, incluyendo la Antártica.

En América se han encontrado 1600 especies, de las cuales en la región neotropical se han identificado cerca de 900, agregadas en 156 géneros y a su vez agrupadas en 23 familias (Vázquez y Palacios 2004). Para Colombia se han identificado 17 familias con 62 géneros, representando el 38% de la fauna neotropical.

En Colombia el conocimiento referente a la biología y taxonomía del orden Collembola, a pesar de estar en aumento, sigue siendo escaso. Los registros se remontan a Mari Mutt (1979), Galindo y Pavón (1985), Acosta *et al.* (1985), Rosario (1990), Ospina (2003), Ospina *et al.* (2009) y Palacios-Vargas *et al.* (2005). En el presente trabajo, la especie *Harlomillsia oculata* (Bonet, 1944) de la familia Oncopoduridae es registrada por primera vez para Colombia.

Materiales y Métodos

Los especímenes se recolectaron en un parche de bosque alto andino de 0,3 has. ubicado en la Vereda Noruega Alta del Municipio de Sylvania, Cundinamarca, Colombia. El material

está depositado en la colección entomológica del museo de Historia Natural de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas [MUD-O46].

Familia Oncopoduridae

Son individuos que habitan especialmente en hojarasca y suelo (Fig. 1A), aunque son habitantes poco usuales de cuevas (Christiansen y Reddell 1986). En la mayoría de los casos su cuerpo está recubierto de escamas hialinas fuertemente estriadas (Fig. 1B). El IV segmento abdominal suele ser más largo que el III segmento. La fúrcula está desarrollada presentando espinas fuertes y tridentadas en el dente. El mucrón es alargado y cilíndrico con un variado número de dientes y sin sedas (Fig. 1C). Su apariencia es semejante a la familia Tomoceridae por similitudes en la quetotaxia corporal y la estructura de las escamas (Szeptycki 1977). Se encuentra reportada para todas las regiones biogeográficas excepto la etiópica. Esta familia cuenta con dos géneros: *Harlomillsia* con una sola especie descrita (*H. oculata*) y *Oncopodura* (Carl y Lebedinsky, 1905), de amplia distribución, con 51 especies (Bellinger *et al.* 2004).

Material Examinado: *Harlomillsia oculata*. 1 adulto. COLOMBIA. Cundinamarca. Sylvania. Noruega Alta. Finca Los Rosales. 74°19'14,2"W 4°29'21,0"N 2604-2617 msnm 13-abr-2006. Avila, D. Jaramillo, Y. [MUD-046]. Colectada en suelo de cultivo de mora mediante recolección manual; 4 adultos. COLOMBIA. Cundinamarca. Sylvania. Noruega Alta. Finca Los Rosales 74°19'07,7"W 4°29'10,7"N 2618-2630 msnm. 13-abr-2006 y 27-may-2006. Avila, D. Jaramillo, Y. [MUD-046]. Colectada en suelo de pastizal de kikuyo con embudo de Berlesse-Tullgren y trampa Pitfall.

Harlomillsia Bonet, 1944

Especie Tipo: *Harlomillsia oculata* Bonet, 1944

¹ Licenciado en Biología. Fundación Natura Colombia, Cra 21 No 39-43, Bogotá, Colombia. davila@natura.org.co. Autor para correspondencia. ² Licenciada en Biología, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Cll 26ª No 3-26, Bogotá, Colombia. kiensa116@hotmail.com.

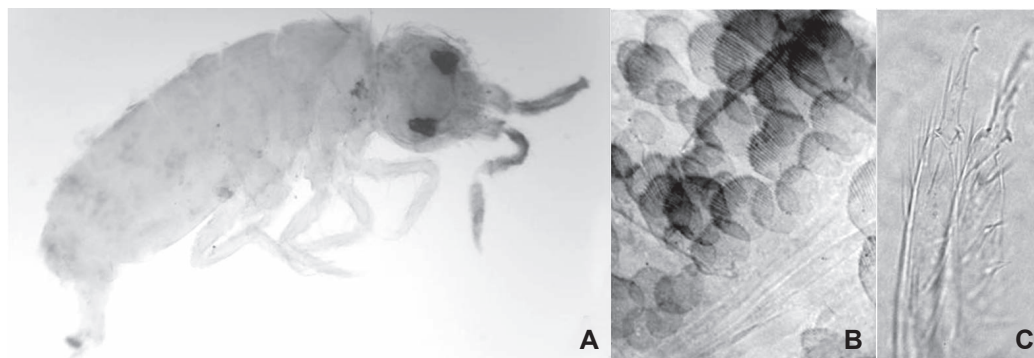


Figura 1. A. *Harlomillsia oculata*. Vista General. B. Abdomen, nótese las escamas fuertemente estriadas. C. Detalle del mucrón largo multidentado.

Los individuos se hallaron en suelo de cultivo de mora y pastizal de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) en la vereda Noruega Alta, Silvania, Cundinamarca, constituyéndose en el primer registro en este tipo de ecosistemas, pues hasta ahora solo ha sido reportado en hábitats naturales como bosques primarios y secundarios, donde se halla con frecuencia en regiones como Estados Unidos, México y Perú (Guillen *et al.* 2006). Se ha registrado en la región neártica, paleártica, oriental, australiana y neotropical. Dentro de la región neotropical se ha registrado en México, Costa Rica, Cuba, Puerto Rico, Perú, Brasil.

Se diferencia del otro género de la familia (*Oncopodura*) por presentar corneolas, pigmentación y una seda antenal apical espatulada. Algunos de los especímenes colectados presentan variaciones respecto al holotipo como la presencia de una vesícula en el III antenito, la reducción en el número de dientes en el mucrón, una estriación más marcada en las escamas y la subdivisión de los dientes.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Palacios-Vargas (UNAM) por su amplia colaboración y asesoría, como a los revisores anónimos de este trabajo.

