

ISSN-0120-0488

REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

Volumen 34 • Número 1 • Enero - Junio 2008

Tarifa Postal Reducida No. 239 - Vence Dic. 31 / 2008



Publicación oficial de la Sociedad Colombiana de Entomología

Artículo de Revisión

The systematics of the Hemiptera

Sistemática de Hemiptera

DIMITRI FORERO¹

Abstract: The Order Hemiptera comprises four main clades: Sternorrhyncha, Auchenorrhyncha, Coleorrhyncha and Heteroptera. In this article the main phylogenetic hypotheses for Hemiptera and its subgroups are reviewed. Important references regarding catalogs and identification aids are provided for the major groups, making emphasis in recent on-line tools.

Key words: Catalogs. Diversity. Heteroptera. Phylogeny. On-line taxonomic tools. Taxonomy.

Resumen: El Orden Hemiptera comprende cuatro clados: Sternorrhyncha, Auchenorrhyncha, Coleorrhyncha y Heteroptera. En este artículo se revisan las principales hipótesis filogenéticas para Hemiptera y sus subgrupos. También se brindan referencias importantes para la identificación de los grupos principales, haciendo énfasis en herramientas recientes disponibles en la web.

Palabras clave: Catálogos. Diversidad. Filogenia. Heteroptera. Herramientas taxonómicas en línea. Taxonomía.

Introduction

Hemiptera is the fifth largest group of insects after Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, and Lepidoptera (Schuh and Slater 1995; Grimaldi and Engel 2005; Cameron *et al.* 2006), and the most diversified group of non-endopterygote insects (Kristensen 1991), with approximately 82.000 described species (Arnett 2000). Their feeding habits range from phytophagy to predation, including ectoparasitism and hematophagy. Many of them are important pest species to cultivated crops and some are important vectors of human diseases.

This review deals with the phylogenetic systematic hypotheses for Hemiptera. Throughout the text, common phylogenetic terminology is used in cladistics that the non-familiarized reader may find confusing. The reader shall refer to general references for an explanation of those terms and the logic behind it (e.g., Hennig 1966; Kitching *et al.* 1998; Schuh 2000; Albert 2005).

The number of described species within Hemiptera is not exactly known. It is considered to have roughly 82.000 described species (Slater 1982; Hodkinson and Casson 1991; Arnett 2000), a number that must be seen as conservative. For instance, an estimate of the total world fauna using Asian tropical rain forest samples lies between 184.000 and 193.000 species (Hodkinson and Casson 1991). In some diversified groups, as Cicadellidae, the proportion of undescribed tropical taxa may be as high as 90% (Dietrich and Wallner 2002). Of the total described species, merely three families account for most of the diversity: Cicadellidae, with approximately 22.000 species (Auchenorrhyncha) (Metcalf 1962a, 1962b, 1962c, 1962d, 1963a, 1963b, 1963c, 1963d, 1964a, 1965a, 1965b, 1966a, 1966b, 1966c, 1966d, 1967, 1968; Oman *et al.*

1990; McKamey 2001), and Miridae and Reduviidae (Heteroptera), with more than 10.000 and 6.000, respectively (Schuh 1995; Maldonado 1990).

Characters defining Hemiptera

Hemiptera has long been recognized as a monophyletic group (Hennig 1969; Carver *et al.* 1991). It can be recognized by the particular structure of the mouthparts: the mandibles and maxillary laciniae are modified into concentric stylets, the mandibular enclosing the maxillary ones, both forming the food and salivary channels; the multisegmented sheetlike labium is covering the mandibular and maxillary stylets; and the maxillary and labial palpi are always absent (Weber 1930; Hennig 1969, 1981; Cobben 1978; Kristensen 1991).

Paraphyly of Homoptera

There was a long-standing tradition to treat the Homoptera and Heteroptera as separate groups usually having each the rank of order or as suborders within Hemiptera (e.g., Brues *et al.* 1954; Borror and White 1970; Borror *et al.* 1981). The former approach was common in North American entomology, in which Hemiptera included Heteroptera only, thus restricting the concept for Hemiptera (Schuh and Slater 1995).

Morphological evidence, nonetheless, pointed out that Homoptera was probably paraphyletic (e.g., Goodchild 1966; Schlee 1969d; Bourgoin 1986a, 1986b, 1993; Sweet 1996), or at least that evidence of its monophyly was not documented (Schlee 1969d). Some of the alleged characters supporting "Homoptera" mentioned were: enlarged foramen in the head, large sutures defining the mandibular plate, forewing larger than hindwing, reduced tarsomeres, and simple sperm (Bou-

¹ American Museum of Natural History, New York, NY 10024-5192, USA, and Department of Entomology, Comstock Hall, Cornell University, Ithaca, NY 14853-2601, USA. idf2@cornell.edu.

dreux 1979; Hamilton 1981). Nonetheless, some of these characters are not synapomorphies (e.g., forewing–hindwing character), or may be based on reductions, which are difficult to homologize (e.g., number of tarsomeres).

Hennig (1969, 1981) doubted the monophyly of Homoptera, stating that the characters used for distinguish it from Heteroptera were symplesiomorphies. He recognized three groups within Hemiptera: Sternorrhyncha, Auchenorrhyncha, and Heteropteroidea (as “Heteropteroidea”), the latter clade formed by Coleorrhyncha + Heteroptera (Schlee 1969d). The paraphyly of Homoptera was further corroborated with 18S rDNA sequence analyses (Wheeler *et al.* 1993; Campbell *et al.* 1994, 1995; Sorensen *et al.* 1995; von Dohlen and Moran 1995).

Even though evidence is compelling towards a paraphyletic “Homoptera”, and that this has been adequately communicated to a more general audience (e.g., Carver *et al.* 1991; Kristensen 1991; Gullan 2001; Fagua 2005), it is still frequent to see references to “Homoptera” in areas such as Integrated Pest Management (e.g., Pedigo 1996), or in general entomological textbooks (e.g., Arnett 2000), practice that should be avoided.

Phylogenetic hypotheses

1. Paraneoptera

Paraneoptera is the group of Neoptera that includes Thysanoptera, Psocodea (“Phthiraptera” + “Psocoptera” [Lyal 1985; Yoshizawa and Johnson 2006]), and Hemiptera (Kristensen 1991; Wheeler *et al.* 2001). Kristensen (1991) listed for this clade the following putative synapomorphies: maxillary lacinia elongate and slender, detached from stipes; postclypeus enlarged; reduced number of tarsomeres (three or less); cerci absent; at most six Malpighian tubules; abdominal ganglia fused in one mass; gonangulum in the females fused with tergum nine (Scudder 1961); and sperm acrosome without perforatorium (Jamieson *et al.* 1999). Yoshizawa and Saigusa (2001) proposed nine additional synapomorphies from the front wing axillary sclerites for the group.

Some authors have included Zoraptera in Paraneoptera based on morphological characters (Hennig 1969, 1981; Kristensen 1981; Wheeler *et al.* 2001; Beutel and Weide 2005), in which the inclusive group of Psocodea + Thysanoptera + Hemiptera is denominated Acercaria, due to the absence of cerci (Börner 1904). The inclusion of Zoraptera in Paraneoptera, nonetheless, is highly controversial (Hennig 1969, 1981; Yoshizawa 2007), and has not always been followed (e.g., Kristensen 1991; Grimaldi and Engel 2005). The putative synapomorphies of Zoraptera + Acercaria are all reductions (number of Malpighian tubules, number of tarsomeres, and fusion of abdominal ganglia) (Hennig 1969, 1981; Kristensen 1981; but see Hünefeld 2007), and thus, difficult to homologize. Potential synapomorphies have been proposed for Zoraptera + Acercaria based on head capsule characters (Beutel and Weide 2005), and on genital characters both for Zoraptera + Psocoptera, and for Zoraptera + Hemiptera (Hünefeld 2007), but have not been tested in a phylogenetic analysis. Nonetheless, some authors had rejected the inclusion of Zoraptera in Paraneoptera, based on phylogenetic analyses of 18S rDNA sequences, which place Zoraptera closely related to Dictyoptera (Wheeler *et al.* 2001; Yoshizawa and Johnson 2005), and on wing base morphology (Yoshizawa 2007). These evidences support the hypothesis that Zoraptera is not a member of the Paraneoptera.

Relationships among members of Paraneoptera (in the restricted sense of Kristensen 1991) are still unclear. Some phylogenetic hypotheses show a polytomy among Psocodea, Thysanoptera, and Hemiptera (e.g., Kristensen 1991; Beutel and Gorb 2001). In other instances Hemiptera is the sister group of Thysanoptera + Psocodea (e.g., Whiting *et al.* 1997; Gorb and Beutel 2001; Wheeler *et al.* 2001; Willmann 2004), or the sister group of Thysanoptera (e.g., Hennig 1969, 1981; Kristensen 1981; Whiting *et al.* 1997; Wheeler *et al.* 2001; Yoshizawa and Saigusa 2001; Cranston and Gullan 2003). The latter clade, Hemiptera + Thysanoptera, is named Condylgnatha (Börner 1904), and is supported by a few synapomorphies (Kristensen 1981), namely the modification of the mandibles and maxillary laciniae into stylets (Hennig 1969, 1981; Heming 1980), specialized sclerotized rings between antennal flagellomeres (Seeger 1975), and the particular conformation of the axillary sclerites of the forewing (Yoshizawa and Saigusa 2001). The character of the flagellomeres rings should be further evaluated since it was found only in Thysanoptera and in Pentatomidae (Heteroptera) (Seeger 1975).

No phylogenetic hypotheses have been proposed yet for Paraneoptera using molecular characters with a comprehensive taxon sampling. Crespi *et al.* (1996) analyzed 18S rDNA sequences of Thysanoptera with some Hemiptera as outgroups which resulted in a monophyletic Thysanoptera, but in a combined analysis with COI sequences it produced a polytomy of the two suborders of Thysanoptera with Hemiptera. Morris and Mound (2003) in an analysis with an extended Thysanoptera taxon sampling, with some Hemiptera and Psocodea as outgroup species, found a monophyletic Thysanoptera but a paraphyletic Hemiptera with respect to Psocodea. Johnson *et al.* (2004) while studying the relationships of Psocodea using 18S DNA, found moderate support for the Condylgnatha, but again, with an extremely limited taxon sampling for Hemiptera and Thysanoptera.

In those phylogenetic analyses of Hexapoda including paraneopteran representatives, usually the taxon sample is small (e.g., Whiting *et al.* 1997) or some groups are missing completely (e.g., Thysanoptera: Kjer 2004), rendering the conclusions of paraneopteran relationships inadequate. When representatives of all the three major clades are included, the results are either an unresolved polytomy (Kjer *et al.* 2006) or unlikely poly- or paraphyletic groups (e.g., Hemiptera paraphyletic respect to Thysanoptera: Whiting *et al.* 1997; Paraneoptera and Hemiptera polyphyletic: Wheeler *et al.* 2001; Paraneoptera paraphyletic with Psocodea as basal-most Neoptera and Polyneoptera as sister group of Heteropteroidea + Auchenorrhyncha: Whiting 2002; Psocodea paraphyletic respect to Thysanoptera: Kjer *et al.* 2006). The relationships among members of Paraneoptera are an open field of research.

2. Hemiptera

Hemiptera is an ancient lineage with fossils known since the Early Permian (Kukalová-Peck 1991; Shcherbakov and Popov 2002). Hemiptera is a monophyletic group, based on the unique structure of the mouthparts (see above), which consist of a labium enclosing the maxillary and mandibular stylets (Kristensen 1991). Yoshizawa and Saigusa (2001) proposed another potential synapomorphy, the fork of the anterior axillary fold-line of the forewing, a character that is independent from that one of the mouthparts, which reinforces the monophyly of Hemiptera.

As discussed above, Hemiptera was traditionally divided in two groups: “Homoptera” and Heteroptera. Compelling evidence, nonetheless, suggest that Hemiptera is composed of three main clades: Sternorrhyncha, Auchenorrhyncha, and Heteropteroidea, in which Sternorrhyncha is the sister group of Auchenorrhyncha + Heteropteroidea (e.g., Hennig 1969, 1981; Kristensen 1975; Wootton and Betts 1986; Carver *et al.* 1991; Wheeler *et al.* 1993). Of these, only the monophyly of Auchenorrhyncha is still debatable (see below). Zrzavý (1990) termed the clade Auchenorrhyncha + Heteropteroidea as Euhemiptera.

Shcherbakov and Popov (2002) proposed an alternative classification for Hemiptera, mostly following Börner (1904), in which they recognized five suborders and an “ancestral” group, the Archescytinoidea. In their view, the Auchenorrhyncha (as Cicadina) is paraphyletic, and the extant hemipterans that represent the sister group of the Heteropteroidea (as Peloridiina + Cimicina) are the Cicadomorpha. They presented a phylogram depicting relationships among these groups (Shcherbakov and Popov 2002: see their fig. 179), which despite a list of characters supposedly supporting the nodes, can hardly be viewed as a phylogenetic hypothesis. However, Bourgoin and Campbell (2002), based on unpublished molecular data sets (18S rDNA), also argue that Auchenorrhyncha is paraphyletic, and that the sister group of Heteropteroidea is Cicadomorpha, similar to the proposal of Shcherbakov and Popov (2002).

Yang (2004) proposed a scheme of relationships within Hemiptera based on morphological characters that differ from that presented by Wheeler *et al.* (1993), mainly in that Psylloidea is the sister group of Heteropteroidea, Sternorrhyncha and Cicadomorpha are paraphyletic, and in the internal relationships of the Heteroptera infraorders (Leptopodomorpha, Cimicomorpha, and Pentatomomorpha are in a polytomy, Enicocephalomorpha is the sister group of this clade, and the remaining infraorders forms a basal group in an unresolved polytomy). Nonetheless, several flaws in the analysis, such as choosing *a priori* a “functional” outgroup (within Hemiptera) and not stating how the analysis was done, prevent his discussion of relationships being useful.

Sorensen *et al.* (1995) proposed unnecessary new names for clades already named (e.g., in Wheeler *et al.* 1993), in part, because Auchenorrhyncha was found to be paraphyletic respect to Heteroptera, and also because they wanted to recognize what they considered suborders of Hemiptera. They proposed: Clypeorrhyncha (for extant Cicadomorpha), Archaeorrhyncha (for Fulgoromorpha), Peloridiomorpha (for Coleorrhyncha [Peloridiidae]), Neohemiptera (for Fulgoromorpha + Heteropteroidea), and Prosorrhyncha (for Heteropteroidea) (Table 1). Nonetheless, these names may lead to confusion, in particular if Auchenorrhyncha is not paraphyletic (see below for discussion). Even more, the names Cicadomorpha, Fulgoromorpha, and Heteropteroidea, independently of the outcome of the phylogenetic relationships within Hemiptera, convey a clear meaning already used in Hemiptera literature. Bourgoin and Campbell (2002) argue in favor of dropping the names proposed by Sorensen *et al.* (1995). Because the ICZN (1999) do not regulate the application of names above family rank, it depends on the researchers to favor the use of certain names.

Vibrational communication is diverse in Hemiptera, with species producing sound in terrestrial as well as aquatic ecosystems, being substrate communication common (Crocroft and Rodríguez 2005). There may be stridulation, tymbal, and

percussional vibration (Claridge 1985; Hoy and Robert 1996; Gogala 2006; Hoch *et al.* 2006; Soulier-Perkins *et al.* 2007). It has been suggested that a tymbal-like communication is synapomorphic for Auchenorrhyncha + Coleorrhyncha + Heteroptera (Hoch *et al.* 2006).

3. Sternorrhyncha

Sternorrhyncha is a monophyletic group (Schlee 1969c; von Dohlen and Moran 1995), which includes four main groups: Psylloidea, Aleyrodoidea, Aphidoidea, and Coccoidea (e.g., Schlee 1969b; Carver *et al.* 1991; von Dohlen and Moran 1995; Bourgoin and Campbell 2002).

Goodchild (1966) based on the alimentary tract morphology regarded Aphidoidea as the sister group of Coccoidea + (Psylloidea + Aleyrodoidea). Schlee (1969a, 1969b) based on external morphology and male genitalic characters considered two sister groups within Sternorrhyncha: Psylloidea + Aleyrodoidea (Psylliformes), and Aphidoidea + Coccoidea (Aphidiformes). In some analyses Psylloidea is considered the sister group to the rest of Sternorrhyncha (e.g. Campbell *et al.* 1994, 1995). Despite these competing hypotheses, no modern comprehensive phylogenetic analysis is available for the group (but see review of previous phylogenetic hypotheses in Schlee 1969b).

The following subgroups of Sternorrhyncha are presented in alphabetical order because no consensus has been achieved about their phylogenetic relationships.

3a. Aleyrodoidea. The Aleyrodoidea, or whiteflies (Figs. 1A, B, C), includes 1,556 valid species in Aleyrodidae, the only included family, which is subdivided into three subfamilies: Aleurodicinae, Aleyrodinae, and the controversial Udamoselinae (Mound and Halsey 1978; Martin and Mound 2007). Manzari and Quicke (2006) analyzed the phylogenetic relationships of the large and widespread Aleyrodinae, which contains most of the economically important pest species (Byrne and Bellows 1991; Martin and Mould 2007). Their analyses based on pupal case characters (Manzari and Quicke 2006) found that only 45% of the genera with multiple representatives were monophyletic, and that most of the tribes and economically important genera (e.g., *Bemisia* and *Trialeurodes*) are not monophyletic. They did not propose any new taxonomic scheme at the tribal level arguing that the data set used is not enough to provide adequate resolution.

3b. Aphidoidea. Aphidoidea has three families, Phylloxeridae, Adelgidae, and Aphididae, commonly called aphids (Figs. 1D, E), with some 4,500 described species (Remaudière and Remaudière 1997; Blackman and Eastop 2006). Some authors prefer to give them rank of superfamilies (e.g., Shcherbakov and Popov 2002).

Heie (1987) proposed a scheme of relationships for the Phylloxeridae and Aphididae based on morphology of extant and extinct taxa. Von Dohlen and Moran (2000) proposed a phylogenetic scheme for Aphididae using 12S and 16S mtDNA. They found little support and structure at deeper nodes, only recovering recognized tribes but not subfamilies. Martínez-Torres *et al.* (2001), also using a mitochondrial gene, found similar results. Ortiz-Rivas *et al.* (2004) analyzed the relationships of Aphididae based on a single nuclear gene (long wavelength opsin) and the topologies of their analyses were better resolved than in previous analysis. They identified three main clades, with Aphidinae and Lachninae always

monophyletic. The relationships within Aphidinae were examined by von Dohlen *et al.* (2006) with three genes: leucine tRNA, COII mtDNA, and EF1 α .

3c. Coccoidea. The group has about 7300 described species (Miller and Ben-Dov 2006), and the 20 or more families (Figs. 1F, G) are usually divided into two groups: Archaeococcoidea and Neococcoidea (Koteja 1974; Miller and Kosztarab 1979; Gullan and Kosztarab 1997). Gullan and Cook (2007) review the phylogeny and classification of the coccoids in detail.

Miller (1984), Miller and Hodgson (1997), and Foldi (1997) proposed phylogenetic hypothesis based in morphological characters for the group. Nonetheless, their analyses had either a small taxon sampling or poor nodal support that renders the results non-conclusive.

Cook *et al.* (2002) assessed the phylogeny of the Coccoidea using rDNA sequences of the small subunit. They found that the neococcoids are a monophyletic group and that Pseudococcidae is the sister group to the rest of them. Eriococcidae was retrieved as a paraphyletic group in their analyses, corroborating previous views based on morphology (Cox and Williams 1987). The monophyly and relationships of the archaeococcoids are in doubt (Gullan and Cook 2007).

Two out of three of the largest families of Coccoidea have been assessed for phylogenetic relationships. Downie and Gullan (2004) assessed the phylogeny of the Pseudococcidae using DNA sequences of EF1 α , 28S and 18S. They found that the three major clades of the analysis correspond to the subfamilies Pseudococcinae, Phenacoccinae and Rhizoecinae, with Sphaerococcinae as polyphyletic. Recently, Hardy *et al.* (2008) reassessed the relationships of the Pseudococcidae, using an expanded taxon sampling and adding morphological data. They recognized two main clades to which they apply the names Phenacoccinae and Pseudococcinae, including in the former the Rhizoecini.

Morse and Normark (2006) studied the phylogenetic relationships of Diaspididae using EF1 α and 28S rDNA sequences. Most of the traditional groups recognized in classifications were broadly recovered, although none of them was strictly monophyletic. The remaining family, Coccidae, has never been subject of a comprehensive phylogenetic analysis. Qin and Gullan (1995) evaluated the relationships of one of the subfamilies, Ceroplastinae (Coccidae), finding that most of the genera were not monophyletic, and that most of the species should be grouped into the genus *Ceroplastes*.

3d. Psylloidea. Psylloidea (Fig. 1H) has more than 3000 described species (Hodkinson and Casson 1991; Hollis 2004; Burckhardt 2005). The classification of this group of sap-sucking insects has been extremely artificial (Burckhardt and Lauterer 1989). White and Hodkinson (1985) first proposed a phylogenetic scheme of the Psylloidea using mostly nymphal characters. In their phylogenetic analysis they regard Psyllidae as the sister group of all other psyllids. Of the eight families recognized by them, two, Aphalaridae and Spodilyaspididae, were accepted in their classification as paraphyletic following an "evolutionary" approach (White and Hodkinson 1985: 264). Ouvrard (2002) reassessed the relationships of the Psylloidea using morphological characters of the adult thorax and 18S rRNA sequences. His results differ from those of White and Hodkinson (1985), although it is difficult to compare and interpret them because Ouvrard did not present a list of characters, matrix, or list of species used in his analysis.

Nonetheless, he concluded that Aphalaridae and Psyllidae are paraphyletic.

Recently, Ouvrard *et al.* (2008) identified potential morphological synapomorphies for Psylloidea in relation to the wing base structure: absence of subalare, a median notal wing process, and of the anterior arm of the third axillary sclerite; no articulation with the second axillary sclerite; a weakly-sclerotized third axillary sclerite; and presence of a two-horned basalare. Hodkinson (1989) provided a review of the faunal elements present in the Neotropical region.

4. Auchenorrhyncha

Auchenorrhyncha has been traditionally divided in two main groups, Cicadomorpha and Fulgoromorpha (e.g., Hennig 1969, 1981; Carver *et al.* 1991). Nonetheless, it has been extensively debated if Auchenorrhyncha is a monophyletic group or not. Goodchild (1966) based on the morphology and histology of the digestive tract considered Auchenorrhyncha as paraphyletic because he considered two groups: Fulgoromorpha + Heteroptera and Cicadomorpha + Sternorrhyncha, with the Coleorrhyncha in a polytomy with both. Hamilton (1981) regarded Auchenorrhyncha paraphyletic because he considered Fulgoromorpha as sister group to Cicadomorpha + Aphidiformes, although he also considered Homoptera as monophyletic. Wootton and Betts (1986) using characters of wing morphology also doubted the monophyly of Auchenorrhyncha. Bourgoin proposed that Auchenorrhyncha is paraphyletic, based on head morphology (Bourgoin 1986a, 1986b), and on male (Bourgoin and Huang 1990) and female genitalia (Bourgoin 1993), because Fulgoromorpha is apparently more related to Heteropteroidea than to Cicadomorpha. Nonetheless, the particular aristate antennae (e.g., Grimaldi and Engel 2005) and evidence from the fore wing base sclerites (Yoshizawa and Saigusa 2001), suggest that Auchenorrhyncha is in fact monophyletic.

Much of the recent evidence for the paraphyly of Auchenorrhyncha come from molecular sets alone. Campbell *et al.* (1995) using 18S rDNA sequences found a polytomy among Fulgoromorpha, Cicadomorpha, and Heteropteroidea when using the full dataset (their fig. 3). When using a restricted data set (homoplasious sites removed), either Fulgoromorpha or Cicadomorpha become sister groups of Heteropteroidea (Campbell *et al.* 1995, their fig. 4), but when Peloridiidae was removed from this restricted data set, Fulgoromorpha become the sister group of Heteroptera. Sorensen *et al.* (1995) also using 18S rDNA found that Auchenorrhyncha is not monophyletic. Despite their small dataset, they found that Auchenorrhyncha is either paraphyletic or polyphyletic respect to Heteroptera. Bourgoin *et al.* (1997) in an analysis of the Fulgoromorpha found that this group is the sister group to Heteroptera, rendering Auchenorrhyncha paraphyletic. They also found that Cicadomorpha was not monophyletic if Psyllidae was included as part of the outgroup, showing that their analysis is sensitive to taxon sampling. Ouvrard *et al.* (2000) found a polytomy among Fulgoromorpha, Cicadomorpha, and Heteropteroidea, similar to the results of Campbell *et al.* (1995). Urban and Cryan (2007) using an extended data set of four genes and 83 species of Fulgoromorpha found a monophyletic Auchenorrhyncha, which was the sister group of Heteroptera.

4a. Cicadomorpha. Within this group three superfamilies are recognized: Cercopoidea (spittlebugs or froghoppers) (Figs.



Figure 1. Habitus illustrations of different groups of Hemiptera (not at the same scale). **A.** *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Aleyrodidae). **B.** *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Aleyrodidae). **C.** *Aleurodicus dugesii* Cockerell (Aleyrodidae). **D.** *Adelges cooleyi* (Gillette) (Adelgidae). **E.** *Aphis nerii* Fonscolombe (Aphididae). **F.** *Pseudococcus longispinus* (Targioni-Tozzetti) (Pseudococcidae). **G.** *Aspidaspis arctostaphyli* Cockerell & Robbins (Diaspididae). **H.** *Russelliana solanicola* Tuthill (Psyllidae). Peru. Lateral and dorsal views. **I.** *Sphenorhina melanoptera* (Germar) (Cercopidae). Ecuador. **J.** *Prosapia bicincta* (Say) (Cercopidae). Panama. **K.** Cicadidae. Panama. Recently molted adult and exuviae. **L.** *Cladonota* sp. (Membracidae). Panama. **M.** *Heteronotus* sp. (Membracidae). Peru. **N.** *Ferrariana trivittata* (Signoret) (Cicadellidae). Panama. **O.** *Platygonia spatulata* (Signoret) (Cicadellidae). Panama. **P.** *Proconia* sp. (Cicadellidae). Ecuador.

1I, J), Cicadoidea (Fig. 1K), and Membracoidea (leafhoppers and treehoppers) (Figs. 1L, M, N, O, P), with approximately 35.000 described species (Cryan 2005; Dietrich 2005).

The monophyly of Cicadomorpha has never been doubted based on morphological characters; nonetheless, all possible relationships have been proposed among its superfamilies: Membracoidea has been proposed the sister group of Cercopoidea + Cicadoidea (Campbell *et al.* 1995; Ouvrard *et al.* 2000; Bourgoin and Campbell 2002); Cercopoidea as sister group of Membracoidea + Cicadoidea (Evans 1963; Hamilton 1999); and Cicadoidea as sister group of Membracoidea + Cercopoidea (Hamilton 1981; Sorensen *et al.* 1995; von Dohlen and Moran 1995). More recently, Cryan (2005) criticized previous analyses among the superfamilies arguing both poor taxon and data sampling. He proposed a phylogeny of Cicadomorpha based on three nuclear gene sequences. He found that including all data sets is better than analyzing individual gene data sets, and that 18S is a relatively poor molecular marker for recovering the relationships among superfamilies. Although some morphological evidence apparently placed Membracoidea as a derived taxon (e.g., Hamilton 1981), independent character analysis supports Membracoidea as a basal Cicadomorpha group, for instance, Liang and Fletcher (2002) with antennal characters, and Rakitov (2002) with structural characters of brochosomes, proteinaceous particles secreted by glandular regions of the Malpighian tubules of almost all cicadellids.

Membracoidea currently includes the extant families Aetalionidae, Cicadellidae, Melizoderidae, Membracidae, and Myerslopiidae (Hamilton 1999; Dietrich 2005).

Dietrich and Deitz (1993) analyzed the relationships of the Membracoidea using morphological characters, focusing mostly in non-cicadellid taxa (Aetalionidae and Membracidae). In their analysis Cicadellidae is monophyletic and the sister group of (Melizoderidae + (Aetalionidae + Membracidae)). Dietrich and Deitz (1993) listed as synapomorphies for Cicadellidae: the mesonotum exposed posteriorly, the labium not reaching the metathoracic coxae, m-cu1 crossvein present, metatibia with distinct long setae, tarsomere I of hind leg without cucullate setae, sternum IX and subgenital plate not fused, and abdominal tergum with divided acanthae; all of which are homoplastic characters in their analysis.

Hamilton (1999) presented a phylogeny of the extinct and extant families of Membracoidea, and placed Myerslopiidae as the sister group of the remaining families. In Dietrich *et al.* (2001b) analysis Myerslopiidae grouped with Cicadoidea taxa, whereas in Cryan's (2005) Myerslopiidae was recovered as the sister group to all remaining Membracoidea. Hamilton (1999) also considered Ulopidae as a separate group from Cicadellidae, and placed Cicadellidae as sister group of (Ulopidae + (Aetalionidae + Membracidae)), rendering Cicadellidae paraphyletic with respect to Membracidae. This scheme was first supported by Dietrich *et al.* (2001b) based on the analysis of 28S rDNA sequences, where the clade including Ulopinae and Megophthalminae appears as more closely related to Aetalionidae + Membracidae; and posteriorly by Cryan (2005).

Within Membracoidea, the Membracidae has received much attention on its suprageneric classification with recent phylogenetic analysis at the subfamily level using morphological characters (Dietrich and Deitz 1993; Dietrich *et al.* 2001a), molecular ones (Cryan *et al.* 2000), or in combined analysis (Cryan *et al.* 2004). The relationships within

subfamilies, tribes, or genera have also been assessed for a number of taxa (e.g., Aconophorini: Dietrich and Deitz, 1991; Centrotinae: Wallace and Deitz 2004, 2005; Darnini: Roy *et al.* 2007; Membracinae: Lin *et al.* 2004; Microcentrini: Cryan *et al.* 2003; Nicomiinae: Albertson and Dietrich 2005).

The speciose family Cicadellidae, commonly called leafhoppers and sharpshooters (Membracoidea), has more than 22.000 described species worldwide and 5.000 species in the Neotropical region (Freytag and Sharkey 2002), and Cicadellidae has about 36 subfamilies worldwide (Oman *et al.* 1990; Dietrich 2004). Phylogenetic hypotheses based on morphology were first proposed by Ross (1957), then by Hamilton (1983) and Dietrich (1999). Dietrich *et al.* (2001b) was the first attempt to recover the phylogeny of most cicadellid subfamilies and tribes using 28S rDNA sequences, and found that most of them were not monophyletic. Within Cicadellidae some groups had been subject of analyses (e.g., Evacanthinae: Dietrich 2004; Cicadellinae: Takiya *et al.* 2006; Deltocephalinae: Zahniser and Dietrich 2008).

The phylogenetic relationships within Cicadoidea have rarely been addressed at the family level, except in a few instances, with characters used in traditional classifications (e.g., Chou *et al.* 1997). Recently, Moulds (2005) proposed a phylogenetic hypothesis for the Cicadoidea with an extended morphological data set in which he recognized two families, Tettigarctidae and Cicadidae, the latter with three subfamilies. The only higher phylogenetic proposal for Cercopoidea is that of Cryan (2005). He shows that Machaerotidae + Clastopteridae is the sister group of Cercopidae + Aphrophoridae. Cryan's (2005) analysis supports a monophyletic Cercopidae, and although it shows a monophyletic Aphrophoridae, he doubts of its monophyly based on additional unpublished data. Interestingly, the recently described family Epygidae (Hamilton 2001), was found nested within the Aphrophoridae.

4b. Fulgoromorpha. This group, often referred as Fulgoroidea in the literature, and commonly named planthoppers (Figs. 2A, B, C), has more than 9.000 described species, and about 20 families (O'Brien and Wilson 1985).

Several hypotheses of relationships have been proposed for this group based on morphological characters, all of which support a monophyletic Fulgoromorpha (Muir 1923; Asche 1987; Emeljanov 1990; Bourgoin 1993; Chen and Yang 1995). In all but one of these hypotheses the Tettigometridae is considered the sister group to the rest of the fulgoroids, with various levels of resolution and clade composition for the remaining taxa (reviewed by Urban and Cryan 2007). Only Bourgoin (1993) considered the Tettigometridae as a derived taxon using morphological characters.

Bourgoin *et al.* (1997) assessed the relationships of a small sample of fulgoromorph taxa, targeting in particular the position of Tettigometridae. They found that Fulgoromorpha is a monophyletic clade and that the relictual Tettigometridae is not basal as previously thought. Yeh *et al.* (1998) analyzed a restricted set of Fulgoromorpha with partial sequences of 16S rDNA. Yeh *et al.* (2005) expanded their dataset of 16S sequence data and analyzed the fulgoroids with neighbor joining algorithms. They obtained similar results to that of Bourgoin *et al.* (1997) in placing Cixiidae and Delphacidae as the most basal groups, and in having the Tettigometridae in a derived position. Yeh and Yang (1999) using 28S rDNA sequences analyzed the relationships of some fulgoromorphs. They reached similar conclusions to Yeh *et al.* (2005). More recently,

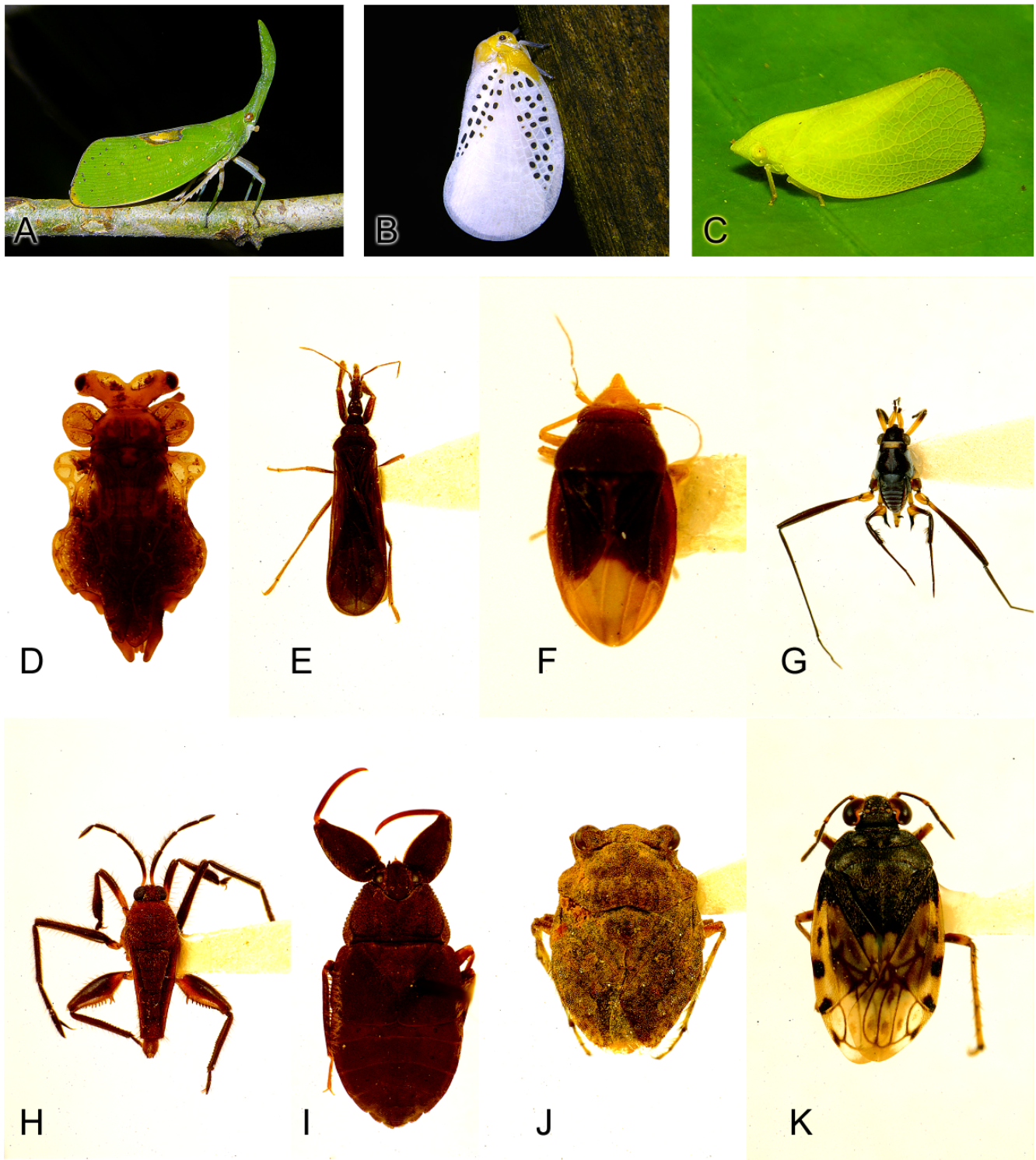


Figure 2. Habitus illustrations of different groups of Hemiptera (not at the same scale). **A.** *Pyrops* sp. (Fulgoridae). Borneo. **B.** Flatidae. Peru. **C.** *Acanalonia* sp. (Acanaloniidae). Panama. **D.** *Peloridora kuscheli* China (Peloridiidae). Chile. **E.** *Systelloderes* sp. (Enicocephalidae). Costa Rica. **F.** *Nannocoris* sp. (Schizopteridae). Ecuador. **G.** *Rheumatobates crassifemur schroederi* Hungerford (Gerridae). Brazil. **H.** *Rhagovelia* sp. (Veliidae). Colombia. **I.** *Cryphocricos latus* Usinger (Naucoridae). Costa Rica. **J.** *Gelastocoris* sp. (Gelastocoridae). Costa Rica. **K.** *Saldula pallipes* (Fab.) (Saldidae). USA.

Urban and Cryan (2007) assessed the phylogenetic relationships of 71 species of Fulgoromorpha and nine outgroup species, with 18S, 28S, Histone 3, and *Wingless* nucleotide sequences. They obtained Cixiidae and Delphacidae as the sister group of the rest. Many of the families were recovered as monophyletic, but some were poly- or paraphyletic, mostly in agreement with previous morphological hypotheses.

5. Heteropterodea

Heteropterodea is the clade containing Coleorrhyncha + Heteroptera (Schlee 1969d; Hennig 1969, 1981; Kristensen 1975). Zrzavý (1992) changed the term coined by Schlee (1969d), Heteropterodea, to Heteropterodea, to avoid confusion with a superfamily rank. Heteropterodea is supported by the following synapomorphies: four antennal segments, body with a flattened dorsal area to receive the wings (Hennig 1969, 1981), anal veins of forewing fused forming a Y-shaped vein (Wootton 1965), last antennal segments larger than proximal ones, abdominal tergites flat with sharp connexivum, abdominal spiracles directed ventrad, anal cone forming a single, exposed element (Schlee 1969d), and wing coupling mechanism of heteropterous type (China 1962). This clade is further supported by a few 18S rDNA characters (Wheeler *et al.* 1993).

6. Coleorrhyncha

Coleorrhyncha is a small group of Hemiptera that comprises 13 extant genera and 25 species in the only extant family Peloridiidae (Fig. 2D) (China 1962; Evans 1981). The distribution is restricted to the Southern Hemisphere and is considered relictual, being found in Eastern Australia, New Caledonia, New Zealand, Chile and Argentina (Patagonia) (Evans 1981; Estévez and de Remes-Lenicov 1989; Burckhardt and Agosti 1991; Burckhardt and Cekalovic 2002). Extant species are associated with *Nothofagus* forests, and little is known about their biology, except that they live on mosses (Hacker 1932; Evans 1981), and are found on lichens, hepatics, and sphagnum bogs (Evans 1981). The South American fauna includes three monotypic genera, *Pantinia*, *Peloridium*, and *Kuscheloides*, as well as *Peloridora* with three species (China 1962; Evans 1981), although some undescribed taxa may still exist (e.g., Burckhardt and Agosti 1991).

Coleorrhyncha was traditionally included as a member of the "Homoptera" (e.g., Myers and China 1929; China 1962; Evans 1963), but it is now considered the sister group of Heteroptera due to compelling morphological and molecular evidence (Schlee 1969d; Hennig 1969, 1981; Wheeler *et al.* 1993; Sweet 1996; Ouvrard *et al.* 2000). Peloridiidae has been considered a monophyletic group because of its particular morphology (e.g., Evans 1963). Surprisingly, Ouvrard *et al.* (2000) found a paraphyletic Peloridiidae in some analysis with 18S rRNA, but recovered it as monophyletic after eliminating all homoplasious sites.

Popov and Shcherbakov (1996) revised the fossil Peloridiidae and proposed a scheme of relationships among the extant members. Despite presenting a "matrix" of characters and a tree, these certainly do not represent a cladistic analysis of relationships (see also Schuh 1997).

7. Heteroptera

Heteroptera is defined by the following putative synapomorphies: presence of gula, presence of metathoracic scent apparatus, abdominal dorsal scent glands (functional in

nymphs), and strong reduction of the tentorium (Carayon 1971; Cobben 1978; Hennig 1969, 1981; Kristensen 1975). Although metathoracic scent glands are not easy to observe in Enicocephalomorpha, there is evidence for its presence (Carayon 1962, 1971; Cobben 1978). The presence of a frenum, which helps to attach the posterior claval margin of the forewing to the lateral margin of the scutellum, is also a potential synapomorphy for Heteroptera (Štys 1998). An open rhabdom structure in the ommatidia of Heteroptera is considered a synapomorphy for Heteroptera, in contrast to the fused rhabdoms in Auchenorrhyncha and Coleorrhyncha (Fischer *et al.* 2000). The absence of the tegula in the forewing is another potential synapomorphy for Heteroptera (Yoshizawa and Saigusa 2001).

Latreille (1810) was the first to recognize Heteroptera as it is conceived nowadays. Dufour (1833) first recognized major groups within Heteroptera. He based his scheme on the habitat occupied by the bugs: Geocorises (terrestrial bugs), Hydrocorises (water bugs), and Amphibicorises (superficial water bugs). Dufour's (1833) classification remained in use until the mid-20th century (e.g., China and Miller 1959). Reuter (1910) proposed a phylogenetic scheme for Heteroptera based on external morphological characters. Štys and Kerzhner (1975) and Schuh (1986) provided a review of the historical proposals of classification among Heteroptera groups that were not based on cladistic methodology.

Leston *et al.* (1954) recognized monophyletic groups within the terrestrial Heteroptera (= Geocorises) of Dufour (1833), proposing and listing the characters defining Cimicomorpha and Pentatomomorpha. They typified these suprageneric names based on genera. Štys and Kerzhner (1975) recognized seven infraorders within Heteroptera, and standardized their names. They followed Leston *et al.* (1954) in applying the -morpha suffix to their infraordinal names.

Schuh (1979) first proposed a phylogenetic scheme for the infraorders of Heteroptera reanalyzing the data of adults and nymphs presented by Cobben (1978). Schuh (1979) considered Enicocephalomorpha as the sister group of the remaining Heteroptera, with Leptopodomorpha + Nepomorpha as the sister group of Cimicomorpha + Pentatomomorpha. Zrzavý (1992) regarded Enicocephalomorpha the sister group of Dipsocoromorpha + Gerromorpha, together forming a basal heteropteran clade, but presented the relationships among Nepomorpha, Leptopodomorpha, and Cimicomorpha + Pentatomomorpha as unresolved. Wheeler *et al.* (1993) used 18S rDNA sequences and morphological characters to resolve the relationships of the Heteroptera infraorders. Their results mostly agree with Schuh's (1979) scheme. They only disagree in the position of Leptopodomorpha, which they consider the sister group of Cimicomorpha + Pentatomomorpha.

Cimicomorpha and Pentatomomorpha are considered sister groups (Schuh 1979; Wheeler *et al.* 1993). Beside the characters mentioned by Schuh (1979) and Wheeler *et al.* (1993), they also share a V-pattern in the rhabdomeres of the ommatidia, further supporting their relationship (Fischer *et al.* 2000).

Schuh (1986) summarized the phylogenetic hypotheses available at that time for all Heteroptera infraorders. The following sections update the information provided by him.

7a. Enicocephalomorpha. This relatively small group of true bugs contains approximately 450 described species (Schuh and Slater 1995). Enicocephalomorpha contains two families: Aenictopecheidae and Enicocephalidae (Štys 1989). This



Figure 3. Habitus illustrations of different groups of Hemiptera (not at the same scale). **A.** *Diactor* sp. (Coreidae). Panama. **B.** *Dinidor* sp. (Dinidoridae). Ecuador. **C.** *Edessa rufomarginata* (DeGeer) (Pentatomidae). Panama. **D.** *Lygaeus* sp. (Lygaeidae). Peru. **E.** *Harpactor* sp. (Reduviidae). Peru. **F.** *Zelurus* sp. (Reduviidae). Peru. **G.** *Agriocoris flavipes* (Fab.) (Reduviidae). Ecuador. **H.** *Zanchius* sp. (Miridae). Nepal. **I.** *Zanchius* sp. (Miridae). Nepal. **J.** *Pseudoloxops* sp. (Miridae). Nepal.

monophyletic clade was at one point considered part of the Reduviidae (Cimicomorpha) (e.g., Usinger 1943), but is now considered the sister group of the remaining Heteroptera (e.g., Schuh 1979; Wheeler *et al.* 1993).

Wygodzinsky and Schmidt (1991) provided a preliminary phylogenetic scheme of the New World taxa. They placed Aenictopecheidae (as subfamily) as sister group to the remaining taxa. No comprehensive cladistic phylogenetic analysis has been carried out on this group of Heteroptera.

7b. Dipsocoromorpha. Five families (Fig. 2F) are included in the most recent classification of the infraorder (e.g., Schuh and Slater 1995). Štys (1985) termed Euheteroptera the clade containing Dipsocoromorpha + (Gerromorpha + (Nepomorpha + (Leptopodomorpha + (Cimicomorpha + Pentatomomorpha))). The monophyly of this infraorder was proposed by Štys (1983) based on the structure of the male genitalia and legs. Nonetheless, these characters are homoplastic within the infraorder (see Wheeler *et al.* 1993). Despite abundant morphological documentation (e.g., McAtee and Malloch

1925; Hill 1987; Rédei 2007; Štys 1970; Wygodzinsky 1950), no modern phylogenetic analysis is available for this rarely collected group of true bugs.

7c. Gerromorpha. There are approximately 1900 described species in this group (Figs. 2G, H) (Andersen and Weir 2004b). Species of this infraorder inhabits the surface of marine or freshwater systems, belonging to this clade the only true marine insect, the genus *Halobates* (Andersen and Weir 1994, 1999). The single most important reference for the Gerromorpha, or semiaquatic bugs, is that of Andersen (1982), in which he reviewed the biology, the morphology, and phylogeny of the group. An update for the phylogenetic hypotheses of the infraorder was provided by Spence and Andersen (1994), as well as a review of their ecology and behavior. Štys (1985) termed Neoheteroptera the clade containing Gerromorpha + (Nepomorpha + (Leptopodomorpha + (Cimicomorpha + Pentatomomorpha))).

Beside the characters listed as synapomorphic for Gerromorpha (Andersen 1982; Wheeler *et al.* 1993; Schuh

Table 1. Equivalences of terms for the higher categories of Hemiptera. Synonyms in parentheses are terms created by Sorensen *et al.* (1995). See text for details.

Major groups	Subordinate groups
Sternorrhyncha	Aleyrodoidea Aphidoidea Coccoidea Psylloidea
Auchenorrhyncha	Cicadomorpha (= Clypeorrhyncha) Fulgoromorpha (= Archaeorrhyncha)
Heteropteroidea (= Prosorrhyncha)	
Coleorrhyncha (= Peloridiomorpha)	Peloridiidae
Heteroptera	Enicocephalomorpha Dipsocoromorpha Leptopodomorpha Gerromorpha Nepomorpha Cimicomorpha Pentatomomorpha

and Slater 1995), it can be added that the eyes dorsally have the ommatidia with a rhabdom pattern of R7 and R8 in tandem (Fischer *et al.* 2000). Andersen (1998) reviewed fossil species of Gerromorpha, and mapped them on his previous phylogeny of the group (Andersen 1982), in which he placed the extinct subfamily Electrobatinae (Gerridae).

Muraji and Tachikawa (2000) analyzed the relationships among the families of Gerroidea (Gerridae, Hermatobatidae, and Veliidae), including 30 species of the superfamily and two other species of Gerromorpha as outgroups, using 16S rDNA and 28S rDNA. Sequence data were analyzed with parsimony and neighbor-joining algorithms. They recovered a monophyletic Gerroidea, and some other clades within the superfamily already supported by morphological characters.

Andersen and Weir (2004b) reanalyzed the relationships of Gerromorpha using 56 morphological characters with a numerical cladistic approach. The topology presented is mostly similar to that of Andersen (1982), except that the relationships of the Veliidae subfamilies Rhagoveliinae, Perittopinae, and Veliinae are unresolved, as well as most of the subfamilies of Gerridae. They also presented arguments for the monophyly of Veliidae and discussed the inclusion of *Ocellovelia* in this family.

Damgaard *et al.* (2005) reanalyzed the relationships of Gerromorpha using the same two gene regions of Muraji and Tachikawa (2000), but with an expanded taxon sampling, and adding morphological characters from Andersen (1982). They assessed the effects of alignment and taxon sampling in their analysis, showing that there is little node stability with different parameters. They recovered as monophyletic the superfamily Gerroidea, and Gerridae, but Veliidae as paraphyletic. They also found support for the Halobatinae (Gerridae) which had ambiguous morphological support, and that *Ocellovelia* was placed as sister group of "Veliidae" + Gerridae only with molecular characters. Recent systematic work has focused on the relationships within families (e.g., Andersen 1999), subfamilies (e.g., Andersen 1995, 2000), and genera, in parti-

cular within Gerridae (e.g., Damgaard *et al.* 2000a, 2000b; Damgaard and Sperling 2001; Damgaard and Cognato 2005).

7d. Nepomorpha. This infraorder contains about 2000 species in eleven families (Figs. 2I, J) (Štys and Jansson 1988; Hebsgaard *et al.* 2004). The group corresponds to the Hydrocorisae of Dufour (1833). Štys (1985) termed Panheteroptera the clade containing Nepomorpha + (Leptopodomorpha + (Cimicomorpha + Pentatomomorpha)).

Wheeler *et al.* (1993) presented molecular evidence for a monophyletic Nepomorpha, rejecting a basal position within Heteroptera as argued by some authors (e.g., Reuter 1910; Mahner 1993). The relationships within the clade, nonetheless, were unresolved probably due to the limited taxon sampling. Mahner (1993) provided a phylogenetic analysis for Nepomorpha and all the subordinate groups. His scheme is similar to that of Rieger (1976) in the placement of Nepoidea [i.e., (Nepidae + Belostomatidae), see Schuh and Slater 1995: 110] as sister group to the remaining Nepomorpha, and in having as the most derived clade the Notonectoidea [i.e., (Notonectidae + (Helotrephidae + Pleidae))]. Mahner's (1993) scheme differs from Rieger's (1976) in the position of Corixidae, which is considered the sister group of (Ochteroidea + (Naucoroidea + Notonectoidea)); whereas in Rieger's scheme the position of the Ochteroidea and Corixidae are inverted [i.e., (Ochteroidea + (Corixidae + ("Naucoroidea" + Notonectoidea)))]. In addition, Rieger (1976) data suggest a paraphyletic Naucoroidea, whereas Mahner (1993) treat this superfamily as monophyletic, but without placing the Potamocoridae in his analysis.

Hebsgaard *et al.* (2004) proposed a phylogenetic hypothesis for the Nepomorpha using both molecular (16S and 28S rDNA) and morphological characters. They found support for the monophyly of all Nepomorpha families, and superfamilies except Naucoroidea (i.e., Naucoridae, Aphelocheiridae, and Potamocoridae). Their analysis place Nepoidea as the most basal group, and Corixidae as sister group remaining Nepomorpha, similar to the proposal of Mahner (1993).

7e. Leptopodomorpha. This infraorder contains four families (Fig. 2K) and about 300 described species, nearly all of them in Saldidae (Schuh *et al.* 1987). Schuh and Slater (1995) listed the synapomorphies for the infraorder. An additional synapomorphy for Leptopodomorpha is the shape of the rhabdom resembling a “5” pattern on a dice (Fischer *et al.* 2000).

Schuh (1986) reviewed the phylogenetic proposals and classification scheme for the infraorder. In the cladistic analysis of Schuh and Polhemus (1980) the relationship of the higher groups is ((Saldidae + Aepophilidae) + (Omaniidae + Leptopodidae)). Polhemus (1985) presented a cladistic analysis of the Leptopodomorpha, based on his PhD dissertation data, in which the relationships of the higher groups are (Leptopodidae + (Omaniidae + (Saldidae + Aepophilidae))), differing from that of Schuh and Polhemus (1980) in the position of the Omaniidae. Polhemus (1985) presented in addition phylogenetic hypotheses for the subfamilies and tribes of Saldidae, for the genera of Saldini, and for the genera of the large Saldoidini. No more recent hypotheses with additional morphological or molecular characters has been proposed.

7f. Pentatomomorpha. This infraorder contains about 15,000 described species (Figs. 3A, B, C, D) (Henry 1997, Schuh and Slater 1995). Leston *et al.* (1954) first recognized Pentatomomorpha as a monophyletic group. It included those groups with abdominal trichobothria, the Trichophora of Tullgren (1918), plus Aradoidea (Aradidae + Termitaphididae). Although Sweet (1996) has given infraordinal status to Aradoidea, ranking it differently does not modify its placement as the sister group of the remaining Pentatomomorpha, as argued by Henry (1997). Sweet (2006) has even further suggested that the position of the Aradoidea may lay outside the Leptopodomorpha, Cimicomorpha, and Pentatomomorpha, which clearly contradicts the available morphological and molecular evidence (e.g., Wheeler *et al.* 1993; Grazia *et al.* in press).

Henry (1997) assessed the relationships of the infraorder in a morphological cladistic analysis. He included 53 taxa, using families, subfamilies, and tribes—in particular of the Lygaeoidea (*sensu* Schuh and Slater 1995)—as terminals using a *ground plan* approach. He chose Aradoidea as the outgroup for his analyses. He also included the Pentatomoidea as a single terminal taxon in the analysis providing evidence for its monophyly, but showing the difficult position of Thaumastellidae, usually included in this group. Henry’s main interest was to elucidate the relationships among the Lygaeoidea and to test the monophyly of this group, while looking for a sister group relationship for the Berytidae. In his analyses Pentatomoidea is the sister group of the remaining Pentatomomorpha, i.e., ((Coreoidea + Pyrrhocoroidea) + (Idiostoloidea + Lygaeoidea *sensu stricto*)). He found that Lygaeoidea is paraphyletic with respect to the Berytidae, Colobathristidae, and Piesmatidae, which were nested within Lygaeidae *sensu lato* (e.g., Schuh and Slater 1995). Henry raised several of the previous subfamilies and tribes of the Lygaeidae (*sensu lato*) to family status proposing a new classification for Pentatomomorpha reflecting the phylogenetic pattern found.

Li *et al.* (2005) analyzed the relationships of Pentatomomorpha groups using partial 18S and COI gene sequences. About half of the terminal taxa used in their analysis had sequences from GenBank produced by Wheeler and Schuh. They used parsimony, maximum likelihood, and distance methods to analyze the data. Sequence data were aligned using

the default parameters of Clustal and “by eye”, and variable regions excluded from the analyses. As results, they found support for a monophyletic Pentatomomorpha and Trichophora in all analyses. Other groups, nonetheless, are in disagreement with previous morphological hypotheses. In the combined parsimony analysis, Lygaeoidea (*sensu* Henry 1997) is paraphyletic with respect to Berytidae and Piesmatidae, the latter two nested within a paraphyletic Pyrrhocoroidea. Having a paraphyletic Lygaeoidea may not be surprising because of the limited taxon sampling within the superfamily, in which only four out of 15 groups (as in Henry 1997) were included. The Coreoidea was found paraphyletic in this combined parsimony analysis. Pentatomoidea was as well paraphyletic because one of the species of Pentatomidae was the sister group of the remaining Pentatomomorpha species less the Aradoidea. In the maximum likelihood combined analysis, the Pentatomoidea was monophyletic. All of the other groups, nonetheless, in this analysis were recovered again as poly- or paraphyletic, with a more scrambled topology compared to that of the parsimony analysis. Despite these surprising findings, Li *et al.* (2005) failed to adequately discuss their results in light of previous morphological hypotheses (e.g., Henry 1997).

More recently, Grazia *et al.* (in press) analyzed the relationships within Pentatomoidea. They employed 135 terminals, using 57 morphological characters, and sequence data from 18S rDNA, 16S rDNA, 28S rDNA, and COI gene regions. They found that Urostylidae *sensu lato* is not monophyletic, and that Urostylidae *sensu stricto* is the sister group of the remaining Pentatomoidea, whereas Saileriolinae should be elevated to family status and placed as the sister group of the remaining Pentatomoidea less Urostylidae *sensu stricto*. Cydnidae is monophyletic only in the morphological analysis, but in the molecular and combined ones it is paraphyletic, in particular because of Corimelaenidae and Thaumastellidae. Parastrachiinae, formerly considered a family different from the Cydnidae (e.g., Sweet and Schaefer 2002), forms a monophyletic group with Corimelaenidae. Pentatomidae is a strongly supported monophyletic group, and based on morphology it also includes Aphyliinae and Cryptocorinae, sometimes treated as families distinct from Pentatomidae (e.g., Schuh and Slater 1995; Packauskas and Schaefer 1998). The expanded scutellum that occurs in many pentatomoid groups is probably a convergent feature as suggested by their analyses. Clearly, as the authors point out, a broader taxon sampling of Pentatomoidea, and additional and more complete data sets will help clarify the status of several equivocal taxa, in particular of the Cydnidae.

7g. Cimicomorpha. After Leston *et al.* (1954) proposed the infraorder, only a few phylogenetic schemes were presented for the groups included. Schuh (1986) reviewed and discussed the schemes of relationships within Cimicomorpha proposed by Kerzhner (1981) and Schuh (1979). He also presented the cladogram of an unpublished analysis of Cimicoidea relationships (see Schuh 1986: 79). Schuh’s (1979) analysis differs mainly from that of Kerzhner (1981) in the placement of the Reduvioidae, which Schuh considered to be the sister group to the remaining Cimicomorpha, contrary to Kerzhner’s assertion of being a derived clade.

Schuh and Štys (1991) analyzed for the first time the relationships within Cimicomorpha using cladistic methods. They provided a historical review of the terminal taxa used and arguments for the monophyly of each. Schuh and Štys

(1991) used in their analysis a *ground plan* approach for certain characters, and families as terminal taxa instead of species. Their analysis shows that Reduvidae (i.e., Reduviidae + Pachynomidae) is the sister group to the remaining Cimicomorpha, agreeing with the hypothesis of Schuh (1979), and that Velocipedidae is the sister group of ((Microphysidae + (Joppeicidae + Miroidea)) + (Naboidea + Cimicoidea)).

Schuh *et al.* (in press) reanalyzed the relationships of Cimicomorpha with new characters. The taxon sampling comprised 92 taxa and eight outgroups, using species instead of composite taxa (vs. Schuh and Štys 1991). They prepared a morphological matrix of 73 characters coded for all taxa, and sequence data from 16S rDNA, 18S rDNA, 28S rDNA, and COI, coded for 83 taxa. They also included morphological and sequence data for the recently described family Curaliidae from the Eastern United States (Schuh *et al.* 2008). Their results support a monophyletic Geocorinae (i.e., Pentatomomorpha + Cimicomorpha), but not a monophyletic Cimicomorpha (including Thaumastocoridae) in all analyses. The Thaumastocoridae was found to be polyphyletic when added the molecular data, with the Thaumastocorinae placed as the sister group of Pentatomomorpha, and the Xylastodorinae nested within Cimicomorpha, although their placements are ambiguous. They found that Reduviidae is monophyletic and nested within Cimicomorpha. Schuh *et al.* (in press) modified the concept of Cimiciformes to include Joppeicidae, Microphysidae, Velocipedidae, and Curaliidae, the first two thus removed from Miriformes of Schuh and Štys (1991). The monophyly of Cimiciformes is supported with several morphological and molecular data. The new circumscription of the Miriformes includes Miridae and Tingidae only (=Miroidea), because the monophyly of Thaumastocoridae was found to be ambiguous (see also Schuh *et al.* 2006).

The two largest groups within Cimicomorpha, Miridae and Reduviidae have been subject of cladistic analyses. Schuh (1974, 1976) proposed different phylogenetic hypotheses of relationship for the Miridae, which were discussed by Schuh (1986). Schuh *et al.* (in press) found a monophyletic Miridae, but with the suprageneric relationships in little agreement with previous morphological hypotheses. Extensive taxon sampling, and additional morphological and molecular characters, may help resolve these incongruences. No other recent attempt of elucidating the higher relationships of the Miridae has been carried out.

Recently, Weirauch (2008) for the first time presented a comprehensive morphological cladistic analysis of Reduviidae using 162 characters and 75 ingroup taxa. She found that Reduviidae is monophyletic, and that Pachynomidae is its sister group, confirming previous views (Schuh 1979; Schuh and Štys 1991). She also found that Hammacerinae is the sister group of the remaining Reduviidae; and the monophyly of the Phymatinae complex, which occupies a basal position, and comprises Centrocneminae, Elasmodeminae, Holoptilinae, and Phymatinae, with Phimophorinae probably included in this clade (not included in her analysis). Other findings show that the Harpactorinae exhibit a relatively basal position; that the Ectrichodiinae + Tribelocephalinae forms a monophyletic group; that Salyavatinae is paraphyletic with respect to Sphaeridopinae and together they form a monophyletic group; the Reduviinae is clearly paraphyletic, and the Triatominae is monophyletic, with some of these “Reduviinae” as sister groups. Future phylogenetic work including molecular markers may test some of the hypotheses presented by Weirauch.

Economic importance

Most of the groups of Hemiptera are phytophagous. Vast literature exists for groups containing pest species (e.g., aphids, coccoids, psyllids), not restricted to management but also treating their complex life cycles. A review of this literature is beyond of the scope of the paper and thus the reader shall refer to particular references or to some of the general references indicated below.

Many species of Fulgoromorpha and Cicadomorpha are considered pests of cultivated crops. Dietrich (2005) and Wilson (2005) provide keys to economically important groups and provide useful literature.

Schaefer and Panizzi (2000) reviewed the economic importance, both of beneficial and pest species, of several groups of Heteroptera. Most of the economically important groups fall in the group of phytophagous species attacking cultivated crops, although one, Triatominae (Reduviidae), has species that are important vectors of Chagas' disease (Lent and Wygodzinsky 1979).

Catalogs and identification aids

Far from being complete, this section provides basic references for catalogs and or identification aids, in particular for the Neotropical Region. One general book of entomology, “Insects of Australia” (CSIRO 1991), has useful identification keys that cover South American taxa.

Identification aids

Hodgson (1994) provided a review of the genera of the Coccidae of the world with illustrations of key characters. Williams and Granara de Willink (1992) provided a synopsis for the Pseudococcidae of Central and South America.

Wilson (2005) provided keys to the economic important species of Fulgoromorpha of the Southeastern United States, with important references on the taxonomy and biology on the group as a whole. Deitz and Dietrich (1993) provided a key to the families of Membracoidea. Deitz (1975) provided keys to the subfamilies of Membracidae. Dietrich (2005) provided an illustrated key to the Cicadomorpha families, and to the subfamilies and tribes of Cicadellidae (except tribes of Deltocephalinae).

Schuh and Slater (1995) is an indispensable source of information for the classification, biology, and faunistics of Heteroptera in general, with keys to subfamilies or tribes of all groups. Comprehensive regional treatments for water bugs have been published for some tropical areas (e.g., Andersen and Weir 2004a). In the Neotropical region, nonetheless, scattered publications provide help to identify regional faunas (e.g., Nieser 1975; Pereira *et al.* 2007). In most cases original literature must be consulted for identification purposes.

Printed catalogs and lists

Ben-Dov (1993) provided a catalog of Coccidae, Ben-Dov (1994) of Pseudococcidae and Putonidae, Miller and Gimpel (2000) of Eriococcidae, Ben-Dov and German (2003) of Diaspididae, Ben-Dov (2005) of Margarodidae, Miller *et al.* (2005) and Ben-Dov (2006) for several other Coccoidea families. Kondo (2001) provided a list of the Coccoidea of Colombia.

Funkhouser (1927) catalog of the Membracidae, Aetalionidae, and Melizoderidae, was complemented with the additions of Metcalf and Wade (1963, 1965a, 1965b), and McKamey (1998). Metcalf's catalog for the Homoptera (Fulgoromorpha, Cicadoidea, and Membracoidea) is the starting point for much of the literature in Auchenorrhyncha (Metcalf 1932, 1936, 1943, 1945, 1946, 1947a, 1947b, 1954a-c, 1955a, 1955b, 1956, 1957, 1958, 1960a, 1960b, 1961, 1962a-f, 1963a-g, 1964a, 1964b, 1965a, 1965b, 1966a-d, 1967, 1968). Duffels and van der Laan (1985) and Oman *et al.* (1990) updated to the catalogs of Cicadoidea and Cicadellidae, respectively. A checklist with illustrations of the types of Cercopidae species of the New World was published by Carvalho and Webb (2005). Freytag and Sharkey (2002) provided a preliminary list of Cicadellidae from Colombia.

Stonedahl and Dolling (1991) provided a list of catalogs, monographs, and other literature relevant to identification purposes of different groups of Heteroptera. References not included in Stonedahl and Dolling (1991) include: Andersen (1995), for a checklist of the Gerrinae of the World; an update of the catalog of the Miridae (Schuh 1995); the update of the lygaeoid catalog (Slater and O'Donnell 1995); the Heteroptera catalog of Australia (Cassis and Gross 1995, 2002); the multivolume catalog of the Heteroptera of the Palearctic Region (Aukema and Rieger 1995, 1996, 1999, 2001, 2006); and the annotated checklist of the Heteroptera of Panama (Froeschner 1999).

Online catalogs and keys

Although printed catalogs are an indispensable source of information, the information contained is rapidly outdated, and they are more useful if available in digital format, for instance, in mapping taxa distribution in real-time from relational databases, or in showing the most current classification for a group. Furthermore, catalogs can link species and higher taxa to their respective digital publications if available (e.g., Schuh 2006). Many catalogs are already available, for instance, Coccoidea (Sternorrhyncha) (Miller and Ben-Dov 2006); Fulgoromorpha (Bourgoin 2007), Cercopoidea (Soulier-Perkins 2007), (Auchenorrhyncha), and Miridae (Heteroptera) (Schuh 2006). In addition, some regional checklists may provide further assistance in the identification of specimens, for instance, of Neotropical Cicadellidae (Freytag and Gaiani 2002), and the Cicadellinae of Colombia (Vargas-Rojas *et al.* 2006).

In addition, digital keys are now available via the Internet, which can display not only text information, but also color images. Another advantage of some of these keys is that they can be interactive and character based, unlike dichotomous, traditional keys. Identification keys are available for several groups of Hemiptera. For instance, families of Coccoidea (Miller *et al.* 2004); tribes of Cicadellidae (Dmitriev 2006), the genera of Erythroneurini (Dmitriev and Dietrich 2006) and Proconiini (Takiya and Dmitriev 2007); the Deltocephalinae related tribes (Zahniser 2007); families of Heteroptera of Australia (Cassis *et al.* 2002); and the genera of Pentatomidae (Cassis *et al.* 2003) and Tingidae of Australia (Cassis and Bulbert 2004).

Acknowledgments

I am thankful to Randall T. Schuh (American Museum of Natural History, USA) and Daniela M. Takiya (Universidade Fe-

deral do Paraná, Brazil) for the suggestions that greatly improved the manuscript.

Arthur Anker (STRI, Panama) kindly let me use many of his photographs (Figs. 1I-P, 2A-C, 3A-G) to illustrate this paper. Images of figures 1A-H from figure 1 were obtained from www.insectimages.org, under a Creative Commons License. Tomohide Yasunaga (Research Associate, AMNH; Nagasaki, Japan), let me use his Nepalese Orthotylinae photographs (Fig. 3H-J). The remaining photographs (Fig. 2D-K) were taken with a Microptics-USA photographic system equipped with an Infinity Photo-Optical K-2 three-lens system and a Nikon D1X digital camera, from specimens deposited at the American Museum of Natural History. Gervásio Silva Carvalho (Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul) kindly identified the Cercopidae photos.

Cited Literature

- ALBERT, V. A. 2005. Parsimony, phylogeny, and genomics. Oxford University Press, New York, USA. 229 p.
- ALBERTSON, J. L.; DIETRICH, C. H. 2005. Systematics and phylogeny of the treehopper subfamily Nicomiinae (Hemiptera: Membracidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 22 (1): 231-283.
- ANDERSEN, N. M. 1982. The semiaquatic bugs (Hemiptera, Gerromorpha). Phylogeny, adaptations, biogeography, and classification. *Entomograph* 3: 1-455.
- ANDERSEN, N. M. 1995. Cladistics, historical biogeography, and a check list of Gerrinae water striders (Hemiptera, Gerridae) of the World. *Steenstrupia* 21: 93-123.
- ANDERSEN, N. M. 1998. Water striders from the Paleogene of Denmark with a review of the fossil record and evolution of semiaquatic bugs (Hemiptera: Gerromorpha). *Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab, Biologiske Skrifter* 50: 1-152.
- ANDERSEN, N. M. 1999. *Cryptovelia stysi* sp. n. from Borneo with a reanalysis of the phylogeny of the Mesoveliidae (Heteroptera: Gerromorpha). *Acta Societatis Zoológicae Bohemicae* 63 :5-18.
- ANDERSEN, N. M. 2000. A new species of *Tetraripis* from Thailand, with a critical assessment of the generic classification of the subfamily Rhagoveliinae (Hemiptera, Veliidae). *Tijdschrift voor Entomologie* 142: 185-194.
- ANDERSEN, N. M.; WEIR, T. A. 1994. The sea skaters, genus *Halobates* Eschscholtz (Hemiptera: Gerridae), of Australia: taxonomy, phylogeny and zoogeography. *Invertebrate Taxonomy* 8: 861-909.
- ANDERSEN, N. M.; WEIR, T. A. 1999. The marine Haloveliinae (Hemiptera: Veliidae) of Australia, New Caledonia and southern New Guinea. *Invertebrate Taxonomy* 13: 309-350.
- ANDERSEN, N. M.; WEIR, T. A. 2004a. Australian water bugs (Hemiptera-Heteroptera, Gerromorpha and Nepomorpha). Their Biology and Identification. *Entomograph* 14: 1-344.
- ANDERSEN, N. M.; WEIR, T. A. 2004b. Mesoveliidae, Hebridae, and Hydrometridae of Australia (Hemiptera: Heteroptera: Gerromorpha), with a reanalysis of the phylogeny of semiaquatic bugs. *Invertebrate Systematics* 18: 467-522.
- ARNETT, R. H. 2000. American insects: a handbook of the insects of America north of Mexico. CRC Press, Boca Raton, USA. 1.003 p.
- ASCHE, M. 1987. Preliminary thoughts on the phylogeny of Fulgoromorpha (Homoptera Auchenorrhyncha). p. 47-53. In: *Proceedings of the 6th Auchenorrhyncha Meeting*, Turin, Italy.
- AUKEMA, B.; RIEGER, C. 1995. Catalogue of the Heteroptera of the Palearctic Region. Vol. 1. Enicocephalomorpha, Dispsocoromorpha, Nepomorpha, Gerromorpha and Leptopodomorpha. The Netherlands Entomological Society, Amsterdam, the Netherlands. 222 p.

- AUKEMA, B.; RIEGER, C. 1996. Catalogue of the Heteroptera of the Palearctic Region. Vol. 2. Cimicomorpha I. The Netherlands Entomological Society, Amsterdam, the Netherlands. 361 p.
- AUKEMA, B.; RIEGER, C. 1999. Catalogue of the Heteroptera of the Palearctic Region. Vol. 3. Cimicomorpha II. The Netherlands Entomological Society, Amsterdam, the Netherlands. 576 p.
- AUKEMA, B.; RIEGER, C. 2001. Catalogue of the Heteroptera of the Palearctic Region. Vol. 4. Pentatomomorpha I. The Netherlands Entomological Society, Amsterdam, the Netherlands. 346 p.
- AUKEMA, B.; RIEGER, C. 2006. Catalogue of the Heteroptera of the Palearctic Region. Vol. 5. Pentatomomorpha II. The Netherlands Entomological Society, Amsterdam, the Netherlands. 550 p.
- BEN-DOV, Y. 1993. A systematic catalogue of the soft scale insects of the World (Homoptera: Coccoidea: Coccidae) with data on geographical distribution, host plants, biology, and economic importance. Flora & Fauna Handbook, No. 9. Sandhill Crane Press, Gainesville, USA. 536 p.
- BEN-DOV, Y. 1994. A systematic catalogue of the mealybugs of the world (Insecta: Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae and Putonidae) with data on geographical distribution, host plants, biology and economic importance. Intercept Limited, Andover, UK. 868 p.
- BEN-DOV, Y. 2005. A systematic catalogue of the scale insect family Margarodidae (Hemiptera: Coccoidea) of the World. Intercept Limited, Wimborne, UK. 400 p.
- BEN-DOV, Y. 2006. A systematic catalogue of eight scale insect families (Hemiptera: Coccoidea) of the world Aclerodidae, Asterolecaniidae, Beesoniidae, Carayonemidae, Conchaspidae, Dactylopiidae, Kerriidae and Lecanodiaspididae. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands. 368 p.
- BEN-DOV, Y.; GERMAN, V. 2003. A systematic catalogue of the Diaspididae (armoured scale insects) of the World, subfamilies Aspidiotinae, Comstockiellinae, and Odonaspidinae. Intercept Limited, Andover, UK. 1111 p.
- BEUTEL, R. G.; GORB, S. N. 2001. Ultrastructure of attachment specializations of hexapods (Arthropoda): evolutionary patterns inferred from a revised ordinal phylogeny. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research 39 (4): 177-207.
- BEUTEL, R. G.; WEIDE, D. 2005. Cephalic anatomy of *Zorotypus hubbardi* (Hexapoda: Zoraptera): new evidence for a relationship with Acercaria. Zoomorphology 124: 121-136.
- BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. F. 2006. Aphids on the World's Herbaceous Plants and Shrubs. The Natural History Museum, two volumes, John Wiley & Sons, Chichester, UK. 1439 p.
- BÖRNER, C. 1904. Zur Systematik der Hexapoden. Zoologischer Anzeiger 27: 511-533.
- BORROR, D. J.; DE LONG, D. M.; TRIPLEHORN, C. A. 1981. An introduction to the study of insects. Fifth Edition, Saunders College Publishing, USA. 928 p.
- BORROR, D. J.; WHITE, R. E. 1970. A field guide to insects America north of Mexico. Peterson Field Guide series, Houghton Mifflin Company, Boston and New York, USA. 404 p.
- BOUDREAUX, H. B. 1979. Arthropod phylogeny with special reference to insects. Wiley, New York, USA. 320 p.
- BOURGOIN, T. 1986a. Morphologie imaginaire du tentorium des Hemiptera Fulgoromorpha. International Journal of Insect Morphology & Embryology 15 (4): 237-252.
- BOURGOIN, T. 1986b. Valeur morphologique de la lame maxillaire chez les Hemiptera; remarques phylogénétiques. Annales de la Société Entomologique de France (Nouvelle série) 22 (4): 413-422.
- BOURGOIN, T. 1993. Female genitalia in Hemiptera Fulgoromorpha, morphological and phylogenetic data. Annales de la Société Entomologique de France (Nouvelle série) 29 (3): 225-244.
- BOURGOIN, T. 2007. FLOW. Fulgoromorpha lists on the web. Available at: <<http://flow.snv.jussieu.fr/cgi-bin/entomosite.pl?base=FLOW&page=home&lang=en>>. [Accessed: February 2008].
- BOURGOIN, T.; CAMPBELL, B. C. 2002. Inferring a phylogeny for Hemiptera: falling into the 'autapomorphic trap'. Denisia 4: 67-82.
- BOURGOIN, T.; HUANG, J. 1990. Morphologie comparée des genitalia mâles des Trypertimorphini et remarques phylogénétiques (Hemiptera: Fulgoromorpha: Tropiduchidae). Annales de la Société Entomologique de France (N.S.) 26 (4): 555-564.
- BOURGOIN, T.; STEFFEN-CAMPBELL, J. D.; CAMPBELL, B. C. 1997. Molecular phylogeny of Fulgoromorpha (Insecta, Hemiptera, Archaeorrhyncha). The Enigmatic Tettigometridae: Evolutionary Affiliations and Historical Biogeography. Cladistics 13: 207-224.
- BRUES, C. T.; MELANDER, A. L.; CARPENTER, F. M. 1954. Classification of insects. Keys to the living and extinct families of insects, and to the living families of other terrestrial arthropods. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology 108: 1-917.
- BURCKHARDT, D. 2005. Biology, ecology, and evolution of gall-inducing psyllids (Hemiptera: Psylloidea), pp. 143-157. In: Raman, A.; Schaefer C.W.; Withers T.M. (eds.). Biology, ecology, and evolution of gall-inducing arthropods. Science Publishers, Enfield, USA. 2 vols., 817 p.
- BURCKHARDT, D.; AGOSTI, D. 1991. New records of South American Peloriidae (Homoptera: Coleorrhyncha). Revista Chilena de Entomología 19: 71-75.
- BURCKHARDT, D.; CEKALOVIC K., T. 2002. An anomalous moss-bug from southern Chile and notes on *Pantinia darwini* (Hemiptera, Coleorrhyncha, Peloriidae). Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft 75 (1-2): 57-59.
- BURCKHARDT, D.; LAUTERER, P. 1989. Systematics and biology of Rhinocolinae (Homoptera: Psylloidea). Journal of Natural History 23: 643-712.
- BYRNE, D. N.; BELLOW, T. S. Jr. 1991. Whitefly biology. Annual Review of Entomology 36: 431-457.
- CAMERON, S. L.; BECKENBACH, A. T.; DOWTON, M.; WHITING, M. F. 2006. Evidence from mitochondrial genomics on interordinal relationships in insects. Arthropod Systematics and Phylogeny 64 (1): 27-34.
- CAMPBELL, B. C.; STEFFEN-CAMPBELL, J. D.; GILL, R. J. 1994. Evolutionary origin of whiteflies (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) inferred from 18S rDNA sequences. Insect Molecular Biology 3 (2): 73-88.
- CAMPBELL, B. C.; STEFFEN-CAMPBELL, J. D.; SORESENSEN, J. T.; GILL, R. J. 1995. Paraphyly of Homoptera and Auchenorrhyncha inferred from 18S rDNA nucleotide sequences. Systematic Entomology 20 (3): 175-194.
- CARAYON, J. 1962. Observations sur l'appareil odorifique des Hétéroptères particulièrement celui des Tingidae, Vianaididae et Piesmatidae. Cahiers des Naturalistes 18 (1): 1-16.
- CARAYON, J. 1971. Notes et documents sur l'appareil odorant métathoracique des Hémiptères. Annales de la Société Entomologique de France 7 (4): 737-770.
- CARVALHO, G. S.; WEBB, M. D. 2005. Cercopid spittle bugs of the New World (Hemiptera, Auchenorrhyncha, Cercopidae). Pensoft, Sofia, Bulgaria. 271 p.
- CARVER, M.; GROSS, G. F.; WOODWARD, T. E. 1991. Chapter 30. Hemiptera, pp. 429-509. In: CSIRO, Division of Entomology. Insects of Australia. 2nd edition, 2 volumes. Cornell University Press, Ithaca, USA. 1137 p.
- CASSIS, G.; BULBERT, M. 2004. Key to the Tingidae of Australia. FaunaNet. Accessed: February 2008. Available at: <http://www.faanet.gov.au/faunakeys/tingidae_intro.htm>.
- CASSIS, G.; GROSS, G. F. 1995. Hemiptera: Heteroptera (Coleorrhyncha to Cimicomorpha). Houston, W. W. K.; Maynard, G. V. (eds.). Zoological Catalogue of Australia. Vol. 27.3A. CSIRO, Melbourne, Australia. 506 p.
- CASSIS, G.; GROSS, G. F. 2002. Hemiptera: Heteroptera (Pentatomomorpha). Houston, W. W. K.; Wells, A. (eds.). Zoological

- Catalogue of Australia. Vol. 27. B. CSIRO, Melbourne, Australia. 737 p.
- CASSIS, G.; BETTS, E.; ELLIOTT, M. G. 2003. Key to the stink bugs of Australia [Heteroptera: Pentatomidae]. FaunaNet. Available at: <http://www.faunaf.net.gov.au/faunakeys/stink_intro.htm>. [Accessed: February 2008].
- CASSIS, G.; FLEMONS, P.; ELLIOTT, M. G.; DONNELLY, A.; LANE, J.; BULBERT, M.; SMITH, M.; REID, C. A. M.; HARRIS, R.; CARTER, G.; SILVEIRA, R. 2002. Key to the Heteroptera of Australia. FaunaNet. Available at: <http://www.faunaf.net.gov.au/faunakeys/heteroptera_intro.htm>. [Accessed: February 2008].
- CHEN, S.; YANG, C. T. 1995. The metatarsi of the Fulgoroidea (Homoptera: Auchenorrhyncha). Chinese Journal of Entomology 15: 257-269.
- CHINA, W. E. 1962. South American Peloridiidae (Hemiptera-Homoptera: Coleorrhyncha). Transactions of the Royal Entomological Society of London 114 (5): 131-161.
- CHINA, W. E.; MILLER, N. C. E. 1959. Check-list and keys to the families and subfamilies of the Hemiptera-Heteroptera. Bulletin of the British Museum of Natural History 8 (1): 1-45.
- CHOU, I.; LEI, Z.; LI, L.; LU, X.; YAO, W. 1997. The Cicadidae of China (Homoptera: Cicadoidea). Tianze Eldoneio, Hong Kong. 380 p. [In Chinese].
- CLARIDGE, M. F. 1985. Acoustic signals in the Homoptera: behavior, taxonomy, and evolution. Annual Review of Entomology 30: 297-317.
- COBBEN, R. H. 1978. Evolutionary trends in Heteroptera. Part 2. Mouthpart-structures and feeding strategies. Mededelingen Landbouwhogeschool 78-5. H. Veeman, Wageningen, the Netherlands. 407 p.
- COOK, L. G.; GULLAN, P. J.; TRUEMAN, H. E. 2002. A preliminary phylogeny of the scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea) based on nuclear small-subunit ribosomal DNA. Molecular Phylogenetics and Evolution 25: 43-52.
- COX, J. M.; WILLIAMS, D. J. 1987. Do the Eriococcidae form a monophyletic group? Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri" Portici 43 (Suppl.): 13-17.
- CRANSTON, P. S.; GULLAN, P. J. 2003. Phylogeny of insects., pp. 882-898. In: Resh, V. H.; Cardé, R. T. (eds.). Encyclopedia of Insects. Academic Press, San Diego, USA. xxviii + 1266 p.
- CRESPI, B.; CARMEAN, D.; VAWTER, L.; VON DOHLEN, C. 1996. Molecular phylogenetics of Thysanoptera. Systematic Entomology 21: 79-87.
- CROCROFT, R. B.; AND RODRÍGUEZ, R. L. 2005. The behavioral ecology of insect vibrational communication. Bioscience 55 (4): 323-334.
- CRYAN, J. A. 2005. Molecular phylogeny of Cicadomorpha (Insecta: Hemiptera: Cicadoidea, Cercopoidea and Membracoidea): adding evidence to the controversy. Systematic Entomology 30 (4): 563-574.
- CRYAN, J. R.; ROBERTSON, J. A.; DEITZ, L. L. 2003. The New World treehopper tribe Microcentrini (Hemiptera: Membracidae: Stegaspidinae): Monographic Revision and Phylogenetic Position. Thomas Say Publications, Monographs of the Entomological Society of America, Lanham, USA. 108 p.
- CRYAN, J. R.; WIEGMANN, B. M.; DEITZ, L. L.; DIETRICH, C. H. 2000. Phylogeny of the treehoppers (Insecta: Hemiptera: Membracidae): evidence from two nuclear genes. Molecular Phylogenetics and Evolution 17: 317-334.
- CRYAN, J. R.; WIEGMANN, B. M.; DEITZ, L. L.; DIETRICH, C. H.; WHITING, M. F. 2004. Treehopper trees: phylogeny of Membracidae (Hemiptera: Cicadomorpha: Membracoidea) based on molecules and morphology. Systematic Entomology 29: 441-454.
- CSIRO [Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Division of Entomology]. 1991. Insects of Australia. 2nd edition, 2 volumes. Cornell University Press, Ithaca, USA. 1137 p.
- DAMGAARD, J.; COGNATO, A. I. 2005. Phylogeny and reclassification of species groups in *Aquarius* Schellenberg, *Limnoporus* Stål and *Gerris* Fabricius (Insecta: Hemiptera-Heteroptera, Gerridae). Systematic Entomology 31: 93-112.
- DAMGAARD, J.; SPERLING, F. A. H. 2001. Phylogeny of the water strider genus *Gerris* Fabricius (Heteroptera: Gerridae) based on COI mtDNA, EF-1a nuclear DNA and morphology. Systematic Entomology 26: 241-254.
- DAMGAARD, J.; ANDERSEN, N. M.; CHENG, L.; SPERLING, F. A. H. 2000a. Phylogeny of sea skaters, *Halobates* (Hemiptera, Gerridae), based on mtDNA sequence and morphology. Zoological Journal of the Linnean Society 130: 511-526.
- DAMGAARD, J.; ANDERSEN, N. M.; SPERLING, F. A. H. 2000b. Phylogeny of the water strider genus *Aquarius* Schellenberg (Heteroptera: Gerridae) based on mitochondrial and nuclear DNA and morphology. Insect Systematics and Evolution 31: 71-90.
- DAMGAARD, J.; ANDERSEN, N. M.; MEIER, R. 2005. Combining molecular and morphological analyses of water strider phylogeny (Hemiptera-Heteroptera, Gerromorpha): effects of alignment and taxon sampling. Systematic Entomology 30 (2): 289-309.
- DEITZ, L. L. 1975. Classification of the higher categories of the New World treehoppers (Homoptera: Membracidae). North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin 225: i-iv, 1-177.
- DEITZ, L. L.; DIETRICH, C. H. 1993. Superfamily Membracoidea (Homoptera: Auchenorrhyncha). I. Introduction and revised classification with new family-group taxa. Systematic Entomology 18: 287-296.
- DIETRICH, C. H. 1999. The role of grasslands in the diversification of leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae): a phylogenetic perspective, pp. 44-48. In: Warwick, C. (ed.). Proceedings of the Fifteenth North American Prairie Conference. Natural Areas Association, Bend, Oregon, USA.
- DIETRICH, C. H. 2004. Phylogeny of the leafhopper subfamily Evacanthinae with a review of Neotropical species and notes on related groups (Hemiptera: Membracoidea: Cicadellidae). Systematic Entomology 29: 455-487.
- DIETRICH, C. H. 2005. Keys to the families of Cicadomorpha and subfamilies and tribes of Cicadellidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha). Florida Entomologist 88 (4): 502-517.
- DIETRICH, C. H.; DEITZ, L. L. 1991. Numerical phenetic and cladistic analyses of the treehopper tribe Aconophorini (Homoptera: Membracidae: Membracinae). Annals of Entomological Society America 84 (3): 228-238.
- DIETRICH, C. H.; DEITZ, L. L. 1993. Superfamily Membracoidea (Homoptera: Auchenorrhyncha). II. Cladistic analysis and conclusions. Systematic Entomology 18: 297-312.
- DIETRICH, C. H.; MCKAMEY, S. H.; DEITZ, L. L. 2001a. Morphology based phylogeny of the treehopper family Membracidae (Hemiptera: Cicadomorpha: Membracoidea). Systematic Entomology 26: 213-239.
- DIETRICH, C. H.; RAKITOV, R. A.; HOLMES, J. L.; BLACK, W. C. IV. 2001b. Phylogeny of the Major Lineages of Membracoidea (Insecta: Hemiptera: Cicadomorpha) Based on 28S rDNA Sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution 18 (2): 293-305.
- DIETRICH, C. H.; WALLNER, A. M. 2002. Diversity and taxonomic composition of Cicadellidae in the Amazonian rainforest canopy (Hemiptera, Cicadomorpha, Membracidae). Abstracts of the 11th International Auchenorrhyncha Congress, Potsdam/Berlin.
- DMITRIEV, D. A. 2006. An interactive key to tribes of Leafhoppers (Cicadellidae). Available at: <<http://ctap.inhs.uiuc.edu/dmitriev/key.asp?key=Cicnymph&i=1&lng=En>>. [Accessed: February 2008].
- DMITRIEV, D. A.; DIETRICH, C. H. 2006. An interactive key to genera of Erythroneurini. Available at: <<http://ctap.inhs.uiuc.edu/dmitriev/key.asp?key=Erythroneura&lng=En&i=1&keyN=1>>. [Accessed: February 2008].
- DOWNIE, D. A.; GULLAN, P. J. 2004. Phylogenetic analysis of mealybugs (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae) based on

- DNA sequences from three nuclear genes, and a review of the higher classification. *Systematic Entomology* 29: 238-259.
- DUFFELS, J. P.; VAN DEER LAAN, P. A. 1985. Catalogue of the Cicadoidea (Homoptera, Auchenorrhyncha) 1956 - 1980. *Series Entomologica*, vol. 34. Dr W. Junk Publishers, Kluwer Academic Publishers Group, Dordrecht, the Netherlands. 414 pp.
- DUFOUR, L. 1833. *Recherches anatomiques et physiologiques sur les hemiptères: accompagnées de considérations relatives à l'histoire naturelle et à la classification de ces insectes*. Impr. de Bachelier, Paris, France. xix + 333 p.
- EMELJANOV, A. F. 1990. An attempt of construction of the phylogenetic tree of the planthoppers (Homoptera, Cicadina). *Entomologicheskoe Obozrenie* 69 (2): 353-356.
- ESTÉVEZ, A. L.; DE REMES-LENICOV, A. M. M. 1989. Peloriidos de Tierra del Fuego (Homoptera: Coleorrhyncha). *Neotropica (La Plata)* 34 (92): 104.
- EVANS, J. W. 1963. The phylogeny of the Homoptera. *Annual Review of Entomology* 8: 77-94.
- EVANS, J. W. 1981. A review of the present knowledge of the family Peloriidiidae and new genera and species from New Zealand and New Caledonia (Hemiptera: Insecta). *Records of the Australian Museum* 34 (5): 381-406.
- FAGUA, G. 2005. Sobre el uso poco acertado del taxón "Homoptera". *Entomólogo* 33 (99): 3-5.
- FISCHER, C.; MAHNER, M.; WACHMANN, E. 2000. The rhabdom structure in the ommatidia of the Heteroptera (Insecta), and its phylogenetic significance. *Zoomorphology* 120 (1): 1-13.
- FOLDI, I. 1997. Defense strategies in scale insects: phylogenetic inference and evolutionary scenarios (Hemiptera, Coccoidea), pp. 203-230. In: Grandcolas, P. (ed.). *The Origin of Biodiversity in Insects: Phylogenetic Tests of Evolutionary Scenarios*. Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle 173: 1-354.
- FREYTAG, P. H.; GAIANI, M. 2002. Saltahoja Neotropicales neotropicales / Neotropical Leafhoppers leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae). Available at: <<http://www.miza-fpolar.info.ve/cicadellidae/>>. [Accessed: February 2008].
- FREYTAG, P. H.; SHARKEY, M. J. 2002. A preliminary list of the leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) of Colombia. *Biota Colombiana* 3 (2): 235-283.
- FROESCHNER, R. C. 1999. True bugs (Heteroptera) of Panama: A synoptic catalog as a contribution to the study of Panamanian biodiversity. *Memoirs of the American Entomological Institute* 61: 1-393.
- FUNKHOUSER, W. D. 1927. General catalogue of the Hemiptera. Fascicle I. Membracidae. Smith College, Northampton, USA. 581 p.
- GOGALA, M. 2006. Vibratory signals produced by Heteroptera-Pentatomomorpha and Cimicomorpha, pp. 275-295. In: Drosopoulos, S.; Claridge, M. F. (eds.). *Insect sounds and communication. Physiology, behaviour, ecology and evolution*. CRC (Taylor & Francis), Boca Raton, USA. xvii + 532 p. + a DVD.
- GOODCHILD, A. J. P. 1966. Evolution of the alimentary canal of the Hemiptera. *Biological Review* 41: 97-140.
- GORB, R. G.; BEUTEL, R. G. 2001. Evolution of locomotory attachment pads of hexapods. *Naturwissenschaften* 88 (12): 530-534.
- GRAZIA, J.; SCHUH, R. T.; WHEELER, W. C. *in press*. Phylogenetic relationships of family groups in Pentatomoidea based on morphology and DNA sequences (Insecta: Heteroptera). *Cladistics*.
- GRIMALDI, D.; ENGEL, M. S. 2005. *Evolution of the insects*. Cambridge University Press, New York, USA. 755 pp.
- GULLAN, P. 1999 [2001]. Why the taxon Homoptera does not exist. *Entomologica* 33: 101-104.
- GULLAN, P.; COOK, L. G. 2007. Phylogeny and higher classification of the scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). *Zootaxa* 1668: 413-425.
- GULLAN, P. J.; KOSZTARAB, M. 1997. Adaptations in scale insects. *Annual Review of Entomology* 42: 23-50.
- HACKER, H. 1932. A new species of Peloriidiidae from Queensland. *Queensland agricultural Journal* 38: 262-263.
- HAMILTON, K. G. A. 1981. Morphology and evolution of the Rhynchotan head (Insecta: Hemiptera, Homoptera). *The Canadian Entomologist* 113 (11): 953-974.
- HAMILTON, K. G. A. 1983. Classification, morphology and phylogeny of the family Cicadellidae (Rhynchota: Homoptera), pp. 15-37. In: Knight, W. J.; Pant, N. C.; Robertson, T. S.; Wilson, M. R. (eds.). *Proceedings of the 1st international workshop on leafhoppers and planthoppers of economic importance*, London, 4-7 Oct. 1982. Commonwealth Institute of Entomology, London, UK.
- HAMILTON, K. G. A. 1999. The ground-dwelling leafhoppers Myerslopiidae, new family, and Sagmatini, new tribe (Homoptera: Membracidae). *Invertebrate Taxonomy* 13: 207-235.
- HAMILTON, K. G. A. 2001. A new family of froghoppers from the American tropics (Hemiptera: Cercopoidea: Epipygidae). *Biodiversity* 2: 15-21.
- HARDY, N. B.; GULLAN, P. J.; HODGSON, C. J. 2008. A subfamily-level classification of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) based on integrated molecular and morphological data. *Systematic Entomology* 33: 51-71.
- HEBSGAARD, M. B.; ANDERSEN, N. M.; DAMGAARD, J. 2004. Phylogeny of the true water bugs (Nepomorpha: Hemiptera-Heteroptera) based on 16S and 28S rDNA and morphology. *Systematic Entomology* 29: 488-508.
- HEIE, O. E. 1987. Palaeontology and phylogeny, pp. 367-391. In: Minks, A. K.; Harrewijn, P. (eds.). *Aphids: Their biology, natural enemies, and control*. Vol 2A. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands.
- HEMING, B. S. 1980. Development of the mouthparts in embryos of *Haplothrips verbasci* (Osborn) (Insecta, Thysanoptera, Phlaeothripidae). *Journal of Morphology* 164: 235-263.
- HENNIG, W. 1966. *Phylogenetic systematics*. University of Illinois Press, Urbana, USA. 263 p.
- HENNIG, W. 1969. *Die Stammesgeschichte der Insekten*. Waldemar Kramer, Frankfurt am Main, Germany. 436 p.
- HENNIG, W. 1981. *Insect phylogeny*. John Wiley & Sons, New York, USA. 514 p.
- HENRY, T. J. 1997. Phylogenetic analysis of family groups within the infraorder Pentatomomorpha (Hemiptera: Heteroptera), with emphasis on the Lygaeoidea. *Annals of the Entomological Society of America* 90 (3): 275-301.
- HILL, L. 1987. First record of Dipsocoridae (Hemiptera) from Australia with the description of four new species of *Cryptostemma* Herrich-Schaeffer. *Journal of the Australian Entomological Society* 26: 129-139.
- HOCH, H.; DECKERT, J.; WESSEL, A. 2006. Vibrational signalling in a Gondwanan relict insect (Hemiptera: Coleorrhyncha: Peloriidiidae). *Biology Letters* 2: 222-224.
- HODGSON, C. J. 1994. The Scale insect family Coccidae: An identification manual to genera. CAB International, Wallingford, UK. 639 p.
- HODKINSON, I. D. 1989. The biogeography of the Neotropical jumping plant-lice (Insecta: Homoptera: Psylloidea). *Journal of Biogeography* 16 (3): 203-217.
- HODKINSON, J. D.; CASSON, D. 1991. A lesser predilection for bugs: Hemiptera (Insecta) diversity in tropical rain forests. *Biological Journal of the Linnean Society* 43: 101-109.
- HOLLIS, D. 2004. Australian Psylloidea: jumping plantlice and lerp insects. Australian Biological Resources Study (ABRS), Canberra, Australia. 232 p.
- HOY, R. R.; ROBERT, D. 1996. Tympanal hearing in insects. *Annual Review of Entomology* 41: 433-450.
- HÜNEFELD, F. 2007. The genital morphology of *Zorotypus hubbardi* Caudell, 1918 (Insecta, Zoraptera, Zorotypidae). *Zoomorphology* 126: 135-151.

- ICZN (International Commission on Zoological Nomenclature). 1999. International Code of Zoological Nomenclature. 4th edition. International Trust for Zoological Nomenclature, London, UK. xxix + 306 pp.
- JAMIESON, B. G. M.; DALLAI, R.; AFZELIUS, B. A. 1999. Insects. Their spermatozoa and phylogeny. Science Publishers Inc., Enfield, USA. 555 p.
- JOHNSON, K. P.; YOSHIZAWA, K.; SMITH, V. S. 2004. Multiple origins of parasitism in lice. *Proceedings of the Royal Society of London, series B* 271: 1771-1776.
- KERZHNER, I. M. 1981. Fauna SSSR. Nasekomye Khobotnye, t. 13, vyp. 2, Poluzhestkokrylye Semejstva Nabidae. [Insecta Rhynchota. Vol. 13, No.2. Hemiptera family Nabidae. Fauna of the USSR.] Nauka Publishing, Leningrad, Russia. 326 p. [In russian].
- KITCHING, I. J.; FOREY, P. L.; HUMPHRIES, C. J.; WILLIAMS, D. M. 1998. Cladistics. The Theory and practice of parsimony analysis. 2nd edition. Oxford University Press, New York, USA. 228 p.
- KJER, K. M. 2004. Aligned 18S and Insect Phylogeny. *Systematic Biology* 53 (3): 506-514.
- KJER, K. M.; CARLE, F. M.; LITMAN, J.; WARE, J. 2006. A molecular phylogeny of Hexapoda. *Arthropod Systematics and Phylogeny* 64 (1): 35-44.
- KONDO, T. 2001. Las cochinitas de Colombia (Hemiptera: Coccoidea). *Biota Colombiana* 2 (1): 31-48.
- KOTEJA, J. 1974. On the phylogeny and classification of the scale insects (Homoptera, Coccinea). *Acta Zoologica Cracoviensia*, 19: 267-326.
- KRISTENSEN, N. P. 1975. The phylogeny of hexapod orders. A critical review of recent accounts. *Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung* 13: 1-44.
- KRISTENSEN, N. P. 1981. Phylogeny of insect orders. *Annual Review of Entomology* 26: 135-157.
- KRISTENSEN, N. P. 1991. Chapter 5. Phylogeny of extant Hexapods. Pp. 125-140. In: CSIRO, Division of Entomology. *Insects of Australia*. 2nd edition, 2 volumes. Cornell University Press, Ithaca, USA. 1137 p.
- KUKALOVÁ-PECK, J. 1991. Chapter 6. Fossil history and the evolution of Hexapod structures. pp: 141-179. In: CSIRO, Division of Entomology. *Insects of Australia*. 2nd edition, 2 volumes. Cornell University Press, Ithaca, USA. 1137 p.
- LATREILLE, P. A. 1810. *Considérations générales sur l'ordre naturel des animaux composant les classes des crustacés, des arachnides, et des insectes; avec un tableau méthodique de leurs genres, disposés en familles*. F. Schoell, Paris, France. 444 p.
- LENT, H.; WYGODZINSKY, P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 163: 123-520.
- LESTON, D.; PENDERGRAST, J. G.; SOUTHWOOD, T. R. E. 1954. Classification of terrestrial (Geocorisae). *Nature* 174 (4419): 91-92.
- LI, H.-M.; DENG, R.-Q.; WANG, J.-W.; CHEN, Z.-Y.; JIA, F.-L.; WANG, X.-Z. 2005. A preliminary phylogeny of the Pentatomomorpha (Hemiptera: Heteroptera) based on nuclear 18S rDNA and mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 313-326.
- LIANG, A. P.; FLETCHER, M. J. 2002. Morphology of the antennal sensilla in four Australian spittlebug species (Hemiptera: Cercopidae) with implications for phylogeny. *Australian Journal of Entomology* 41: 39-44.
- LIN, C.-P.; DANFORTH, B. N.; WOOD, T. K. 2004. Molecular phylogenetics and evolution of maternal care in Membracine treehoppers. *Systematic Biology* 53 (3): 400-421.
- LYAL, C. H. C. 1985. Phylogeny and classification of the Psocodea, with particular reference to the lice (Psocodea: Phthiraptera). *Systematic Entomology* 10: 145-165.
- MAHNER, M. 1993. *Systema Cryptoceratorum Phylogenicum* (Insecta, Heteroptera). *Zoologica* 48 (143): 1-302.
- MALDONADO C., J. 1990. Systematic catalogue of the Reduviidae of the World. *Caribbean Journal of Science, Special publication* No. 1, University of Puerto Rico, Mayagüez, Puerto Rico. 694 p.
- MANZARI, S.; QUICKE, D. L. J. 2006. A cladistic analysis of whiteflies, subfamily Aleyrodinae (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae). *Journal of Natural History* 40 (44-46): 2423-2554.
- MARTIN, J. H.; MOUND, L. A. 2007. An annotated check list of the world's whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). *Zootaxa* 1492: 1-84.
- MARTÍNEZ-TORRES, D.; BUADES, C.; LATORRE, A.; MOYA, A. 2001. Molecular systematics of aphids and their primary endosymbionts. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20: 437-449.
- McATEE, W. L.; MALLOCH, J. R. 1925. Revision of the bugs of the family Cryptostemmatidae in the collection of the United States National Museum. *Proceedings of the U.S. National Museum* 67 (13): 1-42, pls. 1-4.
- McKAMEY, S.H. 1998. Taxonomic catalogue of the Membracoidea (exclusive of leafhoppers): second supplement to fascicle I - Membracidae of the general catalogue of the Hemiptera. *Memoirs of the American Entomological Institute* 60: 1-377.
- McKAMEY, S. H. 2001. Checklist of leafhopper species 1758-1955 (Hemiptera: Membracoidea: Cicadellidae and Myserslopiidae) with synonymy and distribution [Catalogue of the Homoptera, Fascicle 6, Abridged]. Available at: <<http://www.sel.barc.usda.gov/selhome/leafhoppers/mckpaper.htm>>. [Accessed: October 2007].
- METCALF, Z. P. 1932. General catalogue of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 1 Tettigometridae. Smith College, Northampton, USA. 74 p.
- METCALF, Z. P. 1936. General catalogue of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 2 Cixiidae. Smith College, Northampton, USA. 269 p.
- METCALF, Z. P. 1943. General catalogue of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 3 Araeopidae (Delphacidae). Smith College, Northampton, USA. 552 p.
- METCALF, Z. P. 1945. General catalogue of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 4 Derbidae, Part 5 Achilixiidae, Part 6 Meenoplidae, Part 7 Kinnaridae. Smith College, Northampton, USA. 252 p.
- METCALF, Z. P. 1946. General catalogue of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 8. Dictyopharidae. Smith College, Northampton, USA. 246 p.
- METCALF, Z. P. 1947a. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 9 Fulgoridae. Smith College, Northampton, USA. 276 p.
- METCALF, Z. P. 1947b. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 10 Achilidae. Smith College, Northampton, USA. 276 p.
- METCALF, Z. P. 1954a. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 11 Tropiduchidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 167 p.
- METCALF, Z. P. 1954b. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 12 Nogodinidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 75 p.
- METCALF, Z. P. 1954c. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 14 Acanaloniidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 55 p.
- METCALF, Z. P. 1955a. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 16 Ricanidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 199 p.
- METCALF, Z. P. 1955b. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 17 Lophopidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 75 p.
- METCALF, Z. P. 1956. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 18 Eurybrachidae and Gengidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 81 p.