Literatura citada

- ACOSTA, D.; ACOSTA, A.; ROATTA, J. 1985. Biología y desarrollo postembrionario de *Onychiurus armatus* (Collembola: Onychiuridae). Revista Colombiana de Entomología 11 (2): 27-35.
- BELLINGER P.F.; CHRISTIANSEN K.A.; JANSSENS F. 2004. Checklist of the Collembola of the World. Disponible en: <http://www.collembola.org>. [12 agosto 2009].
- CHRISTIANSEN, K.; REDDELL, J.R. 1986. The cave Collembola of Mexico. Texas Memorial Museum, Speleological Monograph 1: 127-162.
- GALINDO, D.; PABON, L. 1985. Estudio Morfo-sistemático de Collembola asociado a la materia orgánica de suelos MOR. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas, SCIB, Bogotá, Colombia. 89 p.
- GUILLEN, C.; SOTO-ADAMES, F.; SPRINGER, M. 2006. Diversidad y abundancia de colémbolos edáficos en un bosque primario, un bosque secundario y un cafetal en Costa Rica. Agronomía Costarricense 30 (2): 7-17.
- MARI-MUTT, J. 1979. A Revision of the Genus *Dicranocentrus* Schött (Insecta: Collembola: Entomobryidae). Bulletin Agricultural Experiment Station Universidad de Puerto Rico 259: 1-79.
- OSPINA, C. 2003. Colémbolos asociados con cultivos de pastos en tres zonas de vida de Holdridge en Antioquia (Colombia). Agronomía Colombiana 21 (3): 129-141.
- OSPINA, C.; RODRÍGUEZ, J.; PECK, D. 2009. Clave para la identificación de géneros de Collembola en agroecosistemas de Colombia. Revista Colombiana de Entomología 35 (1): 57-61.
- PALACIOS-VARGAS, J.G.; VIDAL, M.V. 1998. Collembola from the canopy of a Mexican tropical deciduous forest. Pan-Pacific Entomology 74 (1): 47-54.
- PALACIOS-VARGAS, J.G.; PEÑARANDA-PARADA, M. R. 2005. Two new species of *Paranura* (Collembola: Neanuridae) from Colombia and México. Journal of the Kansas Entomological Society 78 (4): 197-203.
- ROSARIO, M. 1990. Algunas especies de Collembola (Insecta) como agentes detritívoros del manglar. Colombia, Boletín Ecológico 21: 23-27.
- SZEPTYCKI, A. 1977. Morpho-systematic studies on Collembola. V. The Body chaetotaxy of the genera *Oncopodura* Carl et Lebedinsky, 1905 and *Harlomillsia* Bonet, 1944 (Oncopoduridae). Revue d'Écologie et de Biologie du Sol 14: 199-209.
- VÁZQUEZ, M.; PALACIOS, V. 2004. Catálogo de Colémbolos (Hexápoda: Collembola) de Sian Ka'an. Quintana Roo, México. Universidad de Quintana Roo, CONABIO. 123 p.

Recibido: 2-Dic-2009 • Aceptado: 31-jul-2010

Scientific note

The first record of the genus *Gracilidris* (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae) from Colombia

Primer registro del género *Gracilidris* (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae) para Colombia

ROBERTO J. GUERRERO¹ and CATALINA SANABRIA²

Abstract: The dolichoderine ant genus *Gracilidris* and its sole species, *G. pombero*, are recorded for the first time for Colombia from populations from the foothills of the Colombian Amazon basin. Comments and hypotheses about the biogeography of the genus are discussed.

Key words: Ants. Biodiversity. Caquetá. Colombian Amazon. Grazing systems.

Resumen: El género dolichoderino de hormigas *Gracilidris* y su única especie, *G. pombero*, son registrados por primera vez para Colombia, de poblaciones provenientes del piedemonte de la cuenca Amazónica colombiana. Algunos comentarios e hipótesis sobre la biogeografía del género son discutidos.

Palabras clave: Hormigas. Biodiversidad. Caquetá. Amazonas colombiano. Pasturas ganaderas.

Introduction

Currently, dolichoderine ants (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae) include 28 extant genera (Bolton *et al.* 2006; Fisher 2009) distributed in four tribes according to the latest higher level classification of the ant subfamily Dolichoderinae (Ward *et al.* 2010). Eleven of those extant genera occur in the New World: *Bothriomyrmex*, *Dolichoderus*, *Liometopum*, *Tapinoma*, and *Technomyrmex* have a global distribution, while *Anillidris*, *Azteca*, *Dorymyrmex*, *Forelius*, *Gracilidris*, and *Linepithema* are endemic to the New World. Some of these members are species-rich and have a wide distribution in the Americas (e.g., *Dolichoderus*) while others like *Bothriomyrmex* are species-poor and of very limited distribution (i.e., Costa Rica; Dubovikoff and Longino 2004).

The taxonomy of the Dolichoderinae began to be clarified from the 1990s' (Shattuck 1992); before and during this decade, the taxonomy of these ants in the New World received limited attention, with some exceptions (Longino 1989, 1991a, 1991b 1996; Mackay and Mackay 1993). A new millennium, however, has brought about a golden decade for these ants, carrying out general taxonomic contributions (e.g., Cuzzo 2000; Wild 2007) or regional studies to discoveries of new taxa at the supra-specific level (Wild and Cuzzo 2006) and transfers of taxa at the subfamily level (Ward and Brady 2009).

The picture in Colombia has been similar. Efforts to know about the dolichoderine ant fauna in Colombia have increased since 2007; resulting in new Colombian species of the genera *Technomyrmex* (Fernández and Guerrero 2008) and *Forelius* (Guerrero and Fernández 2008). We report here for the first time in Colombia the ant species *Gracilidris pombero* Wild & Cuzzo, 2006, and discuss hypotheses about the possible

distribution of the genus *Gracilidris* in South America. We also discuss each of the dolichoderine genera that occur in Colombia.