- METCALF, Z. P. 1957. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 13 Flatidae and Hypochthonellidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 565 p.
- METCALF, Z. P. 1958. General catalog of the Homoptera. Fascicle IV Fulgoroidea. Part 15 Issidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 561 p.
- METCALF, Z. P. 1960a. A bibliography of the Cercopoidea (Homoptera: Auchenorrhyncha). North Carolina State College, Raleigh, USA. 262 p.
- METCALF, Z. P. 1960b. General catalog of the Homoptera. Fascicle VII Cercopoidea. Part 1. Machaerotidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 49 p.
- METCALF, Z. P. 1961. General catalog of the Homoptera. Fascicle VII Cercopoidea. Part 2. Cercopidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 607 p.
- METCALF, Z. P. 1962a. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 2. Hylicidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 18 p.
- METCALF, Z. P. 1962b. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 3. Gyponidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 229 p.
- METCALF, Z. P. 1962c. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 4. Ledridae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 147 p.
- METCALF, Z. P. 1962d. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 5. Ulopidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 101 p.
- METCALF, Z. P. 1962e. General catalog of the Homoptera. Fascicle VII Cercopoidea. Part 3. Aphrophoridae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 600 p.
- METCALF, Z. P. 1962f. General catalog of the Homoptera. Fascicle VII Cercopoidea. Part 4. Clastopteridae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 59 p.
- METCALF, Z. P. 1963a. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 6. Evancanthidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 63 p.
- METCALF, Z. P. 1963b. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 7. Nirvanidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 35 p.
- METCALF, Z. P. 1963c. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 8. Aphrodidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 268 p.
- METCALF, Z. P. 1963d. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 9. Hecalidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 123 p.
- METCALF, Z. P. 1963e. General catalog of the Homoptera. Fascicle VIII Cicadoidea. Part 1. Cicadidae. Section I Tibiceninae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 585 p.
- METCALF, Z. P. 1963f. General catalog of the Homoptera. Fascicle VIII Cicadoidea. Part 1. Cicadidae. Section II Gaeninae and Cicadinae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 586-919 p.
- METCALF, Z. P. 1963g. General catalog of the Homoptera. Fascicle VIII Cicadoidea. Part 2. Tibicinidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 492 p.
- METCALF, Z. P. 1964a. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 11. Coelidiidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 182 p.
- METCALF, Z. P. 1964b. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Bibliography of the Cicadelloidea. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 349 p.
- METCALF, Z. P. 1965a. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 1 Tettigellidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 730 p.
- METCALF, Z. P. 1965b. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 12. Eurymelidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 43 p.
- METCALF, Z. P. 1966a. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 13. Macropsidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 261 p.
- METCALF, Z. P. 1966b. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 14. Agalliidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 173 p.
- METCALF, Z. P. 1966c. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 15. Iassidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 229 p.
- METCALF, Z. P. 1966d. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 16. Idioceridae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 237 p.
- METCALF, Z. P. 1967. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 10. Euscelidae. Section I, II, II (three volumes). Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 2695 p.
- METCALF, Z. P. 1968. General catalog of the Homoptera. Fascicle VI. Cicadelloidea. Part 17. Cicadellidae. Agricultural Research Service, United States Dept. of Agriculture, Washington, USA. 1513 p.
- METCALF, Z. P.; WADE, V. 1963. A bibliography of the Membracoidea and fossil Homoptera (Homoptera: Auchenorrhyncha). North Carolina State College, Raleigh, USA. 200 p.
- METCALF, Z. P.; WADE, V. 1965a. A supplement to fascicle I - Membracidae of the general catalogue of the Hemiptera. Membracoidea, in two sections. Section I. Part 1 - Membracidae, Centrotinae, Platybelinae, Hoplophorioninae, Darninae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 743 p.
- METCALF, Z. P.; WADE, V. 1965b. A supplement to fascicle I - Membracidae of the general catalogue of the Hemiptera. Membracoidea, in two sections. Section II. Part 1 - Membracidae (continued), Smilinae, Tragopinae, Membracinae. Part 2 - Aetalionidae. Part 3 - Biturritidae. Part 4 - Nicomiidae. North Carolina State College, Raleigh, USA. 745-1552 p.
- MILLER, D. R. 1984. Phylogeny and classification of the Margarodidae and related groups (Homoptera: Coccoidea), pp. 321-324. In: Kaszab, Z. (ed.). Verhandlungen des Zehnten Internationalen Symposiums über Entomofaunistik Mitteleuropas (SIEEC), Budapest, Hungary.
- MILLER, D. R.; BEN-DOV, Y. 2006. ScaleNet. United States Department of Agriculture. Available at: <<http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>>. [Accessed: August 2007].
- MILLER, D. R.; GIMPEL, M. E. 2000. A systematic catalogue of the Eriococcidae (felt scales) (Hemiptera: Coccoidea) of the World. Intercept, Andover, UK. 589 p.
- MILLER, D. R.; GIMPEL, M. E.; RUNG, A. 2005. A systematic catalogue of the Cercococcidae, Halimococcidae, Kermesidae, Micrococcidae, Ortheziidae, Phenacoleachiidae, Phoenicococcidae, and Stictococcidae (Hemiptera: Coccoidea) of the World. Intercept Limited, Wimborne, UK. 554.
- MILLER, D. R.; HODGSON, C. J. 1997. Phylogeny, pp. 229-250. In: Ben-Dov, Y., Hodgson, C. J. (eds.). Soft Scale Insects—Their Biology, Natural Enemies and Control, vol. A. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands. 476 p.

- MILLER, D. R.; KOSZTARAB, M. 1979. Recent advances in the study of scale insects. *Annual Review of Entomology* 24: 1-27.
- MILLER, D. R.; RUNG, A.; VENABLE, G. L.; GILL, R. J. 2004. Scale families. An interactive key to the identification of families of scale insects (Hemiptera, Coccoidea). Available at: <<http://www.sel.barc.usda.gov/scalekeys/ScaleInsectsHome/ScaleInsectsFamilies.html>>. [Accessed: February 2008].
- MORRIS, D. C.; MOUND, L. A. 2003. Thysanoptera phylogeny - the molecular future, pp. 153-155. In: Klass, K-D. (ed.). *Proceedings of the first Dresden meeting on Insect Phylogeny: "Phylogenetic relationships within insect orders"* (Dresden, September 19-21, 2003). *Entomologische Abhandlungen* 61 (2): 119-172.
- MORSE, G. E.; NORMARK, B. B. 2006. A molecular phylogenetic study of armoured scale insects (Hemiptera: Diaspididae). *Systematic Entomology* 31 (2): 338-349.
- MOULDS, M. S. 2005. An appraisal of the higher classification of cicadas (Hemiptera: Cicadoidea) with special reference to the Australian fauna. *Records of the Australian Museum* 57: 375-446.
- MOUND, L. A.; HALSEY, S. H. 1978. Whitefly of the world. A systematic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. *British Museum (Natural History)*/ John Wiley & Sons, Chichester, UK. 340 p.
- MUIR, F. 1923. On the classification of the Fulgoroidea (Homoptera). *Proceedings of the Hawaii Entomological Society* 5 (2): 205-247.
- MURAJI, M.; TACHIKAWA, S. 2000. Phylogenetic analysis of water striders (Hemiptera: Gerroidea) based on partial sequences of mitochondrial and nuclear ribosomal RNA genes. *Entomological Science* 3 (4): 615-626.
- MYERS, J. G.; CHINA, W. E. 1929. The systematic position of the Peloridiidae as elucidated by a further study of the external anatomy of *Hemiodoecus leai* China. *Annals and Magazine of Natural History* 105 (3): 282-294.
- NIESER, N. 1975. The water bugs (Heteroptera: Nepomorpha) of the Guyana region. *Studies on the fauna of Suriname and other Guyanas* 16: 1-308, 24 pls.
- O'BRIEN, L. B.; WILSON, S. W. 1985. Planthopper systematics and external morphology, pp. 61-102. In: Nault, L. R., Rodriguez, J. G. (eds.). *The Leafhoppers and Planthoppers*. Wiley, New York, USA. 500 p.
- OMAN, P. W.; KNIGHT, W. J.; NIELSON, M. W. 1990. Leafhoppers (Cicadellidae): A bibliography, generic checklist and index to the world literature, 1956-1985. *CAB International*, UK. 368 p.
- ORTIZ-RIVAS, B.; MOYA, A.; MARTÍNEZ-TORRES, D. 2004. Molecular systematics of aphids (Homoptera: Aphididae): new insights from the long-wavelength opsin gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 24-37.
- OUVARD, D. 2002. Systématique phylogénétique des Hemiptera Psylloidea: morphologie comparée du thorax et structures secondaires de l'ARNr 18S. *Bulletin de la Société zoologique de France* 127 (4): 345-357.
- OUVARD, D.; CAMPBELL, B. C.; BOURGOIN, T.; CHAN, K. L. 2000. 18S rRNA secondary structure and phylogenetic position of Peloridiidae (Insecta, Hemiptera). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16 (3): 403-417.
- OUVARD, D.; BURCKHARDT, D.; SOULIER-PERKINS, A.; BOURGOIN, T. 2008. Comparative morphological assessment and phylogenetic significance of the wing base articulation in Psylloidea (Insecta, Hemiptera, Sternorrhyncha). *Zoomorphology* 127: 37-47.
- PACKAUSKAS, R.; SCHAEFER, C. W. 1998. Revision of the Cryptocoridae (Hemiptera: Pentatomoidea). *Annals of the Entomological Society of America* 91: 363-386.
- PEDIGO, L. P. 1996. *Entomology and pest management*. Second Edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, USA. 679 p.
- PEREIRA, D. L. V.; de MELO, A. L.; HAMADA, N. 2007. Chaves de identificação para famílias e gêneros de Gerromorpha e Nepomorpha (Insecta: Heteroptera) na Amazônia Central. *Neotropical Entomology* 36 (2): 210-228.
- POLHEMUS, J. T. 1985. Shore bugs (Heteroptera, Hemiptera; Saldidae). A world overview and taxonomy of Middle American forms. *The Different Drummer*, Englewood, USA. 252 pp.
- POPOV, Y. A.; SHCHERBAKOV, D. E. 1996. Origin and evolution of the Coleorrhyncha as shown by the fossil record, pp. 9-30. In: Schaefer, C. W. (ed.). *Studies on hemipteran phylogeny. Proceedings, Thomas Say Publications in Entomology*. Entomological Society of America, Lanham, USA. 244 p.
- QIN, T-K; GULLAN, P. J. 1995. A cladistic analysis of wax scales (Hemiptera: Coccoidea: Coccidae: Ceroplastinae). *Systematic Entomology* 20: 289-308.
- RAKITOV, R. A. 2002. Structure and function of the Malpighian tubules, and related behaviors in juvenile cicadas: evidence of homology with spittlebugs (Hemiptera: Cicadoidea & Cercopoidea). *Zoologischer Anzeiger* 241: 117-130.
- RÉDEI, D. 2007. A new species of the family Hypsipterygidae from Vietnam, with notes on the hypsipterygid fore wing venation (Heteroptera, Dipsocoromorpha). *Deutsche Entomologische Zeitschrift* 54 (1): 43-50.
- REMAUDIÈRE, G.; REMAUDIÈRE, M. 1997. *Catalogue des Aphididae du monde*. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France. 473 p.
- REUTER, O. M. 1910. Neue beiträge zur phylogenie und systematik der miriden nebst einleitenden bemerkungen über die phylogenie der Heteropteren-Familien, *Acta Societatis Scientiarum Fennicae*, 37 (3): 1-171.
- RIEGER, C. 1976. Skelett und Muskulatur des Kopfes und Prothorax von *Ochterus marginatus* Latreille. *Zoomorphologie* 83: 109-191.
- ROSS, H. H. 1957. Evolutionary developments in the leafhoppers, the insect family Cicadellidae. *Systematic Zoology* 6 (2): 87-97 +69.
- ROY, L.; GUILBERT, E.; BOURGOIN, T. 2007. Phylogenetic patterns of mimicry strategies in Darnini (Hemiptera: Membracidae). *Annales de la Société Entomologique de France (Nouvelle série)* 43 (3): 273-288.
- SCHAEFER, C. W.; PANIZZI, A. R. 2000. *Heteroptera of economic importance*. CRC Press, Boca Raton, USA. 828 p.
- SCHLEE, v D. 1969a. Sperma-Übertragung (und anderen Merkmale) in ihrer Bedeutung für das phylogenetische System der Sternorrhyncha. *Phylogenetische Studien an Hemiptera I. Psylliformes (Psyllina + Aleyrodina) als monophyletische Gruppe*. *Zeitschrift für Morphologie der Tiere* 64: 95-138.
- SCHLEE, v D. 1969b. Die verwandtschaftsbeziehungen innerhalb der Sternorrhyncha aufgrund synapomorpher merkmale. *Phylogenetische studien an Hemiptera II: Aphidiformes (Aphidina + Coccina) als monophyletische Gruppe*. *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde* 199: 1-19.
- SCHLEE, v D. 1969c. Bau und funktion des aedeagus bei Psyllina und deren bedeutung für systematische und phylogenetische untersuchungen (Insecta, Hemiptera). *Phylogenetische Studien an Hemiptera III. Entkräftung eines Argument gegen die Monophylie der Sternorrhyncha*. *Zeitschrift für Morphologie der Tiere* 64: 139-150.
- SCHLEE, v D. 1969d. Morphologie und symbiose; ihre beweiskraft für die verwandtschaftsbeziehungen der Coleorrhyncha (Insecta, Hemiptera). *Phylogenetische studien an Hemiptera IV.: Heteropteroidea (Heteroptera + Coleorrhyncha) als monophyletische gruppen*. *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde* 210: 1-27.
- SCHUH, R. T. 1974. The Orhthotylinae and Phylinae (Hemiptera: Miridae) South Africa with a phylogenetic analysis of the ant-mimetic tribes of the two subfamilies for the world. *Entomologica Americana* 47: 1-332.
- SCHUH, R. T. 1976. Pretarsal structure in the Miridae (Hemiptera) with a cladistic analysis of relationships within the family. *American Museum Novitates* 2601: 1-39.

- SCHUH, R. T. 1979. [Review of] Evolutionary trends in Heteroptera. Part II. Mouthpart-structures and feeding strategies. *Systematic Zoology* 28 (4): 653-656.
- SCHUH, R. T. 1986. The influence of cladistics on heteropteran classification. *Annual Review of Entomology* 31: 67-93.
- SCHUH, R. T. 1995. Plant bugs of the world (Insecta: Heteroptera: Miridae). Systematic catalog, distributions, host list, and bibliography. The New York Entomological Society, New York, USA. 1329 p.
- SCHUH, R. T. 1997. [Review of] Studies on hemipteran phylogeny. *Journal of the New York Entomological Society* 104 (3-4): 231-235.
- SCHUH, R. T. 2000. Biological systematics. Principles and applications. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca, USA. 236 p.
- SCHUH, R. T. 2006. Plant bugs of the World (Insecta: Heteroptera: Miridae). Systematic catalog. Available at: <<http://research.amnh.org/pbi/catalog/>>. [Accessed: July 2007].
- SCHUH, R. T.; POLHEMUS, J. T. 1980. Analysis of taxonomic congruence among morphological, ecological, and biogeographic data sets for the Leptopodomorpha (Hemiptera). *Systematic Zoology* 29 (1): 1-26.
- SCHUH, R. T.; SLATER, J. A. 1995. True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera). Classification and natural history. Cornell University Press, Ithaca, USA. 336 p.
- SCHUH, R. T.; ŠTYS, P. 1991. Phylogenetic analysis of cimicomorphan family relationships (Heteroptera). *Journal of the New York Entomological Society* 99 (3): 298-350.
- SCHUH, R. T.; CASSIS, G.; GUILBERT, E. 2006. Description of the first recent macropterous species of Vianaidinae (Heteroptera: Tingidae) with comments on the phylogenetic relationships of the family within the Cimicomorpha. *Journal of the New York Entomological Society* 114 (1-2): 38-53.
- SCHUH, R. T.; GALIL, B.; POLHEMUS, J. T. 1987. Catalog and bibliography of Leptopodomorpha (Heteroptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 185 (3): 243-406.
- SCHUH, R. T.; WEIRAUCH, C.; HENRY, T. J.; HALBERT, S. 2008. Curaliidae, a new family of Heteroptera (Insecta: Hemiptera) from the Eastern United States. *Annals of the Entomological Society of America* 101 (1): 20-29.
- SCHUH, R. T.; WEIRAUCH, C.; WHEELER, W. C. *in press*. Phylogenetic relationships within the Cimicomorpha (Hemiptera: Heteroptera): a total evidence analysis. *Systematic Entomology*.
- SCUDDER, G. G. E. 1961. The comparative morphology of the insect ovipositor. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 113 (2): 25-40.
- SEEGER, W. 1975. Funktionsmorphologie an Spezialbildungen der Fühlergeißel von Psocoptera und anderen Paraneoptera (Insecta); Psocodea als monophyletische Gruppe. *Zeitschrift für Morphologie der Tiere* 81: 137-159.
- SHCHERBAKOV, D. E.; POPOV, Y. A. 2002. Superorder Cimicidea Laicharting, 1781. Order Hemiptera Linné, 1758. The bugs, cicadas, plantlice, scale insects, etc. (= Cimicida Laicharting, 1781, = Homoptera Leach, 1815 + Heteroptera Latreille, 1810), pp. 143-157. In: Rasnitsyn, A. P.; Quicke, D. L. J. (eds.). *History of Insects*. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. 517 p.
- SLATER, J. A. 1982. Hemiptera, pp. 417-447. In: Parker, S. P. (ed.). *Synopsis and classification of living organisms*. McGraw Hill, New York, USA. 1119 p.
- SLATER, J. A.; O'DONNELL, J. E. 1995. A catalogue of the Lygaeidae of the world (1960-1994). New York Entomological Society, New York, USA. 410 p.
- SORENSEN, J. T.; CAMBELL, B. C.; GILL, R. J.; STEFFEN-CAMBELL, J. D. 1995. Non-monophyly of Auchenorrhyncha ("Homoptera"), based upon 18S rDNA phylogeny: Eco-evolutionary and cladistic implications within pre-Heteropterodea Hemiptera (s.l.) and a proposal for new monophyletic suborders. *Pan-Pacific Entomologist* 71 (1): 31-60.
- SOULIER-PERKINS, A. 2007. COOL: Cercopoidea organized online. Available at: <<http://rameau.snv.jussieu.fr/cool/index.php>>. [Accessed: February 2008].
- SOULIER-PERKINS, A.; SUEUR, J.; HOCH, H. 2007. Historical use of substrate-borne acoustic production within the Hemiptera: first record for an Australian Lophopid (Hemiptera, Lophopidae). *Australian Journal of Entomology* 46: 129-132.
- SPENCE, J. R.; ANDERSEN, N. M. 1994. Biology of water striders: interaction between systematics and ecology. *Annual review of Entomology* 39: 101-128.
- STONEDAHL, G. M.; DOLLING, W. R. 1991. Heteroptera identification: a reference guide, with special emphasis on economic groups. *Journal of Natural History* 25 (4): 1027-1066.
- ŠTYS, P. 1970. On the morphology and classification of the family Dipsocoridae s. lat., with particular reference to the genus *Hypsipteryx* Drake (Heteroptera). *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 67: 21-46.
- ŠTYS, P. 1983. A new family of Heteroptera with dipsocoromorphan affinities from Papua New Guinea. *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 80: 256-292.
- ŠTYS, P. 1985. Soucasny stav beta-taxonomie radu Heteroptera. *Práce Slovenská entomologická spoločnosť SAV, Bratislava* 4: 205-235.
- ŠTYS, P. 1989. Phylogenetic systematics of the most primitive true bugs (Heteroptera, Enicocephalomorpha, Dipsocoromorpha) [in Czech]. *Práce Slovenská entomologická spoločnosť SAV, Bratislava* 8: 69-85.
- ŠTYS, P. 1998. Evolutionary origin of squamiform microsculpture on the forewing-holding devices (frenae) in Heteroptera. *Europena Journal of Entomology* 95: 307-310.
- ŠTYS, P.; JANSSON, A. 1988. Check-list of recent family-group names of Nepomorpha (Heteroptera) of the World. *Acta Entomologica Fennica* 50: 1-44.
- ŠTYS, P.; KERZHNER, I. M. 1975. The rank and nomenclature of higher taxa in recent Heteroptera. *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 72: 65-79.
- SWEET, M. H. 1996. Comparative external morphology of the pregenital abdomen of the Hemiptera. p. 119-158. In: Schaefer, C. W. (ed.). *Studies on hemipteran phylogeny*. Proceedings, Thomas Say Publications in Entomology. Entomological Society of America, Lanham, USA. 244 p.
- SWEET, M. H. 2006. Justification for the Aradimorpha as an infraorder of the suborder Heteroptera (Hemiptera, Prosothryncha) with special reference to the pregenital abdominal structure. *Denisia* 19: 225 - 248.
- SWEET, M. H.; SCHAEFER, C. W. 2002. Parastrachiinae (Hemiptera: Cydnidae) raised to family level. *Annals of the Entomological Society of America* 95: 441-448.
- TAKIYA, D. M.; DMITRIEV, D. A. 2007. An interactive key to genera of the tribe Proconiini. Available at: <<http://ctap.inhs.uiuc.edu/takiya/key.asp?key=Proconia&lng=En&i=1&keyN=1>>. [Accessed: February 2008].
- TAKIYA, D. M.; TRAN, P. L.; DIETRICH, C. H.; MORAN, N. A. 2006. Co-cladogenesis spanning three phyla: leafhoppers (Insecta: Hemiptera: Cicadellidae) and their dual bacterial symbionts. *Molecular Ecology* 15: 4175-4191.
- TULLGREN, A. 1918. Zur Morphologie und Systematik der Hemipteren. I. Über das Vorkommen von s.g. Trichobothrien bei Hemiptera-Heteroptera und ihre mutmassliche Bedeutung für das Heteropterensystem. *Entomologisk Tidskrift* 39 (2): 113-132.
- URBAN, J. M.; CRYAN, J. R. 2007. Evolution of the planthoppers (Insecta: Hemiptera: Fulgoroidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 42: 556-572.
- USINGER, R. L. 1943. A revised classification of the Reduvioidea with a new subfamily from South America (Hemiptera). *Annals of the Entomological Society of America* 36: 602-617.
- VARGAS-ROJAS, J. M.; FREYTAG, P.; C. E. SARMIENTO, C. E. 2006. Catalogo ilustrado de los cicadelinos de Colombia. Available at: <<http://www.unradio.unal.edu.co/ciencias/proyec>>

- tos/ins_cien/CATALOGO/pagina_ppal.htm>. [Accessed: September 2007].
- VON DOHLEN, C. D.; MORAN, N. A. 1995. Molecular phylogeny of the Homoptera: a paraphyletic taxon. *Journal of Molecular Evolution* 41 (2): 211-223.
- VON DOHLEN, C. D.; MORAN, N. A. 2000. Molecular data support a rapid radiation of aphids in the Cretaceous and multiple origins of host alternation. *Biological Journal of the Linnean Society* 71: 689-717.
- VON DOHLEN, C. D.; ROWE, C. A.; HEIE, O. E. 2006. A test of morphological hypotheses for tribal and subtribal relationships of Aphidinae (Insecta: Hemiptera: Aphididae) using DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 316-329.
- WALLACE, M. S.; DEITZ, L. L. 2004. Phylogeny and systematics of the treehopper subfamily Centrotinae (Hemiptera: Membracidae). *Memoirs on Entomology International* 19: 1-377.
- WALLACE, M. S.; DEITZ, L. L. 2005. Australian treehoppers (Hemiptera: Membracidae: Centrotinae: Terentiini): phylogeny and biogeography. *Invertebrate Systematics* 20: 163-183.
- WEBER, H. 1930. *Biologie der hemipteren*. Julius Springer, Berlin, Germany. 543 p.
- WEIRAUCH, C. 2008. Cladistic analysis of Reduviidae (Hemiptera: Cimicomorpha) based on morphological characters. *Systematic Entomology* 33: 229-274.
- WHEELER, W. C.; SCHUH, R. T.; BANG, R. 1993. Cladistic congruence among higher groups of Heteroptera: congruence between morphological and molecular data sets. *Entomologica Scandinavica* 24: 121-137.
- WHEELER, W. C.; WHITING, M.; WHEELER, Q. D.; CARPENTER, J. C. 2001. The phylogeny of the extant Hexapod orders. *Cladistics* 17: 113-169.
- WHITE, I. M.; HODKINSON, I. D. 1985. Nymphal taxonomy and systematics of the Psylloidea (Homoptera). *Bulletin of the British Museum (Natural History), Entomology series* 50 (2): 153-301.
- WHITING, M. F. 2002. Phylogeny of the holometabolous insect orders: molecular evidence. *Zoologica Scripta* 31: 3-15.
- WHITING, M. F.; CARPENTER, J. C.; WHEELER, Q. D.; WHEELER, W. C. 1997. The Strepsiptera problem: phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology. *Systematic Biology* 46 (1): 1-68.
- WILLIAMS, D. J.; GRANARA DE WILLINK, M. C. 1992. *Mealybugs of Central and South America*. CAB International, UK. 635 p.
- WILLMANN, R. 2004. Phylogenetic relationships and evolution of insects, pp. 330-344. In: Cracraft, J.; Donoghue, M. J. (eds.). *Assembling the tree of life*. Oxford University Press, New York, USA. 592 p.
- WILSON, S. E. 2005. Keys to the families of Fulgoromorpha with emphasis on planthoppers of potential economic importance in the Southeastern United States (Hemiptera: Auchenorrhyncha). *Florida Entomologist* 88 (4): 464-481.
- WOOTTON, R. J. 1965. Evidence for tracheal capture in early Heteroptera. *Proceedings of the 12th International Congress of Entomology* 65-67.
- WOOTTON, R. J.; AND C. R. BETTS, C. R. 1986. Homology and function in the wings of Heteroptera. *Systematic Entomology* 11 (3): 389-400.
- WYGODZINSKY, P. 1950. Contribution towards the knowledge of the family "Cryptostemmatidae" (Hemiptera). *Revista Brasileira de Biologia* 10: 377-392.
- WYGODZINSKY, P.; SCHMIDT, K. 1991. Revision of the new world Enicocephalomorpha (Heteroptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 200: 1-265.
- YANG, C.-T. 2004. The phylogeny of Hemiptera (Homoptera-Heteroptera). *Journal of Agriculture and Forestry* 53 (1): 51-78.
- YEH, W. B.; YANG, C. T. 1999. Fulgoromorpha phylogeny based on 28S rDNA nucleotide sequence. *Chinese Journal of Entomology* 11: 87-111.
- YEH, W. B.; YANG, C. T.; HUI, C. F. 1998. Phylogenetic relationships of the Tropiduchidae-group (Homoptera: Fulgoroidea) of planthoppers inferred through nucleotide sequences. *Zoological Studies* 37 (1): 45-55.
- YEH, W. B.; YANG, C. T.; HUI, C. F. 2005. A molecular phylogeny of planthoppers (Hemiptera: Fulgoroidea) inferred from mitochondrial 16S rDNA sequences. *Zoological Studies* 44 (4): 519-535.
- YOSHIZAWA, K. 2007. The Zoraptera problem: evidence for Zoraptera + Embiodea from the wing base. *Systematic Entomology* 32: 197-204.
- YOSHIZAWA, K.; JOHNSON K. P. 2005. Aligned 18S for Zoraptera (Insecta): Phylogenetic position and molecular evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 572-580.
- YOSHIZAWA, K.; JOHNSON K. P. 2006. Morphology of male genitalia in lice and their relatives and phylogenetic implications. *Systematic Entomology* 31: 350-361.
- YOSHIZAWA, K.; SAIGUSA, T. 2001. Phylogenetic analysis of paraneopteran orders (Insecta: Neoptera) based on forewing base structure, with comments on monophyly of Auchenorrhyncha (Hemiptera). *Systematic Entomology* 26: 1-13.
- ZAHNISER, J. N. 2007. An interactive key to Deltocephaline-related tribes. Available at: <<http://ctap.inhs.uiuc.edu/zahniser/key.asp?key=Delt&lng=En&i=1&keyN=1>>. [Accessed: February 2008].
- ZAHNISER, J. N.; DIETRICH, C. H. 2008. Phylogeny of the leafhopper subfamily Deltocephalinae (Insecta: Auchenorrhyncha: Cicadellidae) and related subfamilies based on morphology. *Systematics and Biodiversity* 6 (1): 1-24.
- ZRZAVÝ, J. 1990. Evolution of Hemiptera: an attempt at synthetic approach., pp. 19-22. In: 6th international Symposium of Scale Insects Studies, Cracow.
- ZRZAVÝ, J. 1992. Evolution of antennae and historical ecology of the hemipteran insects (Paraneoptera). *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 89 (2): 77-86.

Recibido: 12-dic-2007 • Aceptado: 21-mar-2008

Sección Agrícola

Preformulados para control de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) en condiciones de laboratorio

Preformulations for control of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) under laboratory conditions

CARLOS ESPINEL¹, LISSETTE TORRES², ERIKA GRIJALBA³, LAURA VILLAMIZAR⁴, ALBA MARINA COTES⁵

Resumen: *Bemisia tabaci* es una plaga de importancia económica debido a su amplia distribución geográfica, al daño que ocasiona, y al gran número de cultivos que afecta. En Colombia el control biológico mediante el uso de bioplaguicidas surge como una alternativa promisorio para programas de manejo integrado de plagas. Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue desarrollar y evaluar preformulados con base en hongos entomopatógenos nativos contra *B. tabaci*. Se evaluaron diferentes sustratos para la producción masiva de los aislamientos Bv 056 de *Beauveria bassiana*, Pc 013 de *Paecilomyces* sp. y V1 026 de *Lecanicillium lecanii*. Se seleccionó como el de mayor rendimiento y fácil manipulación un sustrato sólido con base en cereales que presentó un rendimiento promedio de 1×10^9 conidios/g. El principio activo del bioplaguicida consistente en los conidios separados del medio de cultivo fue caracterizado microbiológicamente y físicamente. Se evaluó bajo condiciones de laboratorio el efecto de los preformulados sobre ninfas de segundo instar, infestando folíolos de frijol y aplicándolos a una concentración de 1×10^8 conidios/mL. Se produjo el mayor porcentaje de eficacia con el preformulado a base de *B. bassiana* con un 96,5% a los 14 días postaplicación, seguido por los preformulados de *Paecilomyces* sp. y *L. lecanii*, con 81,8% y de 70%, respectivamente.

Palabras clave: Hongo entomopatógeno. Preformulación. Producción masiva. Insecticida microbiano. Control biológico.

Abstract: The whitefly *Bemisia tabaci* is an economically important insect due to its worldwide distribution, the damage it causes and the great variety of crops it affects. In Colombia, biological control with biopesticides is emerging as a promising alternative for integrated pest management programs. For this reason, the objective of the present work was to develop and evaluate preformulations based on native entomopathogenic fungi against *B. tabaci*. Different substrates were evaluated for mass production of the isolates Bv 056 of *Beauveria bassiana*, Pc 013 of *Paecilomyces* sp. and V1 026 of *Lecanicillium lecanii*. A solid cereal-based substrate was selected because of its higher yield and easy manipulation with a conidia production of 1×10^9 conidia/g. The active component of the biopesticide, constituting the conidia separated from the culture medium, was microbiologically and physically characterized. The effect of the preformulations was evaluated under laboratory conditions against second instar nymphs on bean plants by spraying a concentration of 1×10^8 conidia/mL of each isolate. The greatest percent efficacy was produced by the *B. bassiana* preformulation with 96.5% mortality 14 days after inoculation, followed by the preformulations of *Paecilomyces* sp. and *L. lecanii*, with 81.8% and 70%, respectively.

Key words: Entomopathogen fungi. Preformulation. Massive production. Biopesticide. Biological control.

Introducción

El complejo mosca blanca cuenta con más de 1.200 especies (López y García 2000). Dentro de éstas, *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) es una de las más limitantes debido al gran número de hospedantes que ataca, a los daños directos e indirectos que ocasiona, a su amplia distribución geográfica y a la ineficiencia de los insecticidas químicos, debido a su capacidad de generar resistencia a productos organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides (Rodríguez y Cardona 2001).

La mosca blanca *B. tabaci* se ha encontrado atacando más de 500 especies de plantas agrupadas en 74 familias, en hospedantes que incluyen, tomate, pepino, habichuela, frijol, papa, maní, algodón, soya, melón, patilla y ornamentales como crisantemo y poinsettia (McAuslane 2000). Los daños ocasionados por el insecto se pueden producir por la succión de sa-

via ocasionando el debilitamiento de la planta y/o manchas cloróticas. En ataques intensos se producen síntomas de deshidratación, disminución o detención del crecimiento; de igual forma, la excreción de miel de rocío sobre hojas, flores y frutos proporcionalmente el medio adecuado para el establecimiento del hongo *Capnodium* sp., lo cual ocasiona reducción de la fotosíntesis y respiración de la planta, disminución en la calidad de la cosecha y mayores gastos de comercialización. Asimismo, *B. tabaci* es transmisora de virus patógenos en diversos cultivos, tales como el virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate, el virus dorado del tomate, el virus moteado del tomate y el virus del mosaico dorado del frijol (Infoagro 2004). En algunos cultivos, tales como tomate, la presencia de un solo adulto de mosca blanca por planta es suficiente para causar el 100% de infección con geminivirus (Faria y Wraight 2001).

¹ Autor para correspondencia: Biólogo. M. Sc. Investigador Laboratorio de Control Biológico, CORPOICA, C.I. Tibaitatá. Km 14. vía Mosquera. Teléfono: 4227300 Ext. 1409, Fax: 4227328. cespinelc@gmail.com.

² Bióloga. lissettorrestorres@hotmail.com.

³ Q. F. Investigadora Laboratorio de Control Biológico, CORPOICA, C.I. Tibaitatá. akirep@tutopia.com.

⁴ Q. F. M. Sc. Investigadora Laboratorio de Control Biológico, CORPOICA, C.I. Tibaitatá. laurafernandav@yahoo.es.

⁵ Ph. D. Investigadora Laboratorio de Control Biológico, CORPOICA, C.I. Tibaitatá. acotes@corpoica.org.co.

Los hongos entomopatógenos *Beauveria* spp., *Paecilomyces* spp. y *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) han sido reconocidos como importantes agentes de control biológico para plagas de la familia Aleyrodidae, en cultivos tanto en campo como en invernadero, atacando principalmente estados ninfales (Wraight *et al.* 1998; Faria y Wraight 2001). Wraight *et al.* (1998), registraron niveles de mortalidad sobre ninfas de *B. tabaci* entre el 68 y el 94%, ocasionados por *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) Brown & Smith. Herrera *et al.* (1999) evaluaron aislamientos de *Beauveria* spp., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin y *P. fumosoroseus* bajo condiciones de laboratorio, los cuales ocasionaron porcentajes de mortalidad superiores al 50%. Asimismo, en un estudio en el cual se evaluaron 50 aislamientos de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin sobre ninfas de *B. tabaci* se encontraron porcentajes de mortalidad que variaron entre el 10% y el 93% (Vidal *et al.* 1997).

En trabajos previos, el Laboratorio de Control Biológico del Programa de Manejo Integrado de Plagas de CORPOICA realizó investigaciones encaminadas hacia la búsqueda y selección de microorganismos entomopatógenos para el control *B. tabaci*. Es así como se hicieron muestreos en los departamentos de Tolima, Valle del Cauca, Magdalena y Atlántico, seleccionando los aislamientos Bv 056 de *B. bassiana*, Pc 013 de *Paecilomyces* sp. por ocasionar porcentajes de mortalidad del 58,6% y 91,7%, respectivamente a los 13 días de aplicación bajo condiciones de laboratorio (Espinel *et al.* 2004). Asimismo, el aislamiento V1 026 de *Lecanicillium lecanii* (= *Vérticillium lecanii*) previamente seleccionado por ocasionar el 100% de mortalidad sobre ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) (García 1996) fue evaluado contra *B. tabaci* obteniéndose el 47% de eficacia (Espinel *et al.* 2004). Actualmente, este microorganismo constituye el principio activo de un bioplaguicida que al ser evaluado en un cultivo de habichuela, ocasionó un porcentaje de infección del 76,8% y una producción de 11,7 Ton/ha en contraste con 7 Ton/ha obtenidas en el tratamiento en el que se aplicaron insecticidas químicos (Jiménez 2002). Este mismo producto al ser evaluado en un cultivo de tomate bajo invernadero produjo un porcentaje de infección de 68,1% sobre el estado ninfal, porcentaje que fue significativamente diferente con respecto al tratamiento correspondiente a la combinación del bioplaguicida con insecticidas químicos (36,6%). Asimismo, el tratamiento con el bioplaguicida produjo la mayor producción, siendo ésta de 68 kg/ha (Garzón 2004).

Debido al impacto económico ocasionado por *B. tabaci* y a las dificultades que existen para su control, es necesario usar bioplaguicidas que tengan diferentes microorganismos como principio activo, ya que esto representa un componente central en programas de Manejo Integrado de Plagas. Sin embargo, para garantizar que el bioplaguicida aplicado sea seguro, eficaz y confiable, es necesario cumplir con varias etapas dentro de su desarrollo, tales como la selección de un medio de producción masiva adecuado, la caracterización microbiológica, la determinación de su estabilidad ante la radiación ultravioleta y su actividad biocontroladora. Por tal razón, el presente trabajo buscó seleccionar sustratos de producción masiva para los aislamientos de hongos entomopatógenos, desarrollar los preformulados a base de los aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces* sp. y evaluar su actividad biocontroladora bajo condiciones de laboratorio.

Materiales y Métodos

Selección de sustratos de producción masiva. Teniendo en cuenta que la producción masiva de hongos entomopatógenos en medio sólido se realiza generalmente empleando como sustrato granos de cereales y leguminosas (Taborsky 1992, citado por Caro *et al.* 2005), se decidió utilizar los sustratos arroz, millo, avena y soya.

Con el aislamiento Bv056 de *Beauveria bassiana*, se evaluaron dos sistemas de producción masiva previamente estandarizados en el Laboratorio de Control Biológico de CORPOICA para la producción de otros aislamientos de esta misma especie. El primero consistió en arroz precocido estéril con un inductor de virulencia (IV) previamente seleccionado, contenidos en bolsas de polietileno de alta densidad y el segundo en avena con el inductor de virulencia (IV) mantenidos en bandejas metálicas.

Las bolsas se inocularon con dos fragmentos de 1cm² de un cultivo del microorganismo mantenido en cajas de Petri con medio PSA (Papa Sacarosa Agar) de 8 días de edad. La inoculación de cada bandeja se hizo con 5 mL de una suspensión de conidios, ajustada a una concentración de 1×10^7 conidios/mL.

Cada uno de los sistemas de producción fue incubado a 25°C durante 10 días. Transcurrido este tiempo se evaluó el rendimiento de conidios por gramo de sustrato mediante recuento en cámara de Neubauer, para ello se tomó 1 g del sustrato mantenido en bolsas y tres muestras de 1 cm² del sustrato proveniente de bandejas.

Para el aislamiento Pc013 de *Paecilomyces* sp., se evaluaron dos sistemas de producción masiva y cuatro sustratos que consistieron en bolsas con arroz o millo y bandejas con soya o avena. Adicionalmente, a cada sustrato se le adicionó el inductor de virulencia (IV). Las bolsas se inocularon con 2 mL y las bandejas con 5 mL de un preinóculo de *Paecilomyces* sp. preparado en medio líquido Saboureaud a una concentración de 1×10^6 conidios/mL. Posteriormente, cada uno de los sistemas de producción fue incubado a 25°C durante ocho días y se determinó el rendimiento de conidios por gramo de sustrato, de la misma manera descrita anteriormente. El diseño experimental fue completamente al azar y se utilizaron tres unidades experimentales por tratamiento. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y a la prueba de Diferencias Mínimas Significativas (DMS).

Desarrollo de los preformulados. A partir de los sistemas de producción masiva seleccionados para los aislamientos Bv056 de *B. bassiana* y Pc013 de *Paecilomyces* sp., se obtuvo la biomasa fúngica mediante lavado del sustrato colonizado con una solución de Tween 80 al 0,5% y posteriormente el líquido de lavado se centrifugó a 4.500 rpm por 30 minutos. Al sedimento constituido por los conidios de cada uno de los entomopatógenos, se le determinó el porcentaje de germinación antes y después de adicionarse los auxiliares de formulación previamente seleccionados, los cuales incluyeron filtros UV, diluentes, adherentes y tensioactivos.

Una vez realizada la mezcla de los conidios de cada uno de los microorganismos con los auxiliares de formulación, ésta se liofilizó durante 24 horas. Posteriormente, el producto seco fue triturado y tamizado en una malla con tamaño de poro de 100 micras. Los preformulados fueron caracterizados, determinando su germinación mediante la suspensión de 0,1 g de

cada uno de ellos en 10 mL de Tween 80 al 0,5% y se realizaron las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} , de las cuales fueron sembrados 100 microlitros en medio Agar–Extracto de Malta por triplicado, mantenido en cajas de Petri. Éstas se incubaron a 25°C durante 18 y 24 horas y posteriormente se determinó el porcentaje de germinación para cada tiempo, mediante la observación de 10 campos ópticos por repetición, en un microscopio de luz en el que se contó el número de conidios germinados y no germinados. Para cada dilución se utilizaron tres réplicas. Así mismo, se determinaron la concentración del producto mediante recuento en cámara de Neubauer, el contenido de humedad en una balanza de humedad Ohaus Modelo MB 45 y el tamaño de partícula por microscopía según la metodología descrita por Helman (1982). Cada característica fue determinada por triplicado utilizando tres muestras de cada preformulado.

Determinación de la actividad biocontroladora. Para esta evaluación, la infestación del material vegetal se hizo tomando plantas de frijol variedad ICA-Calima, las cuales se sembraron en materas plásticas de 10 cm de diámetro, mantenidas bajo condiciones de laboratorio a una temperatura de 25 + 5°C y con una humedad relativa de 70 + 10%. Estas plantas con un trifolío formado, se infestaron recluyendo 20 adultos de *B. tabaci* en jaulas pinza por 36 horas para asegurar suficiente oviposición. Posteriormente, los adultos se retiraron y se hicieron observaciones diarias hasta evidenciar la presencia del segundo instar ninfal.

Una vez observado el estado de desarrollo de la plaga requerido, se aplicaron los tratamientos que consistieron en los preformulados ajustados a la concentración de 1×10^7 conidios/mL, mediante un microaspersor con una presión de 50 psi y un volumen de 3 ml por trifolío. Conjuntamente con los preformulados desarrollados a base de *B. bassiana* y *Paecilomyces* sp. se evaluó el insecticida microbiano a base de *Lecanicillium lecanii* debido a que presenta porcentajes de infección superiores al 68% sobre *Trialeurodes vaporariorum* bajo condiciones de campo, desconociéndose su efecto sobre *B. tabaci*; además, se podría contar con una alternativa de control en aquellos cultivos en los que haya presencia de las dos especies de mosca blanca. De igual forma se aplicaron los tres microorganismos sin formular y producidos en el sustrato de producción masiva seleccionado, asimismo se contó con un testigo absoluto, en el cual no se le hizo ninguna aplicación a los folíolos con ninfas de mosca blanca.

Al sexto día post aplicación se realizó el conteo de las ninfas totales y ninfas enfermas que presentaron cambio de coloración y pérdida de turgencia, evidenciada por un aplastamiento corporal. Al día 14 se contaron los adultos emergidos, evidenciados por las exuvias presentes. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con siete repeticiones por tratamiento. Se determinó el porcentaje de eficacia de cada uno de los aislamientos, mediante la fórmula de Schneider-Orelli (Zar 1999):

$$\text{Porcentaje de eficacia} = ((b - k) / (100 - k)) \times 100$$

Donde **b** equivale al porcentaje de individuos muertos en el tratamiento y **k** equivale al porcentaje de individuos muertos en el testigo absoluto. Adicionalmente se realizó un análisis de varianza y una prueba de diferencias mínimas significativas (DMS).

Resultados y Discusión

Selección de sustratos de producción masiva. En los dos sistemas de producción masiva de *B. bassiana* hubo colonización completa del sustrato con abundante micelio blanco y posterior esporulación pulverulenta de color castaño. Según la prueba DMS, no se presentaron diferencias significativas en los rendimientos con los dos sustratos de producción, posiblemente debido a que las dos matrices sólidas presentaron un alto contenido de nutrientes que permitieron un desarrollo similar. En arroz, el rendimiento fue de 1.5×10^9 conidios/g y en avena fue de 2.5×10^9 conidios/g. De igual manera, no hubo diferencias significativas en la producción masiva de *Paecilomyces* sp. con los sustratos evaluados; los rendimientos fueron de 1.19×10^9 conidios/g en arroz, 1.44×10^9 conidios/g en avena, 8.43×10^8 conidios/g en millo y de 1.16×10^9 conidios/g en soja. Esto indica que *Paecilomyces* sp. se desarrolla igualmente con cualquiera de los cuatro sustratos. En la elaboración del bioplaguicida sólido la separación de la biomasa se hizo por vía húmeda, siendo en este caso más adecuado trabajar con arroz y millo debido a que se facilitó dicho proceso pues los conidios del hongo presentaron mayor hidrofiliidad, facilitándose su lavado. Sin embargo, finalmente se decidió emplear como matriz de producción el arroz mantenido en bolsas de polietileno, debido a que su inferior costo al del millo y a que presenta mayor producción de conidios por gramo.

Según Samsinakova y Kalalova (1980), las principales condiciones que se deben tener en cuenta para la producción de microorganismos entomopatógenos son la selección de cepas capaces de producir esporas altamente virulentas, un medio adecuado para la producción óptima de estos conidios a bajo costo, y procesos de formulación y almacenamiento adecuados. En el trabajo desarrollado por estos autores se emplearon sorbitol y peptona como fuentes de carbono y nitrógeno para la producción masiva de *B. bassiana* obteniendo rendimientos de 1×10^{10} conidios/cm²; sin embargo, estos sustratos son costosos y su utilización para la producción masiva resulta poco rentable. Caso contrario a lo obtenido en el presente estudio donde hubo rendimientos inferiores pero utilizando sustratos más económicos. Estas diferencias en los rendimientos, podrían deberse a características propias de cada aislamiento o al efecto del medio de cultivo, ya que la asimilación de carbono en el sorbitol es más baja que en los sustratos arroz y avena, los cuales son ricos en almidón. Asimismo, la alta concentración de fuente de carbono en el medio avena podría haber afectado negativamente la esporulación, ya que como lo reportó Humphreys *et al.* (1989), la concentración de este nutriente está directamente relacionada con la producción de micelio e inversamente relacionada con la esporulación.

Desarrollo de los preformulados. El producto formulado con base en *B. bassiana* consistió en un polvo mojabable suspendido en un concentrado emulsificable para aplicación foliar y presentó características adecuadas para este tipo de producto. La germinación de los conidios contenidos en el preformulado fue del 95% y la prueba DMS ($P > 0,001$) no encontró diferencias estadísticas con respecto a la germinación de las células antes de formular, siendo ésta del 98%. Este resultado sugiere que el proceso de formulación no afectó la viabilidad de las células y el producto seco presentó una germinación adecuada para asegurar su efectividad en campo. Por otra parte, la concentración del producto fue de 10^{10} conidios/g y la humedad

del 4,8%, la cual cumple con lo recomendado por diferentes autores (Butt *et al.* 2001).

El tamaño de partícula de este preformulado fue de 45 micrómetros, el cual facilita su suspensión en el volumen de reconstitución, disminuyendo la velocidad de sedimentación de las mismas y evitando el taponamiento de las boquillas de los equipos, cuando sea aplicado en campo.

El preformulado con base en *Paecilomyces* sp. se elaboró de igual forma como un polvo mojable suspendido en un concentrado emulsificable para aplicación foliar. Los conidios de la formulación presentaron un porcentaje de germinación del 80%, siendo estadísticamente diferente al obtenido con los conidios antes de formular, el cual fue del 97%. Los resultados sugieren que la germinación del hongo se vio afectada por el proceso de separación o formulación o por alguno de los auxiliares de formulación empleados, por lo que surge la necesidad de evaluar otros excipientes para la formulación que no afecten la viabilidad del microorganismo. Este efecto posiblemente se debió al filtro U.V, el cual demostró en pruebas preliminares tener un efecto negativo sobre la germinación de los conidios. Así mismo, el excipiente utilizado como protector de secado y/o la proporción de éste, posiblemente no fueron los indicados para garantizar la viabilidad de los conidios en esta etapa tecnológica.

La concentración en el producto fue de $2,45 \times 10^{10}$ conidios/g y se encuentra dentro del límite preestablecido en el Laboratorio de Control Biológico para los bioplaguicidas desarrollados. Esta concentración fue similar a la registrada por Villamizar y Cotes (2004), para un insecticida microbiano a base de *L. lecanii* para el control de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum*, la cual fue de 1×10^{10} conidios/g. El porcentaje de humedad fue menor al 5%, valor que se encuentra entre el límite de aceptación para estos productos biológicos, puesto que bajo estas condiciones de humedad el metabolismo de los hongos se hace más lento, lo que contribuye a aumentar su estabilidad y por tanto su vida útil (Butt *et al.* 2001).

Determinación de la actividad biocontroladora. Al determinar la actividad biocontroladora de los productos a base de *B. bassiana*, *Paecilomyces* sp. y *L. lecanii*, se encontró que a los seis días post aplicación el mayor porcentaje de mortalidad lo causó el preformulado a base de *B. bassiana* con un 76,5%; la prueba DMS no encontró diferencias significativas con la mortalidad ocasionada por los conidios sin formular, el cual produjo el 66,5%; pero sí presentó diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Cuando se evaluó el aislamiento de *Paecilomyces* sp., se encontró un comportamiento similar al obtenido con el de *B. bassiana*, debido a que el mayor porcentaje de mortalidad se presentó con los conidios formulados en comparación con los no formulados, siendo estos del 52,1% y 42,8%, respectivamente. Caso contrario ocurrió con el aislamiento de *L. lecanii*, cuyos conidios sin formular produjeron una mayor mortalidad que los formulados, siendo de 56,2% y de 40,9% respectivamente (Fig. 1).

A los 14 días post aplicación, no se presentaron diferencias significativas entre los porcentajes de eficacia producidos por el preformulado con base en *B. bassiana* y los conidios sin formular de *Paecilomyces* y *L. lecanii*, los cuales fueron del 96,5%, 95,2% y 92,9%, respectivamente. Adicionalmente, no se presentaron diferencias significativas entre los porcentajes de eficacia alcanzados por los conidios sin formular de

B. bassiana y los preformulados con base en *Paecilomyces* y *L. lecanii* (Fig. 2).

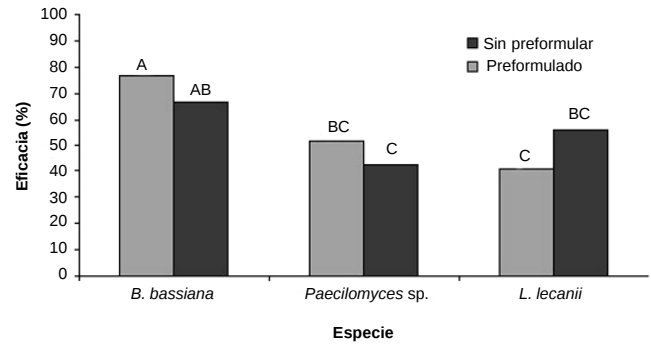


Figura 1. Efecto de los preformulados con base en *B. bassiana* y *Paecilomyces* sp. y del insecticida microbiano con base en *L. lecanii* sobre ninfas de *B. tabaci* a los seis días de aplicación. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas.

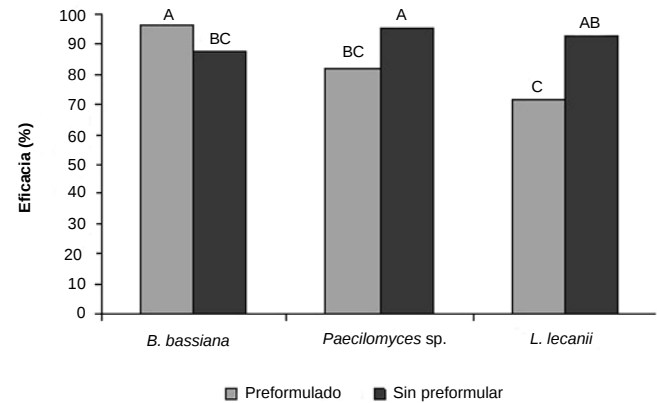


Figura 2. Efecto de los preformulados con base en *B. bassiana* y *Paecilomyces* sp. y del insecticida microbiano con base en *L. lecanii* sobre ninfas de *B. tabaci* a los catorce días de aplicación. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas.

Al comparar los resultados del presente estudio con los registrados por Espinel *et al.* (2004) en el cual se seleccionaron estos mismos aislamientos, los porcentajes de eficacia presentaron un incremento del 3,59%, 29,1% y 45,9% para los mismos aislamientos de *Paecilomyces* sp., *B. bassiana* y *L. lecanii* respectivamente, para el día 14 de evaluación. Esto podría estar relacionado con un efecto del medio de crecimiento del microorganismo sobre su actividad biocontroladora; debido a que en el ensayo de selección de aislamientos los microorganismos se sembraron en medio de cultivo YDB (Espinel *et al.* 2004) y en el presente estudio para la selección de preformulados se utilizaron sustratos de producción masiva los cuales pudieron activar algunos factores determinantes en el mecanismo de acción de los microorganismos. Tal es el caso de un mejoramiento en la capacidad de adherencia de las células, ya sea por modificación en la carga de la pared celular o por un aumento en la producción de mucílago que media el proceso de adhesión a la cutícula del insecto. También po-

drían haber aumentado la velocidad de germinación de los conidios, la producción de enzimas como quitinasas o la producción de toxinas que determinan la capacidad de virulencia del microorganismo (Lezama 1994).

Por otra parte, hubo una reducción significativa en los porcentajes de eficacia producidos por el aislamiento de *Paecilomyces* sp. sin formular con respecto al preformulado, los cuales fueron del 95,29% y 81,8% respectivamente, al día 14 de la evaluación. Este mismo efecto se observó para el caso del aislamiento de *L. lecanii*, pero no fue significativo. En contraste, se observó un incremento significativo en los porcentajes de eficacia ocasionados por el preformulado con base en el aislamiento de *B. bassiana*, en comparación con los conidios no formulados.

Cabe destacar que los preformulados fueron evaluados en condiciones de laboratorio, en las que no hay factores ambientales negativos que podrían influenciar la viabilidad de los entomopatógenos. Bajo estas condiciones, se encontró que los excipientes utilizados en el desarrollo del preformulado con base en *B. bassiana* podrían haber favorecido su actividad biocontroladora contra *B. tabaci*, contrario a lo sucedido con *Paecilomyces* sp. y *L. lecanii*. El incremento en la mortalidad cuando el microorganismo es formulado concuerda con estudios realizados por Gómez *et al.* (2005), quienes al evaluar virus de la granulosis formulados sobre *Tecia solanivora* (Povolny, 1973), encontraron porcentajes de eficacia entre el 88% y 100%, resultados significativamente diferentes a los obtenidos por los aislamientos sin formular con un porcentaje de eficacia entre el 36% y 86%. En contraste, Villamizar *et al.* (2004), al evaluar diferentes prototipos de formulación de *Nomuraea rileyi* para el control de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), encontraron una disminución en el porcentaje eficacia hasta del 57% en comparación con este mismo microorganismo sin formular, indicando en este último caso que la formulación afectó la actividad biocontroladora.

Otro aspecto por considerar es que a pesar de no ser objetivo del trabajo, se debe tener en cuenta la influencia que puede ejercer la planta hospedante sobre los resultados de eficacia de los hongos entomopatógenos. Santiago-Álvarez *et al.* (2006), encontraron diferencias en la mortalidad de *B. bassiana* sobre *B. tabaci* y *T. vaporariorum* cuando éstas se criaron sobre tabaco, pepino, tomate, frijol, repollo, melón, pimentón y algodón. A los siete días después de la inoculación la mortalidad tuvo un rango entre el 52,3% al 91,8%.

Por esta razón es importante evaluar los prototipos desarrollados en condiciones de campo, ya que es bajo condiciones ambientales drásticas en que se podrían apreciar las ventajas de la formulación. Tal es el caso de una formulación desarrollada a base del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* para el control de la langosta llanera *Rhammatocerus schistocercoides* (Rhen, 1906) (Orthoptera: Acrididae), la cual al evaluarse bajo condiciones de campo ocasionó una mortalidad del 67,8% en comparación con los conidios del hongo sin formular con los que la mortalidad fue del 9,5% (Espinel *et al.* 1998).

Literatura citada

- BUTT, T.; JACKSON, C.; MAGAN, N. 2001. Fungi as biocontrol agents, progress, problems and potential. CABI Publishing, UK, 259 p.
- CARO, L.; VILLAMIZAR, L.; ESPINEL, C.; COTES, A. 2005. Efecto del medio de cultivo en la virulencia de *Nomuraea rileyi* sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Revista Colombiana de Entomología 31 (1): 79-88.
- ESPINEL, C.; EBRATT, E.; COTES, A. 1998. Evaluación de cepas nativas de *Metarhizium anisopliae* para el control de *Rhammatocerus schistocercoides* (Orthoptera: Acrididae). Revista Colombiana de Entomología 24 (1-2): 1-6.
- ESPINEL, C.; TORRES, L.; GARCÍA, J.; GONZÁLEZ, V.; COTES, A. 2004. Aislamiento y selección de hongos entomopatógenos para el control de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). En: Resúmenes del XXXI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá. pp. 99.
- FARIA, M.; WRIGHT, S. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. Crop protection 20: 767-778.
- GARCÍA, J. 1996. Evaluación de cepas nativas de *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Trabajo de grado Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. 121 p.
- GARZÓN, I. 2004. Evaluación de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* aplicado con un equipo neumático, para el control de *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). Trabajo de grado. Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. 48 p.
- GÓMEZ, J., VILLAMIZAR, L., ESPINEL, C., COTES, A. 2005. Evaluación de tres virus de la granulosis nativos aislados a partir de *Tecia solanivora* en el departamento de Cundinamarca. En: Resúmenes del XXXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Ibagué. pp. 81.
- HELMAN, H. 1982. Farmacotécnica teórica y práctica. Segunda edición. Editorial Continental. Ciudad de México. p 1685-1750.
- HERRERA, F.; CARBALLO, M.; SHANNON, P. 1999. Eficacia de cepas nativas de hongos entomopatógenos sobre *Bemisia tabaci* en el laboratorio. <<http://web.catie.ac.cr/informacion/RMIP/rmip54/art6-a.htm>>. [Fecha última revisión: 5 noviembre 2005].
- HUMPHREYS, A.; MATEWELE, P.; TRINCI, B.; GILLESPIE, A. 1989. Effects of water activity on morphology, growth and blastospore production on *M. anisopliae*, *B. bassiana* and *P. farinosus* in batch and fed batch culture. Mycological Research 92: 257-264.
- INFOAGRO. 2004. Métodos de control de la mosca blanca *Bemisia tabaci*. <<http://www.infoagro.com/abonos/moscablanca.htm>>. Fecha última revisión: 19 octubre 2005. [Fecha último acceso: 27 octubre 2005].
- JIMÉNEZ, L. 2002. Evaluación de técnicas de aplicación de un bioplaguicida a base de *Verticillium lecanii*, para el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* en un cultivo de habichuela. Trabajo de grado Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. 83 p.
- LEZAMA, R. 1994. Patogenicidad de hongos parásitos de insectos. En: I Seminario Patología. FCBA. U de Tecmán, Colima. pp. 47-69.
- LÓPEZ, A.; GARCÍA, J. 2000. Manejo Integrado sostenible de moscas blancas como plagas y vectores de virus en los trópicos. 1. Reconocimiento, diagnóstico y caracterización de moscas blancas como plagas en el trópico alto de América Latina. Informe final. Convenio Danida - Corpoica. CIAT. 43 p.
- McAUSLANE, H. 2000. Sweet potato whitefly B biotype or silverleaf whitefly. <<http://www.nysaea.cornell.edu/ent/biocontrol/parasitoids/whitefly>>. Fecha última revisión: 10 octubre 2005. [Fecha último acceso: 25 octubre 2005].
- RODRÍGUEZ, I.; CARDONA, C. 2001. Problemática de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestres en el Valle del Cauca. Revista Colombiana de Entomología 27 (1-2): 21-26.

- SAMSINAKOVA, B.; KALALOVA, S. 1980. Mass production of *Beauveria bassiana* for regulation of *Leptinotarsa decemlineata* populations. *Journal of Invertebrate Pathology* 38: 169-174.
- SANTIAGO-ÁLVAREZ, C.; MARANHÃO, E.; MARANHÃO, E.; QUESADA-MORAGA, E. 2006. Host plant influences pathogenicity of *Beauveria bassiana* and its sporulation on cadavers. *Bicontrol* 51: 519-532.
- VIDAL, C.; LACEY, L.; FARGUE, J. 1997. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia argentifolli* (Homoptera: Aleyrodidae) with a description of a bioassay method. *Journal of Economic Entomology* 90: 765-772.
- VILLAMIZAR, L.; ARRIERO, C.; BOSA, F.; COTES, A. 2004. Desarrollo de preformulados a base de *Nomuraea rileyi* para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología* 30 (1): 99-105.
- VILLAMIZAR, L.; COTES, A. 2004. Desarrollo de un bioplaguicida a base de *Verticillium lecanii* para el control de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). En: Resúmenes del XXXI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá. pp. 101.
- WRAIGHT, S.; CARRUTHERS, R.; BRADLEY, C.; JARONSKI, S.; LACEY, L.; WOOD, P.; GALINI – WHAIGHT, S. 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly *Bemisia argentifolli*. *Journal of Invertebrate Pathology* 71: 217-226.
- ZAR, J. 1999. Biostatistical analysis. Cuarta edición. Prentice Hall. New Jersey. 663 p.

Recibido: 25-mar-2006 • Aceptado: 13-mar-2008

Desarrollo y reproducción de *Bemisia tabaci* “B” (Hemiptera: Aleyrodidae) sobre genotipos de yuca (*Manihot esculenta*)

Development and reproduction of *Bemisia tabaci* “B” (Hemiptera: Aleyrodidae) on cassava (*Manihot esculenta*) genotypes

ARTURO CARABALÍ^{1,2}, JAMES MONTTOYA-LERMA², ANTHONY C. BELLOTTI³

Resumen: Los geminivirus del mosaico de la yuca (CMGs) (Geminiviridae, *Begomovirus*) y su vector la mosca blanca, *Bemisia tabaci*, ocasionan las mayores pérdidas en el rendimiento de raíces a cultivos de yuca en África y Asia. Evidencias recientes sugieren que *B. tabaci* representa un complejo de poblaciones indistinguibles morfológicamente con numerosos biotipos. En las Américas, aunque la yuca parece no ser un hospedero conveniente para el polífago biotipo B, se ha postulado que la ausencia de CMGs y daño mecánico están relacionados con la inhabilidad de este biotipo para colonizar eficientemente este cultivo. No obstante, resultados previos han demostrado que su adaptación a yuca, vía hospederos alternos, es un riesgo que debe tenerse siempre en mente. Este estudio tuvo como objetivo principal evaluar el desarrollo y la reproducción del biotipo B de *B. tabaci* al alimentarse sobre tres genotipos de *M. esculenta* (MEcu72, CG489-34 y CMC-40). A través de bioensayos bajo condiciones controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 70 ± 5 HR, 12L:12O) se evaluó longevidad, fecundidad, supervivencia y parámetros demográficos, mediante tablas de vida. Aunque las longevidades medias para MEcu72, CG489-34 y CMC-40 fueron similares (6,3, 5,07 y 3,9 días, respectivamente), CMC-40 presentó la tasa de oviposición más baja (0,49 huevos/hembra/2días) comparada con MEcu72 (0,89) y CG489-34 (0,86). Con una tasa de supervivencia muy baja (0,03) MEcu72 fue el único genotipo donde el biotipo B completó su desarrollo de huevo a adulto, necesitando 55,1 días. Los resultados son discutidos evaluando el potencial de adaptación de *B. tabaci* en Sur América sobre genotipos comerciales de yuca.

Palabras clave: Tablas de vida. Moscas blancas. Supervivencia.

Abstract: The geminiviruses of cassava mosaic virus (CMGs) (Geminiviridae, *Begomovirus*) and their whitefly vector, *Bemisia tabaci*, produce the major losses in root yield of cassava crops in Asia and Africa. Recent evidence suggests that *B. tabaci* represents a complex of morphologically indistinguishable populations with numerous biotypes. In the Americas, although cassava seems not to be a suitable host for the polyphagous biotype B, it has been postulated that the absence of CMGs and the mechanical damage are related with incapability of this biotype to colonize efficiently this crop. However, previous studies have demonstrated that their adaptation to cassava, via alternate hosts, is a risk that must always be kept in mind. The main objective of this study was to evaluate the development and reproduction of *B. tabaci* biotype B feeding on three genotypes of *M. esculenta* (MEcu72, CG489-34 and CMC-40). Bioassays, carried out under controlled conditions ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 70 ± 5 RH; 12:12 LD), were used to evaluate longevity, fecundity, reproduction and demographic parameters through life tables. Although mean values for longevity were similar in MEcu72, CG489-34 and CMC-40 (6.3, 5.07, and 3.9 days, respectively) CMC-40 showed the lowest oviposition rate (0.49 eggs/female/2days) compared with MEcu72 (0.89) and CG489-34 (0.86). With a very low survival rate (0.03), MEcu72 was the only genotype where the biotype B was able to complete its development from egg to adult, requiring 55.1 days. Results are discussed in terms of evaluating the potential adaptation of *B. tabaci* on commercial cassava genotypes.

Key words: Life tables. Whiteflies. Survival.

Introducción

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz, 1766) contribuye significativamente a la nutrición y calidad de vida de más de 500 millones de personas, miles de procesadores y comerciantes alrededor del mundo (Balagopalan 2002). La yuca es originaria del Neotrópico aunque su centro de origen es aun motivo de discusión (Allem 2002), este hecho es consistente con la gran diversidad de artrópodos plaga que atacan este cultivo (Bellotti *et al.* 1994). Las moscas blancas, como plagas de alimentación directa y vectores de virus, constituyen el mayor problema para la producción de yuca en África, Neotrópicos y en menor grado Asia (Bellotti 2002). En el neotrópico, el complejo más grande de especies lo incluyen *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889), *B. tuberculata* (Bondar, 1923) y *Trialeurodes variabilis* (Quaintance, 1900). *B. tabaci* tiene una distribución pantropical, y en África se alimenta de yuca y

transmite la enfermedad del virus del mosaico de la yuca (CMD), un complejo de ocho especies de geminivirus (CMGs) (*Geminiviridae*, *Begomovirus*) (Legg *et al.* 1994; CIAT 2004).

Hasta el momento, en África, el daño de *B. tabaci* se documenta, principalmente, por su importancia como vector de CMD pero sus poblaciones, que se han incrementado en la parte oriental y central (Uganda, Tanzania, Ruanda y República del Congo) causan, además, daño físico directo a los cultivos de yuca. Las pérdidas en rendimiento han sido estimadas en más del 50%, incluyendo variedades con reconocida resistencia exclusiva a CMD (CIAT 2004). Estos resultados indican que cultivares de yuca con esta característica podrían no ser los más adecuados para evitar las pérdidas por daño debido a la alimentación directa de altas poblaciones de *B. tabaci*.

En el Neotrópico, las medidas de control en cultivos de yuca, expuestos durante un largo periodo (8-24 meses) a la presión de poblaciones de mosca blanca, se han basado en el

¹ Ingeniero agrónomo. Entomología de yuca, CIAT, Cali. Colombia. artcamo@univalle.edu.co.

² Biólogo. Grupo de Investigaciones Entomológicas. Departamento de Biología, Universidad del Valle. jamesmon@univalle.edu.co.

³ Agrónomo, Ph. D. Proyecto Entomología de yuca, CIAT, Cali. Colombia. a.bellotti@cgiar.org.

uso de costosos insecticidas, haciendo poco rentable su producción. Adicionalmente, el hecho que yuca sea tradicionalmente sembrado en suelos marginales y pobres en nutrientes expone el cultivo a estrés e incrementa la susceptibilidad al ataque de *B. tabaci* (Palumbo *et al.* 2001; Calatayud *et al.* 2002).

Recientes evidencias sugieren que *B. tabaci* representa un complejo de poblaciones morfológicamente indistinguibles, con numerosos biotipos (Perring 2001). A pesar de la naturaleza polífaga del complejo de poblaciones de *B. tabaci* (Mound 1983) se conoce, además, de la existencia de poblaciones mono y oligofagas, como es el caso de los biotipos *Jatropha* (Brown *et al.* 1995), yuca (Abdullahi *et al.* 2003) y el biotipo B de las Américas. Esto ha sido nuevamente resaltado en estudios de transferencia de hospederos, los cuales corroboraron que el desarrollo y reproducción de poblaciones del biotipo-yuca está restringido a *M. esculenta*, *M. glaziovii* Muell.-Arg, berenjena (*Solanum melongena* L.) y *S. aethiopicum* L. (Legg *et al.* 1994). Así mismo, experimentos de laboratorio han mostrado que es capaz de reproducirse sobre *Nicotiana debneyi* Domin (Thompson 2003), *Lycopersicon esculentum* Mill. y *Vigna unguiculata* (L.) Walp (Omondi *et al.* 2005). En contraste, las poblaciones del biotipo no-yuca pueden colonizar un amplio rango de malezas y cultivos, a excepción de yuca. Dado que, en las Américas, yuca parece ser un hospedero inadecuado para el polífago biotipo B (reconocido por algunos investigadores como *B. argentifolii* Bellows y Perring) (Bellows *et al.* 1994), se ha postulado que la ausencia de CMGs y daño mecánico están relacionados con la inhabilidad de este biotipo para colonizar eficientemente este cultivo. No obstante, *B. tabaci* fue encontrada alimentándose de yuca en República Dominicana y Cuba (Brown *et al.* 1995; Vásquez *et al.* 1995), Ecuador y Colombia (Anderson *et al.* 2005). Además que, estudios recientes, sugieren la posibilidad de que desarrolle poblaciones sobre este cultivo, cuando se utiliza un modelo de adaptación gradual sobre una serie de hospederos filogenéticamente relacionados con *Manihot* (Carabalí *et al.* 2005). Estos antecedentes dan base a la hipótesis que poblaciones polífagas de *B. tabaci* (biotipo B) podrían desarrollarse y reproducirse sobre genotipos de yuca.

Ante el riesgo potencial que constituye la colonización de altas poblaciones de *B. tabaci* y CMD para la producción de yuca en las Américas, más aún, si se tiene en cuenta que los cultivares más tradicionales son altamente susceptibles a la enfermedad, se planteó el presente trabajo, el cual tuvo como propósito evaluar el desarrollo, reproducción y los parámetros demográficos del biotipo B de *B. tabaci* sobre tres genotipos de yuca (MEcu72, CG489-34 y CMC-40).

Materiales y Métodos

Biología de *B. tabaci* sobre genotipos de *M. esculenta*

Moscas blancas y plantas. Los individuos del biotipo B fueron obtenidos de una colonia previamente establecida sobre *J. gossypifolia* L. (25 ± 2°C, 70 ± 5% H. R., 12 horas de fotoperiodo) a partir de la cual, se obtuvo una cría de *B. tabaci* en *M. carthaginensis* Mueller von Arg. (Carabalí *et al.* 2005) que fue mantenida durante cinco generaciones en jaulas de tul y madera (1 x 1 x 1 m) bajo iguales condiciones controladas. La cepa del biotipo B de *B. tabaci* fue confirmada periódicamente en adultos con el análisis RAPD-PCR (Quintero *et al.*

2001). 20 plantas de CMC-40, MEcu72 y GC 489-34, fueron suministradas por la Unidad de Recursos genéticos del CIAT y en los experimentos se utilizaron plantas de 30 - 40 días de siembra, las cuales se multiplicaron a partir de estacas, utilizando materas plásticas de 15 cm de profundidad con capacidad aproximada para un 1 kg de suelo. Las plantas se ubicaron en una casa malla, sobre mesas de 1m de altura.

Longevidad y fecundidad de hembras. Cuarenta parejas de machos y hembras de *B. tabaci*, recién emergidas y previamente sexadas, provenientes de la cría sobre *M. carthaginensis* se separaron en jaulas pinza (diámetro = 2,5 cm; profundidad = 2 cm). Los insectos se colocaron sobre el envés de las hojas de los genotipos MEcu72, CG489-34 y CMC-40. Cada 48 h los adultos se removieron a una nueva área de la hoja hasta la muerte natural de las hembras. Los machos se reemplazaron por otros en la medida que morían antes que su pareja. El área de la hoja bajo cada jaula pinza se marcó y observó bajo estereomicroscopio binocular (40X) para el conteo del número de huevos. La fecundidad se estimó como el número de huevos colocados por hembra cada 48 horas y la longevidad, como el máximo número de días que una hembra vive.

Tiempo de desarrollo, tasa de supervivencia y proporción de hembras. Cincuenta adultos no sexados de *B. tabaci*, de dos días, se tomaron de hojas apicales de plantas de *M. carthaginensis*, con la ayuda de un aspirador bucal y posteriormente fueron colocados en jaulas pinza (diámetro = 2,5 cm; profundidad = 2 cm) sobre el envés de las hojas de los genotipos MEcu72, CG489-34 y CMC-40. Los adultos y las jaulas pinza se retiraron transcurridas seis horas. Con la ayuda de un estereoscopio binocular (40X), se seleccionaron al azar 200 huevos. El área demarcada con los 200 huevos fue observada diariamente para registrar el tiempo de desarrollo de huevo-adulto. La tasa de supervivencia de los estados inmaduros fue estimada, como el número de huevos iniciales que llegan adultos y la proporción de hembras emergidas.

Parámetros demográficos. Los datos del tiempo de desarrollo, tasa de supervivencia y proporción de hembras fueron combinados con los datos experimentales de la reproducción ' l_x-m_x ' para producir tablas de vida. Para cada experimento se calcularon los siguientes parámetros demográficos (Price 1975): 1) Tasa de reproducción neta (R_0) definida como el número de hijas que en promedio una hembra deja durante una generación; 2) Tiempo generacional (T), equivalente al periodo comprendido entre el nacimiento de los padres y el de la progenie y 3) Tasa intrínseca de crecimiento de la población (r_m), la cual representa la contribución diaria de cada individuo al desarrollo poblacional. La tasa intrínseca de crecimiento de la población (r_m) fue estimada mediante la ecuación:

$$\sum \exp(-r_m x) l_x m_x = 1$$

donde: x , es la edad de la hembra
 l_x , edad de supervivencia específica
 m_x , la proporción de hembras de la progenie de una hembra con edad x .

En el cálculo del valor de (r_m), se utilizó la edad corregida $X + 0,5$ y la ecuación $\ln 2/r_m$ para estimar los días necesarios para duplicar en número la población (Carey 1993).

Tabla 1. Longevidad (días), fecundidad media (huevos) y tasa de oviposición (huevos/hembra/2días) del biotipo B de *B. tabaci* en tres genotipos de *M. esculenta* (n = 40).

Parámetro	MEcu72	CG489-34	CMC40
Longevidad media	6,3 (2-20) a	5,07 (2-16) a	3,9 (2-8) a
Fecundidad media	5,61 (1-40) a	4,35 (1-24) a	1,89 (1-12) b
Tasa de oviposición	0,89 (0,25-3,8) a	0,86 (0,25-1,56) a	0,49 (0,25-2,75) b

Promedios seguidos por diferentes letras entre las columnas difieren significativamente, (Kruskal-Wallis $P < 0,0001$, seguido por Student-Newman-Keuls $P < 0,05$). Números entre paréntesis representan los rangos.

Análisis estadístico

Los valores de la longevidad, fecundidad, tasa de oviposición y tiempo de desarrollo del biotipo B de *B. tabaci* en cada genotipo de *M. esculenta* se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis la cual permite comparar las medias de dos o más distribuciones sin el supuesto de que los términos del error se distribuyen normalmente. Cuando fue requerido, se realizaron pruebas de comparación múltiple, utilizando el método de Student-Newman-Keuls.

Resultados y Discusión

Biología de *B. tabaci* sobre genotipos de *M. esculenta*

Longevidad y fecundidad de hembras. La longevidad de las hembras en los tres genotipos no fue significativamente diferente (Tabla 1). Sin embargo, las hembras vivieron entre uno y dos días más sobre MEc 72 en comparación con CG489-3 y CMC-40, respectivamente. Así mismo, el rango de longevidad más amplio (dos a 20 días) se presentó en MEcu 72 (Tabla 1). En contraste, las hembras vivieron menos tiempo (3,9 días) en CMC-40. Estas diferencias se pueden observar en las curvas de supervivencia (Fig. 1) donde, al sexto día la proporción de hembras vivas se redujo 60, 70 y 85% en MEcu72, CG 489-34 y CMC-40, respectivamente.

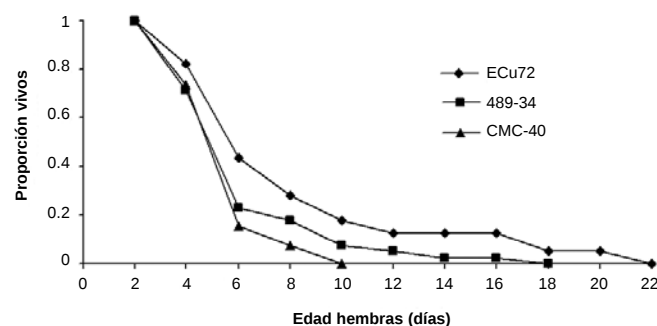
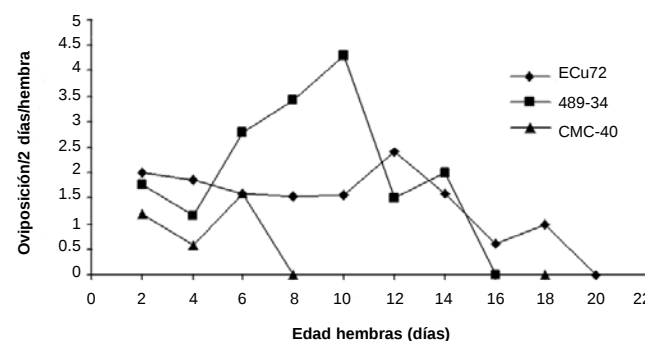
La fecundidad media del biotipo B sobre los genotipos MEcu72 y CG489-34 fue similar entre si, pero significativamente dife-

rentes al ser comparados con CMC-40 (Kruskal-Wallis, $P < 0,0001$) (Student-Newman-Keuls, $P < 0,05$) (Tabla 2). La más alta fecundidad (5,6 huevos) se observó en MEcu72, y fue el triple al compararse con CMC-40 (Tabla 1). Además, fue en MEc 72 donde las hembras presentaron el rango más amplio de oviposición (uno a 40 huevos).

Se presentó sincronía al inicio de la oviposición (48 h) sobre los tres genotipos, sin embargo al sexto día, sobre CMC-40 las hembras ya habían ovipositado el 100% de los huevos, mientras, en MEcu72 y CG 489-34, alcanzaron el 75,8 y 75,3%, respectivamente (Fig. 2). La distribución de la secuencia de la aparente conveniencia de los genotipos en la variable fecundidad fue MEcu72 > CG489-34 > CMC-40, concordante con los del análisis de longevidad.

Los promedios de las tasas de oviposición de MEcu72 y CG489-34 fueron similares entre si (Tabla 1), siendo ligeramente superiores en el primer genotipo, pero significativamente diferentes al ser comparados con CMC-40 (Kruskal-Wallis $P < 0,0001$) (Student-Newman-Keuls, $P < 0,05$). Las diferencias en las tasas de oviposición media para cada genotipo se pueden observar en la figura 2, las cuales permiten predecir, en forma limitada, qué tan adecuado puede resultar cada uno de los hospederos para el posterior desarrollo de los estados ninfales. Al comparar las tasas de oviposición entre MEcu72 y CG489-34 fue evidente que no presentaron diferencias significativas, pero si al compararse con CMC-40.

Las diferencias en la oviposición de *B. tabaci* en cada genotipo obtenidos en este estudio concuerdan con los resultados reportados por Heather *et al.* (1991), quienes encontra-

**Figura 1.** Supervivencia del biotipo B de *B. tabaci* en tres genotipos de *Manihot esculenta*.**Figura 2.** Curvas de reproducción del biotipo B de *B. tabaci* en tres genotipos de *Manihot esculenta*.

ron que cuando se confina *B. tabaci* a un hospedero en particular (*Gossypium hirsutum* L., *Cucumis maxima* Duchense, *C. pepo* L., *C. melo* L., *Lactuca sativa* L., *Lycopersicon esculentum* Mill.), no deposita igual número de huevos sobre todos los hospederos. Adicionalmente, confirman que no existe una correlación directa entre el número de huevos depositados y las tasas de supervivencia. Estos resultados sugieren que las hembras de *B. tabaci* antes de la oviposición sobre los genotipos de *M. esculenta* (MEcu72, CG489-34 y CMC-40) pueden no ser capaces de identificar la potencial conveniencia del hospedero.

Tiempo de desarrollo, tasa de supervivencia y proporción de hembras. Aunque con una tasa de supervivencia de los estados inmaduros baja (3%), MEcu72 fue el único hospedero donde el biotipo B pudo completar su desarrollo, necesitando 55,1 días para llevarlo a cabo (Tabla 2). Tanto en el genotipo CG489-34 como en CMC-40, los mayores porcentajes de mortalidad ocurrieron en el primer instar. Los sobrevivientes se desarrollaron hasta segundo y tercer instar en CG489-34 y solo hasta el segundo en CMC-40. En cada caso, las ninfas entraron en un estado de latencia sin alcanzar el estado adulto.

Los resultados de este estudio difieren a lo reportado por Costa y Russell (1975), quienes en ensayos con diferentes variedades de yuca, registraron una mortalidad del 100% de los insectos en los tres primeros días, dando soporte a que *B. tabaci* no se alimenta ni se reproduce sobre *M. esculenta* en las Américas. A diferencia de estos autores, en nuestros experimentos *B. tabaci* se reprodujo sobre MEcu 72 y en CG489-34 y CMC-40 este porcentaje de mortalidad se presentó en un rango de ocho a 20 días. La proporción de hembras fue afectada cuando *B. tabaci* se alimentó sobre MEcu72, resultado de la baja tasa de supervivencia alcanzada por la mosca blanca sobre este genotipo (Tabla 2).

Parámetros demográficos. Como resultado de una tasa de supervivencia negativa de los estados inmaduros de *B. tabaci* sobre CG489-34 y CMC-40, no se pudo calcular los parámetros demográficos sobre estos hospederos. No obstante, el efecto del hospedero sobre la tasa reproductiva neta de la mosca blanca permitió estimar que, en promedio, al cabo de una generación (58,3 días), las poblaciones del biotipo B sobre MEcu72 podrían multiplicarse 5,61 veces (individuo/individuo). Así mismo, la tasa intrínseca de la población sobre MEcu72 fue baja (0,0296), siendo su potencial de crecimiento inferior en un 84%, al compararla con la tasa de crecimiento registrada por Musa y Ren (2005), sobre un hospedero conveniente como soya (*Glycine max* (L.)). Estos valores se reflejan en el tiempo requerido por *B. tabaci* para duplicar en número su población sobre MEcu72, el cual fue de 23,4 días.

Es importante anotar que, en África, las poblaciones de *B. tabaci* asociadas a yuca han sido reportadas como monófagas (Storey y Nichols 1938; Abdullahi *et al.* 2003) aunque han sido detectadas también sobre plantas de Fabaceae (*Cenrosema molle* Mart. ex Benth.) (Legg 1996), Solanaceae (*Solanum nigrum* L.; *S. aethiopicum* L.; *S. melongena* L.) (Burban *et al.* 1992), Verbenaceae (*Lantana camara* L.) (Legg 1996) y *E. heterophylla* (Miq.) Miers (Thompson 2003). Más recientemente se ha demostrado que las poblaciones de *B. tabaci*, tipo Ug1 (Uganda 1) consideradas específicas para yuca (Sseruwagi *et al.* 2006) no lo son, dada su capacidad de colonizar otras plantas, entre ellas: *Aspilia africana* pers. Adams, *Abelmoschus esculentus* L., *Manihot glaziovii* Muell. Arg., *J.*

gossypiiifolia L. y *Euphorbia heterophylla* L. Así mismo, estudios anteriores en Uganda mostraron que ciertas poblaciones de *B. tabaci* que colonizan yuca, fueron capaces de sobrevivir sobre algodón (*G. hirsutum* L.) y batata (*Ipomea batatas* L.) aunque dichas poblaciones al ser transferidas a yuca no sobrevivieron (Legg 1996).

Estos hechos sugieren, que las poblaciones de *B. tabaci* asociadas a yuca en África podrían estar ampliando su rango de hospederos y, en consecuencia, generando una reestructuración de su monofagia. En forma similar, en las Américas, el biotipo B, conocido por su asociación a más de 600 especies de plantas hospederas (Mound y Halsey 1978; Secker *et al.* 1998) podría estar ampliando su rango de hospederos y entre ellos, yuca. Aunque difícil de establecer el inicio de este proceso, es posible que se opere desde 1990 cuando se observó *B. tabaci* colonizando yuca en República Dominicana (Brown *et al.* 1995) y luego, en 1993, se registró como predominante en la misma especie en Cuba (Vázquez *et al.* 1995) y, más reciente, en Colombia y Ecuador (Quintero *et al.* 1998; Anderson *et al.* 2005). Apesar que las poblaciones de *B. tabaci* presentaron un bajo potencial de desarrollo sobre el genotipo de *M. esculenta* MEcu72, se constituye en uno de los primeros registros experimentales en el cual el biotipo B se desarrolló sobre un genotipo comercial de *M. esculenta*. En consecuencia y aunque preliminares, nuestros resultados permiten sugerir que *M. esculenta* puede ser un hospedero potencial para el biotipo B de *B. tabaci* en las Américas.

Tabla 2. Tiempo de desarrollo, supervivencia y proporción de hembras de individuos del biotipo B de *B. tabaci* en MEcu72 (n = 200).

Parámetro	MEcu72	CG489-34	CMC40
Tiempo de desarrollo (días)	55,1	0	0
Número de insectos	6	0	0
Tasa de supervivencia (%)	3	0	0
Número de insectos	200	200	200
Proporción de hembras (%)	33	0	0
Número de insectos	6	0	0

Agradecimientos

A los evaluadores anónimos quienes a través de su revisión crítica, hicieron aportes significativos y valiosos al manuscrito.

Literatura citada

- ALLEM, A. C. 2002. The origins and taxonomy of cassava, pp. 209-235. En: Hillocks, R. J.; Thresh, J. M.; Bellotti, A. C. (eds.). Cassava biology, production and utilization. CAB International, Oxon, Reino Unido.
- ABDULLAHI, I.; WINTER, S.; ATIRI, G. I.; THOTTAPPILLY, G. 2003. Molecular characterization of whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations infesting cassava. Bulletin Entomological Research 93: 97-106.
- ANDERSON, P. K.; HAMON, A. B.; HERNÁNDEZ P. M. del P.; MARTIN, J. 2005. Whiteflies as vectors of viruses in legume and vegetable mixed cropping systems in the tropical lowlands of Central America, Mexico and the Caribbean. Reproductive crop hosts of *Bemisia tabaci* (Gennadius) in Latin America and

- the Caribbean. pp. 243-250. In: Anderson, P. K.; Morales, F. J. (eds.). Whitefly and whitefly-borne viruses in the tropics: Building a knowledge base for global action. CIAT (International Center of Tropical Agriculture), Cali, Colombia. 351 p.
- BALAGOPALAN, C. 2002. Cassava utilization in food, feed and industry, pp. 209-235. En: Hillocks, R. J.; Thresh, J. M.; Bellotti, A. C. (eds.). Cassava biology, production and utilization. CAB International, Oxon, Reino Unido.
- BELLOTTI, A. C. 2002. Arthropod pest, pp. 209-235. En: Hillocks, R. J.; Thresh, J. M.; Bellotti, A. C. (eds.). Cassava biology, production and utilization. CAB Internacional, Oxon, Reino Unido.
- BELLOTTI, A. C.; BRAUN, A. R.; ARIAS, B.; CASTILLO, J. A.; GUERRERO, J. M. 1994. Origin and management of Neotropical cassava arthropod pests. *African Crop Science Journal* 2 (4): 407-417.
- BELLOWS, T. S. Jr.; PERRING, T. M.; GILL, R. J.; HEADRICK, D. H. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America* 87: 195-206.
- BROWN, J. K.; FROHLINCH, D. R.; ROSELL, R. C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annual Review of Entomology* 40: 511-34.
- BURBAN, C.; FISHPOOL, L. D. C.; FANGUET, C.; FARGETTE D.; THROUVENEL, J. C. 1992. Host associated biotypes within West African populations of the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology* 113: 416-23.
- CALATAYUD, P. A.; POLANIA, M. A.; SELIGMANN, C. D.; BELLOTTI, A. C. 2002. Influences of water-stressed cassava on *Phenacoccus herreni* and their associated parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 102: 163-175.
- CARABALI, A.; BELLOTTI, A. C.; MONTOYA-LERMA, J.; CUELLAR, M. E. 2005. Adaptation of *Bemisia tabaci* biotype B (Gennadius) to cassava, *Manihot esculenta* (Crantz). *Crop Protection* 24: 643-649.
- CAREY, J. R. 1993. Applied demography for biologist. Nueva York. Oxford University Press. 206 p.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 2004. Sustainable integrated management of whiteflies through host plant resistance: Annual Report, Project NZAID. Cali, CO. 77 p.
- COSTA, A. S.; RUSSELL, L. M. 1975. Failure of *Bemisia tabaci* to breed on cassava plants in Brazil (Hom: Aleyrodidae). *Ciencia e Cultura, São Paulo* 27: 388-390.
- HEATHER, S. C.; BROWN, J. K.; BYRNE, D. N. 1991. Life history traits of the whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on six virus-infected or healthy plant species. *Environmental Entomology* 20 (4): 1102-1107.
- LEGG, J. P.; GIBSON, R. W.; OTIM-NAPE, G. W. 1994. Genetic polymorphism amongst Uganda populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae), vector of African cassava mosaic geminivirus. *Tropical Science* 34: 73-81.
- LEGG, J. P. 1996. Host associated strains within Ugandan populations of the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hom: Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology* 120: 523-527.
- MOUND, L. A. 1983. Biology and identity of whitefly vectors of plant pathogen, pp. 305-313. En: Plumb, R. T.; Thresh, J. M. (eds.). Plant virus epidemiology. The spread and control of insect-borne viruses. Oxford, Blackwell.
- MOUND, L. A.; HALSEY, S. H. 1978. Whiteflies of the world. British Museum of Natural History and Wiley, New York, NY, 340 p.
- MUSA, D. P.; REN, S. X. 2005. Development and reproduction of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on three bean species. *Insect Science* 12: 25-30.
- PALUMBO, J. C.; HOROWITZ, A. R.; PRABHAKER, N. 2001. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection* 20: 739-765.
- PERRING, T. M. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection* 20: 725-737.
- OMONDI, A. B.; OBENG-OFORT, D.; KYEREMATEN, R. A.; DANQUAH, E. Y. 2005. Host preference and suitability of some selected crops for two biotypes of *Bemisia tabaci* in Ghana. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115: 393-400.
- PRICE, P. 1975. Insect ecology. John Wiley and Sons, Nueva York. 514 p.
- QUINTERO, C.; CARDONA, C.; RAMÍREZ, D.; JIMÉNEZ, N. 1998. Primer registro del biotipo B de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 24: 23-28.
- QUINTERO, C.; RENDÓN, F.; GARCÍA, J.; CARDONA, C.; LÓPEZ-ÁVILA, A.; HERNÁNDEZ, P. 2001. Especies y biotipos de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en cultivos semestrales de Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (1-2): 27-31.
- SECKER, A. E.; BEDFORD, I. D.; MARKHAM, P. G.; DE COURCY-WILLIAMS, M. E. 1998. Squash, a reliable field indicator for the presence of the B biotype tobacco whitefly, *Bemisia tabaci*. *Br. Crop Protection Council Brighton Conference* 3: 837-842.
- SSERUWAGI, P.; MARUTHI, M. N.; COLVIN, J.; REY, M. E. C.; BROWN, J. K.; LEGG, J. P. 2006. Colonization of non-cassava plant species by cassava whiteflies (*Bemisia tabaci*) in Uganda. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 119: 145-153.
- STOREY, H. H.; NICHOLS, R. F. W. 1938. Studies of the mosaic diseases of cassava. *Annals of Applied Biology* 25: 790-806.
- THOMPSON, W. M. O. 2003. A new host plant species for the cassava biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hom., Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology* 127: 374-376.
- VÁSQUEZ, L. L.; JIMÉNEZ, R.; IGLESIA, M.; MATEO, A.; LÓPEZ, D.; VERA, E. R. 1995. Moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) detectadas en los principales cultivos agrícolas de Cuba. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 36: 18-21.

Recibido: 16-ene-2006 • Aceptado: 2-abr-2008

Primer registro de *Lecanoideus floccissimus* (Hemiptera: Aleyrodidae) en cacao de Tabasco, México

First record of *Lecanoideus floccissimus* (Hemiptera: Aleyrodidae) in cocoa from Tabasco, Mexico

HIPÓLITO CORTÉZ-MADRIGAL¹, MARÍA CRUZ MARTÍNEZ-LÓPEZ², FRANCISCO REYES-IZQUIERDO²,
LAURA DELIA ORTEGA-ARENAS³

Resumen: Se registra por primera vez la mosca blanca *Lecanoideus floccissimus* de material recolectado de Tabasco, México. Además, para identificar los factores bióticos y abióticos que regulan sus poblaciones y las causas que propician su incremento en cacao, durante 2004, se realizaron muestreos periódicos en dos plantaciones bajo condiciones diferentes. Una fue ubicada en Mantilla, Cunduacán con más de 35 años, escasa sombra y delimitada por plantaciones de cacao. La otra plantación fue ubicada en Habanero, Cárdenas, con alrededor de 15 años, abundante sombra y aislada de plantaciones de cacao. Mediante muestreos directos y trampas amarillas, se determinó la incidencia de la plaga (porcentaje de árboles infestados), abundancia poblacional y sus enemigos naturales. Se evaluó el efecto de la temperatura y la precipitación en la incidencia de la plaga. *L. floccissimus* estuvo presente todo el año. En la plantación vieja, la incidencia fue superior ($72,31 \pm 21,81\%$) a la plantación joven ($26,39 \pm 13,17\%$). Lo contrario ocurrió con las poblaciones del insecto: los mayores niveles se registraron en la plantación joven y las más bajas en la plantación vieja. Los principales enemigos naturales fueron el depredador *Ceraeochrysa* sp. y parasitoides de la familia Aphelinidae; la mayor actividad de los entomófagos fue sobre huevos y primeros instares. De los factores abióticos, sólo la temperatura se correlacionó con la plaga ($r = 0,76-0,77$). La rápida proliferación de *L. floccissimus* en cacaotales de Tabasco pudiera explicarse por la edad de las plantaciones (> 35 años), aunado a la baja diversidad y actividad de sus enemigos naturales.

Palabras clave: Mosca blanca espiral. *Theobroma cacao*.

Abstract: The whitefly *Lecanoideus floccissimus* is reported for the first time from material collected in Tabasco, Mexico. Furthermore, to identify the biotic and abiotic factors that regulate its populations and the causes that induce their increase in cocoa crops, periodic sampling was conducted during 2004 in two plantations under different conditions. One was located in Mantilla, Cunduacan, > 35 years old, with scarce canopy and surrounded by cocoa plantations. The other plantation was located in Habanero, Cárdenas, approximately 15 years old, abundant canopy and isolated from cocoa plantations. Through direct sampling and yellow traps, the incidence of the pest (percentage of infested trees), population abundance and natural enemies were determined. The effect of temperature and precipitation on pest incidence was evaluated. *L. floccissimus* was present all year round. In the old plantation, incidence was higher ($72.31 \pm 21.81\%$) than the young plantation ($26.39 \pm 13.17\%$). The opposite occurred in insect populations: the highest levels were recorded in the young plantation and the lowest in the old plantation. The main natural enemies were the predator *Ceraeochrysa* sp. and parasitoids of the family Aphelinidae; the greatest activity of the entomophages was on eggs and early instars. Of the abiotic factors, only temperature was correlated with the pest ($r = 0.76-0.77$). The rapid proliferation of *L. floccissimus* in cocoa crops in Tabasco could be explained by the age of cocoa plantations (> 35 years), as well as the low diversity and activity of natural enemies.

Key words: Spiraling whitefly. *Theobroma cacao*.

Introducción

Con una superficie de 60.000 ha, Tabasco es el principal productor de cacao *Theobroma cacao* L. en México (INEGI 2004) y una de las regiones productoras del mundo con menor incidencia de plagas. Tradicionalmente sólo cuatro especies eran consideradas problema: *Toxoptera aurantii* B. de F., 1841 (Hemiptera: Aphididae), *Clastoptera* sp. (Hemiptera: Cercopidae), *Selenotrips rubrocinctus* Girad, 1901 (Thysanoptera: Thripidae) y la "lagarta" *Peosina mexicana* Guenée, 1862 (Lepidoptera: Noctuidae) (Flores 1976; Sánchez 1995). Lo anterior puede considerarse una ventaja respecto a otras regiones del mundo, en donde el complejo de plagas y enfermedades es mayor (Entwistle 1972); sin embargo, no se descarta

la introducción o resurgencia de nuevas plagas y enfermedades del cultivo, tal como ocurrió en 1991 cuando se observaron poblaciones de una especie de mosca blanca no registrada con anterioridad en la región. Aunque la presencia de este insecto causó interés científico, sus bajas poblaciones, pobre distribución en el Estado y, consecuentemente poco interés de los productores, no se le dio la importancia debida. Sin embargo, las altas poblaciones del insecto ocurridas durante 1998 motivaron a que los productores solicitaran apoyo gubernamental para el control de la plaga en cacaotales de los municipios de Cunduacán y Cárdenas, Tabasco. La especie fue identificada preliminarmente por la Dra. Laura D. Ortega Arenas y el Dr. Emilio Carapia Ruiz, como *Lecanoideus floccissimus* Martin, 1997.

¹ Autor para correspondencia. Profesor-Investigador-Dr. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Instituto Politécnico Nacional-Unidad Michoacán, Justo Sierra 28, C.P. 59510, Jiquilpan, Mich. hcortezm@ipn.mx.

² Profesor-Investigador-M.C., Colegio de Posgraduados-Campus Tabasco, Km. 3.5 Periférico Carlos A. Molina, C.P. 86500, H. Cárdenas, Tab. macruz@colpos.mx.

³ Profesor-Investigador-Dr. Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo, C.P. 56230, Montecillo, Méx. ladeorar@colpos.mx.

La mosca blanca espiral *L. floccissimus* es originaria de Suramérica y descrita por Martin en 1997 (Martin *et al.* 1997; Carnero *et al.* 1999). Actualmente se distribuye en las regiones Neotropical (Colombia, Ecuador, Perú) y Paleártica (Islas Canarias y España) (Martin *et al.* 1997, 2000; EPPO 2003). El insecto ataca alrededor de 94 especies de plantas, principalmente plátano *Musa* sp., guayaba *Psidium guajaba* L., 1753, papayo *Carica papaya* L., 1753, mango *Mangifera indica* L. 1753, coco *Cocos nucifera* L., 1753; y las ornamentales como la “kentia” *Howea forsteriana* (C. Moore y F. Muell.) Becc., 1877, laurel de la India *Ficus benjamina* L., 1767, el falso pimentero *Schinus terebinthifolius* Raddi, 1820 y las “strelitzias” *Strelitzia nicolai* Regel y Koern, 1858 (Hernández-Suárez *et al.* 2000). Los daños ocasionados por *L. floccissimus* son similares a los de otros aleiródidos, pero potenciados por su mayor talla (3 mm). Por sus daños directos, al succionar la savia de la planta, y los indirectos, al ocasionar fuertes excreciones de mielecilla sobre la que hay una excesiva proliferación de hongos “fumagina”, puede causar caída prematura de hojas, y en infestaciones fuertes matar la planta. A diferencia de sus parientes cercanos *L. floccissimus* no transmite enfermedades de origen viral, aspecto que magnificaría la implementación de programas de control biológico en el manejo de la plaga (Hernández *et al.* 2002).

Por ser un insecto de reciente detección en Tabasco, con una fuerte incidencia que lo cataloga como plaga potencial del cacao y otros cultivos en la región; pero fundamentalmente, debido a la ausencia de información que permita diseñar estrategias de manejo, los objetivos planteados fueron: corroborar la identidad de *L. floccissimus* recolectados de cacao en Tabasco, México e identificar los factores bióticos y abióticos que se relacionan fuertemente con sus poblaciones.

Materiales y Métodos

Sitios de estudio. El estudio se realizó durante el 2004 en dos plantaciones de cacao en la región de “La Chontalpa”, Tabasco, México. El clima es cálido húmedo (Am) con abundantes lluvias en verano, precipitación media anual de 1.947 a 2.003,2 mm y humedad relativa promedio anual de 82% (INEGI 2004). Una plantación se ubicó en el Ejido Mantilla, municipio de Cunduacán (A); y la otra, en el Ejido Habanero, municipio de Cárdenas (B); ambas bajo diferentes sistemas de manejo como: edad de la plantación, densidad de sombra, cultivos aleaños, actividad humana, entre otros (Tabla 1). En ambas plantaciones no se aplicaron insecticidas.

Descripción morfológica. Las “pupas” y exuvias fueron procesadas siguiendo la técnica de montaje en portaobjetos des-

crita por Martin (1987). Las preparaciones se analizaron en un microscopio compuesto a 100, 400 y 1.000 aumentos, se realizaron mediciones con un micrómetro con aproximación máxima de 1 µm y se tomaron fotografías con un fotomicroscopio III Carl Zeiss con cámara Paxcam 3. La descripción se realizó usando la terminología detallada por Russell (1965), Martin (1987), Martin *et al.* (1997), Hodges y Evans (2005). Los ejemplares se depositaron en la colección entomológica del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, Cárdenas, Tabasco, México.

Incidencia y niveles poblacionales de *L. floccissimus*. Se realizaron muestreos quincenales, con desfazamiento semanal entre plantación, de modo que el primer muestreo (23 de enero) fue en el Ejido Mantilla y ocho días después en Habanero; la decisión se tomó por lo laborioso de la actividad, y considerar el ciclo (36-53 días) relativamente largo de la plaga (Hernández y Carnero 2000) así lo permitía. Se practicaron dos tipos de muestreo: uno para conocer la incidencia o porcentaje de árboles infestados y el otro, para conocer los niveles poblacionales de los diferentes estados de la plaga.

La evaluación de incidencia se realizó quincenalmente y se midió con base en el número de árboles infestados en relación con el total de árboles de la plantación, con la ecuación:

$$I = \frac{(Ai)(100)}{(Ta)}$$

Donde, *I* es el porcentaje de incidencia de la plaga; *Ai* son los árboles infestados; y *Ta* el total de árboles de la plantación.

Para conocer el tamaño de muestra y determinar los niveles poblacionales de la plaga, se practicó un muestreo preliminar y mediante la fórmula descrita por Southwood (1976) se estimó el número de árboles y ramillas (cinco a ocho hojas) por árbol a registrar. El tamaño de la muestra para árboles fue tan grande, que sólo se tomó el 10%, de modo que en Mantilla se consideró una muestra de 40 árboles y en Habanero 21. Para ramillas, el tamaño de muestra estimado fue de seis por árbol; los árboles y ramillas seleccionadas fueron los mismos durante el estudio.

Además, se determinó la presencia y abundancia de depredadores y parasitoides asociados a la plaga. Para recolectar los parasitoides, se elaboraron trampas de emergencia con tela de “organza”, se colocaron sobre huevos y ninfas de la plaga presentes sobre las hojas y se revisaron quincenalmente. Adicionalmente, se usaron trampas amarillas pegajosas (30 x 30 cm) para detectar migraciones de adultos de la plaga. Se

Tabla 1. Características de las plantaciones de cacao estudiadas en Tabasco, México. 2004.

Sitio	Características						
	S	P	D	So	E	H	CA
A	1	400	4 x 4	98	35	Mayor	Cacao
B	0,5	210	4 x 4	254	15	Menor	Diversos

S = Superficie (ha); P = Número de plantas/ha; D = Densidad de plantación; So = Sombra (árboles/ha); E = Edad de plantación (años); H = Actividad humana; CA = Cultivos aleaños.

colocaron ocho trampas por plantación: seis en los linderos y dos en la parte media. Las trampas se colocaron a 2,5 m del suelo, amarradas a las ramas de dos árboles vecinos. Las trampas se revisaban quincenalmente, se registraban y retiraban los insectos capturados y, eventualmente se les adicionaba nuevo pegamento. Las trampas permanecieron en el mismo lugar durante el estudio. Los datos de temperatura y precipitación durante el estudio se obtuvieron de las estaciones meteorológicas de Samaria y González, municipio de Cárdenas localizadas ~20 km de los sitios de estudio.

Análisis estadístico. Un análisis de correlación lineal simple fue practicado entre las variables bióticas y abióticas; para la comparación de los niveles poblacionales entre sitios se usó la prueba “t” de Student ($\alpha = 0,05$) con las fechas de muestreo como repetición, de modo que hubo 12 repeticiones. Complementariamente se usaron estadísticas descriptivas para el análisis de la distribución temporal de las poblaciones medias mensuales.

Resultados

Descripción morfológica

Especímenes *in vivo*. Cuerpo pupal color amarillento, pero la colonia completa con apariencia oscura por las copiosas cantidades de cera blanca, adornada con gruesas bandas en espiral de cera. Los adultos (3 mm) completamente blancos en apariencia, frecuentemente ocultos debajo de las secreciones cerosas de la colonia. Huevos colocados en masas en el envés de las hojas, dispuestos en hileras concéntricas irregulares. Las ninfas y adultos ocurren en densas colonias, que en ocasiones cubren completamente el envés de las hojas, por lo que se desprenden pequeñas partículas blancas al ser perturbadas (Figs. 1 A-C).

Especímenes montados en portaobjetos. Cubierta pupal en forma oval; margen plegado ventralmente, al menos parcial-

mente, aunque aparenta mayor dimensión cuando son montados en laminillas; margen liso, pero donde éste se pliega aparenta ser irregular. Especímenes montados de 1,00 a 1,41 mm de largo, aparentando ser más aplanados anteriormente. Orificio vasiforme, opérculo y llingula claramente definidos; línea del orificio vasiforme completa, enfatizando la llingula lisa y sin ningún surco medio. Seta marginal posterior mayor a 100 μ m de largo, las marginales anteriores ausentes; submargen interno con 12 pares (incluyendo el par caudal) de finas y largas setas mayores de 100 μ m; un sólo par en la región cefálica posterior, meso y meta torácica y octavo segmento abdominal. Presencia de un par de grandes poros compuestos en la región cefálica y cuatro en la región abdominal; cefálico usualmente de 30-35 μ m y abdominales de 40-50 μ m en diámetro, cuyo proceso central puntiagudo, en material montado, dirigido invariablemente a la región medio posterior. Además, el VIII segmento abdominal con poros compuestos muy pequeños (10-20 μ m) inconsistentemente presentes cerca de la línea media posterior al orificio vasiforme. Submargen comprende una amplia zona cubierta de poros simples dispuestos en forma dispersa, los cuales disminuyen en diámetro hacia la parte media. Cutícula de la parte submedia lisa y punteada sólo por poros ovoides septados. Antenas largas, casi alcanzando la parte posterior del espiráculo abdominal anterior; seta abdominal ventral de hasta 75 μ m de longitud, situada posterior al orificio vasiforme (Figs. 1 D-E).

Condiciones climáticas

Se observaron diferencias en temperatura y precipitación entre las plantaciones de Mantilla y Habanero. Para la primera plantación los datos de ambas variables fueron de 22,7°C y 1.592,20 mm respectivamente. En Habanero la temperatura media anual fue de 22,16°C y 1.660,50 mm en ese orden. Aunque en términos anuales fue poca la diferencia, analizadas en forma mensual las diferencias fueron mayores. Las diferencias en temperatura fluctuaron desde 0,30°C hasta 1,47°C favorables a Mantilla. Asimismo, aunque la precipitación anual fue mayor en Habanero, en siete de los 12 meses se observó mayor precipitación en Mantilla, lo que sugiere mayor uniformidad en la precipitación de esa plantación (Tabla 2).