Methods

We separated *G. pombero* specimens from all ants collected in the project "Amaz_BD: Biodiversidad de los paisajes Amazónicos, determinantes socio-económicos y producción de bienes y servicios". This research was carried out in Caquetá department located in the western foothills of the Colombian Amazon basin. The ants were collected through topsoil sampling. Soil samples were 25 cm² in area by 10 cm deep. Prior to excavation, the soil surface was examined to collect all arthropods and other invertebrates present. Subsequently, the soil was transferred to a container where all invertebrates contained in the sample were collected and preserved in EtOH. This unusual method of collecting led to the partial damage of all specimens of *G. pombero* studied here. Despite the damage the specimens had diagnostic characters of the genus and species allowing their identification.

Vouchers were deposited in the following collections and institutions (abbreviations in parentheses): California Academy of Sciences, San Francisco, California, U.S.A. (CASC); Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia (ICN); Museo de Entomología de la Universidad del Valle, Santiago de Cali, Valle del Cauca, Colombia (MEUV).

Some measurements are those used by Wild y Cuzzo (2006) to describe the *G. pombero* holotype and made using a Nikon stereomicroscope SMZ645 at 80X magnification with ocular micrometer. Measurements are expressed in mm. The images of the ants were generated with a Nikon Coolpix digi-

¹ Biologist. Grupo de Investigación en Insectos Neotropicales. Instituto de Investigaciones Tropicales - INTROPIC. Universidad del Magdalena. Carrera 32 N° 22-08, Santa Marta, Magdalena, Colombia. Current address: Programa de Doctorado en Zoología. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. robertojosegguerrero@ yahoo.es. Corresponding author. ² Biologist. Grupo Biología, Ecología y Manejo de Hormigas. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Universidad del Valle. Campus Universitario Meléndez, Santiago de Cali, Valle del Cauca, Colombia.

tal camera adapted to SMZ645 stereoscope; one of us (RJG) took 20 pictures at the same scale but at different depths of field. These photographs were then used to generate a single image through the software CombineZ5. Finally, the figures were prepared in CorelDraw® Graphics Suite X3.

Results

Subfamily Dolichoderinae

Genus *Gracilidris* Wild & Cuzzo, 2006

Gracilidris pombero Wild & Cuzzo, 2006

(Figures 1-2)

Worker measurements

(n= 4): HL 0.85 – 0.91, HW 0.62 – 0.70, SL 0.96 – 1.03, FL 0.78 – 0.93, LHT 0.91 – 1.05, PW 0.48 – 0.52, WL 1.35 – 1.40.

Material examined: *Gracilidris pombero*. 9 workers (w).

COLOMBIA: Caquetá: Florencia. Municipio Puerto Arango. 1°30'29.4"N 75°32'57.3"W. vi. 2008. Sanabria, C. leg (8w); San Juan del Barro. 1°25'43.3"N 75°29'30.3"W. vi. 2008. Sanabria, C. leg. (1w).

Natural History: The Colombian specimens of *Gracilidris pombero* came from the western foothills of the Colombian Amazon basin. All specimens of *G. pombero* were collected in mixed environments highly disturbed by man, as a result of logging and the introduction of livestock grazing. Puerto Arango sites are open grassland areas (traditional grazing system) where the vegetation is predominantly *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick (Poaceae alt. Gramineae); San Juan del Barro sites are for silvopastoral systems consisting primarily of pasture with scattered shrubs.

Collection records of *G. pombero* indicate that this species probably forages actively during the day, through shallow underground galleries (0-10 cm depth), because all specimens are from subsurface samples and none was collected at ground level during diurnal visual searches and at depths greater than 10 cm. Although there are few data on its biology, *G. pombero* ants from Colombia show a behavior similar to that present in the populations of Argentina, Brazil and Paraguay. Given its current range, wherever it has been recorded, *G. pombero* is found in open areas with some degree of human disturbance, especially grazing areas. Moreover, the possibility of nocturnal behavior (Wild and Cuzzo 2006) is corroborated by the absence in our daytime sampling, and their appearance in the soil samples.

Comments: Ants reported here correspond to the genus *Gracilidris* and its only living species *G. pombero*, because they maintain the combination of diagnostic characters of the genus and the morphological details of the species listed in Wild and Cuzzo (2006). In spite of agreeing in all diagnostic characters, there are small differences between Colombian populations and the Chaco and Brazilian region ones. The middle region of the posterior cephalic margin is more or less straight in Colombian ants, while Paraguayan and Brazilian ants have a smooth concavity in the middle of the posterior cephalic margin (Wild and Cuzzo 2006: Fig. 1). The trochanters, legs (femora and tarsi), and bulla of the metapleural gland are yellow to brown testaceous in Colombian ants, while in the workers from the southern portion of the range the appendices may become dark brown and sometimes with

body parts lighter, varying light brown to whitish (Wild and Cuzzo 2006: Figs. 2 and 3). Despite the minor variations in morphology and color, measurement ranges of the Colombian specimens overlap with the measurements of the populations of Argentina, Brazil and Paraguay.

Discussion

Based on previous works (Shattuck 1992; Mackay 1993; Fernández and Sendoya 2004; Wild 2007; Fernández and Guerrero 2008; Guerrero and Fernández 2008) it is now possible to give a first summary of the current state of the dolichoderine ant fauna in Colombia. The recent records of the ant genera *Forelius* and *Technomyrmex* in Colombia (Guerrero and Fernández 2008; Fernández and Guerrero 2008), with the description of new species in each of these taxa, allows us to recognize a total of eight dolichoderine genera (*Azteca*, *Dolichoderus*, *Dorymyrmex*, *Forelius*, *Gracilidris*, *Linepithema*, *Tapinoma*, and *Technomyrmex*) for the country:

Gracilidris in Colombia can be seen as a biogeographical rarity. However, the representation of this genus in Dominican amber in the form of *G. humilioides* (Wilson 1985; Wild and Cuzzo 2006) and estimated age of 43 million years (Ward *et al.* 2010) suggest their ancient presence in the Neotropics. The biogeographic situation of genus *Gracilidris* is similar to that of other dolichoderine genera in the New World such as *Technomyrmex* and *Bothriomyrmex*. Apparently each one represents a group of ants widely distributed in the past but now restricted to a few isolated forests in areas in the Neotropical region, perhaps as lineages that may become extinct (Fernández and Guerrero 2008) due to their high specificity and limited distribution.

Several hypotheses may explain the current distribution range of *Gracilidris*. The first reinforces a pattern that includes the Amazon Basin as a potential biogeographic barrier of the dolichoderine ants (Guerrero and Fernández 2008). Since *Gracilidris* lies above and below the Amazon basin (including the fossil record in its distribution), primarily in open environments, this suggests as in *Forelius* (Guerrero and Fernández 2008), that in the past *Gracilidris* lived from Para-

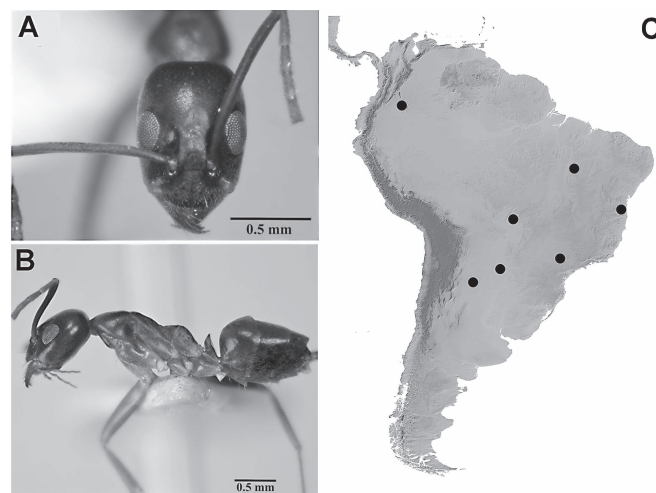


Figure 1. *Gracilidris pombero* Wild & Cuzzo worker from Florencia, Colombia. **A.** Head in full face view. **B.** Body in lateral view. **C.** Distribution of *Gracilidris pombero* Wild & Cuzzo in South America. (Adapted from Wild and Cuzzo 2006).

guay to Puerto Rico, including the Amazon basin during a period of drier climate. Increasing humidity and the emergence or expansion of an Amazonian wet forest could have resulted in local extinctions, with subsequent isolation of *Gracilidris* in the extreme north and south of the Amazon basin. The second hypothesis takes into account the effect of the rise of the Andes on the Amazon basin (Hooghiemstra and van der Hammen 2001; Hoorn 2006). In this case, the lifting of the Eastern slope of the Northern Andes (i.e., Colombian Eastern Cordillera), approximately during the late Miocene, changed the course of the rivers of the western Amazon basin to the east of the continent, resulting in the current Amazonian river system and therefore a new natural barrier that separated the constituent species of the genus (i.e., fossil *G. humiloides* and *G. pombero*). In the case of *G. pombero*, this new natural barrier separated Colombian populations from those of Brazil, Argentina and Paraguay. Given the peculiarity biogeographic pattern, it is necessary to perform molecular analysis at the population level in *G. pombero* to try and differentiate between these hypotheses.

Acknowledgments

RJG is grateful to Inge Armbrecht and James Montoya (University of Valle, Cali, Colombia) for funding the visit to their laboratory, and thus study the specimens of *G. pombero*. CS thanks the project "Amaz_BD" funding for travel to Florence and all the logistical support. "Amaz_BD" project was supported by IFB-ANR grant to Patrick Lavelle. We are indebted to Fernando Fernandez and Jack Longino for comments to first draft of MS. We are in debt with Phil Ward and Jack Longino for their comments invaluable and help us with English to final version of MS. We thank to editor and two referees for critical comments that improved this manuscript. This is scientific contribution number DOL-004 research project "Composición y Distribución de la Subfamilia Dolichoderinae (Hymenoptera: Formicidae) en Colombia" (Agreement # 122 COLCIENCIAS - University of Magdalena).