Incidencia de *L. floccissimus*

La plaga estuvo presente durante el periodo de estudio y aunque la tendencia de las curvas fue similar en ambas plantaciones de cacao, se detectaron diferencias significativas ($P = 0,0001$) respecto a la incidencia del insecto. La incidencia media fue mayor en Mantilla ($72,31 \pm 21,81\%$) que en Habanero ($26,39 \pm 13,17\%$); En Mantilla el 50% de incidencia fue rebasado en el mes de marzo, en Habanero la incidencia siempre se mantuvo abajo del 50%. En ambas plantaciones se observaron dos fases de incremento: una de enero a mayo y la otra de junio a noviembre, mes en donde se alcanzó el máximo porcentaje de incidencia. La menor incidencia acumulada de *L. floccissimus* se registró en el mes de enero con un valor de 28,3% en Mantilla y 0% en Habanero (Fig. 2).

Niveles poblacionales de *L. floccissimus*

Contrario a lo ocurrido con la incidencia, el nivel poblacional medio de la plaga en sus diferentes estados de desarrollo fue mayor en la plantación de Habanero que en la de Mantilla (Tabla 3).

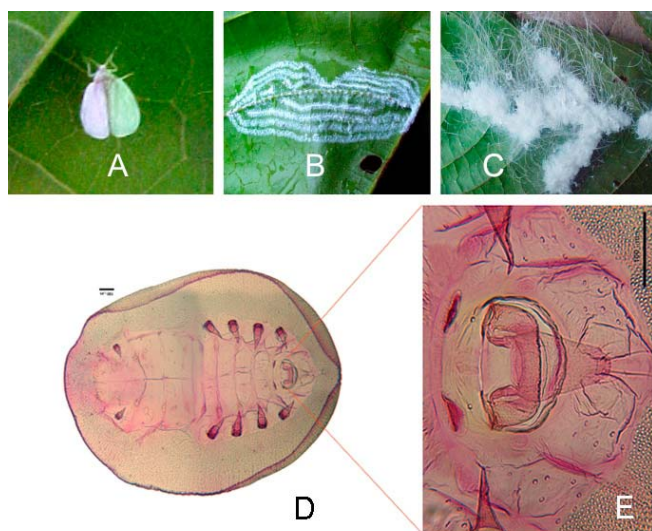


Figura 1. *Lecanoideus floccissimus* Martin en cacao *Theobroma cacao* L., en Tabasco, México: A. adultos. B. Masa de huevos. C. ninfas. D. Cubierta pupal. E. Orificio vasiforme.

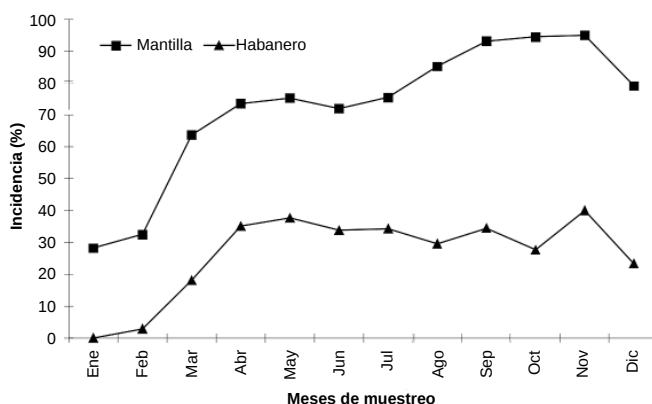
Tabla 2. Temperatura media y precipitación acumulada mensual durante el año 2004 en dos plantaciones de cacao de Tabasco, México.

Mes	Temperatura media			Precipitación (mm)		
	Mantilla	Habanero	Diferencia	Mantilla	Habanero	Diferencia
Enero	20,02	20,76	-0,74	116,10	99,0	+ 17,10
Febrero	20,55	20,08	+0,47	47,90	57,0	-9,10
Marzo	21,62	21,03	+0,59	68,10	29,5	+38,60
Abril	22,19	22,21	-0,02	9,80	82,0	-72,20
Mayo	22,84	22,51	+0,33	166,70	160,00	+6,70
Junio	24,53	23,67	+0,86	175,20	279,00	-103,80
Julio	24,18	23,41	+0,77	123,90	34,50	+89,40
Agosto	24,48	23,78	+0,70	193,30	250,00	-56,70
Septiembre	23,57	22,60	+0,97	230,30	370,00	-139,70
Octubre	24,15	22,68	+1,47	132,90	116,50	+16,40
Noviembre	23,07	22,27	+0,80	166,00	63,00	+103,00
Diciembre	21,26	20,96	+0,30	162,00	120,00	+42,00
	22,7*	22,16*	+0,54	1592,20**	1660,50**	-68,50

(+) = Favorable a Mantilla; (-) Favorable a Habanero, */Temperatura media anual, **/Precipitación acumulada anual.

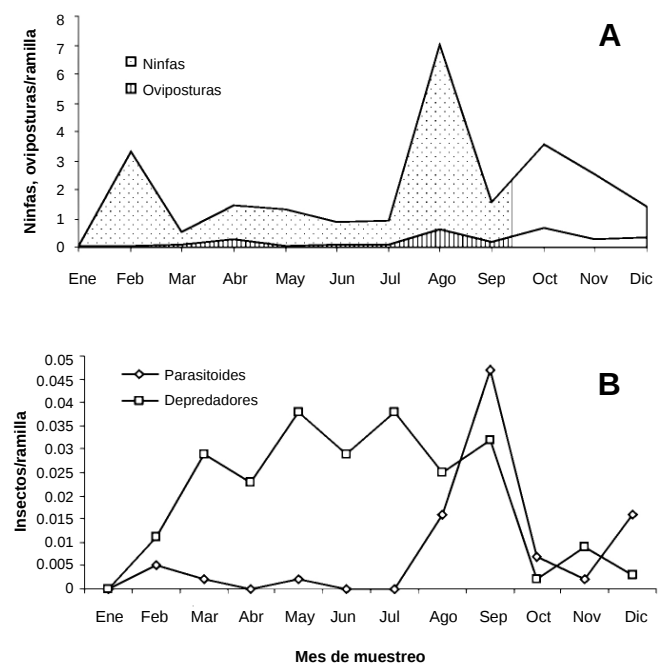
Oviposturas. Aunque el número de oviposturas tendió a ser mayor en Habanero que en Mantilla, las diferencias no fueron significativas (Tabla 3). Temporalmente se registraron oviposturas en tres picos principales: en abril, agosto y octubre en Mantilla, con el mayor registro en octubre (Fig. 3A). En Habanero, los picos fueron en marzo, julio y noviembre, con la mayor abundancia en julio (Fig. 4A).

Ninfas. El número promedio de ninfas en Habanero fue de $7,5 \pm 10,12$, significativamente mayor ($P = 0,05$) que en Mantilla, con solo $1,8 \pm 1,73$ media de ninfas por ramilla (Tabla 3). En ambos sitios se registraron cinco picos poblacionales: febrero, abril, mayo, agosto y octubre, en Mantilla; en Habanero fue en abril, junio, agosto, octubre y diciembre, con el máximo nivel en diciembre. En ambas plantaciones las ninfas estuvieron ausentes en el mes de enero (Figs. 3A, 4A).

**Figura 2.** Incidencia de *Lecanoideus floccissimus* en el cultivo de cacao en dos localidades de La Chontalpa, Tabasco, 2004.

Enemigos naturales de *L. floccissimus*

Como parasitoides, se registraron individuos de la familia Aphelinidae con muy baja actividad parasítica en ambas plantaciones. El mal estado de los ejemplares impidió su identificación a especie. Al parecer hubo una tendencia a una mayor

**Figura 3.** Distribución temporal de oviposturas, ninfas (A) y enemigos naturales (B) de *Lecanoideus floccissimus* en Mantilla, Cunduacán, Tabasco.

actividad en Mantilla que en Habanero; sin embargo, las diferencias no fueron significativas (Tabla 3).

Respecto a la distribución temporal de los parasitoides en Mantilla, se observaron picos en febrero, mayo, septiembre y diciembre, con el más alto nivel en septiembre; éste último pico coincidió con una fuerte reducción en las poblaciones de ninfas (Figs. 3A-B). En Habanero se registraron picos en abril, agosto y el más alto en noviembre que coincidió también con la reducción de ninfas en ese mes (Figs. 4A-B). Los parasitoides se registraron sobre oviposturas y ninfas de primer y segundo instar.

Al igual que los parasitoides, la actividad de los depredadores fue baja. En ambos sitios se registraron larvas de *Ceraeochrysa* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), principalmente en huevos y ninfas de primero y segundo instar, y aunque la tendencia fue a tener mayores poblaciones en Mantilla, las diferencias estadísticas no fueron significativas (Tabla 3). En Mantilla se detectaron cinco picos poblacionales: marzo, mayo, julio, septiembre y noviembre, que en general correspondieron con las más bajas densidades de ninfas (Figs. 3A-B). En Habanero, la fluctuación de *Ceraeochrysa* se observó en marzo, julio y octubre (Fig. 4B).

Adultos. Se detectaron diferencias significativas ($P = 0,05$) respecto al valor medio de la densidad poblacional entre ambas plantaciones. En Habanero se registró la mayor población de adultos de *L. floccissimus* (Tabla 3) y al igual que las ninfas, se registraron cinco picos de máxima incidencia en marzo, mayo, julio, septiembre y noviembre, con la densidad más alta en marzo. En Mantilla los principales picos se registraron en marzo, julio, septiembre, noviembre y diciembre. En ambas plantaciones no hubo poblaciones de adultos durante los meses de enero y febrero y en diciembre no estuvieron en Habanero, situación que coincidió con las más bajas temperaturas (Tabla 2; Fig. 5).

Migración de adultos. La detección de adultos mediante trampas de color sólo se obtuvo en la plantación de Mantilla. De enero a mayo se registró una tendencia similar en la fluctuación obtenida con el muestreo visual y las trampas de color; sin embargo, a partir de junio las tendencias fueron marcadamente diferentes. Se registraron cuatro picos poblacionales: marzo, junio, agosto, octubre y diciembre (Figs. 5A-B).

Tabla 3. Valores medios de árboles infestados (incidencia), oviposturas, ninfas y adultos de *L. floccissimus* y sus enemigos naturales en dos plantaciones de cacao en Tabasco, México, 2004.

Variable	Media $\pm$ DS ¹	
	Mantilla	Habanero
Incidencia	72,31 $\pm$ 21,81 a	26,39 $\pm$ 13,17 b
Oviposturas	0,24 $\pm$ 0,22 a	0,30 $\pm$ 0,18 a
Ninfas	1,80 $\pm$ 1,73 a	7,5 $\pm$ 10,12 b
Adultos (visual)	0,14 $\pm$ 0,17 a	0,86 $\pm$ 1,17 b
Parasitoides	0,008 $\pm$ 0,013 a	0,0012 $\pm$ 0,003 a
Depredadores	0,019 $\pm$ 0,014 a	0,010 $\pm$ 0,018 a

¹Medias $\pm$ desviación estándar dentro de hileras, seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente (prueba *t* de Student, 22 g.l., $\alpha = 0,05$).

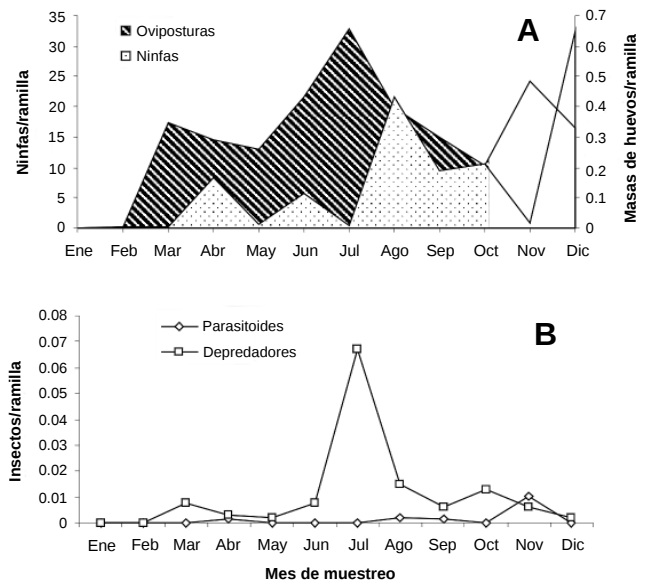


Figura 4. Distribución temporal de oviposturas, ninfas (A) y enemigos naturales (B) de *Lecanoideus floccissimus* en Habanero, Cárdenas, Tabasco.

Relación de *L. floccissimus* con los factores bióticos y abióticos

En Mantilla, se detectó una correlación positiva entre incidencia de *L. floccissimus* vs oviposturas ($r = 0,62$, $P = 0,03$); entre incidencia vs temperatura media mensual ($r = 0,76$, $P = 0,003$); y entre adultos capturados en trampas de color vs oviposturas ($r = 0,66$, $P = 0,02$) (Figs. 6A-C). En Habanero hubo correlaciones positivas entre oviposturas vs temperatura ($r = 0,69$, $P = 0,01$), incidencia vs temperatura ($r = 0,77$, $P = 0,003$), incidencia vs oviposturas ($r = 0,76$, $P = 0,004$) y, larvas de *Ceraeochrysa* sp. vs oviposturas ($r = 0,69$, $P = 0,01$) (Figs. 7A-C).

Discusión

Al existir una mayor incidencia de *L. floccissimus* en Mantilla, se esperarían también mayores niveles poblacionales de la plaga en esa plantación, lo cual no ocurrió. Lo anterior conlleva necesariamente a dos cuestionamientos, primero ¿Qué determinó la mayor y menor incidencia de la plaga en Mantilla y Habanero, respectivamente? y, segundo ¿Qué favoreció las mayores poblaciones de la plaga en Habanero y las limitó en Mantilla? La aparente contradicción entre estos dos planteamientos pudiera explicarse mediante la siguiente discusión.

Es posible que la aparente falta de relación entre incidencia y densidad poblacional se deba a múltiples factores, entre ellos: edad de la plantación, nivel de sombreado, estado nutricional de las plantas, diversidad vegetal y actividades humanas dentro de la plantación. En Mantilla, sitio donde se encontró la mayor incidencia de la plaga, la plantación tenía alrededor de 35 años de edad, con menor densidad de árboles de sombra. Consecuentemente el menor nivel de sombra y la mayor radiación pudieron haber favorecido una mayor dispersión, reflejada ésta en mayor incidencia de la plaga. Contrariamente, la plantación de Habanero, con menor edad (15 años) y mayor densidad de árboles de sombra, fueron factores que posiblemente limitaron la dispersión del insecto. La falta de capturas de adultos en trampas de color en Habanero pudo estar relacionada con la dispersión de los adultos limitada por

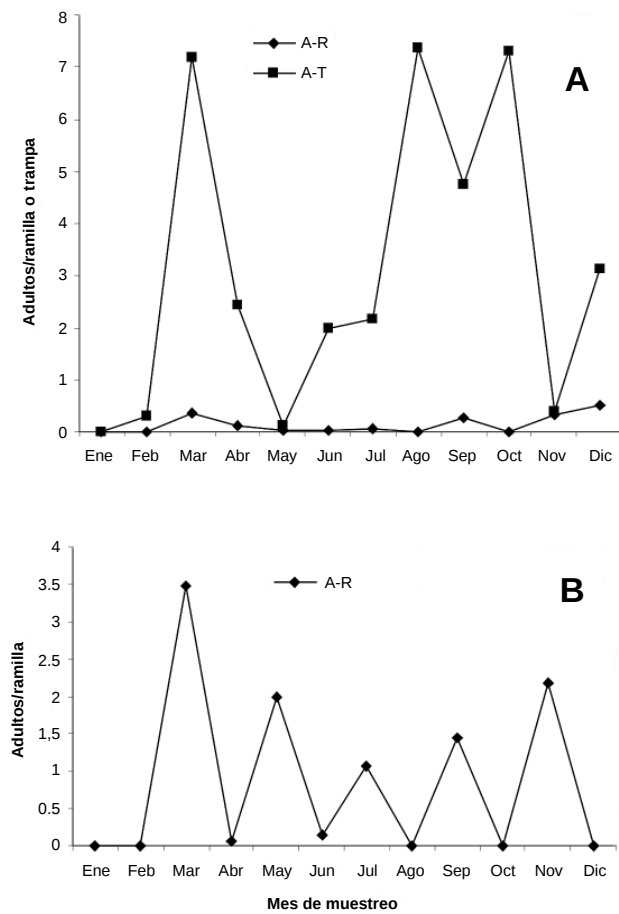


Figura 5. Fluctuación poblacional de *Lecanoides floccissimus* en cacaotales de Tabasco mediante muestreos directos (A-R) de adultos en Mantilla (A) y en Habanero (B), y mediante trampas amarillas (A-T) en Mantilla.

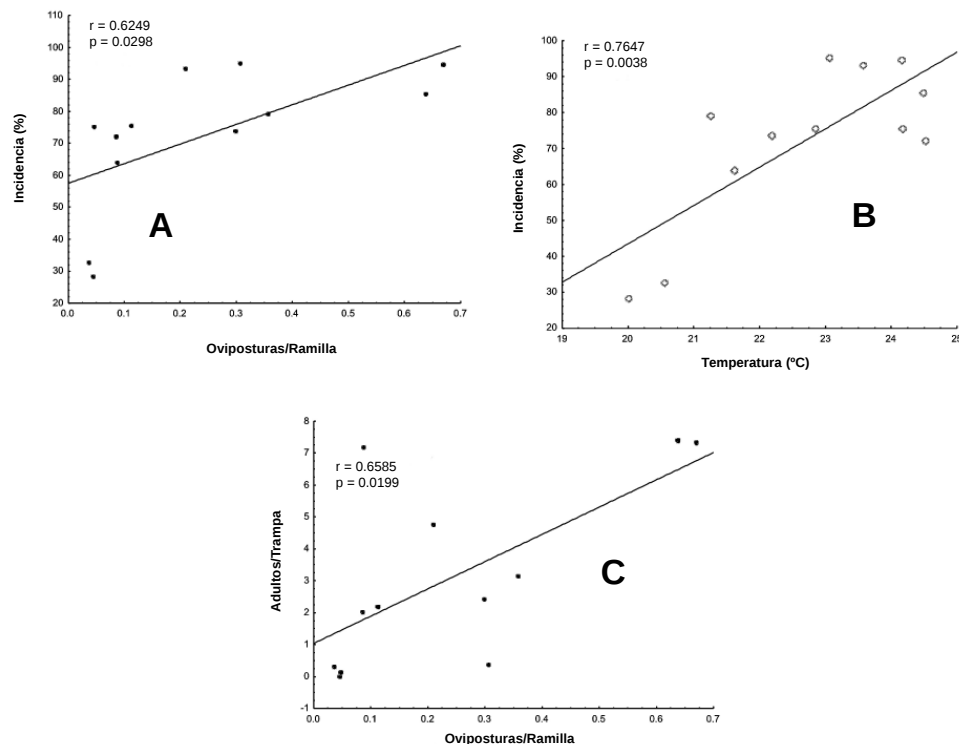


Figura 6. Dispersión de las diferentes variables correlacionadas en Mantilla, Cunduacán, Tabasco. A. Incidencia vs oviposturas. B. Incidencia vs temperatura y, C. Adultos en trampas vs oviposturas.

la mayor sombra en esa plantación. Como trampas de atracción visual, una de las recomendaciones para la utilización de trampas de color es mantener el suelo desnudo de vegetación (Taylor y Palmer 1972; Peña-Martínez *et al.* 2001).

Otro factor poco considerado en la dispersión de insectos pudo ser la actividad humana dentro de las plantaciones; en este caso, la ubicación de la plantación de Mantilla, con casas aledañas y libre tránsito de personas dentro de la plantación, así como la presencia de plantaciones contiguas de cacao, probablemente hayan contribuido a una mayor diseminación del insecto. En Habanero, la actividad humana fue mínima en comparación con Mantilla. Al respecto, D'Almeida *et al.* (1998) y Blanco-Metzler y Laprade (2000) señalan que la dispersión de *Aleurodicus dispersus* (Russell) (Hem: Aleyrodidae) está fuertemente ligada a los caminos y a la actividad de las personas.

Las diferencias en la dispersión del insecto entre ambas plantaciones pudiera explicar en parte la mayor densidad del insecto registrada en Habanero. Pudo ser que la reducida dispersión favoreció la concentración de altas poblaciones de la plaga en pocos árboles; de igual manera, las condiciones de mayor sombra en Habanero pudieron haber limitado el impacto de factores de mortalidad como: temperatura, precipitación y enemigos naturales. Contrariamente, en Mantilla esos factores pudieron contribuir de manera importante en la reducción de la plaga.

Aunque no se encontró una correlación entre densidad de la plaga y temperatura, la influencia de ésta en las poblaciones de *L. floccissimus* ha sido señalada para otras regiones. Hernández *et al.* (2002) observaron que temperaturas por debajo de 15°C y por encima de 30°C reducen las poblaciones del insecto; incluso, a 30°C el ciclo de desarrollo se vio interrumpido. Pudiera ser que las mayores temperaturas registradas en Mantilla respecto de Habanero (22,7°C vs 22,16°C) y

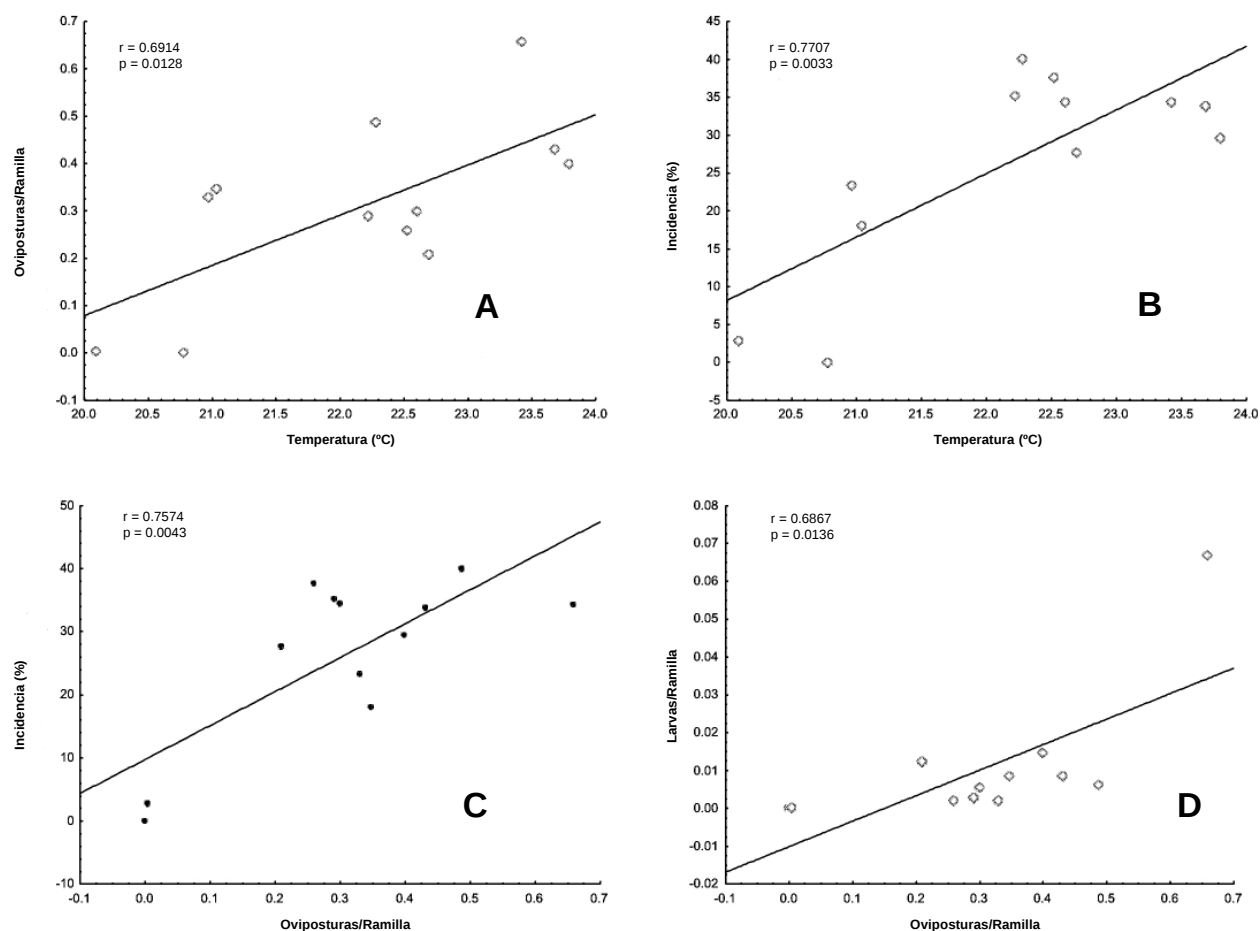


Figura 7. Dispersión de las diferentes variables correlacionadas en Habanero, Cárdenas, Tabasco. **A.** Oviposturas vs temperatura. **B.** Incidencia vs temperatura. **C.** Incidencia vs oviposturas y, **D.** *Ceraeochrysa* sp. vs oviposturas.

magnificadas por el bajo nivel de sombra, hayan contribuido en la reducción de la densidad del insecto en esa plantación. En diez de los 12 meses se registraron diferencias hasta de 1,47°C favorables a Mantilla (Tabla 2).

Respecto a la precipitación, es factible suponer que la menor cobertura vegetal en Mantilla pudo favorecer un mayor impacto negativo de ese factor abiótico en la densidad de la plaga. Aunque la precipitación anual en ambas plantaciones fue similar, en algunos registros mensuales fue notoria la mayor precipitación en Mantilla (Tabla 2). Reportes previos señalan que precipitaciones intensas son causa de reducciones temporales de *L. floccissimus* (Carnero *et al.* 1999), principalmente en los estados de huevo y ninfa de primer instar (Hernández *et al.* 2002).

Además de los factores anteriores, el microclima de las plantaciones de cacao debe ser considerado en futuros estudios con *L. floccissimus*, tal como lo señalan Blanco-Metzler y Laprade (2000) para *A. dispersus* en bananos de Costa Rica. Aunque en nuestro estudio no se determinó el microclima, éste pudo influir en las diferencias de las variables bióticas; en este caso, en los enemigos naturales. Ya han sido señalados los bajos niveles de parasitismo que ocurren en el cultivo del cacao, lo que al parecer se debe a la ausencia de floración adecuada para los parasitoides y al exceso de sombra en el cultivo (Stary 1967; Cortéz 1994). Observaciones realizadas con poblaciones de *L. floccissimus* en árboles de guanábana (*Annona*

muricata), un cultivo con mayor radiación solar que el cacao, registraron mayores niveles de parasitismo que los registrados en cacao.

Lo anterior pudiera explicar la tendencia a una mayor actividad de enemigos naturales en la plantación con menor sombra (Mantilla). Adicionalmente, se sabe que las abundantes secreciones ceras de *L. floccissimus* limitan la actividad de sus enemigos naturales solo a nivel de huevo y primero y segundo instares (Nijhof *et al.* 2000). Es probable que en plantaciones viejas como la de Mantilla, con mayor radiación y mayor impacto de la lluvia en las secreciones ceras, se favorezca una mayor actividad de los enemigos naturales de la plaga. La sincronización entre los principales picos de *Ceraeochrysa* sp. con las menores densidades de oviposturas y ninfas en Mantilla así lo sugieren (Figs. 3A-B).

El presente estudio aporta los primeros conocimientos sobre *L. floccissimus* en Tabasco México, y proporciona importantes elementos para iniciar programas de manejo de la plaga. Uno de ellos pudiera ser el manejo de las plantaciones, en donde la clave de la regulación de la plaga parece estar en el nivel de sombra del cultivo. Futuros estudios deben evaluar diferentes porcentajes de sombra en cacao y seleccionar el que desfavorezca la incidencia y niveles poblacionales de las principales plagas del cultivo, incluida *L. floccissimus*. Otro elemento de manejo debe ser la conservación e incremento de los enemigos naturales de la plaga.

Agradecimientos

A Vicente Emilio Carapia, Profesor-Investigador de la Universidad Autónoma de Morelos, México por su apoyo en la identificación de los especímenes. A la Fundación PRODUCE-Tabasco por el financiamiento del presente estudio.

Literatura citada

- INEGI. 2004. Anuario estadístico del estado de Tabasco. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática-Gobierno del estado de Tabasco, México. 424 p.
- EPPO. 2003. Alert list. European and mediterranean plant protection organization. www.eppo.org. Fecha última revisión: 8 abril 2007. Fecha de último acceso: [8 de abril 2007].
- BLANCO-METZLER, H.; LAPRADE, S. 2000. Variación estacional de la mosca blanca *Aleurodicus dispersus* y sus parasitoides en plantaciones de banano, en Matina Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 55: 51-55.
- CARNERO, A.; HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E.; HERNÁNDEZ-GARCÍA, M.; TORRES, R.; PALACIOS, I. 1999. Pest status of the spiralling whiteflies affecting some species of the Arecaceae and Musaceae families in the Canary Islands. Acta Hortícola 486: 159-163.
- CORTÉZ M., H.; 1994. Enemigos naturales asociados con *Toxoptera aurantii* (Hom: Aphididae) y *Clastoptera globosa* (Hom: Cercopidae), en el cacao. Agrociencia Serie protección Vegetal 5 (1): 53-64.
- D'ALMEIDA, Y. A.; LYS, J. A.; NEUENSCHWANDER, P.; AJUONU, O. 1998. Impact of two accidentally introduced *Encarsia* species (Hym: Aphelinidae) and other biotic and abiotic factors on the spiralling whitefly *Aleurodicus dispersus* Russell (Hom: Aleyrodidae), in Benin, West Africa. Biocontrol Science and Technology 8: 163-173.
- ENTWISTLE, P. F. 1972. Pest of cocoa. Longman Group Limited, London. 779 p.
- FLORES F., J. D. 1976. Insectos asociados con el cultivo del cacaotero, fluctuación poblacional de las principales especies fitófagas y su combate químico en el estado de Tabasco. Trabajo de grado de Maestría en Ciencias. Colegio Superior de Agricultura Tropical, (CSAT). Cárdenas Tabasco, México. 137 p.
- HERNÁNDEZ S., E.; CARNERO H., A. 2000. Descripción y biología de las especies de mosca blanca de mayor interés económico en Canarias (III): ornamentales. Granja (España) 7: 59-64.
- HERNÁNDEZ S., E.; CARNERO H., A.; FEBLES G., J.C.; BRITO H., P.; MEDINA A., G.; SUÁREZ B., J. M.; AMADOR M., S. 2002. Actividades del ICIA (Instituto Canario de Investigaciones Agrarias) en Platanera. Gobierno de Canarias: Consejería de Agricultura, Ganadería Pesca y Alimentación. Pp. 83-95.
- HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E.; FEBLES J., C.; CARNERO, A. 2000. Nuevos hospedantes de la mosca blanca *Lecanoides floccissimus* (Hemiptera: Aleyrodidae) en las Islas Canarias. Boletín de la Asociación Española de Entomología 24 (3-4): 165-170.
- HODGES, G. S.; EVANS, G. A. 2005. An identification guide to the whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the Southwestern United States. Florida Entomologist 88 (4): 518-534.
- MARTIN, J. 1987. An identification guide to common whitefly pest species of the world (Homoptera: Aleyrodidae). Tropical Pest Management 33 (4): 298-322.
- MARTÍN, J. H.; HERNÁNDEZ S., E.; CARNERO, A. 1997. An introduced new species of *Lecanoides* (Homoptera: Aleyrodidae) established and causing economic impact of the Canary Islands. Journal of Natural History 31: 1261-1272.
- MARTIN, J. H.; MIFSUD, D.; RAPIDSARDA, C. 2000. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean Basin. Bulletin of Entomological Research 90: 407-448.
- NIJHOF, B. W.; OUDMAN, L.; TORRES, R.; GARRIDO, C. 2000. The introduction of *Encarsia guadeloupae* (Hymenoptera: Aphelinidae) for control of *Aleurodicus dispersus* and *Lecanoides floccissimus* (Homoptera, Aleyrodidae) on Tenerife. Proceedings of Experimental and Applied Entomology 11: 41-47.
- PEÑA-MARTÍNEZ, M. R.; LOMELI J., R.; TREJO G., L. A.; VILLEGAS J., N. 2001. Monitoreo de áfidos y afidófagos de importancia agrícola. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Instituto Politécnico Nacional. México, D. F. 89 p.
- RUSSELL, L. M. 1965. A new species of *Aleurodicus* Douglas and two close relatives (Homoptera: Aleyrodidae). Florida Entomologist 48: 47-55.
- SÁNCHEZ S., S. 1995. Dos plagas del cacao en el estado de Tabasco, México (Insecta, Lepidoptera: Noctuidae, Hemiptera: Cercopidae). Agrotropica (Brasil) 7 (3): 71-74.
- STARY, P. 1967. Control biológico de áfidos que atacan al café y al cacao en Sur América e Indias Occidentales. Turrialba 17 (4): 388-397.
- SOUTHWOOD, T. R .E. 1976. Ecological methods. Chapman and Hall. London. 391 p.
- TAYLOR, L. R.; PALMER, J. M. P. 1972. Aerial sampling, pp. 188-230. En: Van Emdem, H. F. (ed.). Aphid technology. Academic Press. London. 344 p.

Recibido: 19-abr-2007 • Aceptado: 23-mar-2008

Susceptibilidad de cuatro nóctuidos plaga (Lepidoptera) al gene Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis* incorporado al algodónero

Susceptibility of four noctuid pests (Lepidoptera) to the Cry1Ac gene of *Bacillus thuringiensis* incorporated into cotton

INGEBORG ZENNER DE POLANÍA¹, J. ALONSO ÁLVAREZ RODRÍGUEZ², HELBER ADRIAN ARÉVALO MALDONADO³, RODOLFO MEJÍA CRUZ⁴, MARTÍN A. BAYONA R.⁵

Resumen: Las plantas transgénicas con genes de *Bacillus thuringiensis* (Bt) que codifican para la producción de toxinas, eficaces contra algunas plagas, son consideradas útiles dentro del manejo de insectos. Sin embargo, estas variedades no controlan satisfactoriamente a todos los noctuidos plagas y, además, inducen a su resistencia. Se evaluaron diversas poblaciones de variantes locales de *Heliothis virescens*, *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda* y *S. sunia* para conocer su susceptibilidad a la toxina Cry1Ac de la variedad Bollgard® sembrada en Colombia. El Cry1Ac, se obtuvo de un gene de Bt clonado en *Escherichia coli* y de MVP® (protoxina encapsulada en *Pseudomonas*). Se expusieron larvas neonatas a dosis seriadas incorporadas a dieta merídica y, también, alimentadas con tejido fresco de algodón transgénico. Se determinó el peso de larvas y pupas sobrevivientes y la emergencia de los adultos. Los resultados, se sometieron a ANAVA y las concentraciones letales (CL) se obtuvieron mediante análisis Probit. Se encontró una aceptable susceptibilidad de *H. virescens*, CL₅₀ de 3,52 y 3,81 µg/mL, en los periodos 2005A y 2006A respectivamente, y un 100% de mortalidad al alimentar las neonatas con hojas terminales. La CL₅₀ para *H. zea* varió entre 3,42 y 6,12 µg/mL; a medida que aumentaba la dosis de la toxina disminuía el peso y se obtuvo un alto porcentaje de pupas deformes. Para *Spodoptera* spp., las CL₅₀ oscilaban entre 192 y 1.178 µg/mL mostrando su resistencia a la toxina. Se concluye que actualmente el algodón transgénico proporciona un control satisfactorio de los Heliothine pero no del complejo *Spodoptera*.

Palabras clave: Organismo genéticamente transformado. Toxina Bt. Belloteros. *Spodoptera* spp. Comportamiento.

Abstract: Transgenic plants possessing genes of the bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt) which codify for toxin production effective against some pests, are considered useful within the management of insects. However, these commercial cultivars do not control satisfactorily all noctuids, and besides, at a distance, induce resistance. Diverse populations of native *Heliothis virescens*, *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda* and *S. sunia* strains were evaluated to determine the susceptibility to the toxin Cry1Ac of the cultivar Bollgard®, planted in Colombia. Cry1Ac was obtained from a Bt gene cloned in *Escherichia coli* and from MVP® (protoxin encapsulated in *Pseudomonas*). Neonate larvae were exposed to seriated dose of the toxin, incorporated within meridic diet and also fed with fresh transgenic cotton tissue. Weight and adult emergency of the survivors were determined. Results were submitted to an Anova and LC was obtained by Probit analysis. An acceptable susceptibility of *H. virescens*, LC₅₀ of 3.52 and 3.81 µg/mL, 2005A y 2006A, respectively, and a 100% mortality when feeding neonates with terminal leaves was found. LC₅₀ for *H. zea* varied from 3.42 to 6.12 µg/mL; as the toxin dose increased, the pupal weight decreased and a high percentage of deformed pupae were observed. For *Spodoptera* spp., LC₅₀ oscilated between 192 y 1.178 µg/mL, showing its resistance to the toxin. It was concluded that, at the moment, the transgenic cotton provides satisfactory control of the Heliothine, but no of the *Spodoptera* complex.

Key words: Genetically transformed organisms. Bt toxin. Bollworms. *Spodoptera* spp. Behaviour.

Introducción

Desde que el hombre se volvió sedentario y se dedicó a la agricultura intensiva en forma de monocultivos en extensas áreas, le ha tocado luchar contra las plagas, con énfasis en los insectos herbívoros. Al encontrar algún método de control siempre pensó haber ganado la batalla, lo cual fue especialmente cierto con el advenimiento del control químico. La destrucción de la fauna benéfica y el surgimiento de resistencia a los insecticidas, logró hacer recapacitar y formular nuevos conceptos que finalmente se concentraron en un manejo integrado de las plagas. Este manejo tampoco ha sido aceptado por muchos agricultores por requerir atención especial a los cultivos, monitoreo y a menudo es considerado demasiado costoso

y dispendioso. Dentro de los programas de MIP, el último “método de control” incorporado ha sido el uso de cultivares “insecticidas” transgénicos que contienen proteínas Cry de la bacteria del suelo *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Bt), las cuales protegen las plantas contra la alimentación de larvas de algunas plagas del orden Lepidoptera (Gustafson *et al.* 2006; Carrière *et al.* 2001).

Las plantas transgénicas, entre ellas el algodónero (*Gossypium hirsutum* L., 1793) que poseen genes Bt que codifican para la producción de toxinas Cry, eficaces contra algunas plagas, son por lo tanto consideradas útiles como herramientas dentro del MIP. Pueden evitar aplicaciones de insecticidas químicos contra algunos nóctuidos, los cuales deterioran el ambiente, pero no controlan ácaros, ni áfidos o moscas blancas. El

¹ Ph.D. Autor para correspondencia. Ingeniera agrónoma, Ph. D. Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A., Calle 222 No. 54-37, Bogotá, D.C., izenner@udca.edu.co.

² Ph.D. (Q.E.P.D.).

³ Estudiante Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A., Calle 222 No. 54-37, Bogotá, D.C. jelber2000@gmail.com.

⁴ M.Sc. Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A., Calle 222 No. 54-37, Bogotá, D.C. rmejia@udca.edu.co.

⁵ M.Sc. Facultad de Medicina, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A., Calle 222 No. 54-37, Bogotá, D.C. mabayona@udca.edu.co.

control de las plagas objetivo con las variedades transgénicas y la consecuente ausencia del control químico pueden resultar en el aumento de poblaciones de estas plagas secundarias. Así, se cambia el panorama, se presentan problemas nuevos y difíciles; ante todo existe luego la posibilidad de que los insectos chupadores adquieran mayor importancia y su manejo aumente el costo de producción, ya incrementado por el valor de la semilla del cultivar transgénico (ICAC 2005).

El gene Cry1Ac introducido al algodónero Bollgard (Monsanto Company, St. Louis, MO) que se siembra desde el año 2003 en Colombia, expresa cristales proteicos con actividad insecticida contra algunos lepidópteros, especialmente los belloteros. Esta variedad, de acuerdo con Jackson *et al.* (2003), provee control absoluto en los estados productores de algodón de los Estados Unidos contra *Heliothis virescens* (F., 1777), pero muestra ocasionalmente problemas de eficacia contra *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850). Esta toxina no ejerce controles satisfactorios de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Garczynski *et al.* 1991; Bohorova *et al.* 1997; Ayra-Pardo *et al.* 2006), nóctuido común en el algodónero en nuestro medio.

A nivel mundial, una de las preocupaciones asociadas al algodónero Bt corresponde a la posibilidad del desarrollo de resistencia de las poblaciones plagas objetivo, basado en selección por resistencia al Cry1Ac, particularmente para los belloteros *H. virescens*, *H. zea* y *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) (Ali *et al.* 2006; Jackson *et al.* 2007; Rausher 2001; Bird y Akhurst 2005). Además, el manejo de la resistencia se ha vuelto mucho más complejo y costoso, debido a que los refugios se establecen de manera mandatoria y existen consideraciones estratégicas de selección múltiple de cultivos transgénicos a través de las regiones agrícolas (Ali *et al.* 2006).

Antes de la comercialización de los cultivos transgénicos aparecieron las preocupaciones y los llamados de atención sobre la evolución de resistencia por parte de los insectos plagas al *B. thuringiensis*. En 1985, se alertó a la comunidad internacional sobre el riesgo de desarrollo de resistencia de insectos al Bt (McGaughey 1985). Bajo condiciones de laboratorio ya se seleccionaron hace algunos años razas que pueden cumplir su ciclo biológico en cultivos transgénicos (Tabashnik *et al.* 2003). Al trabajar con la raza HD-1 y una formulación comercial del *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki*, Stone *et al.* (1989) demostraron el potencial del *H. virescens* para desarrollar resistencia a la delta - endotoxina del Bt. Presión de selección, ejercida durante cuatro generaciones en el laboratorio sobre una población de *S. frugiperda* con una formulación comercial de Bt (mezcla de cinco toxinas, incluyendo Cry1Ac) mostró un incremento de 4,6 veces en la CL_{50} (Borrero y Zenner de Polanía 1998).

Las siembras comerciales de algodón transgénico se iniciaron en 1996 en Estados Unidos y Australia. Durante este primer año se plantaron 1.800.000 acres en Estados Unidos (National Cotton Council 1997); James (2005) citado por Tabashnik *et al.* (2006) menciona que a nivel mundial en el año 2005, se sembraron 26 millones de hectáreas de algodón y maíz transgénico, área que podría permitir la adquisición rápida de resistencia a la toxina incorporada de las plagas clave. La tolerancia y resistencia de las plagas al Cry1Ac, entre otras causas, ocasionaron insatisfacción en EE.UU. y Australia, lo cual llevó a la construcción de una segunda generación del algodónero Bt, denominados algodones “gene-piramidales”: el Bollgard II que contiene los genes Bt que codifican la producción de las endotoxinas Cry1Ac y Cry2Ab, efectivas con-

tra larvas de lepidópteros (Greenplate *et al.* 2003) y el Wide Strike (Dow AgroSciences) que produce las endotoxinas Cry1Ac y Cry 1F (Pellow *et al.* 2002, citado por Jackson 2007). El Cry1Ac incorporado al Bollgard todavía controla satisfactoriamente a *Heliothis* spp., pero no es eficaz contra otros lepidópteros plaga; el Cry adicional del Bollgard II es considerado también eficiente contra *S. frugiperda*, *S. exigua* (Hübner, 1808), *Pseudoplusia includens* (Walter, 1857) y *Trichoplusia ni* (Hübner, 1803) (ICAC 2004). De acuerdo con Haile *et al.* 2004, citados por ICAC (2005), el algodón Wide Strike, una variedad que también posee incorporados dos genes, aislados del Bt, el Cry1Ac y el Cry1F, muestra protección durante todo el desarrollo fenológico de la planta contra un amplio espectro de insectos del orden Lepidoptera, entre los cuales figuran los belloteros (complejo Heliothine), *S. frugiperda*, *S. eridania* (Cramer, 1782), *S. exigua*, *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1843), *T. ni*, *P. includens* y *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1766). Las regulaciones de Monsanto prohíben comparaciones directas, presumiblemente en condiciones de campo, entre las variedades Bollgard, Bollgard II y WideStrike™ (ICAC 2005); menciona en este contexto que, el desempeño en el rendimiento varía dependiendo del sitio, de la presión y del complejo de plagas presentes, incluso, si la variedad WideStrike™ se cultivara bajo las mismas condiciones.

Algodones transgénicos transformados para producir una novedosa proteína del Bt, la Vip3A, ya se están evaluando comercialmente en EE.UU. La Vip3A es considerada única, ya que muestra actividad tanto en su fase vegetativa como en la fase de esporulación, mientras que las actividades de las proteínas Cry1 y Cry2 se limitan a la fase de esporulación (Estruch *et al.* 1996). La proteína VIP es una exotoxina, también derivada de la bacteria del suelo *B. thuringiensis*, estructural, funcional y bioquímicamente diferente a las delta endotoxinas. Se expresa en todas las partes de la planta, incluyendo los componentes florales, para proteger la planta (ICAC 2004). Estudios recientes para evaluar la posibilidad de existencia de resistencia cruzada de razas resistentes de *H. virescens* al Cry1Ac al VIP3A, mostraron la ausencia de esta resistencia cruzada. La utilización de líneas de algodón que producen la proteína VIP, podría por lo tanto atrasar la evolución de la resistencia al Cry1Ac del bellotero (Jackson *et al.* 2007).

No todos los sistemas de producción de algodón son satisfactorios para el uso de variedades transgénicas y dadas las presiones competitivas del sector biotecnológico que desarrolla estos productos, es posible que en su diseño no se contemplen aspectos para el desarrollo de un cultivar óptimo (ICAC 2005). La razón de las fallas identificadas en algunos casos pueden estar en la presión de selección, en la variación en la expresión y actividad de la toxina por estacionalidad, en efectos de sitio, en desarrollo fenológico, en otros estresantes bióticos y abióticos y en efectos somaclonales (Halcomb *et al.* 1996).

Al formular este proyecto se desconocía literatura científica publicada en Colombia sobre los aspectos básicos y, a pesar del riesgo del desarrollo de resistencia, no se divulgó investigación sobre la susceptibilidad, expresada en concentración letal media (CL_{50} o CL_{80}), de *S. frugiperda*, *H. virescens* y *H. zea* al Cry1Ac incorporado al algodónero transgénico que se está sembrando en el país. Tampoco, se conocía la concentración de la toxina en las partes vegetativas y reproductivas de la planta a través de su desarrollo fenológico bajo nuestras diversas condiciones climáticas y edáficas, ni se

publicaron recomendaciones validadas acerca del manejo de la variedad transgénica en cuanto a refugios y otros aspectos que podrían atrasar la posible adquisición de resistencia.

Por lo tanto, se propuso esta investigación para conocer la susceptibilidad de estas plagas al Cry1Ac y determinar simultáneamente la expresión de la toxina a través del desarrollo fenológico del algodón transgénico, para proponer a los cultivadores información concreta acerca del comportamiento y manejo de estas plantas transgénicas y del manejo de una posible resistencia. Conocer la línea base de susceptibilidad al Cry1Ac es indispensable para el monitoreo de la resistencia de los noctuidos involucrados en este estudio y, posteriormente poder alertar a los agricultores y tomar medidas para el manejo de la resistencia, mientras que la expresión y concentración del gene que codifica la toxina a través del desarrollo fenológico de las plantas transgénicas puede ser crítico para el manejo de las plagas.

Materiales y Métodos

El Cry1Ac empleado en los bioensayos se obtuvo de un gene del Bt, donado por el *Bacillus Genetic Sock Center* (EE.UU.), extraído de la cepa ECE-53 de *E. coli* recombinante mediante la metodología recomendada por Akhurst *et al.* (2003) y de MVP® (Cry1Ac encapsulado en *Pseudomonas*), proporcionado por Dow CropSciences. Para establecer la concentración de la proteína purificada, se utilizó el método Bradford y para el desarrollo de la curva patrón, se emplearon diluciones seriadas con concentraciones entre 100-1.000 µg/mL de la solución comercial MVP, la cual tiene formulación líquida del 20% de la toxina Cry1Ac. Las lecturas se hicieron en un espectrofotómetro Spectronic 601 digital a una longitud de onda de 565nm.

El material biológico para las crías se recolectó en cultivos de algodón y maíz no transgénicos en los departamentos del Tolima, Casanare y Meta. La cría de *H. zea* se inició a partir de larvas de los dos últimos instares, obtenidas de mazorcas atacadas procedentes del Pie de Monte Llanero, municipio de Villavicencio. Se permitió su desarrollo en el laboratorio hasta pupa sobre pedazos de mazorca tierna, en vasos plásticos de 40 mL con tapa inyectada. Una vez obtenidas las pupas, se determinó su sexo y se colocaron en frascos grandes de vidrio para esperar la emergencia de los adultos. Estos fueron alimentados con miel de abeja y para la oviposición se colocaron tiras de papel de color azul en el borde de los frascos. Con la descendencia parcial de diez parejas, aproximadamente 500 huevos, se inició la F₁, a partir de la cual se mantuvo la cría masiva y se realizaron los bioensayos. Una metodología similar se empleó para *H. virescens* iniciándose la cría partiendo de huevos recolectados en hojas terminales en diversos sitios del Tolima y en Villanueva (Casanare) y alimentando las larvas con dieta importada específica para esta especie. Las larvas de *S. frugiperda* y de *S. sunia* (Guenée, 1852) fueron criadas a partir de posturas con dieta importada para luego seguir los mismos procedimientos.

La susceptibilidad de las larvas neonatas se evaluó incorporando concentraciones seriadas del Cry1Ac a dietas merídicas específicas (importadas de Southland Products INC., EE.UU.). Las dosis empleadas para *H. virescens* y *H. zea* oscilaron entre 0,001 y 100 µg/mL, mientras aquellas empleadas para las larvas neonatas del cogollero del maíz variaron de 0,001 a 1000 µg/mL, y de 0,002 a 2000 µg/mL. Todos los bioensayos se rigieron por un diseño de bloques al azar, seis

repeticiones, cada una de ellas representada por un vaso plástico con dieta sobre la cual se colaron cinco larvas neonatas. La mortalidad se estimó a los siete días y los datos se sometieron a análisis Probit (SAS Institute Inc.) para determinar las concentraciones letales. El efecto de la alimentación con partes vegetales de plantas transgénicas sobre el desarrollo de las larvas de *H. virescens* y *S. frugiperda* se evaluó empleando en vez de la dieta con el Cry incorporado, tejido fresco transgénico. En siete repeticiones, diez larvas neonatas de la misma población por repetición, se colocaron sobre hojas terminales del algodón Bollgard; como testigo se emplearon hojas terminales de algodón convencional, sembrado en un refugio. Para algunas especies, se determinó con los sobrevivientes la duración del ciclo, el peso de las larvas, peso de las pupas y la emergencia de los adultos.

Para establecer la concentración del Cry1Ac, se tomaron, hojas y yemas terminales, botones florales, flores sin y con fecundación, sépalos, cápsulas, fibra y semillas, de un lote sembrado con semilla distribuida por "Cotton Seed Distributors". Las partes, se liofilizaron y pulverizaron para luego tomar muestras homogéneas del material, llevarlo en 250 µL de buffer de extracción PBS (0,55%) y depositarlo en tubos de microcentrifuga por 24 horas en solución, para la determinación de la proteína Cry1Ac por la técnica de micro Elisa, empleando el kit "Envirologix Qualiplate para Cry1Ab/Cry1Ac", kit diseñado para la detección cuantitativa para la proteína Cry1Ac en muestras de semillas y hojas de algodón Bollard®. La concentración, se midió utilizando un BioRad 'Benchmark' lector de microplacas (BioRad Laboratories; Tokio, Japón) a una longitud de onda de 450 nm. La lectura en línea de absorbancia se efectuó en un lector de Elisa Ref. Anthos 2020 (versión 2.0.5) en el laboratorio de investigaciones biotecnológicas de la Pontificia Universidad Javeriana. Todos los bioensayos se llevaron a cabo en el laboratorio de Biotecnología Agrícola de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, bajo condiciones de temperatura promedio de 24,9°C y humedad relativa de 70%.

Resultados y Discusión

Concentración toxina Cry1Ac en el tejido vegetal. En la hojas cotiledonares, tejido de ocho días de edad, la concentración de proteína específica Cry1Ac fue de 4,625 ppm lo cual coincide con Bird y Akhurst (2005) quienes encontraron 5,6 ppm. Las concentraciones de allí en adelante, se muestran en la Tabla 1. En general, se observó una disminución de la concentración a medida que aumenta la edad de la planta, exceptuando la concentración obtenida en la flor fecundada. Según Olsen *et al.* (2005) a medida que el cultivo se desarrolla, la concentración de la proteína disminuye, por ende en este primer estado fenológico la planta expresará la mayor concentración de proteína Cry1Ac. Los cambios detectados, de acuerdo a Olsen *et al.* (2005), se pueden traducir en una disminución de la eficacia; se pueden deber a cambios en el nivel de expresión del gene y/o la constitución fisiológica de la planta y pueden ser inducidos por las condiciones ambientales.