Cited Literature

- BOLTON, B.; ALPERT, G.; WARD, P. S.; NASKRECKI, P. 2006. Bolton's catalogue of ants of the world: 1758-2005. Harvard University Press, Cambridge, MA, USA. CD-ROM.
- CUEZZO, F. 2000 Revisión del género *Forelius* (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae). Sociobiology 35: 197-277.
- DUBOVIKOFF, D. A.; LONGINO, J. T. 2004. A new species of the genus *Bothriomyrmex* Emery, 1869 (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae) from Costa Rica. Zootaxa 776: 1-10.
- FERNÁNDEZ, F.; SENDOYA, S. 2004. List of Neotropical ants (Hymenoptera: Formicidae). Biota Colombiana 5: 3-109.
- FERNÁNDEZ, F.; GUERRERO, R. 2008. *Technomyrmex* (Formicidae: Dolichoderinae) in the New World: synopsis and description of a new species. Revista Colombiana de Entomología 34: 110-115.
- FISHER, B. L. 2009. Two new dolichoderine ant genera from Madagascar: *Aptinoma* gen. n. and *Ravavy* gen. n. (Hymenoptera: Formicidae). Zootaxa 2118: 37-52.
- GUERRERO, R.; FERNÁNDEZ, F. 2008. A new species of the ant genus *Forelius* (Formicidae: Dolichoderinae) from the dry forest of Colombia. Zootaxa 1958: 51-60.
- HOOGHIEMSTRA, H.; VAN DER HAMMEN, T. 2001. Desarrollo del bosque húmedo Neotropical en el Neógeno y en el Cuaternario: La hipótesis de los refugios. In: Llorente-Bousquets, J. & J. Morrone (Eds.), Introducción a la Biogeografía en Latinoamérica. UNAM, México, pp 129-136.
- HOORN C. 2006. The birth of the mighty Amazon. Scientific American 294: 40-47.
- LONGINO, J. T. 1989. Taxonomy of the Cecropia-inhabiting ants in the *Azteca alfari* species group: evidence for two broadly sympatric species. Contributions in Science (Natural History Museum of Los Angeles County) 412: 1-16.
- LONGINO, J. T. 1991a. *Azteca* ants in *Cecropia* trees: taxonomy, colony structure, and behavior. p. 271-288. In: Huxley, C.; Cutler, D. (Eds.). Ant-Plant Interactions. Oxford University Press, Oxford, UK. 601p.
- LONGINO, J. T. 1991b. Taxonomy of the Cecropia-inhabiting *Azteca* ants. Journal of Natural History 25: 1571-1602.
- LONGINO, J. T. 1996. Taxonomic characterization of some live-stem inhabiting Azteca (Hymenoptera: Formicidae) in Costa Rica, with special reference to the ants of *Cordia* (Boraginaceae) and *Triplaris* (Polygonaceae). Journal of Hymenoptera Research 5: 131-156.
- MACKAY, W., E. MACKAY 1993. A review of the New World ants of the genus *Dolichoderus* (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology 22: 1-144.
- SHATTUCK, S. O. 1992. Generic revision of the ant subfamily Dolichoderinae. Sociobiology 21: 1-181.
- WARD, P. S.; BRADY, S. G. 2009. Rediscovery of the ant genus *Amyrmex* Kusnezov (Hymenoptera: Formicidae) and its transfer from Dolichoderinae to Leptanilloidinae. Zootaxa 2063: 46-54.
- WARD, P. S.; BRADY, S. G.; FISHER, B. L.; SCHULTZ, T. R. 2010. Phylogeny and biogeography of dolichoderine ants: effects of data partitioning and relict taxa on historical inference. Systematic Biology 59: 342-362.
- WILD, A. L.; CUEZZO, F. 2006. Rediscovery of a fossil dolichoderine ant lineage (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae) and a description of a new genus from South America. Zootaxa 1142: 57-68.
- WILD, A. L. 2007. Taxonomic revision of the ant genus *Linepithema* (Hymenoptera: Formicidae). University of California Publications in Entomology 126: 1-151.
- WILSON, E. O. 1985. Ants of the Dominican amber. 3. The subfamily Dolichoderinae. Psyche 92: 17-37.

Recibido: 4-feb-2010 • Aceptado: 21-ene-2011

Nota científica

***Monopelopia tillandsia*, (Diptera: Chironomidae: Tanypodinae), primer registro para Cuba y el Neotrópico**

Monopelopia tillandsia, (Diptera: Chironomidae: Tanypodinae), first record from Cuba and the Neotropical region.

ORESTES C. BELLO G.¹ y YUSDIEL TORRES C.²

Resumen: Se registra por primera vez para Cuba y el Neotrópico a *Monopelopia tillandsia* (Diptera: Chironomidae: Tanypodinae). Los ejemplares en fase larval se colectaron en tres especies de bromeliáceas y se criaron en el laboratorio hasta la fase adulta. *M. tillandsia* está distribuida en las Regiones Central y Oriental de Cuba.

Palabras clave: Fitotelmata. Bromeliáceas. Neotrópico.

Abstract: *Monopelopia tillandsia* (Diptera: Chironomidae: Tanypodinae) is recorded for the first time in Cuba and the Neotropical region. Specimens of the larval stage were collected in three species of bromeliads and reared in the laboratory until the adult stage. *M. tillandsia* is distributed in central and western Cuba.

Key words: Phytotelmata. Bromeliads. Neotropical region.

Introducción

Hasta el momento se refieren para el Neotrópico cinco especies pertenecientes al género *Monopelopia* (Diptera, Chironomidae) (Oliveira *et al.* 2010). *M. boliekiae* (Beck y Beck, 1966) es la única reportada para Cuba (Roback 1986). *Monopelopia tillandsia* fue descrita por Beck y Beck (1966) a partir de larvas encontradas en bromeliáceas y posteriormente criadas hasta obtener los adultos. Aunque al menos un congénere ha sido encontrado en ambientes lóticos (Roque *et al.* 2007; Siquiera y Trivinho-Strixino 2005) todas las larvas de *M. tillandsia* han sido encontradas en el hábitat bromelícola, al que posiblemente están restringidas (Epler 2001). Roback (1986) realiza una descripción detallada del macho adulto y la pupa de *M. tillandsia* complementada posteriormente con la descripción del estadio larval (Roback 1987). *M. tillandsia*, ha sido reportada hasta el momento solo del Sureste de La Florida, EUA (Epler 2001). Debido a la distribución restringida y a la destrucción de su hábitat específico por *Metamasius callizona* (Chevrolat) cuyas larvas minan los tallos de las bromeliáceas grandes causándoles la muerte, *M. tillandsia* ha sido considerada en riesgo de extinción (Frank y Fish 2008). Los objetivos de este trabajo son dar a conocer los primeros registros de *M. tillandsia* en el Neotrópico y aportar información sobre su distribución en la isla de Cuba.

Materiales y Métodos

Los larvas se coleccionaron en tres especies de bromeliáceas: *Tillandsia fasciculata* (Swartz, 1788), *Catopsis* sp. y *Hogenbergia penduliflora* [(A. Rich.) Mez, 1896]. Las colecciones se realizaron en la Reserva Ecológica Limones-Tuabaquey, Provincia de Camagüey (Abril, 2009); La Melba, Parque Nacional Alejandro de Humboldt, Provincia de Holguín (Febrero, 2009) y Monte Iberia, Parque Nacional Alejandro

de Humboldt, Provincia de Guantánamo (Junio, 2006). Una parte de las larvas se criaron en condiciones de laboratorio (Mendes 2002) hasta obtener los adultos. Para la determinación taxonómica se montaron en preparaciones fijas la piel de la larva y la exuvia pupal. Los ejemplares se encuentran depositados en la colección zoológica del Centro de Investigaciones de Medio Ambiente de Camagüey (CIMAC), Camagüey, Cuba.

Material examinado

Monopelopia tillandsia. 15 larvas, Indeterminado, 3 exuvias pupales, M, 2 adultos, M. Cuba. Guantánamo. Baracoa. Parque Nacional Alejandro de Humboldt. Monte Iberia. Lagunas de Monte Iberia. 700 msnm jun-2006. Bello y Torres. 9 larvas, Indeterminado, 3 exuvias pupales, M, 1 adulto, M. Cuba. Holguín. Parque Nacional Alejandro de Humboldt. La Melba. 600 msnm feb-2009. Bello y Torres. 6 larvas, Indeterminado, 2 exuvias pupales, M, 1 adulto, M. Cuba. Camagüey. Sierra de Cubitas. Reserva Ecológica Limones-Tuabaquey. Paso de los Paredones. 150 msnm abr-2009. Bello

Caracteres diagnósticos

Las especies de *Monopelopia* reportadas para el Neotrópico son fácilmente separables a partir de las formas inmaduras (Mendes *et al.* 2003). Una excepción la constituye *M. minuta* (Serpa-Filho y Oliveira, 1997) cuyos estadios inmaduros no están descritos, pero es separable fácilmente por la longitud inferior a 1 mm de las alas del macho adulto que en *M. tillandsia* se aproxima a 1,5 mm.

La larva de *M. tillandsia* (Figs. 1 A-B) no tiene garras oscuras en los parápodos posteriores (Fig. 1A), todas son amarillo pálido. Las garras menores de estos parápodos presentan, cuando más, unos pequeños dientes (3-4) en el margen interno. Habita, típicamente, en el agua retenida en axilas de bromeliáceas. La pupa presenta cuernos torácicos cilíndricos

¹ Licenciado en Biología. Centro de Investigaciones de Medio Ambiente de Camagüey (CIMAC). Cisneros # 105 altos e/Ángel y Pobre. Camagüey, Cuba. orestes@cimac.cu Autor para correspondencia. ² Licenciado en Biología. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Patricio Lumumba s/n, Santiago, Santiago de Cuba, Cuba. yticambas@cnt.uo.edu.cu

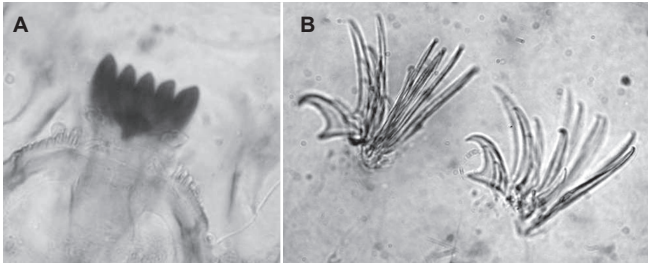


Figura 1. Detalles de la larva de *M. tillandsia*. **A.** Lígula, **B.** garras de los parápodos posteriores.

y plastrón ovoide cubriendo menos de 1/3 de la longitud del cuerno torácico (Fig. 2A), el patrón de coloración marrón claro típico de *M. mikeschwartzii* (Epler, 1999) esta ausente (Fig. 2B). Los ejemplares se ajustaron perfectamente a esta combinación de caracteres que permite separar los ejemplares de *M. tillandsia* del resto de sus congéneres neotropicales.

Distribución

Hemos encontrado ejemplares de *M. tillandsia* en las Regiones Central y Oriental de Cuba (Fig. 3) en las localidades referidas. En el resto del país no se han realizado muestreos por lo que no existen datos de su presencia. Este constituye el primer reporte para la región Neotropical. Teniendo en cuenta el grado de amenaza de la especie (Frank y Fish 2008) su hallazgo en Cuba tiene interés no solo desde el punto de vista biogeográfico sino también conservacionista.

Agradecimientos

A Katherine Pellicier y al resto de los obreros de la conservación de los sectores La Melba y Baracoa (Parque Nacional



Figura 3. Localidades donde se encontraron ejemplares de *M. tillandsia*. 1) Reserva Ecológica Limones-Tuabaquey, Provincia de Camagüey; 2) La Melba, Parque Nacional Alejandro de Humboldt, Provincia de Holguín; 3) Monte Iberia, Parque Nacional Alejandro de Humboldt, Provincia de Guantánamo.

Alejandro de Humboldt). A Eddy Martínez Q y Daimy Godínez C por la revisión del manuscrito.