Gusano bellotero del algodón, *Heliothis virescens*. A las poblaciones, extremadamente altas y resistentes a todos los insecticidas empleados en su control, del gusano bellotero, se atribuye en parte las dos crisis algodoneras en Colombia siendo la plaga más importante durante los años 70s hasta comienzos de los 90s. A todos los insecticidas utilizados para su con-

Tabla 1. Concentración máxima de proteína tóxica Cry1Ac en tejidos vegetales de Bollgard®.

Días después de la Siembra	30	75	90	105	120
Tejido analizado	Concentración Cry1Ac en ppm				
Hojas terminales	4,42				
Yemas terminales			3,76		
Botón floral					1,67
Flor sin fecundar		0,65			
Flor fecundada		4,39			
Cápsulas				1,82	
Semilla					4,75

trol, inclusive a los piretroides, que fueron la última arma esgrimida en forma masiva, mostró su capacidad para evolucionar a poblaciones resistentes. Luego, la plaga fue perdiendo importancia, su aparición se tornó esporádica y con bajas poblaciones, reduciéndose las aplicaciones para su control; llegando incluso a no reportar su presencia en algunas zonas del país durante una o más temporadas. En la actualidad, las poblaciones en los algodones convencionales, considerados “refugios”, son tan bajas o inclusive ausentes, por los menos en el departamento el Tolima, lo cual dificultó por un lado la obtención de muestras del insecto para los bioensayos y por el otro, la interpretación de los resultados. Durante el primer semestre del año 2007, las búsquedas de huevos de *H. virescens* en el área algodonera del municipio de El Espinal, por ejemplo, fue infructuosa, lo cual impidió la realización del bioensayo correspondiente.

El análisis Probit de los porcentajes de mortalidad, a los siete días, de las larvas de este bellotero recolectadas durante el semestre algodonero en el Tolima del año 2005, reveló una CL_{50} de 3,52 $\mu\text{g/mL}$, toxina total, (IC 95% 1,29 y 5,74 $\mu\text{g/mL}$), una pendiente de la línea de regresión de 1,1655 y un R^2 de 0,879. La CL_{80} correspondió a 6,09 $\mu\text{g/mL}$ (IC 95% entre 3,87 y 8,32 $\mu\text{g/mL}$). Se observa una alta confiabilidad de estos resultados. Esto, desde el punto de vista práctico, significó un control satisfactorio de la plaga durante este semestre. En el bioensayo simultáneo con material vegetal fresco, hojas terminales del algodón Bollgard, en comparación con el testigo de algodón convencional, se encontró que al cabo de cuatro días el 100% de las larvas sometidas al algodonero transgénico murieron sin haber mudado al segundo instar, mientras que las larvas alimentadas con algodón convencional sobrevivieron y se desarrollaron normalmente.

Los resultados del bioensayo realizado con la población obtenida de un refugio de El Espinal del primer semestre del año 2006, con las mismas dosis seriadas incorporadas a dieta merídica, mostraron una CL_{50} de 3,81 $\mu\text{g/mL}$ (IC 95% entre 1,36 y 6,14 $\mu\text{g/mL}$), una pendiente de la línea de regresión de 1,16741 y un R^2 de 0,917. La CL_{80} correspondió a 6,49 $\mu\text{g/mL}$ (IC 95% entre 4,01 y 8,51 $\mu\text{g/mL}$). Nuevamente, se observó una alta confiabilidad de los resultados, lo cual, todavía, asegura un buen control de la población analizada. El aumento de la concentración letal entre los dos semestres fue insignificante, lo cual se atribuye a la presencia de huéspedes alternos del *H. virescens*, durante el semestre no algodonero.

Resultados no muy diferentes fueron obtenidos por Rodríguez Chalarcá *et al.* (2007) al establecer la línea base para el

bellotero para tres poblaciones del Valle del Cauca y una de la costa norte del país. Las muestras del insecto procedentes de Buga, Palmira y Bugalagrande arrojaron, respectivamente, una DL_{50} de 3,2; 5,0 y 10,0 $\mu\text{g/mL}$, mientras que aquella obtenida para la población de la costa fue de 5,0 $\mu\text{g/mL}$. Estos y los anteriores resultados muestran la alta variabilidad de nuestras poblaciones de la plaga. Ali *et al.* (2006) estudiaron en los Estados Unidos la susceptibilidad de *H. virescens* de poblaciones de diversa procedencia, utilizando la misma metodología. Para una población de algodón obtuvieron una CL_{50} de 1,20 $\mu\text{g/mL}$ (IC 95%: 0,83-1,78), relativamente menor a la obtenida en los bioensayos con la población de El Espinal durante dos semestres seguidos. Esto comprueba lo ya mencionado por muchos autores que la susceptibilidad de las diversas poblaciones geográficas a la toxina del Bt varía enormemente y depende de los más diversos factores, entre bióticos y abióticos.

Las concentraciones calculadas 4,625 ppm y 4,422 ppm de la toxina en las hojas cotiledonares y en las hojas terminales respectivamente, donde el bellotero acostumbra colocar sus huevos y, se alimentan las larvas neonatas, explica la mortalidad obtenida. Esto comprueba para el control de esta población de *H. virescens* la eficacia del material transgénico, pero también la necesidad de manejar la posible futura resistencia al Cry1Ac con la siembra de algodón no transgénico en refugios de áreas adecuados y a distancias apropiadas. Sin embargo, a medida que avanza el desarrollo de las plantas, como ya se mencionó, disminuye la concentración de la toxina de una manera marcada. Las concentraciones obtenidas (1,675 ppm en botones florales y 1,82 en cápsulas inmaduras) podrían todavía causar mortalidad a las larvas de primer instar, teniendo en cuenta las concentraciones enmarcadas dentro de los intervalos de confianza de las concentraciones letales encontradas en los dos bioensayos.

Como una ventaja de la población de *H. virescens* en el Tolima, para atrasar la ocurrencia de resistencia y prolongar la vida de la variedad transgénica, se considera la existencia de huéspedes alternos, la escobita girasol (*Lagaxea mollis*) y el pega pega, *Desmodium* sp., en ausencia del algodón. Durante el segundo semestre del 2005, se recolectó precisamente en esta última planta un alto número de larvas de todos los instares de la plaga, para repetir los bioensayos realizados durante el primer semestre. El 99% de las larvas resultó afectado por el parasitoide *Cardiochiles nigriceps* (Viereck, 1912) (Hymenoptera: Braconidae), impidiendo la realización de los trabajos. La presencia del parasitoide actuando sobre las larvas que se

desarrollan en la arvense, se debe tener muy en cuenta para futuros estudios para evaluar además el efecto de la toxina sobre este insecto benéfico.

Los insectos procedentes de Villanueva (Casanare), donde todavía no se ha sembrado algodón Bt, utilizados en otro bioensayo con material vegetal fresco, hojas terminales de algodón transgénico procedentes del Tolima, dio también como resultado una mortalidad del 100% al día siete de haberse iniciado el experimento, mientras que en el testigo no transgénico las larvas se desarrollaron normalmente. Esto podría también significar una alta susceptibilidad al Cry1Ac de la población de *H. virescens* de esa región.

A pesar de los resultados positivos obtenidos hasta el momento con el algodón transgénico Bollgard, no se debe discontinuar el monitoreo de la resistencia de *H. virescens* y, ante todo insistir en las siembras de refugios y la no destrucción de las arvenses mencionadas, escobita girasol y pega pega, sino más bien su conservación y hasta la siembra en los bordes de los lotes. Se debe recalcar que las poblaciones del bellotero durante la última década y específicamente los últimos tres años, incluyendo el primer semestre del año 2007, fueron muy bajas en el Tolima. La situación podría cambiar en cualquier momento y, si hay explosiones demográficas de la plaga como ocurre periódicamente en esta zona algodонера, esto podría traer consecuencias negativas, inclusive al sembrar fuera del Bollgard I, el Bollgard II, el WideStrike o el Vip3A, sino se maneja adecuadamente la prevención de la resistencia.

Gusano de la mazorca, *Helicoverpa zea*. Antes de ser liberadas las variedades transgénicas que poseen el gene Cry1Ac Luttrell *et al.* (1999), durante los años 1992 y 1993 estudiaron los Heliotinos de diversas regiones geográficas, encontrándose una variable susceptibilidad, la cual fue más acentuada para *H. zea* que para *H. virescens*. Aproximadamente diez años más tarde Ali *et al.* (2006) sugirieron una CL₅₀ mayor en comparación con aquella reportada por Luttrell *et al.* (1999), inclusive descubrieron, entre todas las poblaciones evaluadas recientemente, una variación de 130-veces entre las concentraciones letales. De acuerdo con Gore *et al.* (2003a), a pesar de la susceptibilidad del insecto al Cry1Ac, el algodón Bt (primera generación), no ha proporcionado controles adecuados bajo ciertas situaciones. Jackson *et al.* (2004) confirman estos hallazgos mediante estudios en condiciones de laboratorio y campo. Se considera que, fuera de la menor susceptibilidad de *H. zea* al Cry1Ac, controles no satisfactorios de la plaga son el resultado de la variación temporal y espacial en la expresión del Cry1Ac entre las partes de la planta (Adamczyk *et al.* 2001).

La mortalidad de la población autóctona del insecto procedente del Piedemonte llanero colombiano se evaluó mediante tres bioensayos. La CL₅₀ calculado a los siete días de haberse

iniciado los bioensayos con las larvas neonatas varió de 3,45 a 6,12 y la CL₈₀ de 7,12 a 10,19 µg/mL (Tabla 2). Los intervalos de confianza muestran que la CL₅₀ corresponde a un valor cercano a 5 µg/mL, lo cual es considerablemente menor que la CL₅₀, 10,06 µg/mL, obtenida para el promedio de todas las muestras de poblaciones de *H. zea* recolectadas durante dos años de maíz en Estados Unidos (Ali *et al.* 2006). Si se comparan las concentraciones letales medias con la concentración del Cry1Ac en el cultivar algodónero de Bollgard®, el NuCOTN 33B de 8,56 ± 0,704 (ppm ± D.E) obtenidos por Adamczyk y Gore (2004), vemos la posibilidad de que algunos de los individuos de nuestra población de *H. zea* escapen a la acción de la toxina, si en la Orinoquía colombiana, específicamente en la zona algodонера de Villanueva, Casanare, se sembrara el algodón transgénico que tiene incorporado la toxina Cry1Ac.

Analizando estos datos, Zenner de Polanía *et al.* (2008), conceptúan que la variación entre las concentraciones letales entre los tres bioensayos indica una población genéticamente variable del gusano de la mazorca. El amplio rango de susceptibilidad al Cry1Ac podría tener como consecuencia la supervivencia y rápido desarrollo de tolerancia del insecto al Cry1Ac. Un aumento de los dos Heliotinos a poblaciones económicamente relevantes, podría poner en peligro el beneficio actual del Bollgard y requerir aplicaciones de insecticidas para prevenir pérdidas, como lo sugieren también Gore *et al.* (2003b). Igualmente, Jackson *et al.* (2003) mencionan una relativamente baja y variable susceptibilidad del bellotero al Cry1Ac en comparación con *H. virescens*, mientras que Stone y Sims (1993) determinaron una variación de valores de CL₅₀ de cuatro a 60 veces mayor que las estimadas para *H. virescens*. Varios autores evaluaron el beneficio y recomiendan para un aumento significativo del control del gusano de la mazorca, la adición de la segunda proteína, el Cry2Ab (Gore *et al.* 2003a; Jackson *et al.* 2003). Vale la pena también destacar los resultados obtenidos por Chitkowski *et al.* (2003) quienes determinaron la existencia de poblaciones mucho más bajas de *H. zea* en Bollgard II que en Bollgard. En nuestro caso, los valores de las concentraciones letales son, sin embargo, solamente un poco mayor para el gusano de la mazorca que para el bellotero, lo cual se podría deber a la ausencia del algodón Bt en el área de procedencia del *H. zea*. Sin embargo, si en el futuro la diferencia se acentúa, se considera que teniendo en cuenta la dificultad que existe para diferenciar a nivel de campo las larvas de las dos especies, la mayor susceptibilidad de *H. virescens* podría servir para distinguirlas entre sí.

La concentración de la toxina tuvo una marcada influencia sobre el desarrollo larval y pupal del insecto, expresada en la disminución del peso y el aumento en la duración del estado a medida que aumentaba la dosis. Concentraciones cercanas a 0

Tabla 2. Mortalidad de *Helicoverpa zea* en los tres bioensayos realizados con dieta merídica con dosis, µg/mL, seriadas del Cry1Ac incorporado (análisis Probit). (Modificado de Zenner de Polanía *et al.* 2008).

Bioensayo	CL ₅₀	IC 95%	CL ₈₀	IC 95%	Pendiente	R ²
I	6,12	2,37-9,86	10,19	6,45-13,94	0,7364	0,88
II	3,45	1,85-5,24	7,12	5,42-8,80	0,8481	0,97
III	5,96	3,99-5,24	9,48	7,50-11,46	0,8537	0,67

IC = Intervalo de confianza, R² = Coeficiente de determinación.

mayores que 1,0 ppm ocasionaron alta mortalidad larval y un elevado porcentaje de pupas deformes. Sin embargo, entre los pesos logrados con dosis hasta 0,1 $\mu\text{g/mL}$ y el testigo absoluto no hubo diferencia estadísticamente significativa (Tabla 3) (Zenner de Polanía *et al.* 2008).

Al comparar el peso promedio de las pupas del testigo de la raza colombiana, $402,37 \pm 28,10$ (Tabla 3), con los pesos, $451,82 \pm 3,17$ y $418,83 \pm 5,27$, encontrados por Giolo *et al.* (2006) al utilizar dos dietas merídicas, se observa un peso significativamente bajo en el estudio actual y además una DMS mucho mayor. Las diferencias se podrían atribuir a deficiencias nutricionales en la dieta, a la variedad del gusano de la mazorca y a las condiciones ambientales de los laboratorios. Con una dieta, consistente en pedazos de mazorca tierna el peso de las pupas aumentó a $422 \mu\text{g} \pm 0,0639$. Se advierte la influencia de la calidad del alimento, de la variabilidad genética y de la procedencia sobre el peso de las pupas de *H. zea*, lo cual podría implicar una variación en la supervivencia del insecto en el algodón transgénico. Concentraciones mayores que 0,1 ppm en el tejido vegetal, atacado por *H. zea*, aunque no causaría un 100% de mortalidad, en teoría, sí disminuiría considerablemente la emergencia de adultos viables. Teniendo en cuenta la concentración máxima obtenida en botones florales y cápsulas inmaduras, partes del algodón afectadas preferencialmente por la plaga (Tabla 1), la posibilidad de una marcada supervivencia de la plaga al algodón transgénico que se siembra en el país es poco probable.

Cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* y gusano rasputín, *S. sunia*. Si con las plagas Heliotinas, se considera el algodón transgénico justificado desde el punto de vista de su costo y adopción, con *Spodoptera frugiperda* se observa todo lo contrario. Sus poblaciones se han incrementado a niveles y daños tan altos desde que se inició la siembra de estos cultivos que, ya algunos técnicos y agricultores manifiestan que sus siembras no son competitivas.

El complejo *Spodoptera* es considerado en nuestro medio un grupo de especies insectiles de mayor importancia económica en el algodón, mientras que en Estados Unidos, donde se crearon y evaluaron los algodones transgénicos no tiene importancia en este cultivo y no fue por lo tanto considerado como plaga objetivo. A pesar de que varios autores mencionaron que el Cry1Ac no ejerce controles satisfactorios del *S. frugiperda* (Garczynski *et al.* 1991; Bohorova *et al.* 1997; Ayra-Pardo *et al.* 2006), las indicaciones iniciales de los productores de semilla, sí incluyeron a la plaga dentro de las controladas por la variedad transgénica sembrada en el país.

Los resultados de los primeros tres bioensayos realizados durante el año 2005, comprueban lo expresado por los autores mencionados; así mismo, Zenner de Polanía *et al.* (2005) concluyeron que: 1) Después de solo una generación de alimentación con tejido vegetal de algodón transgénico, el ciclo de vida de la plaga se alarga, lo cual podría disminuir el número de generaciones por año, 2) la concentración de la Δ -endotoxina Cry1Ac existente en cotiledones, hojas terminales y botones florales del algodón utilizado como alimento para las larvas, no causa mortalidad alguna al insecto, pero sí influye negativamente en el peso de las pupas, 3) El menor peso de las pupas, tanto de machos como de hembras, no afecta la fertilidad y fecundidad de la plaga.

Posteriormente, trabajando con larvas neonatas del cogollero, procedentes de posturas recolectadas en hojas de algodón transgénico de El Espinal (Tolima), y alimentándolas con hojas cotiledonales, se observó un desarrollo inicial normal durante el primer instar, el cual tuvo una duración promedio de $2,5 \pm 0,5$ días. Se alimentaron sobre el envés de las hojas cotiledonales, ocasionando las ventanitas características del daño inicial de la plaga. La duración del II instar fue muy homogénea, la totalidad de las larvas mudaron al cabo de tres días. Durante el III instar se comenzó a observar un comportamiento anormal, aunque, exceptuando dos larvas, todas lograron entrar al cuarto instar, al cabo de cuatro días en promedio. Luego, sin embargo, dejaron de alimentarse, se encogían y construían un tipo de celda, como para iniciar la transformación en pupa. Inicialmente, se pensaba en un posible efecto de la toxina del Bt, pero luego se constató que estaban parasitadas por el parasitoide huevo-larva *Chelonus insularis* (Cresson, 1865) (Hymenoptera: Braconidae). El porcentaje de parasitismo fue del 90,47% y en el testigo (alimentado con dieta merídica) del 100%.

Los primeros adultos del parasitoide emergieron a los 27 días del inicio del experimento; este dato coincide con aquel obtenido por Medina *et al.* (1988), quienes encontraron que el ciclo del *C. insularis* corresponde a 29,05 días de huevo a la emergencia del adulto. Un 83,60% de los parasitoides alcanzó el estado adulto, lo cual indica que la alimentación de las larvas parasitadas de *S. frugiperda* con tejido fresco de algodón transgénico, cotiledones y hojas terminales, no tuvo efecto negativo sobre el desarrollo normal del parasitoide, por lo menos hasta el estado adulto.

C. insularis es uno de los parasitoides más eficientes del cogollero del maíz y se encuentra distribuido desde el norte de la Argentina hasta el sur de Estados Unidos (Ashley 1983; Cruz

Tabla 3. Peso promedio de las pupas sobrevivientes de *Helicoverpa zea* de los bioensayos I y II (Modificado de Zenner de Polanía *et al.* 2008).

Dosis $\mu\text{g/mL}$	Estadísticos			
	Peso mg $\pm$ DMS	Coefficiente Var	t (0,05)	D.S.
Testigo	$402,37 \pm 28,10^a$	15,75	2,08	63,37
0,001	$365,24 \pm 35,20^{ab}$	13,47	2,26	49,20
0,01	$389,72 \pm 43,80^a$	14,63	2,30	57,02
0,1	$332,3 \pm 46,00^{ab}$	14,95	2,44	49,69
1,0	$304,10 \pm 67,00^b$	13,84	3,18	42,09

Promedios, dentro de la misma columna, seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Tabla 4. Concentraciones letales, $\mu\text{g/mL}$, de *Spodoptera frugiperda* y *S. sunia* alimentados con dieta merídica con dosis seriadas de incorporadas (Probit) (semestre 2005A).

Especie	Día	CL ₅₀	IC 95%	CL ₈₀	IC 95%	R ²	Pendiente
<i>S. sunia</i>	8	1178,2	723,0-1830,5	2635,1	1016,1-2715,5	0,99	0,0141
	12	1004,4	586,8-1830,3	1200,6	880,9-2822,5	0,99	0,0168
	16	608,0	360,2-2304,0	2437,2	630,3-3838,8	0,99	0,0216
	20	603,6	359,5-1255,9	1306,2	633,9-2101,1	0,99	0,0216
<i>S. frugiperda</i>	8	932,2	576,3-2318,8	1305,4	852,9-3567,6	0,99	0,013
	12	688,9	286,0-9203,9	1019,9	544,3-16154,5	0,99	0,013
	16	745,3	612,1-907,4	3734,7	3067,5-4547,2	0,99	0,018
	20	290,3	232,1-363,1	1213,9		0,99	0,021

IC = Intervalo de Confianza, R² = Coeficiente de determinación.

et al. 1991; Fernández y Clavijo 1984). La ausencia de un efecto negativo de la toxina del Bt incorporada al algodónero, del cual se alimenta su huésped el cogollero del maíz, sobre el desarrollo del parasitoide es positivo, pero se debe primordialmente a la dosis subletal del Cry1Ac en el follaje, la cual no ocasiona la muerte a la plaga. Si la mortalidad de la plaga hubiese sido alta, lo mismo hubiera ocurrido con el insecto benéfico.

La posibilidad de recolectar en el campo posturas del cogollero parasitadas por *C. insularis* es relativamente alta, ante todo durante la segunda generación del cogollero (Zenner de Polanía et al. 2006). Por esta razón no se deben emplear las larvas procedentes de estas posturas para la realización de bioensayos, sino criarlas hasta la F₂ y así asegurar la ausencia del parasitismo.

Las posturas del cogollero, empleadas para el tercer ensayo fueron recolectadas en un lote de algodón transgénico en El Espinal, criadas hasta la F₂ y las larvas neonatas que emergieron empleadas directamente. Simultáneamente, se realizó la misma evaluación para el gusano Rasputín, *S. sunia*, plaga importante en el Tolima y a veces confundido en el estado larval con el cogollero del maíz.

La respuesta dosis mortalidad calculada por Probit, a través de 20 días del desarrollo larval de las dos especies de *Spodoptera*, se consigna en la Tabla 4 y, en la Figura 1, se

ilustra el porcentaje de mortalidad observado durante este lapso. Los resultados muestran que el cogollero es un poco más susceptible a la toxina Cry1Ac que el gusano Rasputín, pero, ninguna de las dos especies puede ser controlada con el cultivar transgénico. La susceptibilidad de ambas especies aumenta lentamente a través del tiempo de exposición, lo cual es confirmado por la pendiente poco pronunciada de la línea respuesta dosis-mortalidad.

La Figura 1 muestra un porcentaje de mortalidad algo mayor de las larvas de *S. frugiperda* que de *S. sunia* a través del tiempo. A los 20 días, cuando las larvas del testigo de ambas especies ya estaban llegando al VI instar, y aquellas en la dieta con la dosis de 1,0 ppm al V instar, las que se desarrollaban con 1.000 ppm apenas llegaban al II instar. La dieta con 10 ppm de la toxina tuvo un efecto algo menor sobre el cogollero que sobre el gusano Rasputín durante los primeros 16 días y solo ocasionó una mortalidad del 16,66% y 13,33% a los 20 días, respectivamente. Esto, bajo condiciones de campo significa la ausencia de un control de las dos especies con el algodón transgénico sembrado actualmente en el país.

En la Tabla 5 se comparan las concentraciones letales calculadas de poblaciones del *S. frugiperda* procedentes del Meta y del Tolima y de diferentes huéspedes y en diferentes semestres. Analizando estos datos resalta inicialmente la similitud de las concentraciones letales (CL) medias obtenidas para las

Tabla 5. Respuesta dosis mortalidad para *Spodoptera frugiperda* en bioensayos realizados con dieta merídica con dosis, $\mu\text{g/mL}$, seriadas del Cry1Ac incorporado (análisis Probit).

Procedencia y cultivo	CL ₅₀	IC 95%	CL ₈₀	IC 95%	Pendiente	r ²
El Espinal Soca Maíz 2005A	932,1	576,2-2318,8	1305,4	852,9-3567,6	0,013	0,99
Pto López Maíz 2006A	715,3	581,1-888,4	1596,0	1296,7-1964,3	2,22	0,95
El Espinal (Fase Migratoria) Pastos 2006A	5,64	5,03- 6,32	17,6	15,7-19,7	2,63	0,74
El Espinal Algodón 2006A	93,72	605,8-794,3	1596,0	1123,2-1472,7	2,36	0,95
El Espinal Soca Maíz 2006B	191,97	174,0-211,6	1440,0	1305,8-1587,9	3,43	0,93

IC = Intervalo de confianza, r² = Coeficiente de determinación.

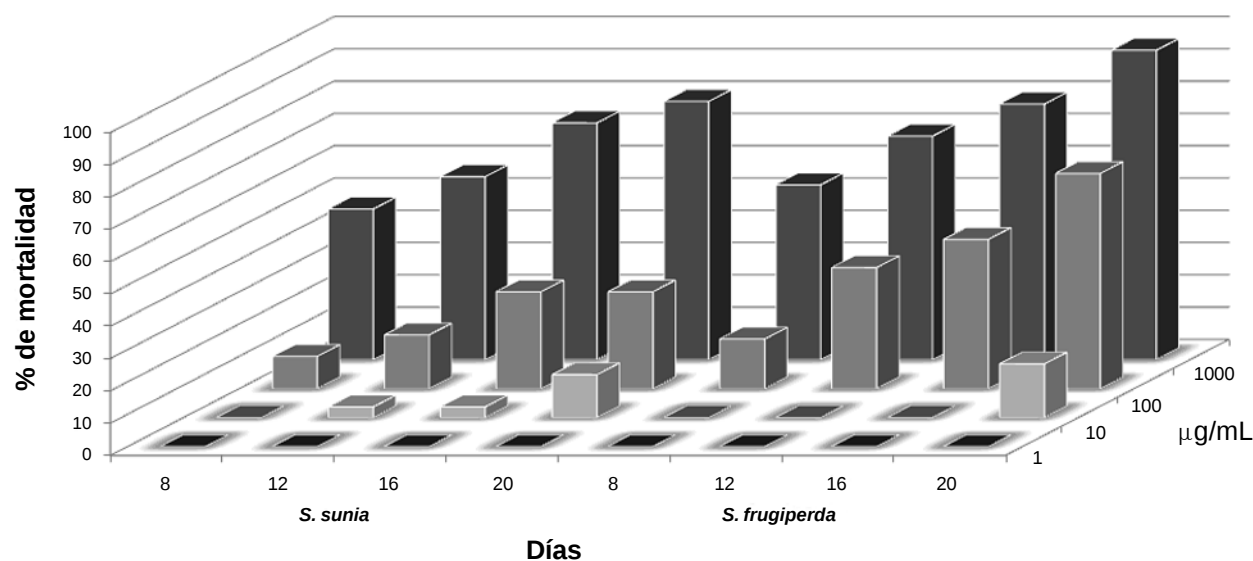


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de *Spodoptera sunia* y *S. frugiperda* a través del tiempo de exposición a dosis seriadas del Cry1Ac incorporado en dieta meridica.

razas procedentes del Meta y del Tolima, obtenidas de maíz y algodón respectivamente. Este resultado confirma preliminarmente, para Colombia, lo observado por Martinelli *et al.* (2006) en el Brasil que las poblaciones de *S. frugiperda* que se desarrollan en maíz y en el algodón corresponden a la variante de maíz (Pashley *et al.* 1985), mientras que posibles diferencias genéticas entre estas poblaciones se deben más bien a variantes que se desarrollaron en diferentes regiones geográficas (Zenner de Polanía *et al.* 2007). En este contexto sería de gran interés desde el punto de vista manejo, comparar genéticamente poblaciones del cogollero procedentes de los Valles Interandinos colombianos, de la Costa Atlántica y de la Orinoquía recolectadas en las diversas especies huéspedes de la plaga.

La disminución considerable de la CL observada en larvas del cogollero procedentes de soca de maíz se atribuye a la dilución de la resistencia al Cry1Ac, debido al número de generaciones del insecto transcurrido en este cultivo y probablemente otro en la soca, lo cual podría sumar un total de cuatro generaciones sin presión de selección. La población se desarrolló en el semestre con veda para la siembra del algodón, así que no hubo migraciones entre cultivos de maíz y algodón transgénico, ni posibilidad de intercambio de genes que imparten resistencia. Esta ausencia de presión de selección en el segundo semestre del año en el departamento del Tolima, se debería aprovechar con siembras de maíz convencional, para lograr una mayor susceptibilidad del insecto al Cry1Ac y así lograr un manejo más adecuado de la plaga. Sin embargo, resalta la pronunciada pendiente de la línea de regresión (3,43), la cual indica que a medida que el insecto esté nuevamente sujeto a presión de selección, la tolerancia aumentará mucho más rápido que en ocasiones anteriores. Desde el punto de vista manejo del cogollero del maíz en el algodón transgénico, los datos aquí presentados confirman lo observado por Zenner de Polanía *et al.* (2005) que la toxina Cry1Ac en las concentraciones disponibles en la planta no ejercen un control de *S. frugiperda*.

Recomendaciones de manejo del algodón transgénico

Fuera de las exigencias de dejar refugios apropiados de algodón convencional para que las plagas controladas por la variedad transgénica se puedan desarrollar sin la presión de selección que, a la larga ocasiona el fenómeno de resistencia y hace que la tecnología pierda su efecto, se debe tener en cuenta en nuestro medio: 1) en los cultivos, huéspedes alternos, no utilizar productos con base en *B. thuringiensis* para el control de los insectos plagas del Orden Lepidoptera, 2) permitir, en el semestre no algodón refugios adicionales de sus huéspedes alternos, a pequeña escala, para el bellotero, *H. virescens*. 3) usar controles biológicos para el manejo del complejo *Spodoptera* en el maíz, el sorgo y el algodón transgénico y convencional.

Agradecimientos

A COLCIENCIAS y a la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A por la financiación del proyecto. Al Ingeniero Agrónomo Guillermo Álvarez Viecco, a Remolino S.A. y a FENALCE por su colaboración logística y técnica.

Literatura citada

- ADAMCZYK Jr., J. J.; GORE, J. 2004. Development of bollworms, *Helicoverpa zea*, on two commercial Bollgard® that differ in overall Cry1Ac levels. *Journal Insect Science* 4: 32.
- ADAMCZYK Jr., J. J.; HARDEE, D. D.; ADAMS, L. C.; SUMMERFORD, D. V. 2001. Correlating differences in larval survival and development of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to differential expression of Cry1Ac(c) δ -endotoxin in various plant parts among commercial cultivars of transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton. *Journal of Economic Entomology* 94 (1): 284-290.
- AKHURST, R. J.; JAMES, W.; BIRD, L. J.; BEARD, C. 2003. Resistance to the Cry1Ac Δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 96 (4): 1290-1299.

- ALI, M. I.; LUTRELL, R. G.; YOUNG, III, S. Y. 2006. Susceptibilities of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) populations to Cry1Ac insecticidal protein. *Journal of Economic Entomology* 99 (1): 164-175.
- ASHLEY, T. R. 1983. Growth pattern alterations in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* larvae after parasitization by *Apanteles marginiventris*, *Campoletis grioti*, *Chelonus insularis*, and *Eiphosoma vitticole*. *The Florida Entomologist* 66 (2): 260-266.
- AYRA-PARDO, C.; RODRÍGUEZ-CABRERA, L.; FERNÁNDEZ-PARLÁ, Y.; TÉLLEZ-RODRÍGUEZ, P. 2006. Increased activity of a hybrid Bt toxin against *Spodoptera frugiperda* larvae from a maize field in Cuba. *Biocología Aplicada* 23: 236-239.
- BIRD, L. J.; AKHURST, R. J. 2005. Fitness of Cry1A-resistant and -susceptible *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic cotton with reduced levels of Cry1Ac. *Journal of Economic Entomology* 98 (4): 1311-1319.
- BOHOROVA, N.; CABRERA, M.; ABARCA, C.; QUINTERO, R.; MACIEL, A. M.; BRITO, R. M.; HOISINGTON, D.; BRAVO, A. 1997. Susceptibility of four tropical lepidopteran maize pests to *Bacillus thuringiensis* Cry1-type insecticidal toxins. *Journal of Economic Entomology* 90 (2): 412-415.
- BORRERO, F.; ZENNER DE POLANÍA, I. 1998. Resistencia potencial de *Spodoptera frugiperda* a *Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 47: 18-23.
- CARRIÈRE, Y.; DENNEHY, T. J.; PEDERSEN, B.; HALLER, S.; ELLERS-KIRK, C.; ANTILLA, L.; LIU, Y-B.; WILLOTT, E.; TABASHNIK, B. 2001. Large-scale management of insect resistance to transgenic cotton in Arizona: can transgenic insecticidal crops be sustained? *Journal Economic Entomology* 94 (2): 315-325.
- CHITKOWSKI, R. J.; TURNIPSEED, S. G.; SULLIVAN, M. J.; BRIDGES, W. C. 2003. Field and laboratory evaluations of transgenic cottons expressing one or two *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* Berliner proteins for management of noctuid (Lepidoptera) pests. *Journal of Economic Entomology* 96 (3): 755-762.
- CRUZ, I.; REZENDE, M. A. A.; DELLA LUCIA, T. M. C. 1991. Biología de *Chelonus (Chelonus) insularis* (Cresson, 1865), parasitoide de ovo/lagarta de *Spodoptera frugiperda*. En: *Memorias Congreso Brasileiro de Entomologia*. Recife. Sociedade Entomol. Brasil. 264 p.
- ESTRUCH, J. J.; WARREN, G. W.; MULLINS, M. A.; NYE, G. J.; CRAIG, J. A.; KOZIEL, M. G. 1996. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. *Proceeding National Academy of Science* 93: 5389-5394.
- FERNÁNDEZ B., R.; CLAVIJO A., S. 1984. Efecto de dos insecticidas (uno químico y otro biológico) sobre el parasitismo observado en larvas de *Spodoptera frugiperda* (S.) provenientes de parcelas experimentales de maíz. *Revista Facultad Agronomía*. 13: 101-109.
- GARCZYNSKI, S.F.; CRIM, J.W.; ADANG, M.J. 1991. Identification of putative insect brush border membrana-binding molecules specific to *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin by protein plot analysis. *Applied Environmental Microbiology* 57 (10): 2816-2820.
- GIOLO, F. P.; BUSATO, G. R.; GARCÍA, M. S.; MANZINI, C. G.; BERNARDI, O.; ZART, M. 2006. Biología de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificias. *Revista Brasileira de Agrociência (Pelotas)*. 12 (2): 167-171.
- GORE, J.; LEONARD, B. R.; JONES, II. 2003a. Influence of agronomic hosts on the susceptibility of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically engineered and non-engineered cotton. *Environmental Entomology* 32 (1): 103-110.
- GORE, J.; LEONARD, B. R.; GABLE, R. H. 2003b. Distribution of bollworm, *Helicoverpa zea* (Boddie), injured reproductive structures on genetically engineered *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* Berliner cotton. *Journal of Economic Entomology* 96 (3): 699-705.
- GREENPLATE, T. J.; MULLINS, J. W.; PENN, S. R.; DAHM, A.; REICH, B. J.; OSBORN, J. A.; RAHN, P. R.; RUSCHKE, L.; SHAPPLEY, Z. W. 2003. Partial characterization of cotton plants expressing two toxin proteins from *Bacillus thuringiensis*: relative toxin contribution, toxin interaction, and resistance management. *Journal of Applied Entomology* 127: 340-347.
- GUSTAFSON, D.I.; HEAD, G. P.; CAPRIO, M. A. 2006. Modeling the impact of alternative hosts on *Helicoverpa zea* adaption to Bollgard cotton. *Journal of Economic Entomology* 99 (6): 2116-2124.
- HALCOMB, J. L.; BENEDICT, J. H.; COOK, B.; RING, D. R. 1996. Survival and growth of bollworm and tobacco budworm on nontransgenic and transgenic cotton expressing a Cry1A insecticidal protein (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology* 25 (2): 250-255.
- INTERNATIONAL COTTON ADVISORY COMMITTEE, ICAC. 2005. Concerns, apprehensions and risks of biotech cotton. *WideStrike™ approved for commercial production*. The ICAC Recorder 23 (1): 3-11.
- INTERNATIONAL COTTON ADVISORY COMMITTEE, ICAC. 2004. Update on genetically engineered cotton. The ICAC Recorder 22 (2): 14-17.
- JACKSON, R. E.; BRADLEY Jr., J. R.; VAN DUYN, J. W. 2003. Field performance of transgenic cottons expressing one or two *Bacillus thuringiensis* endotoxins against bollworm, *Helicoverpa zea* (Boddie). *Journal Cotton Science* 7: 57-64.
- JACKSON, R. E.; BRADLEY Jr., J. R.; VAN DUYN, J. W.; GOULD, F. 2004. Comparative production of bollworm, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) from transgenic cotton expressing either one or two *Bacillus thuringiensis* Berliner proteins with and without insecticide oversprays. *Journal of Economic Entomology* 97 (5): 1719-1725.
- JACKSON, R. E.; MARCUS, M. A.; GOULD, F.; BRADLEY Jr., J. R.; VAN DUYN, J. W. 2007. Cross-resistance responses of Cry1Ac-selected *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) to the *Bacillus thuringiensis* protein Vip3A. *Journal of Economic Entomology* 100 (1): 180-186.
- LUTRELL, R.G.; WAN, L.; KNIGHTEN, K. 1999. Variation in susceptibility of noctuid (Lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology* 92 (1): 21-32.
- MARTINELLI, S.; MONTRAZI BARATA, R.; ZUCCHI, M.I.; DE CASTRO SILVA-FILHO, M.; OMOTO, C. 2006. Molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. *Journal Economic Entomology* 99 (29): 519-526.
- McGAUGHEY, W. H. 1985. Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science* 229: 193-195.
- MEDINA T., M. C.; DÍAZ C., P.; LUQUE Z., J. E.; SIABATTO, P. A. 1988. Ciclo de vida y descripción de *Chelonus insularis* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), parásito de *Spodoptera* spp. *Revista Colombiana de Entomología* 14 (1): 13-21.
- NATIONAL COTTON COUNCIL. 1997. Bt cotton requires vigilant management. *Cotton Physiology Today*. USA. 8(3): 25-36.
- OLSEN, K. M.; DALY, J. D.; FINNEGAN, E. J.; MAHON, R. J. 2005. Changes in Cry1Ac Bt transgenic cotton in response to two environmental factors: Temperature and insect damage. *Journal of Economic Entomology* 98 (4): 1382-1390.
- PASHLEY, D. P.; JOHNSON, S. J.; SPARKS, A. N. 1985. Genetic population structure of migratory moths: the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals Entomological Society of America* 78: 756-762.
- RAUSHER, M. D. 2001. Co-evolution and the plant resistance to natural enemies. *Nature*. 411:857-864.
- RODRÍGUEZ CHALARCA, J.; OSPINA SÁNCHEZ, C.M. 2007. Establecimiento de la línea base y seguimiento de la susceptibi-

- lidad de *Sacadodes pyralis* Dyar y *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) a la proteína Cry1Ac del algodón Bt en Colombia. En: Resúmenes Congreso Sociedad Colombiana de Entomología. Cartagena. Julio 25, 26 y 27 de 2007, p. 138.
- STONE, T. B.; SIMS, R. S. 1993. Geographic susceptibility of *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacillus thuringiensis*. *Journal Economic Entomology* 86: 989-994.
- STONE, T., SIMS, S.; MARRONE, P. 1989. Selection of tobacco budworm for resistance to a genetically engineered *Pseudomonas fluorescens* containing the delta-endotoxin of Bt subspecies *kurstaki*. *Journal of Invertebrate Pathology* 53: 228-234.
- TABASHNIK, B. E.; CARRIERE, Y.; DENNCHY, T. J.; MORIN, S.; SISTERSON, M. S.; ROUSH, R. T.; SHELTON, A. M.; ZHAO, J.Z. 2003. Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and fields. *Journal of Economic Entomology* 96 (4): 1031-1038.
- TABASHNIK, B. E.; BIGGS, R. W.; FABRICK, J.A.; GASSMANN, A.J.; DENNCHY, T. J.; CARRIERE, Y.; MORIN, S. 2006. High-level resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac and cadherin genotype in pink bollworm. *Journal of Economic Entomology* 99 (6): 2125-2131.
- ZENNER DE POLANÍA, I.; ÁLVAREZ R., J. A.; MEJÍA C., R.; BAYONA R., M. A. 2005. Influencia de la toxina Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis* sobre el desarrollo del cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Revista U.D.C.A Actualidad. & Divulgación Científica* 8 (2): 129-139.
- ZENNER DE POLANÍA, I.; ÁLVAREZ, A.; BARRETO, S. 2006. Influence of parasitism by *Chelonus insularis* Cresson (Hymenoptera: Braconidae, Cheloninae) on the susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) to insecticides. *Neotropical Entomology* 35 (6): 818-822.
- ZENNER DE POLANÍA, I.; ARÉVALO MALDONADO, H. A.; MEJÍA CRUZ, R. 2007. El gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y algunas plantas transgénicas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 1 (1): 103-113.
- ZENNER DE POLANÍA, I.; ÁLVAREZ RODRIGUEZ, J. A.; AREVALO MALDONADO, H. A. 2008. Respuestas de *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) a la toxina Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis*. *Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, CATIE, Costa Rica. (aceptado para publicación).

Recibido: 4-nov-2007 • Aceptado: 19-may-2008

Capacidad de búsqueda del nematodo entomopatógeno *Steinernema* sp. SNIO 198 (Rhabditida: Steinernematidae)

Searching capacity of the entomopathogenic nematode *Steinernema* sp. SNIO 198 (Rhabditida: Steinernematidae)

ADRIANA SÁENZ APONTE¹ y WILLIAM OLIVARES²

Resumen: Se evaluaron la movilidad y velocidad de los nemátodos entomopatógenos (*Steinernema* sp. SNIO198) en suelos de una plantación de palma de aceite en Tumaco, Colombia con el fin de establecer si este sistema de control podría ser aplicado para manejar *Sagilassa valida* una de las principales plagas que afecta las plantaciones. Se utilizaron columnas plásticas de 25 cm de alto con dos texturas de suelo y cuatro niveles de humedad. 500 nemátodos fueron ubicados en la parte superior, y en la parte inferior de la columna (24 cm) se ubicaron larvas de *S. valida* dentro de raíces primarias de palma y también completamente expuestas. El número de juveniles infectivos (JI) de *Steinernema* sp., se evaluó a tres profundidades a las 24, 48, 72 y 96 horas después de aplicados los nemátodos. Los resultados muestran que si las larvas de *S. valida* están totalmente expuestas la mayoría de JI se recuperaron entre 48 y 72 horas. Si las larvas están dentro de raíces de palma, la mayoría de los JI se recolectaron entre las 24 y 48 horas. Además, el desplazamiento de los JI en las dos texturas de suelo fue gradual. Los primeros JI que lograron alcanzar el hospedero penetraron; otros se localizaron en la proximidad de las larvas o especialmente en las raíces o en las tres secciones de profundidad evaluadas. La principal conclusión, es que *Steinernema* sp. SNIO198 tiene comportamiento crucero y emboscador.

Palabras clave: Juveniles infectivos. Columnas de suelo. Barrenador de raíces. *Sagilassa valida*.

Abstract: The mobility and speed of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* sp. SNIO198) were evaluated in soils of an oil palm plantation in Tumaco, Colombia in order to establish whether this control system could be applied for the management of *Sagilassa valida*, one of the most important pests that affects plantations. Plastic columns, 25 cm long, were used with two soil textures and four humidity levels. Five hundred nematodes were placed on top of each soil column, and in the lower part (24 cm) *S. valida* larvae were placed both inside primary palm roots and completely exposed. The number of *Steinernema* sp. infective juveniles (IJ) was evaluated at three depths at 24, 48, 72 and 96 hours after nematode application. The results showed that if the *S. valida* larvae are completely exposed, the majority of IJ were recovered between 48 and 72 hours. If the larvae are located inside palm roots, the majority of IJ were collected after 24 and 48 hours. Also, the movement of IJ in the two soil textures was gradual. The first IJ that could reach the host penetrated it; others stayed near the larvae or especially in the roots or in any of the three depths evaluated. The main conclusion is that *Steinernema* sp. SNIO198 exhibits cruising and ambush behavior.

Key words: Infective juveniles. Soil column. Root borer. *Sagilassa valida*.

Introducción

Dentro del complejo de insectos que afectan el cultivo de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq., 1763) en Colombia y especialmente en Tumaco-Nariño (Zona Occidental), el barrenador de raíces, *Sagilassa valida* Walter, 1735 (Lepidoptera: Glyphipterigidae), es sin duda el de mayor importancia económica y posiblemente de más difícil manejo (Sáenz y Betancourt 2006). En 1991 se reportó que el 100% de los cultivos jóvenes de palma de aceite de la zona de Tumaco presentaban algún grado de ataque por este insecto (ICA 1991).

La gravedad del daño de *S. valida* se refleja en que las larvas, al vivir en el sistema radical, pasan desapercibidas y su presencia sólo se manifiesta cuando han ocasionado daños que pueden alcanzar niveles hasta del 80% de las raíces (Aldana *et al.* 2000; Sáenz y Betancourt 2006). El daño ocasionado por la larva consiste en barrenaduras que pueden alcanzar más de 30cm de longitud en una raíz primaria comprometiendo en ocasiones el cilindro central. Según Genty (1973), la destrucción parcial de las raíces es seguida por una cicatrización de los tejidos con emisión de brotes nuevos o por una pudrición que puede extenderse hasta el bulbo radical. Como consecuencia del ataque, las palmas afectadas pueden tener mal anclaje

produciendo en casos extremos volcamiento; además se presentan alteraciones fisiológicas que se reflejan en mal desarrollo, lento crecimiento, amarillamiento y secamiento prematuro de las hojas basales e intermedias, emisión continua y prolongada de inflorescencias masculinas unida a una reducción en el tamaño de los racimos (Peña y Jiménez 1994; Cuesta *et al.* 1997; Sáenz y Betancourt 2006).

En condiciones de campo el comportamiento críptico de larvas de *S. valida* es una de las principales barreras físicas para el éxito de controladores biológicos tipo parasitoides, bacterias y hongos, ya que estos organismos no presentan estructuras o comportamientos de búsqueda adecuados para colonizar hospederos en suelo o dentro de raíces. El comportamiento emboscador y navegante en suelo de los nemátodos entomopatógenos, permite alta capacidad de búsqueda y localización del hospedero, atributos que hacen de estos enemigos naturales una alternativa a tener en cuenta para el control de plagas de palma de aceite.

Los nemátodos entomopatógenos más importantes en el control biológico de plagas corresponden a las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, cuyos miembros están mutualísticamente asociados con bacterias de los géneros *Xenorhabdus* y *Photorhabdus* que ocasionan septicemia y otros

¹ Bióloga, Magíster en Ciencias Agrarias: Entomología. Investigador Asociado. Cenipalma (Hasta febrero de 2007). asaenznema@gmail.com.

² Tecnólogo Agropecuario. Cenipalma Zona Occidental. wicho73_7@hotmail.com.

tipos de afecciones letales en sus hospederos. Entre las características que hacen de éste un grupo promisorio de controladores biológicos pueden destacarse las siguientes: Alta virulencia y rápida acción al matar al hospedero, el tercer estado o juvenil infectivo no se alimenta y está morfológica y fisiológicamente adaptado para sobrevivir por largos períodos en el suelo en ausencia de su hospedero, alto potencial reproductivo y muestran respuesta numérica con respecto al hospedero, pueden criarse masivamente en laboratorio, tienen un amplio rango de acción, aunque algunos son muy poco específicos, alta resistencia a productos químicos, tanto los nematodos entomopatógenos como sus bacterias, son inocuos para humanos y animales domésticos, no causan daño a las plantas por ser específicos para insectos, algunas especies se pueden reproducir sin la presencia del macho, y están exentos de registro para su comercialización en Europa y Estados Unidos (Klein 1990; Kaya 1993; Kaya y Gaugler 1993; Georgis y Manweiler 1994). Dentro de los atributos negativos está incluido su amplio rango de hospederos (aunque efectos negativos en hospederos no blanco no han sido observados, este rango amplio de hospederos puede incluir insectos benéficos); limitada tolerancia a condiciones ambientales (por ejemplo, requerimientos de humedad); corto tiempo de almacenamiento; pobre persistencia en campo y altos costos en comparación a los pesticidas químicos (Kaya 1993).

De acuerdo con estudios realizados por Sáenz *et al.* (2005) con diferentes especies de nematodos entomopatógenos para el control del barrenador de raíces de palma, la especie que ocasionó mayor mortalidad de larvas de *S. valida* fue *Steinernema* sp. SNIO198. Este es un nematodo nativo, tiene una o dos generaciones en el insecto y pueden matar al hospedero entre 24 y 48 horas. Las larvas infectadas presentan coloración marrón variando a ocre o castaño. Estas variaciones en color se deben a pigmentos originales del insecto, cantidad de luz que refleja la cutícula y grado de infestación. Las larvas infestadas son flácidas e inodoras, los tejidos internos son de aspecto gomoso y se observan totalmente desintegrados (Sáenz 2005).

De acuerdo con lo anterior, los objetivos del presente estudio fueron evaluar la movilidad de los juveniles infectivos (JI) de *Steinernema* sp. SNIO 198 en columnas de suelo con dos texturas, cuatro humedades y con presencia de larvas expuestas y en raíces primarias de palma, dado el comportamiento de daño que realizan las larvas de *S. valida* en campo. Además, de establecer el porcentaje de mortalidad de este hospedero por los JI.

Materiales y Métodos

El ensayo se desarrolló en la plantación Palmeiras S.A., localizada a 58 km de San Andrés de Tumaco (Nariño, Colombia), a una altura de 28 msnm, temperatura promedio de 28°C y 92% de humedad relativa.

Movilidad de JI en diferentes humedades de suelo. El ensayo se montó en cilindros de plástico de 25 cm de largo y 10 cm de diámetro, con seis orificios cada 7 cm. Se realizaron cuatro tratamientos que consistieron en suelo franco arenoso con cuatro humedades: suelo seco (0% de humedad), suelo semiseco (15% de humedad), suelo a capacidad de campo (30% de humedad) y suelo saturado (45% de humedad). Para cada cilindro se pesaron 2.200 g de suelo y se le agregó agua hasta la humedad deseada. A cada cilindro se le aplicó 500 JI en uno

de los extremos del mismo y en el otro se colocó una larva de *S. valida* a los 24 cm. Los cilindros se ubicaron verticalmente con las larvas hacia la parte inferior. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento.

Se evaluaron muestras de suelo a las 24, 48, 72 y 96 horas, extrayéndolas de los orificios con ayuda de un microbarreno y se colocaron en embudos Baermann, para contar el número de nemátodos en cada muestra. Se expusieron 20 larvas de *Galleria mellonella* L. 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) a los JI obtenidos para evaluar la sintomatología propia de la infección y porcentaje de mortalidad.

Movilidad de JI en dos texturas de suelo. Se montó el ensayo descrito con larvas de *S. valida* expuestas y larvas en raíces de palma. Además, se utilizaron dos texturas de suelo: franco arenosa y franco arcillosa, provenientes de la plantación. Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento. Se tomaron muestras cada 24 horas hasta las 96 horas y se dispusieron en embudos Baermann para la recuperación de JI. Las distancias evaluadas para el conteo de JI correspondieron a 7, 14 y 21 cm. El suelo se dejó con humedad a capacidad de campo, correspondiente al 30% de acuerdo con los resultados del ensayo anterior. A cada columna se le adicionó 2.200 g de suelo y aproximadamente entre 660 y 780 ml de agua, de acuerdo al tipo de suelo. Se expusieron 20 larvas de *G. mellonella* a los JI obtenidos de los embudos Baermann y se evaluó el porcentaje de mortalidad.

Diseño estadístico. Para el ensayo de movilidad de JI se utilizó un diseño completo al azar con arreglo factorial 4 X 4 (cuatro humedades, cuatro tiempos de evaluación). Para el ensayo de dos texturas de suelo se usó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 X 2 (dos texturas de suelo, dos formas del hospedero). Las variables evaluadas fueron: número de JI presentes en cada distancia y tiempo. Para el análisis estadístico se realizó análisis de varianza y regresión con ayuda del programa SAS.

Resultados y Discusión

Movilidad de JI en diferentes humedades de suelo. El conteo máximo de JI se presentó a las 72,79 horas y los nemátodos se desplazaron 20,46 cm desde el punto de aplicación, con humedad de 25,67%, es decir, un suelo a capacidad de campo. Por ende, éste le permite a los JI nictar con facilidad (Fig. 1), desplazarse vertical y horizontalmente. La velocidad estimada de desplazamiento de los JI en las columnas de suelo fue de 20,26 cm en suelo con humedad de 31,5%. Esto indica que el mejor movimiento de los nemátodos y con mayor número de JI se encuentra en suelos con porcentajes de humedad entre los 25 y 30% de agua (Fig. 2).

La profundidad no tiene efecto sobre el número de JI hallados ($F = 4,34$; g.l. = 1; $P < 0,07$) (Fig. 2). Además, el porcentaje de humedad en el suelo afecta la movilidad de los JI hacia el hospedero ($F = 6,75$; g.l. = 1; $P < 0,00005$), lo cual se observa en la reducción en el número de JI cuando los porcentajes de humedad son altos (45%) o no se estableció movilidad en humedades bajas (15%), (Fig. 2). Kung *et al.* (1990a, b) y Barbercheck y Kaya (1991) afirman que una humedad relativa superior al 90% y el rocío, a pesar de favorecer la supervivencia e infección de JI a libre exposición en algunas especies de nemátodos entomopatógenos, pueden favorecer fenómenos de quiescencia. Este último fenómeno, posiblemente

te lo presentaron los juveniles infectivos expuestos a humedades superiores a capacidad de campo.