Literatura citada

- BECK, W. M. Jr.; BECK, E. C. 1966. Chironomidae (Diptera) of Florida - I. Pentaneurini (Tanypodinae). Bulletin of the Florida State Museum, Biological Sciences Series 10: 305-379.
- EPLER, J. H. 2001. Identification manual for the larval Chironomidae (Diptera) of North and South Carolina. Department of Environmental and Natural Resources, Division of Water quality, Raleigh and St. Johns River Water Management District, Palatka. Special Publication SJ2001-SP13. 526 p.
- FRANK, J. H.; FISH, D. 2008. Potential biodiversity lost in Florida bromeliads phytotelmata due to *Metamasius callizona* (Coleoptera: Dryophthoridae), an invasive species. Florida Entomologist 91 (1): 1-8.
- MENDES, H. F. 2002. Rearing Tanyponidae, Telmatogetoninae and Orthocladiinae in Brazil-An empirical approach. Chironomus Newsletter on Chironomidae Research 15: 29-32.
- MENDES, H. F.; MARCONDES, C. B.; PINHO, L. C. 2003. A new phytotelmatic species of *Monopelopia* Fittkau, 1962 (Insecta: Diptera: Chironomidae: Tanypodinae) from South Brazil. Zootaxa. 262: 1-10.
- OLIVEIRA, C. N.; MENDES, H. F.; SILVA, M. A. N. 2010. A new species of the genus *Monopelopia* from South Brazil, with keys to the Neotropical-Nearctic species (Diptera: Chironomidae: Tanypodinae). Zootaxa 2419: 53-62.
- ROBACK, S. S. 1986. The Immature Chironomids of the Eastern United States. VII. Pentaneurini-Genus *Monopelopia*, with Redescription of the Male Adults and Description of Some Neotropical Material. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 138 (2): 350-365.
- ROBACK, S. S. 1987. The larval stage of *Monopelopia tillandsia* Beck and Beck (Diptera: Chironomidae: Tanypodinae). Notulae Naturae 467: 1-3.
- ROQUE, F. O.; TRIVINHO-STRIXINO, S.; MILAN, L.; LEITE, J. G. 2007. Chironomid species richness in low-order streams in the Brazilian Atlantic Forest: a first approximation through a Bayesian approach. Journal of the North American Benthological Society 26: 221-231.
- SIQUIERA, T.; TRIVINHO-STRIXINO, S. 2005. Diversidade de Chironomidae (Diptera) em dois córregos de baixa ordem na região central do Estado de São Paulo, através da coleta de exúvias de pupa. Revista Brasileira de Entomologia 49 (4): 531-534.

Recibido: 3-Mar-2010 • Aceptado: 13-Oct-2010

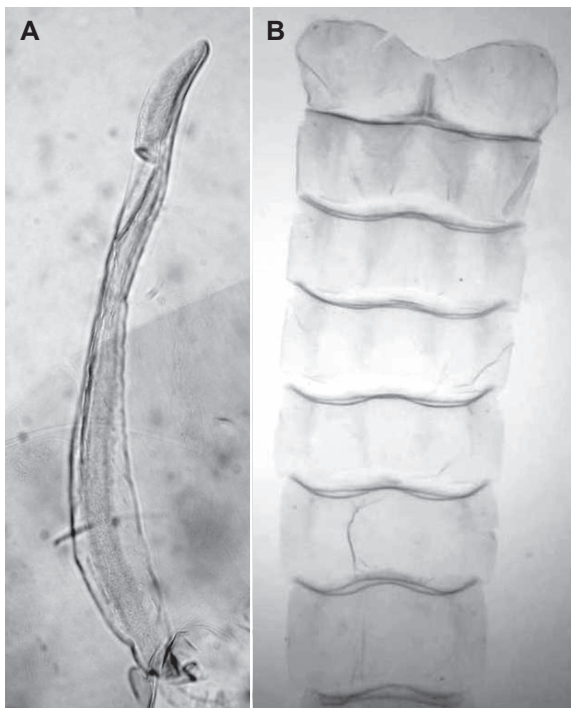


Figura 2. Detalles de la exuvia pupal de *M. tillandsia*. **A.** Cuerno torácico, **B.** Tergitos abdominales (I-VII).

Nota científica

First record of the damselfly genus *Anisagrion* (Odonata: Coenagrionidae) from Colombia

Primer registro del género de caballitos del diablo *Anisagrion* (Odonata: Coenagrionidae) para Colombia

NANCY CAROLINA ROJAS-RIAÑO¹

Abstract: The genus *Anisagrion* and the species *Anisagrion inornatum* are reported for the first time from Colombia. Currently the genus is known from Central America, Venezuela, and Ecuador.

Key words: Damselfly. Andes. Biodiversity.

Resumen: El género *Anisagrion* y la especie *Anisagrion inornatum* se registran por primera vez para Colombia. Hasta el momento el género era conocido de América Central, Venezuela y Ecuador.

Palabras clave: Caballitos del diablo, Andes, Biodiversidad.

Introduction

Coenagrionidae is a cosmopolitan family and the largest in the order Odonata with about 1100 described species. However *Anisagrion* is a genus with only four species: *Anisagrion allopterum* Selys, 1876, *A. inornatum* (Selys, 1876), *A. kennedyi* Leonard, 1937, and *A. truncatipenne* Calvert, 1902, with a distribution range from Mexico south to Panama, Venezuela and southern Ecuador (Garrison *et al.* 2010). *Anisagrion* is a coenagrionid genus of medium body size. Its most common color pattern is as follows: head, thorax, and dorsum of abdomen black with pale areas blue, yellow, or light green. Male cerci of *Anisagrion* are unique by their entire dorsal surface forming an oval membranous depression (von Ellenrieder and Garrison 2009), and additional diagnostic characters for the genus are found in Garrison *et al.* (2010).

The genus *Anisagrion* was erected by Selys in 1876 with *A. allopterum* as the type and the variety *A. allopterum rubicundum* as a doubtful form. However, this form was subsequently synonymized with *A. allopterum* by Calvert (1901-1908) because the coloration pattern of the abdomen, a difference proposed by Selys, may be simply a consequence of the age of the specimen. Later Leonard (1937) described *A. kennedyi* from Panama. In 2005 De Marmels and Garrison transferred *Leptagrion?* [sic] *inornatum* Selys, 1876 to the genus *Anisagrion* and synonymized *Leptagrion?* [sic] *rufum* with *A. inornatum*. *Leptagrion?* [sic] *rufum* was questionably assigned to *Leptagrion* by Selys (Costa and Garrison 2001).

A. inornatum differs from the other species of the genus by the following characters (characters for other species are described in parenthesis): shape of the apices of both wings equal (apex of forewing truncated in *A. truncatipenne*); distal lobes of male genital ligula without internal projection (with internal projection in *A. allopterum*); and cerci oval with apices much wider than their bases (rounded in *A. allopterum*).

A. inornatum is here registered for Colombia for the first time, being this also the first record of the genus for the country. The specimens were collected in the northeast of the

Andes in a tropical forest in Boyacá Department. They are deposited in the insect collection of the Instituto de Ciencias Naturales of the National University of Colombia. This species was previously known from Venezuela (Aragua, Miranda, Lara, Táchira, and Trujillo States) and Ecuador (Loja Prov.) (De Marmels and Garrison 2005; Rácenis 1953, 1958).

Given its geographical position and diversity of ecosystems, Colombia has been considered a mega-diverse country. Nevertheless, biodiversity of some insects groups in Colombia has been poorly studied, as is the case with dragonflies and damselflies; Odonata knowledge is poor in Colombia compared with that in other South American countries (Rojas-R and Sánchez 2009). According with Paulson (2004), Colombia has had little progress since the study by Santos (1981). The first checklist to be published for Colombia is underway (Pérez and Palacino submitted) and includes 330 species, representing 90 genera. Considering the new record of *Gomphomacromia fallax* (Corduliidae) (Bota-Sierra *et al.* 2010) and the present record of the *Anisagrion inornatum*, the diversity of Odonata for Colombia is increased to 332 species and 92 genera.

Material studied: 3 ♂ *Anisagrion inornatum* (Selys, 1876): COLOMBIA. Boyacá Department. Santa María. Icacuye. 4°53'42,8"N 73°16'43"W. 843 m.a.s.l. 28-dec-2008. A. Penagos & F. Palacino. Insect Collection of the Instituto de Ciencias Naturales [ICN 043490, 043491, 043494].

The examined specimens differ from the original description in their color pattern as follows (characters from original description translated from the French by Costa and Garrison 2001 in parenthesis): head black dull dorsally (orangish russet); prothorax black with lateral edges green pale (russet); pterothorax black dorsally with green pale antehumeral stripe present (russet, a little darker dorsally); abdomen shiny black dorsally (orangish russet dorsally), olive green ventrally (yellow). According to Garrison *et al.* 2010, these differences in color pattern are due to ontogenetic variability, with immature specimens being mostly orange or yellow.

¹ Biologist. Graduate student M.Sc., Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Carrera 30 no. 45-03 AA. 7495. Bogotá D.C., Colombia. ncrojasr@unal.edu.co

Acknowledgements

To the Systematics and Insect Comparative Biology Lab of the Instituto de Ciencias Naturales for the specimens collected. To Jürg De Marmels and Natalia von Ellenrieder for confirming the determinations of the specimens. To Carlos Sarmiento, Julieta Brambila, and the anonymous reviewers for their comments to the manuscript.

Cited Literature

- BOTA-SIERRA, C.; BAENA-BEJARANO, N.; BERMÚDEZ, C. 2010. Primeros registros de *Gomphomacromia fallax* (Odonata, Corduliidae) en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 36(2): 333-334.
- CALVERT, P. 1901-1908 Odonata. *Biologia Centrali-Americana*. London: R. H. Porter and Dulau and Co., 17-420 p.
- COSTA, J. M.; GARRISON, R. W. 2001. Description of the female of *Leptagrion aculeatum* Santos, 1965 with keys to the known species (Zygoptera: Coenagrionidae). *Odonatologica* 30(4): 381-394.
- DE MARMELS, J.; GARRISON, R. W. 2005. Review of the genus *Leptagrion* in Venezuela with new synonymies and descriptions of a new genus, *Bromeliagrion*, and a new species, *B. rehni* (Zygoptera: Coenagrionidae). *Canadian Entomologist* 137: 257-273.
- GARRISON, R. W.; VON ELLENRIEDER, N.; J. A. LOUTON. 2010. Damselfly genera of the New World. An Illustrated and Annotated Key to the Zygoptera. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. 490 p.
- LEONARD, J. W. 1937. A new *Anisagrion* from Panama, with notes on related species (Odonata: Zygoptera). *Occasional Papers of the Museum of Zoology* No. 354. University of Michigan.
- PAULSON, D. R. 2004. Critical species of Odonata in the Neotropics. *International Journal of Odonatology* 7: 163-188.
- PÉREZ, G, L. A.; PALACINO-RODRÍGUEZ, F. An updated checklist of the Odonata from Colombia. *Odonatologica* [submitted].
- RÁCENIS, J. 1953. Records of Venezuelan Odonata, with a description of a new species. *Opuscula Entomologica*, 18: 180-189.
- RÁCENIS, J. 1958. Los Odonatos neotropicales en la colección de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. *Acta Biológica Venezuelica* 2(19): 179-226.
- ROJAS, N. C.; SÁNCHEZ, M. 2009. New records of *Acanthagrion* (Odonata: Coenagrionidae) from Colombia. *Bulletin of American Odonatology* 11(1): 17-19.
- SANTOS, N. D. 1981. Odonata (p. 64-85). In: Hurlbert, S. H.; Rodriguez, G.; dos Santos, N. D. (eds.) *Aquatic Biota of Tropical South America. Part 1. Arthropoda*. San Diego State Univ. San Diego. United States.
- SELYS-LONGCHAMPS, E. De. 1876. Synopsis des Agrionines, cinquième légion: Agrion (suite). Le genre *Agrion*. *Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 41(2): 247-322, 496-539, 1233-1309, 490-531, 952-990.
- VON ELLENRIEDER, N.; GARRISON, R. W. 2009. Capítulo 4. Odonata. (p. 95-143). En: Domínguez, E.; Fernández, H. R. (eds.) *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

Recibido: 29-mar-2010 • Aceptado: 28-oct-2010