El tiempo es significativo sobre la movilidad ($F = 5,29$; g.l. = 1; $P < 0,001$) y la mayoría de los JI se desplazan en 24 horas y la larva cebo se infecta en un periodo de 72 y 96 horas. Los JI recorren una distancia de 24 cm en menos de 72 horas y al disectar las larvas cebos, éstas presentaron adultos de *Steinernema* sp. Con esto se comprueba que este nematodo nativo se desplaza verticalmente como se ha registrado para otras especies de nemátodos entomopatógenos (Georgis y Poinar 1983a; Schroeder y Beavers 1987; Mannon y Jansson 1992; López 1999; Molina y López 2002).

En la interacción tiempo por profundidad se presentaron diferencias significativas ($F = 3,23$; g.l. = 1; $P < 0,0006$) y aunque el muestreo de nemátodos es similar en los cuatro tiempos evaluados, hubo mayor recuperación de juveniles infectivos cuando el suelo se encuentra en capacidad de campo, es decir, 30% de humedad; por otra parte, la profundidad no afectó el desplazamiento (Fig. 3).

Los nemátodos encontrados entre 14 y 24 cm son los más veloces y tienen alta capacidad de búsqueda, lo cual se ve estimulado por el hospedero, dado que, al evaluar las larvas a las 96 horas, se encontraron nemátodos en diferentes estados como J4 y adultos, así como hembras y machos de primera generación. También se observaron JI alrededor de los insectos. En suelo seco se encontró el mayor número de larvas vivas (90%). En suelo con humedad de 15% hubo una mortalidad del 15%. En suelo con 30% de humedad hubo una mortalidad del 75% y en suelo saturado hubo un 45% de mortalidad. Resultados similares fueron encontrados por Schroeder y Beavers (1987) al establecer el movimiento de juveniles infectivos de acuerdo con las propiedades físicas del suelo y con Choo y Kaya (1991) al evaluar *Heterorhabditis bacteriophora*. El porcentaje de mortalidad de larvas de *G. mellonella*, expuestas a JI recuperados de los embudos Baermann por profundidad fue del 93 (7 cm), 98 (14 cm) y 95% (24 cm). Estos porcentajes indican la alta patogenicidad y rapidez de desarrollo del ciclo de vida del nematodo en el insecto cebo. Datos similares son observados en los estudios realizados por Choo y Kaya (1991), Kaya y Gaugler (1993) y Georgia y Manweiler (1994).

Movilidad de JI en dos texturas de suelo. No se presentaron diferencias entre las texturas de suelo ($F = 0,62$; g.l. = 1; $P < 0,4348$), larvas expuestas y larvas dentro de la raíz ($F = 4,70$;

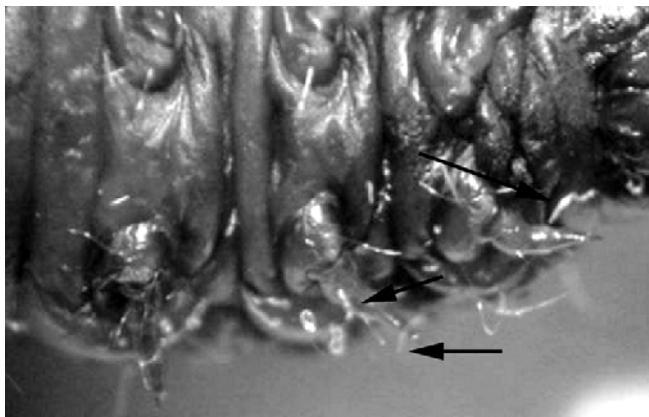


Figura 1. Juveniles infectivos presentes en las patas de *Sagalassa valida* realizando los movimientos de nictación.

g.l. = 1; $P < 0,6331$) y la interacción *S. valida**tiempo ($F = 1,30$; g.l. = 3; $P < 0,2830$), *S. valida**tiempo*profundidad ($F = 1,83$; g.l. = 6; $P < 0,1008$). Sin embargo, se presentaron diferencias significativas en las variables profundidad ($F = 16,67$; g.l. = 2; $P < 0,0000$), tiempo de evaluación ($F = 49,15$; g.l. = 3; $P < 0,0000$) y las interacciones *S. valida**profundidad ($F = 8,21$; g.l. = 2; $P < 0,00005$) y profundidad*tiempo ($F = 59,05$; g.l. = 6; $P < 0,0000$).

Se recuperaron juveniles infectivos en las tres profundidades evaluadas para la textura franco-arenosa con larvas expuestas y en raíz (Fig. 4A). La mayor recuperación de JI se presentó a las 48 y 96 horas a 14 y 21 cm de profundidad. Resultados similares encontraron Georgis y Poinar (1983b), al evaluar nemátodos entomopatógenos en cinco texturas, siendo más favorables las texturas con mayor proporción de arenas que permiten el fácil desplazamiento de los juveniles infectivos.

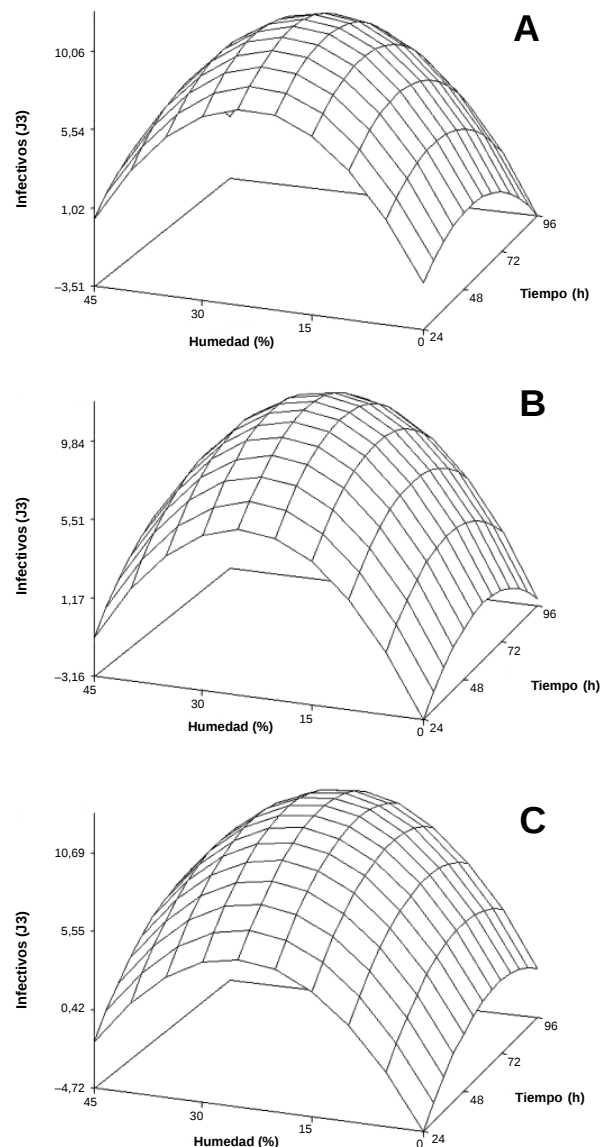


Figura 2. Juveniles infectivos de *Steinernema* sp. SNIO 198 recuperados en las tres profundidades: A) 7 cm, B) 14 cm y C) 24 cm en las cuatro humedades y tiempos evaluados.

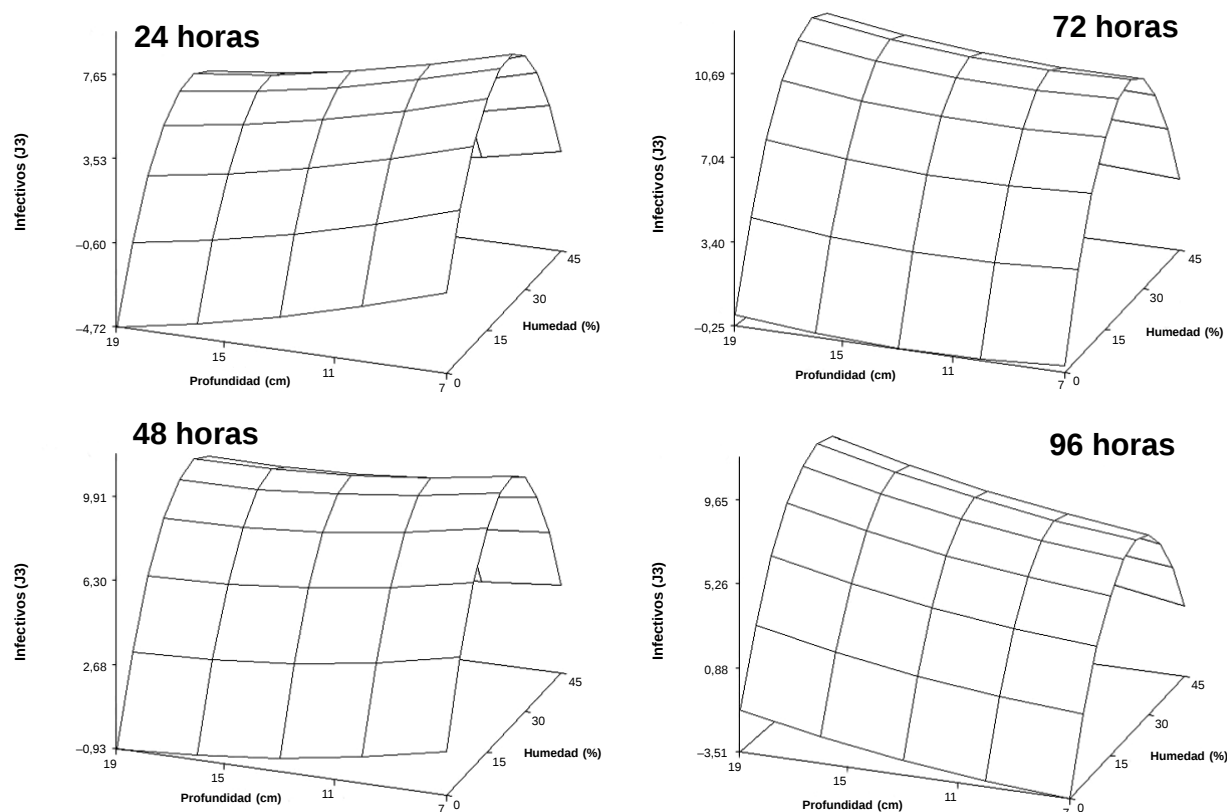


Figura 3. Juveniles infectivos presentes en cada uno de los tiempos evaluados para las diferentes profundidades y humedades.

El comportamiento de los JI en textura franco arcillosa es similar al presentado en franco arenosa. En todas las profundidades se encontraron JI tanto en larvas expuestas como en larvas en raíz (Fig. 4B). Las mayores lecturas de juveniles infectivos se realizaron a las 48 y 96 horas en las profundidades de 14 y 21 cm, igual que en la textura franco arenosa. Sin embargo, la velocidad de desplazamiento fue menor en la textura franco arcillosa, quizás debido al tamaño de las partículas y por ende, el movimiento y desplazamiento de los JI hacia el hospedero es más rápido en suelo franco arenoso que en suelo franco arcilloso, dado que este último tiene mayor concentración de arcillas. No obstante, el desplazamiento de *Steinernema* sp. es favorecido por la baja densidad aparente en las dos texturas empleadas, debido a que los JI se desplazaron con facilidad conservando su viabilidad. De acuerdo con los estudios de Portillo *et al.* (2000), una densidad alta afecta el desplazamiento y sobrevivencia de los JI, por el reducido tamaño de poro, ya que los JI de algunas especies de nemátodos entomopatógenos pueden tener un diámetro mayor con respecto al diámetro de poro de la textura lo cual impide su desplazamiento hacia el hospedante. Por el contrario, las densidades bajas permiten el movimiento continuo de los JI entre las partículas.

En cada tiempo de evaluación en larvas expuestas, se recuperaron en promedio 8, 17,5, 14,6 y 19,3 JI en las tres profundidades en las dos texturas de suelo. Al compararlo con el tratamiento de larvas en raíz el número promedio de JI se incrementa a 9, 19,2, 16 y 19,2. Esto debido posiblemente a la respuesta positiva que presentó *Steinernema* sp. al desplazarse en dirección a su hospedero. Las especies con este desplazamiento, presentan atracción por volátiles en el momento en

que la plaga hospedante los emite. Para este caso las sustancias volátiles pudieron ser emitidas por la alimentación y deyecciones de *S. valida* y las raíces primarias de palma, que hacen que lleguen los JI y encuentren su hospedero dentro de las galerías formadas en las raíces barrenadas. Este tipo de respuesta indujo a los JI a desplazarse inicialmente en sentido vertical sobre la barrera (raíz de palma), la bordearon y finalmente los pocos JI que tuvieron contacto con la raíz, se desplazaron en sentido horizontal y alcanzaron el orificio de perforación realizado por la larva, como se observó al evaluar las raíces bajo el estereomicroscopio. Resultados similares fueron hallados por Choo y Kaya (1991) al exponer *H. bacteriophora* a hospederos con y sin raíces de maíz (Barbercheck y Kaya 1991).

Al realizar las observaciones bajo el estereomicroscopio se observó que los primeros JI que llegaron a las larvas expuestas o larvas en raíz presentaron el movimiento típico de nictación, descrito por Ishibashi y Kondo (1990). A través de este movimiento, los JI se desplazaron por el interior de las galerías hechas por la larva y localizaron la plaga. Así mismo se logró determinar toda la secuencia del movimiento de los JI en cinco posiciones al interior de las galerías en la raíz afectada por *S. valida*. En primera instancia, al ingresar el JI por el orificio de entrada de la larva prolongó la parte posterior de su cuerpo y formó planos (posición 1) extendiendo su cuerpo en forma ondulatoria constantemente y se quedó totalmente parado en su parte posterior (posición 2,5). Luego el JI prolongó la parte anterior de su cuerpo en sentido horizontal hasta que estableció contacto nuevamente con la superficie de la raíz, con un movimiento ondulatorio pausado (posición 3) El JI continuó con las posiciones 1, 2, 3 hasta el momento en el cual

el JI localizó a su hospedero posiblemente por quimiotaxis o por gradientes de CO₂ y finalmente el JI se preparó para efectuar un salto (posición 4) y penetrar la larva de *S. valida*.

Se estima que el tiempo que tardó el JI en desplazarse al interior de la raíz y parasitar la larva estuvo entre 72 y 96 horas. Lo cual se observó al finalizar las evaluaciones, al encontrar en promedio de 12 a 18 JI dentro de la raíz, en las deyecciones rosadas hechas por la larva y sobre el insecto, realizando el desplazamiento descrito anteriormente. Este movimiento es característico de *Steinernema* sp., por poseer ambos comportamientos: crucero y emboscador, respondiendo positivamente a las sustancias volátiles del hospedero y recorrer cierta distancia con movimiento nictatorio hasta localizarlo, accediendo a éste por el salto o desplazándose e ingresando a la larva (Fig. 1).

Otros JI no se desplazaron en la columna de suelo, sobre las larvas o las raíces, probablemente por que no alcanzaron a percibir las sustancias volátiles emitidas por la plaga o la raíz o la humedad del medio que hizo que los JI entraran en un estado de quiescencia o reposo. En algunos casos, especies emboscadoras no presentan respuesta alguna hacia su hospedante, si no perciben en cantidades suficientes los gradientes de CO₂ o el estímulo atrayente (Campbell y Kaya 1999).

En este experimento se observó el salto y penetración en larvas expuestas. Los JI se desplazan en el cuerpo del insecto dorsolateralmente y en sus patas, localizando los espiráculos para penetrarlo (Fig. 1). En promedio se encontraron 12 JI por larva. El porcentaje de mortalidad de las larvas de *G. mellonella*

expuestas a los juveniles infectivos recuperados de los embudos Baermann fue del 66% para todos los tratamientos.

Conclusiones

Las estrategias intermedias de comportamiento de *Steinernema* sp. permiten que los juveniles infectivos se adapten para infectar insectos que permanecen bajo la superficie del suelo o tener alta movilidad y estar distribuidos a través del perfil del suelo, controlando no solamente al barrenador de raíces de palma *S. valida*, sino posiblemente prepupas de lepidópteros, hormigas o larvas de escarabajos que son plagas limitantes y están presentes en los cultivos de palma en Colombia.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Colciencias y al Fondo de Fomento Palmero por la financiación de este trabajo. A Cenicafé, por facilitar la cepa del nematodo entomopatógeno. Igualmente a Edgar Benítez y Ricardo Martínez, por el desarrollo de los análisis estadísticos, a Diego Fajardo de la Universidad de Wisconsin Madison y a John Freddy Rodríguez por las sugerencias al texto.

Literatura citada

- ALDANA, R. C.; CALVACHE, H.; ZAMBRANO, J. 2000. Determinación del daño de *Sagalassa valida* Walker (Lepidoptera: Glyphipterigidae) en el sistema radical de palma de aceite. Palmas 21 (1): 174-179.
- BARBERCHECK, M. E.; KAYA, H. K. 1991. Effect of host condition and soil texture on host finding by the entomogenous nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). Environmental Entomology 20 (2): 582-589.
- CAMPBELL, J. F.; KAYA, H. K. 1999. How and why a parasitic nematode jumps?. Nature 397: 485-486.
- CHOO, H. Y.; KAYA, H. K. 1991. Influence of soil texture and presence of roots on host finding by *Heterorhabditis bacteriophora*. Journal of Invertebrate Pathology 58 (2): 279-280.
- CUESTA, R. R.; PÉREZ, S. B.; PEÑA, E. 1997. Distribución del sistema radical de la palma de aceite (*Elaeis guineensis*) en Tumaco, Colombia. Palmas 18 (3): 49-57.
- GENTY, P. H. 1973. Observaciones preliminares del lepidóptero barrenador de as raíces de la palma africana, *Sagalassa valida* Walker. Oléagineux (Francia) 28 (2): 59-65.
- GEORGIS, R.; MANWEILER, S. S. 1994. Entomopathogenic Nematodes: a developing biological control technology. Agricultural Zoology Reviews 6: 63-94.
- GEORGIS, R.; POINAR Jr., G. O. 1983a. Effect of soil texture on the distribution and infectivity of *Neoaplectana carpocapceae* (Nematoda: Steinernematidae). Journal of Nematology 15 (2): 308-311.
- GEORGIS, R.; POINAR Jr., G. O. 1983b. Vertical migration of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Heterorhabditis heliothidis* (Nematoda: Heterorhabditidae) in sandy loam soil. Journal of Nematology 15: 652-654.
- ICA. Sección de investigación básica Agrícola-Entomología. 1991. Enemigo soterrado. Notas y Noticias Entomológicas. Enero-febrero. pp. 24.
- ISHIBASHI, N.; KONDO, E. 1990. A possible quiescence of the applied entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in soil. Japanese Journal of Nematology 16: 66-67.
- KAYA, H. K. 1993. Entomogenous and entomopathogenic nematodes in biological control, pp. 565-591. In: Evans, K.; Trudgill, D. L.; Wester, J. M. (eds.). Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. CAB International, Wallingford, UK.

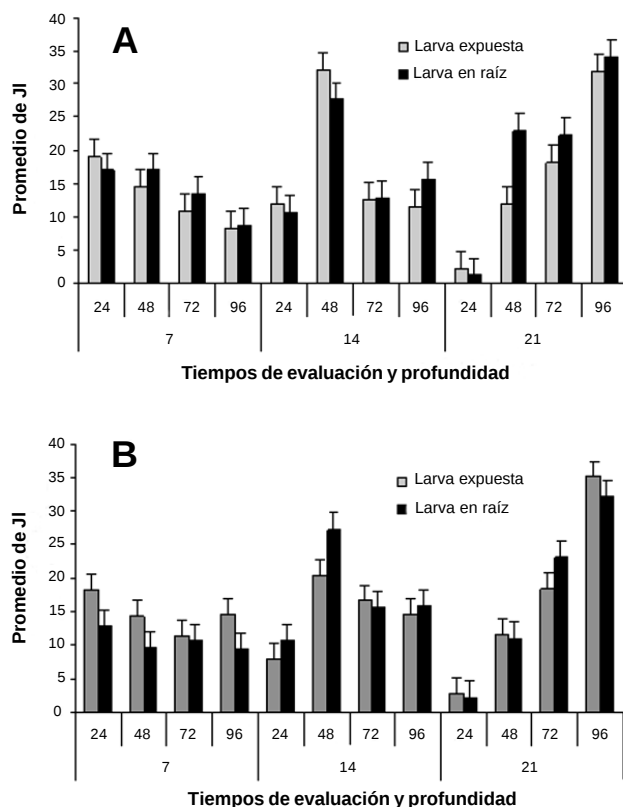


Figura 4. Juveniles infectivos encontrados en cada profundidad en textura franco-arenosa (A) y franco-arcillosa (B).

- KAYA, H. K.; GAUGLER, R. 1993. Entomopathogenic nematodos. Annual Review of Entomology 38: 181-206.
- KLEIN, M. G. 1990. Efficacy against soli-inhabiting insect pests, pp. 195-214. In: Gaugler, R.; Kaya, H. K. (ed.). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, CRC Press. Boca Raton, FL.
- KUNG, S. P.; GAUGLER, R.; KAYA, H. 1990a. Soil type and entomopathogenic nematode persistence. Journal Invertebrate Pathology 55: 12-15.
- KUNG, S. P.; GAUGLER, R.; KAYA, H. 1990b. Effects of soil temperature, moisture and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. Journal Invertebrate Pathology 55: 20-24.
- LÓPEZ, N. J. C. 1999. Movilidad y búsqueda de hospedero: Ventajas de un entomopatógeno. Memorias Seminario Nemátodos Entomopatógenos. Santa Fé de Bogotá. Universidad Nacional. pp. 26-29.
- MANNON, C.; JANSSON, R. K. 1992. Movement and postinfection emergence of entomopathogenic nemátodos from sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Coleoptera: Apionidae). Biological Control 2 (4): 297-305.
- MOLINA, A. J.; LÓPEZ, N. J. C. 2002. Desplazamiento y parasitismo de entomonemátodos hacia frutos infestados con la broca del café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). Revista Colombiana de Entomología 28 (2): 145-151.
- PEÑA, E. A.; JIMÉNEZ, O. A. 1994. Distribución del daño del insecto *Sagalassa valida* Walker en el sistema radical de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) en la zona de Tumaco. Palmas 15 (3): 19-23.
- PORTILLO, A. C.; VILLANI, M. G.; TAUBER, J. M.; TAUBER, A. C.; NYROP, P. J. 2000. Entomopathogenic nematode (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) response to soil texture and density. Environmental Entomology 28 (6): 1021-1035.
- SÁENZ, A. A. 2005. Importancia de los nemátodos entomopatógenos para el control biológico de plagas en palma de aceite. Palmas 26 (2): 41-57.
- SÁENZ, A. A.; BETANCOURT, F. 2006. Biología, hábitats y manejo del barrenador de raíces de palma *Sagalassa valida* Walker. Boletín técnico 20. Cenipalma. Bogotá. pp. 42.
- SÁENZ, A. A.; BENÍTEZ, E.; DE HARO, E. 2005. Patogenicidad y signos en larvas del barrenador de raíces de palma de aceite *Sagalassa valida* Walker, por nemátodos entomopatógenos. Ceniavances 127: 1-4.
- SCHROEDER, W. J.; BEAVERS, J. B. 1987. Movement of the entomogenous nematodes of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae in soil. Journal of Nematology 19 (2): 257-259.

Recibido: 12-sep-2006 • Aceptado: 22-abr-2008

Velocidad de desplazamiento del primer instar de *Sagalassa valida* (Lepidoptera: Glyphipterigidae)

Speed of movement of first instar larvae of *Sagalassa valida* (Lepidoptera: Glyphipterigidae)

ADRIANA SÁENZ A.¹ y WILLIAM OLIVARES²

Resumen: *Sagalassa valida*, el barrenador de las raíces de palma de aceite (*Elaeis guineensis*), es una de las plagas más importantes en el Occidente de Colombia, (Tumaco, Nariño). Sin embargo, no se tiene conocimiento sobre la biología de los estados larvales. Por ende, para poder manejar este insecto, se estableció el estudio de velocidad de desplazamiento de larvas de primer instar en palmas de vivero. Para ello se utilizaron cilindros de PVC con cuatro perforaciones de diferentes diámetros 0, 5, 10 y 15 cm, las cuales se infestaron con huevos de *S. valida*. Cada 24 horas hasta las 96 horas se determinó el comportamiento y desplazamiento a estas profundidades en donde se encontraban las raíces de palma. Al final del ensayo, se estableció que las larvas no superan los 3 cm de profundidad, encontrando el mayor porcentaje en las raíces ubicadas prácticamente a ras del suelo. Las larvas consumen las raíces cuaternarias y terciarias desde su ápice, realizan movimientos circulares y longitudinales. El tiempo y profundidad evidenciaron efectos significativos en la abundancia de larvas en suelo y en las raíces de la palma.

Palabras clave: Barrenador de raíces. Daño fresco. *Elaeis guineensis*. Raíces primarias. Palma de aceite.

Abstract: *Sagalassa valida*, the oil palm rootworm (*Elaeis guineensis*), is one of the most important pests from Western Colombia, Tumaco (Nariño). However, there is no knowledge about the biology of the larval stages. Therefore to manage this insect, a study was established on the speed of movement of the first instar larvae in greenhouse palms. To do this, Polyvinyl chloride (PVC) tubes were used with four holes of different diameters 0, 5, 10 and 15 cm, which were infested with *S. valida* eggs. Every 24 hours up to 96 hours the behavior and movement was determined according to the depth at which roots were found. At the end of the assay, it was concluded that larvae did not exceed a depth of 3 cm, finding the greatest percentage in the roots located practically on the surface of the soil. The larvae consume quaternary and tertiary roots starting from their apex, making circular and longitudinal movements. The time and depths showed significant effects on the abundance of larvae in the soil and palm roots.

Key words: Palm root borer. Fresh damage. *Elaeis guineensis*. Primary roots. Oil palm.

Introducción

El barrenador de las raíces de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq), *Sagalassa valida* Walker, 1735 (Lepidoptera: Glyphipterigidae) se ha registrado en Colombia, Ecuador, Noreste de Brasil, Panamá, Perú, Surinam y Venezuela (Genty 1973; Genty *et al.* 1978). En Colombia se ha detectado en todas las zonas palmeras. En la Zona Occidental, (Tumaco, Nariño), se ha considerado como una de las plagas de mayor importancia económica en las plantaciones (Peña y Jiménez 1994; Pinzón 1995; Aldana *et al.* 2000).

La gravedad del daño de *S. valida* se debe a que las larvas, al vivir en el sistema radical, pasan desapercibidas y su presencia sólo se manifiesta cuando han alcanzado niveles de daño de hasta el 80% de las raíces en una palma afectada. El daño ocasionado por la larva consiste en la formación de galerías en las raíces, las cuales pueden alcanzar más de 30 cm de longitud en una raíz primaria, comprometiendo, en ocasiones, el cilindro central (Sáenz y Betancourt 2006). Según Genty (1973), la destrucción parcial de las raíces es seguida por una cicatrización de los tejidos con emisión de brotes nuevos o por una pudrición que puede extenderse hasta el bulbo radical.

Como consecuencia del ataque del insecto, las palmas afectadas pueden debilitar el anclaje y en casos extremos se produce volcamiento. Además, se presentan alteraciones fisiológicas que se reflejan en lento crecimiento, amarillamiento y

secamiento prematuro de las hojas basales e intermedias y emisión continua y prolongada de inflorescencias masculinas, unida a una reducción en el peso promedio de los racimos (Genty 1977; Mora 2000; Sáenz y Betancourt 2006).

El ciclo de vida del insecto varía de una zona a otra. En estudios realizados por Pinzón (1995) y Sáenz (2005) en la Zona Occidental de Colombia, la duración del ciclo de vida de *S. valida* se resume así: Huevo 8-10 días, Larva I instar 4-5 días, II instar 6-7 días, III instar 9-10 días, IV instar 7 días, V instar 8 días, VI instar 11 días, Pupa 12-18 días y Adulto 5-6 días para un total de 78-81 días. Los adultos son de hábitos diurnos, tienen vuelo corto y errático alrededor de las plantas herbáceas que crecen dentro y en los bordes de los lotes de palma. La proporción entre machos y hembras varía según el estado del tiempo, la hora del día y el lugar de preferencia de alimentación. En términos generales, el número de adultos disminuye en las horas de poca luminosidad y se ocultan durante las lluvias. Según la hora, la población de hembras se hace más aparente e incluso entre las 7:00 y las 9:00 y entre las 10:00 y las 11:00 de la mañana, iguala a la de los machos, mientras que en las horas de la tarde disminuye drásticamente entre las 6:00 y 7:00 PM (Castebianco 2001; Afanador 2004; Sáenz y Betancourt 2006). De acuerdo con las observaciones de campo, la cópula se presenta entre las 10:00 de la mañana y las 12:00 del medio día (Pinzón 1995; Castebianco 2001; Sáenz 2005).

¹ Autor para correspondencia. Calle 66 No 59-31, Bogotá. Magíster en Ciencias Agrarias Entomología. asaenznema@gmail.com.

² Tecnólogo Agropecuario. Zona Occidental. wicho73_7@hotmail.com.

En los márgenes de la zona cultivada con el bosque, el porcentaje de hembras es menor al de los machos, capturándose en promedio 43,4% de hembras y 56,6% de machos. En cuanto al lugar de captura, el número de hembras es mayor dentro del bosque y el de los machos en los márgenes del cultivo (Sáenz y Betancourt 2006). Sin embargo, las poblaciones son importantes cerca de los bordes de la selva, de las corrientes de agua, de bosques secundarios y de palma adulta en lotes de renovación (Pinzón 1995; Sáenz y Betancourt 2006).

No ha sido posible encontrar huevos en campo dado su tamaño y color; sin embargo, la presencia de adultos en las bases de los estípites durante las horas crepusculares y la mayor emergencia de adultos en los primeros 30 cm, hacen suponer que estos sean los sitios de oviposición. Además, de acuerdo con las observaciones en campo, se ha podido establecer que las hembras barren con ayuda de su abdomen el suelo del plato o área descubierta alrededor de la planta, posiblemente oviponen y vuelven a cubrir la postura, realizando el mismo movimiento (Sáenz 2005; Sáenz *et al.* 2006).

Las larvas a partir del segundo instar ocasionan daño al ingresar por el ápice de la raíz primaria tierna y la barrenan, viven y se alimentan dentro de las raíces de la palma joven y adulta. Al terminar el consumo de una raíz, las larvas buscan otra e inician de nuevo la alimentación. Por lo general, se encuentran de una a tres larvas por raíz. Los últimos instares son más voraces y duran en promedio 28 días (Pinzón 1995; Sáenz y Betancourt 2006). Las larvas en palma joven, menor de tres años, se localizan normalmente en el sistema radical en los primeros 50 cm de la base del estípite. En palmas adultas, las larvas se localizan en un área comprendida entre 1,00 y 2,50 m de la base del estípite, siendo a 1,50 m el sitio donde normalmente se concentra la mayor población larval, manifestada por el mayor porcentaje de raíces dañadas (Aldana y Calvache 1999; Sáenz y Betancourt 2006). Por otra parte, las pupas se localizan principalmente en el suelo, cerca de las raíces de palma o en las galerías realizadas por las larvas.

De acuerdo con lo anterior y dado el desconocimiento sobre las larvas de primer instar de *S. valida*, se determinó la velocidad de desplazamiento, profundidad de penetración y comportamiento de estas sobre raíces de palma de aceite en columnas de suelo, buscando aclarar, si este instar es barrenador de raíces primarias tiernas como lo son las larvas a partir del segundo instar, ya que al realizar las evaluaciones en campo sobre palmas jóvenes y adultas, no se encuentran larvas de primer instar.

Materiales y Métodos

Localización del estudio y material biológico. El presente ensayo se desarrolló en la plantación Palmeiras S.A., localizada a 58 km de San Andrés de Tumaco (Nariño), a una altitud de 28 msnm, una temperatura promedio anual de 28°C y humedad relativa del 92%.

Obtención de posturas de *Sagalassa valida*. Se recolectaron adultos de *S. valida* entre las 6:30-10:30 A.M. y las 4:00-6:30 P.M. con ayuda de redes entomológicas en bordes de lotes cercanos a bosques de la plantación Palmeiras S.A y Corpoica El Mira. Las recolecciones se realizaron por cinco días. En frascos de vidrio de 3,7 L. se ubicaron 50 adultos de la polilla, nueve folíolos de Kudzu, nueve flores de verbena, nueve de botón blanco y un algodón impregnado con solución azucarada compuesta de agua y miel de abejas en una proporción de

1:2 respectivamente. Cada frasco se tapó con tul y se almacenó en oscuridad a temperatura ambiente (Figs. 1A, B). A las 24 horas se cambió el material vegetal para la obtención de nuevas posturas. Éstas se almacenaron en cajas plásticas con papel absorbente húmedo y debidamente etiquetado. Pasados ocho días de maduración de los huevos se separaron de los folíolos con ayuda de un pincel delgado para la obtención de 128 huevos para cada uno de los cilindros plásticos (Figs. 1C, D).

Velocidad de desplazamiento de *Sagalassa valida*. Para determinar la distancia y el tiempo de recorrido en suelo por larvas de primer instar de *S. valida* se utilizaron plantas de vivero de ocho meses de edad variedad IRHO. A cada palma se le colocaron lateralmente dos cilindros de plástico de 25 cm de largo y 10 cm de diámetro, ajustándolos a la altura de la bolsa de vivero. A todos los cilindros se les realizaron perforaciones para ubicar las raíces a cuatro profundidades 0, 5, 10 y 15 cm y se les adicionó suelo de vivero de textura arenosa (Figs. 1E, F).

Antes de colocar los cilindros, las bolsas de las palmas se cortaron lateralmente, para localizar y extraer el sistema radical sin cortarlo o maltratarlo, ya que las larvas no atacan las raíces en estas condiciones (Sáenz y Betancourt 2006). El conjunto de raíces constó de una raíz primaria, dos secundarias, 20 terciarias, 30 cuaternarias y se ubicó en cada una de las perforaciones de los cilindros, de acuerdo con el diseño experimental.

En la parte superior de cada cilindro, se colocaron 128 huevos de ocho días de maduración de *S. valida* y se tapó con un recipiente plástico de 10 x 12 cm, para proteger los huevos de depredadores o parasitoides. La unidad experimental correspondió a un cilindro perforado en cada una de las profundidades. Después de la eclosión del primer huevo (aproximadamente cinco días después de ubicados en las palmas, de acuerdo con las condiciones de la zona), se estableció el tiempo para las evaluaciones, los cuales fueron de 24, 48, 72 y 96 horas. Las variables evaluadas fueron: número de larvas en cada profundidad y larvas presentes en el conjunto de raíces en cada uno de los tiempos de evaluación. Se realizó muestreo destructivo de tres cilindros en cada profundidad (12 cilindros en cada lectura) y tiempo de evaluación. Para una mejor observación, las evaluaciones se realizaron con ayuda de un estereomicroscopio.

Se organizaron los tratamientos en un diseño completamente al azar con tres repeticiones bajo un arreglo factorial de 4 X 4 (cuatro profundidades y cuatro tiempos de evaluación), para un total de 24 palmas y 48 cilindros. El análisis de varianza se evaluó en un diseño de medidas repetidas en el tiempo, bajo tres tipos de covarianza, compuesta simétrica, no estructurada y autoregresiva de orden uno (SAS 1999) y para la prueba de comparación de promedios se utilizaron técnicas de regresión, se modeló el comportamiento por medio de superficies de respuesta de orden dos.

Resultados y Discusión

Se identificaron diferencias significativas en las variables larvas en cada profundidad en los cuatro tiempos evaluados ($F = 2,523$; g.l. = 8; $P = 0,0001$), en la interacción profundidad-tiempo ($F = 1,49$; g.l. = 8; $P = 0,002889$) y número de larvas en el conjunto de raíces ($F = 4,03$; g.l. = 31; $P = 0,0001$). Las larvas de *S. valida* no superan los 3 cm de profundidad en el suelo, además, se concentran en las profundidades de 0, 1, 2 y

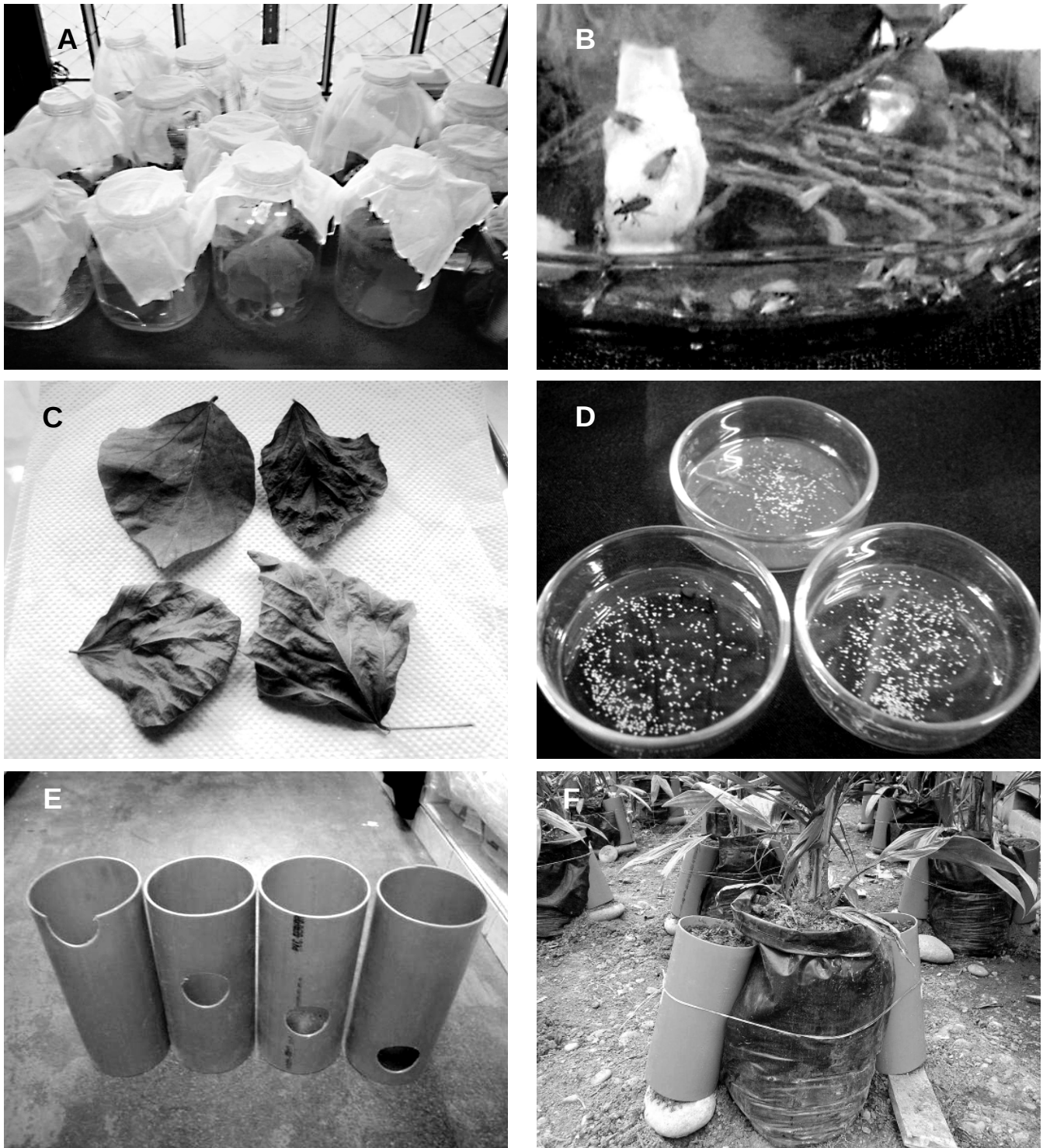


Figura 1. Disposición general del experimento. **A.** Frascos de vidrio de 3,7 L tapados con tul donde se ubicaron los adultos de *Sagalassa valida* para obtención de posturas. **B.** Vista interior de frascos. **C.** Posturas en hojas de kudzú. **D.** Placas de Petri con huevos de *Sagalassa valida*. **E.** Cilindros de plástico de 25 cm de largo y 10 cm de diámetro, con perforaciones a cuatro profundidades 0,5, 10 y 15 cm. **F.** Palmas de vivero con dos columnas ubicadas en cada extremo (Fotografías de A. Sáenz 2005).

3 cm y se ubican únicamente en las raíces terciarias y cuaternarias presentes en la profundidad 0 sin evidenciarse raíces barrenadas (Fig. 2A). Para las profundidades de 5, 10 y 15 cm no se encontraron larvas en el suelo, ni en el conjunto de raíces localizadas en estas profundidades. Sin embargo, se encontraron larvas en los tres primeros centímetros de los ci-

lindros con promedios de 15,13 a 37,72 larvas durante los tiempos de evaluación (Fig. 2B).

Las larvas se encontraron individualmente en las raíces cuaternarias dado su tamaño. En las raíces terciarias se observaron en la misma raíz dos o tres larvas con desplazamientos longitudinales, circulares y verticales. Las larvas de primer

instar no penetran las raíces, se desplazan hacia su ápice, por donde inician su consumo, lo cual indica que no las barrenan. Al terminar de consumirlas, buscan una nueva raíz terciaria o cuaternaria e inician la alimentación con el mismo comportamiento. Esto indica que posiblemente larvas a partir del segundo instar colonizan las raíces primarias y secundarias cuando barrenan el tejido radicular por su capacidad y desarrollo mandibular, como lo afirman Genty (1973), Peña y Jiménez (1994) y Pinzón (1995). Además, las larvas de primer instar en el suelo tienen movimientos lentos (verticalmente), lo cual impide su rápida movilidad hacia raíces más profundas, a pesar que el suelo utilizado fue franco arenoso, proveniente de vivero y no arcilloso y compacto como el que se encuentra en los diferentes lotes de la plantación (Fig. 2). El promedio de larvas en raíces terciarias fue de 5,5 y en cuaternarias 12,3.

La concentración de larvas en el conjunto de raíces terciarias y cuaternarias a ras de suelo (0 cm) fue significativamente alta durante las lecturas de 72 y 96 horas ($F = 4,03$; g.l. = 31; $P = 0,000158$, Fig. 2A); éstas se localizan en el ápice y realizando el comportamiento de desplazamiento y alimentación descrito anteriormente. En las profundidades de 5, 10 y 15 cm las larvas no superan los 3 cm de profundidad del cilindro

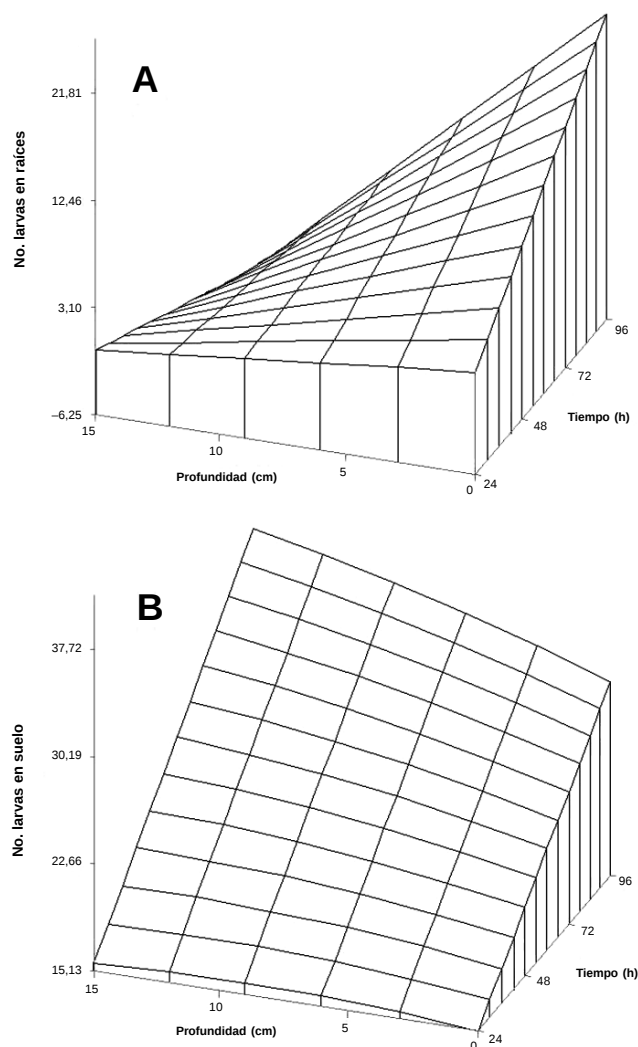


Figura 2. Larvas de primer instar de *Sagalassa valida* en cilindros de plástico. A. Larvas presentes en raíces cuaternarias de palmas de vivero. B. larvas en suelo en cada profundidad.

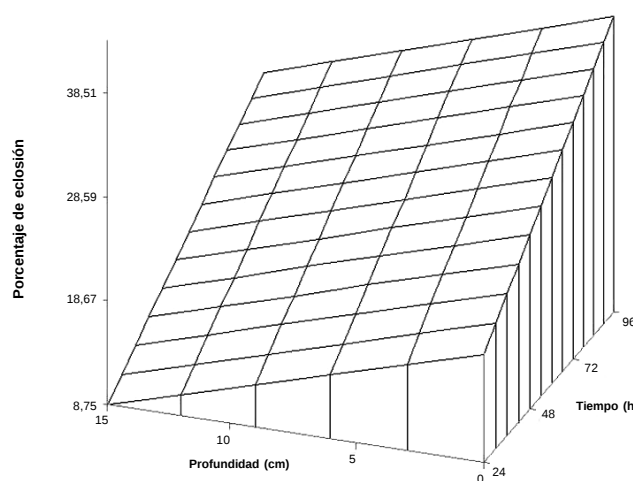


Figura 3. Porcentaje de larvas de *Sagalassa valida* en las profundidades de 0, 5, 10, y 15 cm en cilindros plásticos respecto a los huevos colocados en la superficie del suelo.

plástico (Fig. 2B), posiblemente debido a que su desplazamiento es lento. Además, el promedio de larvas encontradas fue menor en relación a la profundidad de 0 cm (33,87 26,21 y 21,86 respectivamente). Por ende, se considera que el desplazamiento de las larvas de primer instar se realizó en la superficie del suelo, correspondiente a la profundidad cero. Esto también se evidencia con las evaluaciones que se realizan en campo, para determinación del daño ocasionado por *S. valida* en palma joven, donde se registra presencia de larvas barrenando raíces primarias tiernas solamente de tercer, cuarto, quinto o sexto instar a 25 cm de profundidad (Peña y Jiménez 1994; Aldana *et al.* 2000; Mora 2000; Casteblanco 2001; Afanador 2004; Sáenz y Betancourt 2006).

El porcentaje de larvas encontradas respecto a los huevos colocados en cada cilindro es significativo a medida que pasa el tiempo y la profundidad ($F = 2$; g.l. = 31; $P = 0,00001$). En la profundidad de 0cm, se localizan más larvas en promedio que en las otras profundidades durante los cuatro tiempos de lectura, como se mencionó anteriormente. Esto posiblemente, por la presencia en la superficie del suelo del conjunto de raíces primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias de la palma (Fig. 3). Sin embargo, el porcentaje de larvas no fue del 100% respecto a la totalidad de huevos colocados en el suelo, hallando huevos sin eclosionar en cada una de las repeticiones en los cuatro tratamientos y a medida que pasa el tiempo de observación se incrementa el número de larvas principalmente entre las 48 y 72 horas (Fig. 3). El menor porcentaje de larvas encontradas fue de 0,78, correspondiente a la profundidad de 10 cm en 72 horas, debido quizás a que se encontró una gran cantidad de hormigas depredadoras. Este porcentaje, es similar al determinado por Pinzón (1995) en su estudio de biología de la plaga en la zona de Tumaco, bajo condiciones de laboratorio.

Conclusiones

Las larvas de primer instar no superan las profundidades de 0, 1, 2 y 3 cm en cada una de las lecturas realizadas y tampoco barrenan raíces primarias tiernas, solo consumen raíces terciarias y cuaternarias. Con este comportamiento de alimentación y dado el poco desplazamiento vertical, da respuesta a la

reducción en grandes cantidades de larvas presentes a partir del segundo instar en raíces primarias tiernas en palmas jóvenes y adultas. Además con estos resultados permite mejorar el manejo integrado de la plaga dirigido a la zona del plato de la palma y controlar el daño que ocasiona al sistema radical.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Darly Cortés de la Zona Occidental, a David Valencia y Hamilton Cabezas de Palmeiras S.A., durante la colecta del material biológico, a Edgar Benítez por la asesoría estadística, a John Freddy Rodríguez por las sugerencias al texto, a Colciencias y al Fondo de Fomento Palmero por la financiación de esta investigación.

Literatura citada

- AFANADOR, A. 2004. Evaluación del control químico de adultos de *Sagalassa valida* Walker (Lepidoptera: Glyphipterigidae) en plantas de verbena. Tesis de grado. Universidad Nacional. Facultad de Agronomía. pp. 31.
- ALDANA, R.; CALVACHE, H. 1999. *Sagalassa valida* Walker: Barrenador de raíces de palma de aceite. Ceniavances No 59. pp. 4.
- ALDANA, R. C; CALVACHE, H; ZAMBRANO, J. 2000. Determinación del daño de *Sagalassa valida* Walter (Lepidoptera: Glyphipterigidae) en el sistema radical de palma de aceite. Palmas 21 (1): 174-179.
- CASTEBLANCO, J. 2001. Manejo de *Sagalassa valida* mediante técnicas de protección física e inducción radical en la palma de aceite en Cumaral (Meta). Tesis grado. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Agronomía. Pp. 69.
- GENTY, P. H. 1973. Observaciones preliminares del lepidóptero barrenador de las raíces de la palma africana, *Sagalassa valida* Walker. Oleagineux (Francia) 28 (2): 59-65.
- GENTY, P. H. 1977. Las plagas y enfermedades de la palma de africana y del coco. Los lepidópteros minadores de raíces: *Sagalassa valida* Walker. Oleagineux (Francia) 28 (2): 59-65.
- GENTY, P. H.; DESMIER DE CHENON, R.; MORIN, J. P. 1978. Las plagas de la palma de aceitera en América Latina. Oleagineux (Francia) 33 (7): 325-419.
- MORA, M. 2000. Estudios preliminares en la determinación del daño ocasionado por el barrenador de raíces de la palma de aceite *Sagalassa valida* Walker en Puerto Wuilches (Santander). Tesis de grado. Universidad Nacional. Facultad de Agronomía. pp. 104.
- PEÑA, E. A; JIMÉNEZ, O. A. 1994. Distribución del daño del insecto *Sagalassa valida* Walker en el sistema radical de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq) en la zona de Tumaco Palmas (Colombia) 15 (3): 19-23.
- PINZÓN, Y. 1995. Aspectos generales sobre la biología y manejo de *Sagalassa valida* Walter, barrenador de las raíces de la palma de aceite en palmas de Tumaco. Palmas (Colombia) 16 (2): 17-23.
- SAS INSTITUTE. 1999. SAS User's manual. Statistics. SAS Institute. Cary, NC.
- SÁENZ, A. A. 2005. Nematodos entomatógenos para el control biológico de *Sagalassa valida* Walker en la Zona Occidental. Resúmenes del Congreso Nacional de la Sociedad Colombiana de Entomología. Julio. Pp. 20.
- SÁENZ, A. A.; BETANCOURT, F. 2006. Biología, hábitos y manejo de *Sagalassa valida* Walker, barrenador de raíces de palma. Boletín técnico No 20, Cenipalma. Bogotá. pp. 43.
- SÁENZ, A. A.; FAJARDO, L.; REINA, A.; OLIVARES, W. 2006. Trampas de suelo para la captura de adultos de *Sagalassa valida* Walker (Lepidoptera: Glyphipterigidae). Resúmenes del Congreso Nacional de la Sociedad Colombiana de Entomología. Julio. Pp. 57.

Recibido: 12-sep-2006 • Aceptado: 26-abr-2008

Efecto de dos nematodos entomopatógenos sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae)

Effect of two entomopathogenic nematodes on *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae)

PAULA A. SEPÚLVEDA-CANO¹, JUAN C. LÓPEZ-NÚÑEZ², ALBERTO SOTO-GIRALDO³

Resumen: El picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* es una de las plagas que mayores daños causa al cultivo. Especies de nematodos entomopatógenos de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* son agentes biológicos de control del insecto, con posibilidad de incorporarse a programas MIP. El objetivo del trabajo fue evaluar la virulencia de *Steinernema carpocapsae*, y *Heterorhabditis bacteriophora*, sobre adultos y larvas de último instar de picudo. El bioensayo utilizado fue el de infección individual en platos multipozo con papel filtro, en concentraciones de 10, 100 y 1.000 juveniles infectivos (JI)/25 µl. Con frecuencia de 12 h se registró el número de individuos muertos por plato hasta un tiempo máximo de 120 h para larvas y 228 h para adultos. Los cadáveres se pasaron a cámara seca (desarrollo del nematodo dentro del insecto) y posteriormente a cámara “white” (emergencia de JI). Las variables evaluadas fueron mortalidad de estados, multiplicación de JI y duración de emergencia. Bajo las condiciones evaluadas, tanto adultos como larvas fueron susceptibles al ataque ambos nematodos, respondiendo diferencialmente al aumento de la dosis. Se evidenció sintomatología de infección y multiplicación en larvas, de las especies de nematodos evaluadas. Condiciones como nicho limitado del insecto y alta humedad en los cormos de plátano favorables para la sobrevivencia del nematodo, unidos a la mortalidad registrada con bajas concentraciones de JI y a la capacidad de desarrollarse especialmente en larvas, convierten a estos agentes en herramienta promisorio para el control de la plaga en campo.

Palabras clave: Picudo negro. *Steinernema carpocapsae*. *Heterorhabditis bacteriophora*. MIP. Plátano.

Abstract: The black plantain weevil *Cosmopolites sordidus* is one of the pests that most severely damages this crop. Entomopathogenic nematodes (EN) of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis* are biological control agents of the insect with the possibility of being incorporated into IPM programs. The objective of this study was to evaluate the virulence of *Steinernema carpocapsae* All Strain and *Heterorhabditis bacteriophora* on adults and last instar larvae of the weevil. The bioassay used was individual infection in multiple well plates with paper filter in concentrations of 10, 100, and 1.000 infective juveniles (IJ)/25 µl. Every 12 h the number of dead individuals per plate was recorded up to a maximum of 120 h for larvae and 228 h for adults. The cadavers were put in a drying chamber (development of the nematode inside the insect) and later in a “white chamber” (emergence of IJ). The variables studied were mortality of the stages, IJ multiplication and emergence duration. Under the conditions evaluated, both adults and larvae were susceptible to the attack of both nematodes, responding differentially to the increase of dose. Typical symptoms of infection and multiplication in larvae were observed for the nematode species evaluated. Conditions such as the limited niche of the insect and high humidity in plantain corms that are favorable for nematode survival, as well as the high mortality registered with low IJ concentrations and the capacity to develop especially in the larvae, make these agents promising tools for the control of the pest in the field.

Key words: Black weevil. *Steinernema carpocapsae*. *Heterorhabditis bacteriophora*. IPM. Plantain.

Introducción

El picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) es considerado la plaga más limitante del cultivo en la mayoría de países tropicales y subtropicales (Treverrow y Bedding 1993; García Roa *et al.* 1994; Cerda *et al.* 1996; Merchán 1998; Castrillón 2000). El daño es ocasionado por la larva al alimentarse del rizoma de plantas principalmente después de floración (Cerda *et al.* 1996). Los efectos del daño de *C. sordidus* ocasionado por su acción directa o por su asociación con otros microorganismos (Rosales y Suárez 1998) se manifiestan principalmente en detrimento en el número de racimos (Cerda *et al.* 1996), volcamiento, disminución del peso del racimo hasta en un 60% y la pérdida total del cultivo en casos severos (Castrillón y Herrera 1986; Castrillón 1987, 2000).

Debido al hábito nocturno del adulto y a la invisibilidad de los estados inmaduros por desarrollarse dentro de los pseudotallos, la acción de sus enemigos naturales y de los agricultores es limitada; sin embargo se registran con alguna relevancia *Propagalerita bicolor* (Drury), *Scarites* sp. (Coleoptera: Carabidae), *Tetramorium* sp. (Hymenoptera: Formicidae), *Hololepta* sp. (Coleoptera: Histeriidae), *Onthophagus* sp. (Coleoptera: Scarabaeidae) y *Camponotus* sp. (Hymenoptera: Formicidae) (Goitía y Cerda 1998). Otros enemigos del picudo como hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin), nematodos entomopatógenos (*Steinernema* spp. y *Heterorhabditis* spp.) y especies de hongos endófitos no patógenos (*Fusarium* spp.), se consideran como potenciales herramientas para diseñar estrategias de control de este insecto en varias regiones del mundo (Treverrow y Bedding 1993; García Roa *et al.* 1994; Gold 2000).

¹ Autor para correspondencia. M. Sc. Candidata Doctorado Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Bloque 11 Oficina 208. A.A. 3840. sepulveda_cano@yahoo.es.

² Microbiólogo. Investigador científico 1. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafe. juancarlos.lopez@cafedecolombia.com.

³ M.Sc Entomología. Profesor titular Universidad de Caldas. asoto@telesat.com.co.

A los nematodos entomopatógenos como agentes de control de *C. sordidus* se les reconoce su importancia, no solo por buscar activamente su presa y matarla dentro de las primeras 48 horas después de haberla alcanzado (Kaya y Stock 1997; Kaya *et al.* 2006), sino porque hasta el momento todas las especies descritas de steinernematidos y heterorhabditidos mantienen una asociación específica con bacterias gram-negativas de los géneros *Xenorhabdus* y *Protorhabdus* respectivamente (Griffin *et al.* 2005), que junto al nematodo liberan toxinas e inhibidores en la hemolinfa de sus hospedantes que disminuyen los hemocitos del insecto, bajan el pH de la hemolinfa y paralizan al hospedante, el cual muere cuando todos los hemocitos han sido destruidos. De igual manera, produce proteasas que digieren los tejidos del insecto y antibióticos capaces de inhibir el crecimiento de colonizadores secundarios. Lo anterior hace que estos agentes sean uno de los controladores más letales a la hora de utilizarlos en programas de control biológico, siendo de mayor conveniencia que cualquier otro grupo de nematodos (Wouts 1991; Kaya y Stock 1997; Renn 1998). Por lo anterior y debido a la disponibilidad y facilidad de multiplicación de los entomonematodos, se evaluó su efecto en larvas de último instar y adultos del picudo negro del plátano *C. sordidus*.

Materiales y Métodos

El trabajo se desarrolló en el laboratorio de Fitotecnia de la Universidad de Caldas. Las especies de nematodos evaluadas fueron *S. carpocapsae* All strain (S.c. All), y *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1975 (H.b.) suministrados por Cenicafé. Juveniles infectivos (JI) de ambos nematodos se multiplicaron en larvas de último instar de *Galleria mellonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pyralidae) y se almacenaron en frascos de vidrio transparente a $10 \pm 2^\circ\text{C}$ por un período no mayor a 30 días después de su multiplicación.

Para los bioensayos se utilizaron platos para cultivo de tejidos Falcon® de fondo plano con 12 celdas individuales por plato; los juveniles infectivos (JI) se acondicionaron a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 horas antes de realizar las infecciones. En el fondo de cada celda se colocaron dos rodajas de papel filtro Watmann # 1, sobre las que se aplicaron con micropipeta automática Eppendorf las concentraciones de JI a evaluar (10, 100 y 1.000 JI) en 25 μl . Cada dosificación se ajustó previamente por recuentos al estereoscopio en una solución de agua estéril y detergente (Micro soap - Int. Prod. Corp 5%), para reducir la tensión superficial entre el agua y el nematodo. Este procedimiento se realizó para las dos especies de nematodos. Finalmente se colocó en cada celda una larva de último instar o un adulto (según el tratamiento) de *C. sordidus*. Cada plato de cultivo se selló con Parafilm® y se guardó en una bolsa con cierre en la que se introdujo una toalla de papel humedecida para evitar la desecación; se llevaron a incubación a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ en oscuridad constante durante 120 horas para las larvas y 228 horas para adultos.

El experimento se realizó bajo un diseño completamente aleatorio en arreglo factorial, conformado por 13 tratamientos (dos nematodos x tres concentraciones de JI x dos estados de *C. sordidus* + testigo). Al tratamiento testigo se aplicaron 25 μl de solución de agua estéril y detergente según el bioensayo descrito. Cada tratamiento constó de cinco repeticiones y cada una estuvo conformada por 10 insectos, para un total de 50 individuos por tratamiento. Las evaluaciones de la mortalidad de adultos y larvas de *C. sordidus* se realizaron cada 12 h,

adicionando agua estéril en cada pozo para mantener la humedad. Se estimó la proporción promedio de estados muertos por tratamiento, corregida por el testigo según Schneider y Orelly:

$$\% \text{ Mortalidad corregida} = \left(\frac{\% \text{ mt} - \% \text{ mta}}{100 - \% \text{ mta}} \right) \times 100$$

mt = mortalidad en el tratamiento.

mta = mortalidad en testigo absoluto.

Esta variable se asumió como carencia de movimiento del insecto cuando se presionó en el abdomen con una aguja de punta roma. Al morir los especímenes se colocaron de manera individual en cámara húmeda durante 48 horas. Posteriormente el 40% de los individuos se pasaron a cámara "White" modificada (White 1927), para evaluar la multiplicación de los nematodos. El 60% restante de los individuos se disecaron para determinar el número de estados del nematodo que lograron parasitar cada insecto.

En trabajos preliminares tendientes a desarrollar un sistema de bioensayo en donde los JI al interior del cadáver de la larva de *C. sordidus* pudieran desarrollarse, se realizaron evaluaciones sobre el tiempo y condiciones óptimas en las fases de infección y cámara seca. Estas evaluaciones mostraron que las condiciones de desarrollo recomendadas para *G. mellonella* (seis días en cámara seca a 25°C) (Kaya y Stock 1997), no fueron adecuadas para lograr un buen desarrollo en larvas de *C. sordidus*, debido a que aceleraban la desecación de los tejidos del insecto durante las 48 h siguientes a la muerte. De acuerdo con lo anterior, se optó por pasar la larva muerta a cajas Falcon iguales a las utilizadas en la fase de infección con papel filtro al que se le adicionó 25 μl de agua estéril cada 24 h (cámara semi-húmeda).

Para establecer las diferencias entre tratamientos se realizó un análisis de varianza al 95% de confiabilidad y para determinar el tratamiento de mayor efectividad se realizaron las pruebas de comparación de medias respectivas. Adicionalmente con el tratamiento de mayor efectividad para cada estado se obtuvo el tiempo letal 50 (TL₅₀). Los análisis se realizaron mediante el programa SAS Version 9.1 (Statistical Analysis System).

Resultados y Discusión

Efecto de nematodos entomopatógenos sobre adultos de *C. sordidus*. Con la aplicación de nematodos a los adultos de *C. sordidus* no se observó ninguna sintomatología de parasitismo (flacidez o cambio de color), debido a su coloración natural oscura y la dureza de su exoesqueleto. El porcentaje de mortalidad en los adultos de *C. sordidus* fue diferente ($P = 0,0001$ para los dos EN) entre las dosis. Sin embargo, no se presentó significancia en las interacciones entre dosis y los tiempos de evaluación ($P = 0,4089$, $P = 0,9219$ para S.c. All. y H.b. respectivamente). En la Figura 1 se observa el porcentaje de mortalidad del insecto con todos los tratamientos, con un mayor porcentaje de mortalidad al final de la evaluación (228h) con el tratamiento H.b. 100 JI/25 μl seguido por S.c. All. 1000 JI/25 μl , H.b. 1.000 JI/25 μl y S.c. All 10 JI/25 μl .

Se registró una mayor y más consistente patogenicidad de H.b. sobre estados adultos de *C. sordidus*, ya que los porcen-

tajes de mortalidad fluctuaron para las concentraciones de JI evaluadas entre 8 - 58%, mientras que para *S.c. All.* estos valores estuvieron entre 0 - 40%. Las diferencias pudieron ser ocasionadas por la facilidad de entrar vía cuticular que posee H.b. y coincide con lo encontrado por algunos autores que registran mayor eficiencia de heterorhabdítidos sobre éste y otros barrenadores como *Otiorhynchus sulcatus* (F.), *O. ovatus* (L.), *Sphenophorus pulvurus* Gyllenhal, 1838, *Cylas formicarius* (Fabricius) y otros insectos como *Manaharva fimbriolata* (Stål, 1854) y *Frankiniella* sp. (Bedding y Miller 1981; Dorschner *et al.* 1989; Chyzik *et al.* 1996; Rosales y Suárez 1998; Leite *et al.* 2005). Sin embargo, la mortalidad para los adultos de *C. sordidus* fue mucho más baja que la registrada para sus estados inmaduros, como se discutirá más adelante, lo que pudo deberse a la menor movilidad, a la exposición de sus espiráculos y al exoesqueleto menos quitinizado de la larva.

En este ensayo se inició la mortalidad del insecto a partir de las 48 h con pequeños incrementos después de las 120 h de evaluación, mostrando que en este período hay mayor actividad de los NE y que en intervalos cortos hay grandes incrementos en la mortalidad de los insectos para la mayoría de los tratamientos (Fig. 1). En algunos trabajos realizados sobre capacidad patogénica de nematodos entomopatógenos (steinernemátidos y heterorhabdítidos) sobre adultos de *C. sordidus* se han registrado dosis de 1000 JI/adulto/ml que después de 360 h de evaluación alcanzan porcentajes de mortalidad del $80 \pm 14,49$ y $76 \pm 21,9\%$ (*H. bacteriophora* y *S. carpocapsae* respectivamente) (Rosales y Suárez 1998), mientras que en el presente estudio se obtuvo para la misma dosis, estabilidad en la curva de mortalidad a las 120 h de evaluación y un 64% de mortalidad para ambos NE después de 228 h, lo que sugiere que en experimentos posteriores, se podría extender la duración de la prueba, esperando mortalidades después de los 10 días de evaluación como lo registrado por estas autoras.

Las diferencias entre las dosis bajas y altas de cada NE muestran que no necesariamente el incremento de las dosis representa un aumento en los porcentajes de mortalidad y que se puede llegar a un punto donde con mayor dosificación, la mortalidad se puede mantener constante o con ligeros incrementos. La efectividad de las dosis bajas es deseable en términos económicos, por lo que se podrían estudiar posteriormente dosificaciones intermedias que den una mayor ilustración sobre una concentración de NE efectiva y económica para llevar a campo.

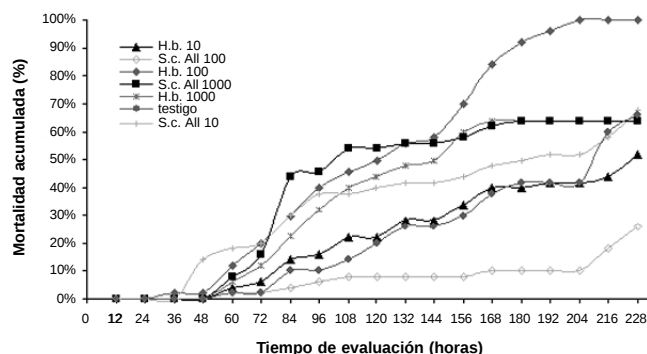


Figura 1. Porcentaje de mortalidad acumulada durante de adultos de *C. sordidus* infectados con NE.

Según Treverrow y Bedding (1993), el ingreso de los NE a los adultos de *C. sordidus* en cajas petri no se da hasta pasados varios días después de la infección, y generalmente entre uno y tres NE logran entrar a individuos sanos. Igualmente ellos registran que los mayores porcentajes de mortalidad se obtienen 14 días después de la infección con promedios de 70% para varias cepas de *S. carpocapsae*. Al comparar esta información con el presente estudio, se observa que los NE empleados lograron ingresar con mayor rapidez y tuvieron mayor mortalidad en 10 días, lo que resalta la importancia de realizar estudios con diferentes aislamientos nativos y con varios sistemas de bioensayo que permitan hacer una buena selección del NE a aplicar.

No hubo evidencia de desarrollo de adultos de NE, multiplicación de estados y emergencia de JI en ninguno de los tratamientos, lo que pudo deberse a sustancias producidas por el plátano que inhiben la bacteria simbionte de los nematodos. Este fenómeno ha sido registrado con algunos insectos que se alimentan de plantas que producen cucurbitacina la cual disminuye el potencial de *Xenorhabdus nematophilus* Thomas & Poinar, 1979 de *S. carpocapsae* (Kaya y Koppenhöfer 1996). También debe considerarse que *C. sordidus* posee endosimbiontes intracelulares (Nardon *et al.* 1985), por lo que resultaría interesante evaluar el efecto de dichos simbiontes sobre el desarrollo de los NE.

Efecto de nematodos entomopatógenos sobre larvas de *C. sordidus*. Con la modificación del sistema de bioensayo en todas las larvas sometidas a infecciones con JI se presentaron sintomatologías con cambio de coloración y consistencias gomosas para las dos especies de nematodos. En las infecciones con *S.c. All.* las larvas se tornaron marrón, mientras que con H.b., su coloración varió del rosa a rojo oscuro, sin diferencias entre las dosis utilizadas para cada nematodo, lo que coincide con lo reportado por Sáenz (2001) para varios insectos.

El porcentaje de mortalidad mostró diferencias significativas en relación con el testigo entre dosis (ANAVA, $P = 0,0001$) y en las interacciones entre dosis y tiempos de evaluación ($P = 0,0001$). Los porcentajes de mortalidad más altos se consiguieron con H.b. 100 JI/25 μ l, seguido por *S.c. All.* 1.000 JI/25 μ l, *S. c. All.* 100 JI/25 μ l y H.b. 1.000 JI/25 μ l corregidos por el testigo (Fig. 2).

Estos resultados concuerdan con los registrados por Treverrow y Bedding (1993), García Roa *et al.* (1994), Castrillón (2000) y Gold y Messiaen (2000), con una alta susceptibilidad de las larvas de *C. sordidus* y porcentajes de mortalidad hasta del 100% (datos sin corregir). Observaciones similares sobre la mayor susceptibilidad de estados inmaduros de Coleópteros a nematodos entomopatógenos, comparada con los adultos, ha sido reportada en *Otiorhynchus sulcatus*, *O. ovatus*, *Macronoctua onusta* Grote, 1874 (Gill y Raupp 1997), *Popillia japonica* Newman (Wang y Gaugler 1998), *Clavipalpus ursinus* Blanchard (Sáenz 2001) y *Tribolium castaneum* (Herbst) (Ramos-Rodríguez *et al.* 2006). La menor susceptibilidad de los adultos puede deberse a la dureza de los exoesqueletos de los escarabajos, al cubrimiento de los espiráculos por los élitros en algunos de los casos, a la facilidad de retirar a los NE con las patas y en el caso específico de curculiónidos, a la incapacidad de los NE de desplazarse a través de un rostro largo como en el de *C. sordidus*. Las larvas, por el contrario, son de movimiento más limitado, no tienen apéndices para locomoción ni defensa, son de cutícula

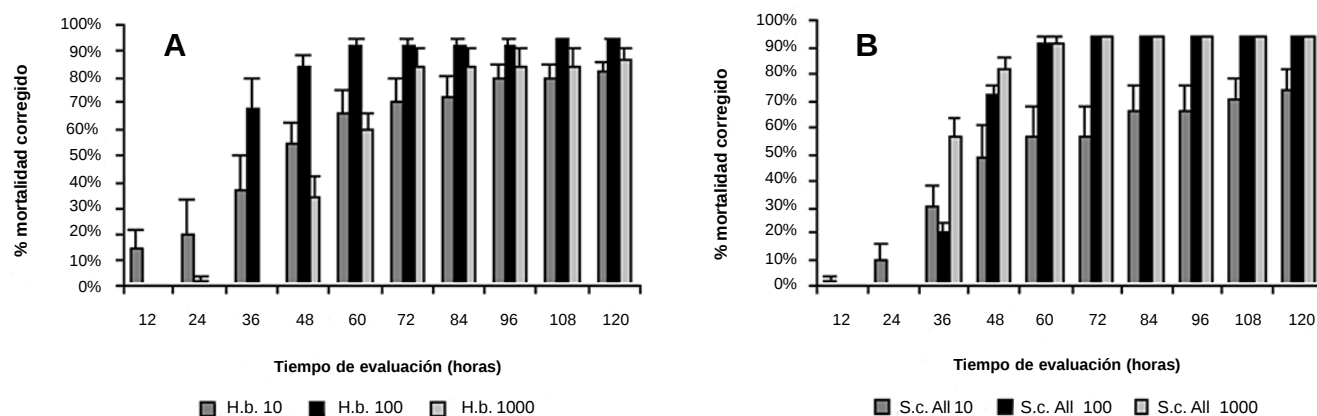


Figura 2. Porcentajes de mortalidad corregida de larvas de *C. sordidus* infectadas con *H. bacteriophora* (A) y *S. carpocapsae* (B).

suave y adicionalmente tienen boca, ano y espiráculos expuestos y disponibles para el ingreso de los NE, lo que las pudo hacer más susceptibles a la invasión e infección por éstos.

Es importante resaltar que los porcentajes de mortalidad y las primeras respuestas a las infecciones de NE sobre larvas de *C. sordidus* se presentaron con las dosis más bajas (10 JI/25 µl), hecho atribuido a la baja competencia intraespecífica para ingresar al hospedante. La existencia de esta competencia ha sido comprobada por Kaya y Koppenhöfer (1996) después del ingreso del JI insecto. Teniendo en cuenta los tratamientos en donde se obtuvieron los mayores porcentajes de mortalidad (H.b. 100 JI/25 µl y *S.c. All* 1.000 JI/25 µl), se determinaron los valores de TL_{50} para cada uno de los tratamientos obteniendo 39,69 y 37,23 h respectivamente. La mayor rapidez del género *Steinernema* para matar a su presa fue registrada igualmente para ninfas de *M. fimbriolata* por Leite *et al.* (2005). Rosales y Suárez (1998) en su trabajo con *C. sordidus* registraron lapsos mayores con aislamientos nativos de Venezuela de *S. carpocapsae* y *H. bacteriophora*, lo que demuestra las diferencias entre dichos aislamientos y la potencialidad de los empleados en el presente estudio.

Durante las disecciones de larvas parasitadas se observó que pasadas 48 h de su muerte, hubo desarrollo de estados

adultos de los NE para las dos especies (hermafroditas para *H. bacteriophora* y hembras y machos para *S. carpocapsae*). Aunque no se pudo determinar con exactitud el momento en que los JI que ingresan a las larvas pasan a estados adultos para hallar los índices de penetración, es claro que hay desarrollo de más de una generación en las larvas expuestas sin importar la dosis. El desarrollo y multiplicación de cada nematodo en su insecto hospedante, facilitaría la selección del mejor entomopatógeno y su inclusión como controlador biológico, pues lograría causar epizootias en el hábitat de la plaga.

Los dos nematodos en todas las dosis evaluadas lograron multiplicarse y reproducirse en larvas de *C. sordidus*. Para todos los tratamientos se presentó emergencia de NE de las larvas de *C. sordidus*, más no en todos los individuos (Fig. 3). Los días para el inicio de la emergencia difirieron entre dosis más no entre aislamientos, teniendo así emergencia de JI 4-6 días después de ubicar las larvas en cámara White para las dosis de 100 JI/25 µl y 1000 JI/25 µl, y para las dosis más bajas, 7-9 días después.

En la Figura 3 y Tabla 1 se observa el número de JI emergidos de larvas de *C. sordidus* para cada tratamiento. De esta forma, a mayor dosificación mayor número de JI producidos, de manera que los tratamientos con H.b. 1000 JI/25 µl y *S.c. All* 1.000 JI/25 µl, obtuvieron una mayor emergencia de JI con un comportamiento ascendente los primeros cinco días, para empezar a descender la producción durante los siguientes tres a cinco días, mientras que para las dos especies en los tratamientos con 100 JI/25 µl hubo una menor producción distribuida en mayor lapso. La mayor producción de JI de *S.c. All*, fue similar a la encontrada en estados inmaduros de otros insectos (Leite *et al.* 2005). Cuando se utilizan menos nematodos por larva, se presenta una mayor disponibilidad de nutrientes lo cual retarda todo el proceso de desarrollo del nematodo al interior del insecto. Esto se apreció claramente para las dos especies de nematodos ya que los tiempos de emergencia indistintamente son mayores. La producción de casi 100.000 nuevos JI por larva, sumada a la capacidad de desplazamiento horizontal y vertical que poseen estos organismos, a la baja movilidad de las larvas al interior de las galerías en el plátano y a las condiciones de oscuridad y humedad que la planta ofrece, sugieren que al inyectarse al corno del plátano los JI podrían estar ocasionando mortalidad permanente de varias generaciones de la plaga.

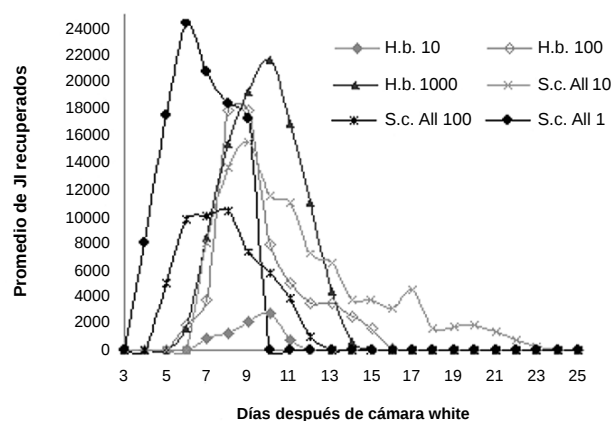


Figura 3. Comportamiento de la producción de JI de *S. carpocapsae* All Strain y *H. bacteriophora* en larvas de *C. sordidus* a través del tiempo (JI/larva).

Tabla 1. Porcentajes de mortalidad promedio de larvas de *C. sordidus* y promedio de JI totales emergidos de una larva de *C. sordidus*.

Dosis	<i>H. bacteriophora</i>				<i>S. carpocapsae</i>			
	Grupo	Media	Mortalidad (%)	JI	Grupo	Media	Mortalidad (%)	JI Producidos
10	B	53,252	64,21	7,690	B	46,766	53,08	96,166
100	A	66,618	84,25	65,785	A	62,570	78,77	53,354
1000	B	48,524	56,13	99,386	A	65,877	83,29	106,532

Conclusiones

La susceptibilidad de los estados de *C. sordidus* evidenciada en este trabajo indican que *S. carpocapsae* All Strain y *H. bacteriophora* podrían emplearse como una herramienta adicional en el manejo integrado de la plaga. Se observó claramente la patogenicidad y diferentes grados de virulencia de las especies utilizadas y la capacidad de desarrollarse especialmente en estados inmaduros (larvas), cumpliendo su ciclo completo y multiplicándose en larvas infectadas, características deseables en controladores biológicos. A estos resultados se puede agregar que la gran mayoría de NE son compatibles con todos los métodos de aplicación usados en la agricultura tradicional y que los JI de los NE evaluados son compatibles con casi todos los agroquímicos bajo condiciones de campo y son habitantes naturales del suelo (Wang y Gaugler 1998) lo que representa una ventaja más en la utilización de estas alternativas en el manejo de la plaga a nivel de campo.

Con el potencial insecticida de los NE registrado aquí y la gran diversidad de éstos en Colombia (López-Núñez *et al.* 2007) se abre la puerta para la evaluación de un gran número de aislamientos nativos sobre este insecto tanto en laboratorio como en campo, así como el estudio de su incorporación con otros agentes de control como los hongos entomopatógenos, dentro de programas de manejo integrado del picudo negro.

Adicionalmente, es necesario realizar estudios que permitan conocer y explotar las cualidades de los NE como herramienta en el control biológico del picudo negro. Los estudios se deberán concentrar en temas como formas de aplicación ya sea directa con aplicaciones dirigidas al cormo o inyecciones en los orificios de penetración del insecto, o indirectas con aplicaciones sobre trampas logrando que los patógenos se dispersen por los adultos; momento oportuno de aplicación con frecuencias y dosis en el campo y la interacción con otros agentes entomopatógenos y el desarrollo de formulaciones que permitan una mayor permanencia del nematodo en el campo. Esto último deberá relacionarse con el uso de nematodos nativos, no solo para preservar la biodiversidad sino para aprovechar su adaptación al medio ambiente, principalmente por las condiciones de clima y de suelo. De esta manera, el uso de los NE como insecticida biológico para controlar poblaciones de picudo negro, podrá ser una de las alternativas más convenientes en cuanto a efectividad y permanencia en el campo dentro de programas de manejo integrado de la plaga.

Literatura citada

- BEDDING, R. A.; MILLER, L. A. 1981. Use of a nematode, *Heterorhabditis heliothidis*, to control black vine weevil, *Otiorynchus sulcatus*, in potted plants. *Annals of Applied Biology* 99: 211-216.
- CASTRILLÓN, C.; HERRERA, J. G. 1986. Los picudos negro y rayado del plátano y banano. *Revista ICA Informa*, Abril-Mayo-Junio: 11-14.
- CASTRILLÓN, C. 1987. Reconocimiento del Picudo Negro (*Cosmopolites sordidus* Germar) del Plátano en el Departamento del Quindío. *Revista ICA Informa*, Manizales. Abril-Mayo-Junio: 16-21.
- CASTRILLÓN, C. 2000. Distribución de las Especies de Picudo del Plátano y Evaluación de sus Entomopatógenos Nativos en el Departamento de Risaralda. CORPOICA-Comité de Cafeteros de Risaralda-UMATA Departamento de Risaralda. Manizales. 72 p.
- CERDA, H.; LÓPEZ, A.; SANOJA, O.; SÁNCHEZ, P.; JAFFÉ, K. 1996. Atracción olfativa de *Cosmopolites sordidus* Germar (1824) (Coleoptera: Curculionidae) estimulado por volátiles originados en musáceas de distintas edades y variedades genómicas. *Agronomía Tropical* 46 (4): 413-429.
- CHYZIK, R.; GLAZER, I.; KLEIN, M. 1996. Virulence and efficacy of different entomopathogenic nematode species against western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). *Phytoparasitica* 24 (2): 103-110.
- DORSCHNER, K. W.; AGUDELO-SILVA, F.; BAIRD, C. R. 1989. Use of heterorhabditid and steinernematid nematodes to control black vine weevils in hop. *Florida Entomologist* 72: 544-556.
- GARCÍA ROA, F.; GÓMEZ, J.E.; BELALCAZAR, S. 1994. Manejo biológico de *Cosmopolites sordidus* (Germar) en plátano. Reunión de la Asociación para la Cooperación en Investigación de Banano en el Caribe y en América Tropical. Memorias XI reunión en San José, Costa Rica. 13-18 de febrero.
- GILL, S. A.; RAUPP, M. J. 1997. Evaluation of biological and chemical applications for control of iris borer. *Journal Environmental Horticulture* 15: 108-110.
- GOITÍA, W.; CERDA, H. 1998. Hormigas y otros insectos asociados a musáceas y su relación con *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae). *Agronomía Tropical* 48 (2): 209-224.
- GOLD, C. S. 2000. Biology and integrated pest management of banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar), pp. 28-33. En: Molina, A. B.; Roa, V. N.; Maghuyop, M. A. G. (eds.). *Advancing banana and plantain R&D in Asia and the Pacific*. Vol. 10. Proceedings of the 10th INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee meeting held in Bangkok, 2000/11/10-11, INIBAP-ASPNET, Los Baños.
- GOLD, C. S.; MESSIAEN, S. 2000. El picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus*. *Plagas de Musa*, Hoja Divulgativa 4: 1-4.
- GRIFFIN, C. T.; BOEMARE, N. E.; LEWIS, E. E. 2005. Biology and Behaviour, pp. 47-64. En: Grewal, P. S.; Ehlers, R. U. Capítulo 2 Nematodes as biocontrol agents. Shapiro-Ilan, D.I. Eds. CABI Publishing, Oxfordshire. U. K.
- KAYA, H. K.; KOPPENHÖFER, A. 1996. Effects of microbial and other antagonistic organism and competition in entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology* 6: 357-371.

- KAYA, H.; STOCK, S. 1997. Techniques in insect nematology, pp. 281-324. En: Lacey, L. A. (ed.). Manual of techniques in insect pathology. Biological techniques. Academic Press, Inc. San Diego. Chap. 6.
- KAYA, H. K.; AGUILERA, M. M.; ALUMAI, A.; CHOO, H. Y.; TORRE, M. de la; FODOR, A.; GANGULY, S.; HAZIR, S.; LAKATOS, T.; PYE, A.; WILSON, M.; YAMANAKA, S.; YANG, H.; EHLERS, R-U. 2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. *Biological Control* 38: 134-155.
- LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; GOULART, R. M.; TAVARES F. M.; BATISTA FILHO, 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 (5): 785-790.
- LÓPEZ-NUÑEZ, J. C.; CANO, L.; GÓNGORA, C.; STOCK, P. 2007. Diversity and evolutionary relationships of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from the Central Andean region of Colombia. *Nematology* 9 (3): 333-341.
- MERCHÁN, V. M. 1998. Manejo de problemas fitosanitarios del cultivo del plátano en la zona central cafetera, pp. 177-191. En: Giraldo, M. J.; Belalcazar, S. I.; Cayón, D.; Botero, R. G. (eds.). Memorias seminario internacional sobre producción de plátano. Armenia, Quindío. CORPOICA Eje Cafetero, Universidad del Quindío. 313 p.
- NARDON, P.; LOUIS, C.; NICOLAS, G.; KERMARREC, A. 1985. Mise en évidence et étude des bactéries symbiotiques chez deux charançons parasites du bananier: *Cosmopolites sordidus*, *Metamasius hemipterus* (L.) (Col. Curculionidae). *Annales de la Société Entomologique de France* 21: 245-258.
- RAMOS-RODRÍGUEZ, O.; CAMPBELL, J. F.; RAMASWAMY, S. B. 2006. Pathogenicity of three species of entomopathogenic nematodes to some major stored-product insect pests. *Journal of Stored Products Research* 42: 241-252.
- RENN, N. 1998. Routes of penetration of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* attacking larval and adult houseflies (*Musca domestica*). *Journal of Invertebrate Pathology* 72: 281-287.
- ROSALES, L. C.; SUÁREZ, Z. 1998. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín Entomología Venezolana* 13 (2): 123-140.
- SÁENZ, A. 2001. Los nematodos entomopatógenos: actualidad y perspectivas. Seminario regional en control biológico. Memorias primer seminario regional en control biológico. Santa Rosa de Cabal: Corporación Universitaria Santa Rosa de Cabal.
- TREVERROW, L. N.; BEDDING, R. 1993. Development of a system for the control of the banana weevil borer, *Cosmopolites sordidus* with entomopathogenic nematodes, pp. 41-47. En: Bedding, R.; Akhurst, R.; Kaya, H. K. (eds.). Nematodes and the biological control of pest. Melbourne Australia.
- WANG, Y.; GAUGLER, H. 1998. Host and penetration site location by entomopathogenic nematodes against Japanese beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 72: 313-318.
- WHITE, G. F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science* 66: 302-303.
- WOUTS, W. M. 1991. *Steinernema* (*Neoaplectana*) and *Heterorhabditis* species, pp. 855-897. In: Nickle, W. R. (ed.). Manual of agricultural nematology. New York: Marcel Dekker.

Recibido: 15-dic-2003 • Aceptado: 13-abr-2008

Control de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) mediante su feromona para la interrupción del apareamiento

Control of *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) through its pheromone for mating disruption

FELIPE BOSA O.¹, PABLO OSORIO M.², ALBA MARINA COTES P.³, MARIE BENGTSSON⁴,
PETER WITZGALL⁵, TAKEHIKO FUKUMOTO⁶

Resumen: El objetivo del trabajo fue evaluar la técnica de control de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) por medio de la interrupción del apareamiento para su posible factibilidad en el cultivo de la papa. En un túnel de viento una mezcla antagonista de la feromona constituida por E3-12Ac, Z3-12Ac y 12Ac en la proporción 100:50:100, respectivamente (70 mg por dispensador) produjo una inhibición total en la atracción de machos hacia la feromona liberada por las hembras, en comparación con hembras liberando la feromona (69% de atracción). En campo esta mezcla a 10 ng/trampa inhibió significativamente la captura con dos machos/trampa, a diferencia de trampas control conteniendo E3-12Ac y Z3-12Ac (100:1 respectivamente) capturándose 50 machos/trampa. En 3 ha tratadas con la mezcla antagonista en dispensadores colocados en la base de plantas de papa a una densidad de 1.227 dispensadores/ha, (equivalente a 86 g de feromona/ha), se redujo significativamente la captura de machos en trampas para monitoreo en 94%, en 89% en trampas con hembras y la cópula de parejas confinadas se redujo en 67%, en comparación con un área testigo (1 ha sin tratar). Estos resultados indican el potencial de esta técnica para reducir poblaciones de la plaga.

Palabras clave: Papa. Semioquímicos. Túnel de viento.

Abstract: The aim of this study was to evaluate the control of *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) through mating disruption for its possible feasibility in potato crops. In a wind tunnel, an unbalanced blend of the pheromone consisting of E3-12Ac, Z3-12Ac and 12Ac in the proportion 100:50:100, respectively (70 mg per dispenser), produced a total inhibition of male attraction to the pheromone released by females, as compared to females releasing the pheromone (69% attraction). In the field, this blend at 10 ng/trap significantly inhibited capture with two males/trap, whereas control traps containing E3-12Ac y Z3-12Ac (100:1 respectively) captured 50 males/trap. In 3 ha treated with the unbalanced blend in dispensers placed at the base of potato plants at a density of 1,227 dispensers/ha (equivalent to 86 g of pheromone/ha), male attraction was significantly reduced to monitoring traps by 94%, by 89% to traps with females, and mating of confined pairs was reduced by 67%, in comparison with a control area (1 ha untreated). These results indicate the potential of this technique for reducing populations of the pest.

Key words: Potato. Semiochemicals. Wind tunnel.

Introducción

Uno de los insectos plaga más limitantes en la producción y comercialización del cultivo de la papa en países de Centro y Sur América es la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolny, 1973 (Corredor y Flórez 2003). En Colombia este insecto está presente en más del 80% de las zonas productoras de papa de los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Nariño y Antioquia, provocando pérdidas significativas en la cadena de producción con una disminución en los rendimientos anuales superiores al 30% (Arévalo 2003). Los estados larvales se alimentan exclusivamente de los tubérculos, afectando tanto los destinados para semilla en condiciones de almacenamiento como aquellos presentes en el campo (Arévalo 2003). Algunos estudios han demostrado que en campo los adultos pueden congregarse en los bordes de los cultivos, permanecer refugiados en el follaje de las malezas y las hembras copuladas ovipositar en la base de los tallos, en cercanía a la base de las plantas o sobre los tubérculos expuestos en el suelo (Torres 1989).

Para el manejo de esta plaga bajo condiciones de campo, sólo unos pocos insecticidas químicos han sido aprobados por el ICA (Arévalo y Castro 2003). Sin embargo, las aplicaciones frecuentes de estos productos pueden producir riesgos de neurotoxicidad por exposición aguda y crónica, impacto sobre la entomofauna benéfica e invertebrados acuáticos, causar problemas de resistencia del insecto y de contaminación irreversible en suelos por la formación de residuos no extraíbles (Liñan 1997). A diferencia de los insecticidas químicos, el uso de semioquímicos, incluidas las feromonas sexuales, no representa riesgo toxicológico, ambiental o para la salud humana, debido a que estos están clasificados en la categoría toxicológica IV, según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA 2006). Las feromonas son sustancias liberadas al ambiente por las hembras de una especie en cantidades mínimas, debido a su alta especificidad sólo afectan el comportamiento sexual de los individuos de la misma especie (Haynes y Baker 1988). Una feromona está constituida por varios compuestos llamados primarios y secundarios

¹ Autor para correspondencia. Investigador, M. Sc. en Ecología química, CORPOICA, A.A 240142 Las Palmas Parque Central Bavaria Bogotá. carlosfelipeb@yahoo.es.

² Investigador, Ingeniero Agrónomo, CORPOICA, A.A 240142 Las Palmas Parque Central Bavaria Bogotá. posorio@yahoo.com.

³ Investigadora, Ph. D. en Fitopatología, CORPOICA, A.A 240142 Las Palmas Parque Central Bavaria Bogotá. cotesprado@yahoo.com.

⁴ Profesora, Ph. D. en Química, Universidad Agrícola de Suecia (SLU), Box SE 44 230-53 Alnarp Sweden. marie.bengtsson@vv.slu.se.

⁵ Profesor e investigador, Ph. D. en Ecología, Universidad Agrícola de Suecia (SLU). Box SE 44 230-53 Alnarp Sweden. peter.witzgall@phero.net.

⁶ Investigador, Shin-Etsu Chemical Co., Nakakubiki-gun, Niigata 942-8601, Japan.

según su proporción, así como también por grupos funcionales como aldehídos, alcoholes, acetatos, cetonas, entre otros (Dekramer y Hemberger 1987). Aportando una mayor complejidad, una feromona está constituida por isómeros que son compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero que difieren en su estructura, confiriéndole diferentes propiedades físicas y químicas y clasificándose en isómeros *cis*, *trans*, E y Z (Dekramer y Hemberger 1987).

Para el caso de *T. solanivora* la primera descripción de la feromona fue realizada por Nesbitt *et al.* (1985) quienes identificaron como únicos constituyentes los isómeros E(3)-dodecenil acetato (E3-12Ac) y (Z)3-dodecenil acetato (Z3-12Ac). Posteriormente, Bosa *et al.* (2005a, 2005b) identificaron un tercer compuesto el dodecil acetato (12Ac), que combinado con los isómeros en la proporción 100:1:20 originó las mayores capturas de machos en trampas a diferencia de utilizar solamente el principal compuesto (E3-12Ac), mezcla seleccionada para la detección y monitoreo de machos en campo (Bosa *et al.* 2006).

Dentro del manejo etológico de *T. solanivora* se han realizado estudios de determinación de umbrales, vigilancia fitosanitaria y seguimiento de las poblaciones de machos de la plaga en campo, aunque esto no implica un control de la misma. Para llevar a cabo un control de las poblaciones de insectos plaga, existe una técnica denominada de la interrupción del apareamiento de adultos, en donde se realizan aplicaciones de altas concentraciones de una feromona sintética o formulada en dispensadores de polietileno colocados en un cultivo, para enmascarar la feromona liberada por las hembras presentes en el área. Por acción de la feromona, los receptores de las antenas así como el sistema nervioso de los machos se bloquean lo cual no pueden localizar a las hembras dispuestas a copular conllevando la interrupción de la cópula con la consecuente reducción o eliminación del daño a la cosecha (Haynes y Baker 1988; Pedigo 1996; Ogawa 1997). Se han reportado resultados significativos de control con la utilización de esta técnica en Lepidópteros de la familia Tortricidae, como en la polilla de guisantes *Cydia nigricana* Fabricius, 1794 (Witzgall *et al.* 1996a), la polilla del manzano *Cydia pomonella* Linnaeus, 1758 (Bäckman 1999; Witzgall *et al.* 1999), en el barrenador de la hoja del manzano *Bonagota cranaodes* Meyrick, 1986 (Coracini *et al.* 2002). De otra parte, se ha comprobado que la utilización prolongada y continua de dispensadores formulados con feromonas, reduce progresivamente a través de los años el daño en los cultivos (Ioriatti *et al.* 2004). Es el caso de los estudios realizados por Downham *et al.* (2001) donde para el control de *Cylas puncticollis* (Boheman) y *C. brunneus* (Fabricius) (Coleoptera: Apionidae), se obtuvieron porcentajes de infestación bajos en cultivos de remolacha tratados con la feromona durante tres años consecutivos.

Existen estudios que han dado origen a productos biológicos registrados con base de feromonas para el control de diversos insectos plaga con resultados satisfactorios (Biosignal 2006; EPA 2006; IOBC Working Group 2006). Sin embargo para el caso de *T. solanivora* tanto a nivel nacional como internacional no existen aún desarrollos tecnológicos o productos comerciales con base en su feromona, que puedan ser utilizados en el sistema de producción de papa para el control de adultos de la plaga; por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar una mezcla de la feromona diferente de la de monitoreo de machos, para producir la interrupción del apareamiento en adultos de la plaga en campo.

Materiales y Métodos

Los estudios se realizaron durante el 2005 y 2006 en el Laboratorio de Control Biológico y en cultivos de papa ubicados en el Centro de Investigación Tibaitatá - CORPOICA (Colombia), así mismo en los Laboratorios de Ecología Química de la Universidad Agrícola de Suecia (SLU).

Evaluación de los isómeros E y Z en campo. Se evaluó en campo el efecto que ocasionan mezclas de los isómeros geométricos de la feromona (E)-3-dodecenil acetato (E3-12Ac) y (Z)-3-dodecenil acetato (Z3-12Ac) en la captura de machos. Para evaluar el umbral de comportamiento de machos de *T. solanivora*, se utilizaron las dosis de 10 y 1000 microgramos (μ g), en las cuales se adicionó el principal compuesto de la feromona (E3-12Ac) sólo y combinado con el Z-isómero (Z3-12Ac) adicionado al 1% y al 50% en las dosis mencionadas, respectivamente. Como tratamiento de referencia se evaluaron los compuestos E3-12Ac y Z3-12Ac en la proporción (100:1), es decir a la dosis de 10:0,1 y 1000:10 microgramos (μ g) respectivamente, proporción que fue seleccionada previamente para el monitoreo de machos en trampas (Bosa *et al.* 2005b).

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con diez repeticiones por tratamiento. La unidad de muestreo consistió en una trampa delta pegante con un caucho rojo de polietileno tipo farmacéutico en su interior formulado con la mezcla de la feromona respectiva (PheroNet, Sweden). La distancia de cada trampa entre tratamientos fue de 15 metros y de 30 metros entre bloques, en un área de 2 ha ubicada en el C.I. Tibaitatá, la cual contenía residuos de cosechas de papa anteriores y estaba infestada con la polilla. Las lecturas de los machos capturados en trampas se realizaron una vez por semana durante dos meses. Los resultados se transformaron a $\log(x + 1)$, se sometieron a una ANOVA y a una prueba de comparación de promedios de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

Evaluación de los isómeros E y Z en túnel de viento. Con el propósito de evaluar el comportamiento de vuelo de los machos de *T. solanivora* frente a la mezcla de los isómeros de la feromona E3-12Ac y Z3-12Ac en la proporción (100:50) formulada en dispensadores, se realizaron ensayos en un túnel de viento de 63 x 90 x 200 cm de acuerdo con Witzgall *et al.* (2001). Se evaluó la respuesta del vuelo de machos de *T. solanivora* frente a esta mezcla de la feromona. En la parte anterior del túnel de viento, una corriente de aire de 30 cm por segundo conducida previamente a través de cilindros de carbón activado, permitió la dispersión de la pluma de la feromona. En la parte anterior del túnel se liberó un macho de dos días de edad cada vez. Se evaluó la trayectoria de vuelo durante dos minutos de cada uno, registrándose la respuesta desde el punto de liberación hasta el alcance de la fuente emisora de la feromona. Los ensayos se realizaron cinco minutos después de iniciado el período de luz, debido a que en éste comienza la actividad sexual y vuelo de los machos. Para el análisis de la trayectoria de vuelo se consideraron las siguientes etapas del comportamiento de cada macho: actividad inicial, vuelo desde el sitio de liberación, trayectoria de vuelo hasta 50, 100 y 150 cm tomados a partir del punto de liberación, aterrizaje en la fuente emisora de la feromona, cortejo e intento de cópula con la fuente de la feromona. Para los ensayos biológicos, se utilizó una temperatura entre 16°C a 19°C y una intensidad lumínica de 12 lux.

Cada repetición estuvo constituida por veinte machos con cuatro repeticiones por tratamiento realizadas en días diferentes ($n = 80$ individuos por tratamiento). Los tratamientos colocados al inicio del túnel de viento a una altura de 30 cm sobre el suelo fueron: **1.** diez hembras vírgenes de dos días de edad que liberaban la feromona durante el inicio del período de luz (testigo), donde cada una fue confinada en un tubo de vidrio con muselina presente en cada abertura y colocadas en posición horizontal con respecto al suelo del túnel (para cada repetición se utilizaron diez nuevas hembras). **2.** Un tubo de polietileno de 20 cm de largo (dispensador) formulado con los isómeros de la feromona E3-12Ac y Z3-12Ac en la proporción 100:50 respectivamente (previamente evaluada en campo), a razón de 70 mg por dispensador. **3.** La combinación del dispensador con la mezcla mencionada y diez hembras vírgenes que liberaban la feromona. Para este caso, el dispensador y el grupo de hembras como fuentes emisoras de feromona fueron distanciadas 20 cm una de la otra. Los resultados de la respuesta y trayectoria de vuelo de machos frente a los diferentes tratamientos, se transformaron a $\log(x + 1)$, se sometieron a una ANOVA y a una prueba de comparación de promedios de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

Eficacia de la interrupción de la cópula en campo. Para evaluar la interrupción de la cópula se seleccionó aquella mezcla inhibitoria y la proporción de los isómeros de la feromona (E3-12Ac) y (Z3-12Ac) que ocasionó una inhibición en la captura de machos en trampas en campo, lo cual indicaría posiblemente una inhibición del comportamiento de vuelo y atracción de machos debido a esta mezcla antagónica como método de control. Debido al bajo costo de producción y facilidad industrial de síntesis, a esta mezcla se le adicionó el compuesto secundario saturado dodecil acetato (12Ac) que también constituye la feromona de este insecto. Estos tres compuestos se formularon en tubos rojos de polietileno de 20 cm de largo en la proporción de 100:50:100 o lo mismo que decir (1: 0,5: 1), respectivamente a razón de 70 miligramos de esta mezcla por dispensador. Estos dispensadores que liberaban constantemente la feromona con un 99% de pureza, fueron diseñados y producidos por la empresa Japonesa Shin-Etsu. Estudios previos conducidos por Bosa *et al.* (2006), determinaron que el incremento en la proporción del compuesto secundario 12Ac no afectó el comportamiento de respuesta de vuelo de machos del insecto, por lo cual éste fue adicionado a la mezcla en los dispensadores.

Las pruebas de campo se llevaron a cabo durante el primer semestre de 2006 en el municipio de Mosquera (Centro de Investigación Tibaitatá CORPOICA) $4^{\circ}41'40''N$ y $74^{\circ}12'08''W$, con una altitud de 2.543 msnm. Se utilizaron tres hectáreas cultivadas con papa pastusa *Solanum tuberosum* L. variedad andígena. Durante el período previo a la floración del cultivo (15 días antes), cada dispensador con la feromona se colocó en la base de cada planta de papa manteniéndose una distancia de 2,5 m entre dispensador; obteniéndose una densidad de 1.200 dispensadores por ha y una dosis de aplicación de 86 g de ingrediente activo por ha (Fig. 1A). Por otra parte, se utilizó como testigo una hectárea de papa ubicada a 500 m del área tratada, en la cual no se colocaron los dispensadores con la feromona.

Las variables de evaluación de la eficacia de esta técnica para la interrupción del apareamiento fueron:

1) El número de machos capturados en trampas de monitoreo. Cada trampa contenía un caucho de goma impreg-

nado con la mezcla seleccionada para el monitoreo de machos, constituida por los compuestos (E3-12Ac), (Z3-12Ac) y (12Ac) en la proporción 100:1:20, respectivamente, a la dosis de 1000 microgramos (μg) por caucho (Bosa *et al.* 2005b). La pureza química de los isómeros de los compuestos sintéticos fue del 99,6% (Pherobank, Wageningen, Holanda). Cada trampa fue colocada a 40 cm del suelo mediante una estaca de madera y distanciada 30 m una de la otra formando una cuadrícula ($n = 41$ trampas en el área tratada, $n = 10$ en el área control) (Figs. 1B, 1C). Las lecturas se realizaron una vez por semana hasta la época de cosecha en ambas áreas. Los resultados se sometieron a una prueba de Fisher (Instat 3, GraphPad Software Inc, San Diego, CA).

2) El número de machos capturados en trampas cebadas con hembras vírgenes de *T. solanivora*. Diez hembras vírgenes de un día de edad procedentes de una cría mantenida en el Laboratorio de Entomología se confinaron en un recipiente cilíndrico transparente de 20 cm de largo x 5 cm de diámetro, el cual se colocó en el interior de un recipiente plástico de 10 cm de diámetro y 23 cm de largo, en cuyo fondo se adicionó agua jabonosa suficiente para retener los machos atraídos por la feromona liberada (Fig. 1D). Las hembras y el agua jabonosa se reemplazaron cada cuatro días. Se colocaron cinco trampas de este tipo dentro de cada área de papa manteniéndose una distancia de 30 m entre cada trampa y cada semana se reemplazaron por nuevas ($n = 5$). Las lecturas de machos capturados se realizaron una vez por semana durante dos meses hasta el período de cosecha. Los resultados se sometieron a una prueba de Fisher (Instat 3, GraphPad Software Inc, San Diego, CA).

3) Para determinar el efecto del tratamiento de la feromona en parejas de *T. solanivora*, se estimó el porcentaje de cópulas de parejas confinadas en jaulas de malla ubicadas en el área tratada y control. Pupas provenientes de una cría en laboratorio se separaron y agruparon por sexo en cajas plásticas. Una vez emergidos los adultos vírgenes, una pareja de *T. solanivora* se ubicó en una jaula de malla de 100 x 43 x 43 cm. Para su alimentación dentro de la jaula se colocó algodón impregnado con una solución de miel al 10% colocado en dos viales plásticos de 1,5 mL. Se colocaron cinco jaulas con parejas de la polilla distanciadas cada 15 m a lo largo de cada una de las áreas de papa tratada y no tratada, las parejas se renovaron con nuevas parejas cada semana. Después de cuatro días, se evaluó el estatus de cópula de las parejas confinadas en jaulas mediante la disección de cada hembra para evidenciar o no la presencia del espermatóforo del macho por *bursa copulatrix* como indicativo de apareamiento. Esta prueba tuvo una duración de dos meses hasta la época de cosecha de la papa, comprendiendo un total de 30 repeticiones por área cultivada. Los resultados se sometieron a una prueba de Chi-cuadrado (X^2) con un nivel de significancia de 0,05.

4) Observaciones de la actividad de adultos en el área tratada y no tratada con la feromona. Durante el tratamiento con la feromona, antes y durante la salida del sol se realizaron observaciones diarias para evidenciar algún tipo de comportamiento sexual de los machos presentes de manera natural en ambas áreas. De igual manera, durante este tiempo se realizaron observaciones de los machos atraídos y capturados en las trampas cebadas con la feromona sintética para monitoreo, en las trampas cebadas con los dispensadores de la feromona y en las trampas cebadas con las hembras vírgenes colocadas en ambas áreas cultivadas. Los resultados de capturas fueron analizados mediante una prueba de Fisher con un nivel de

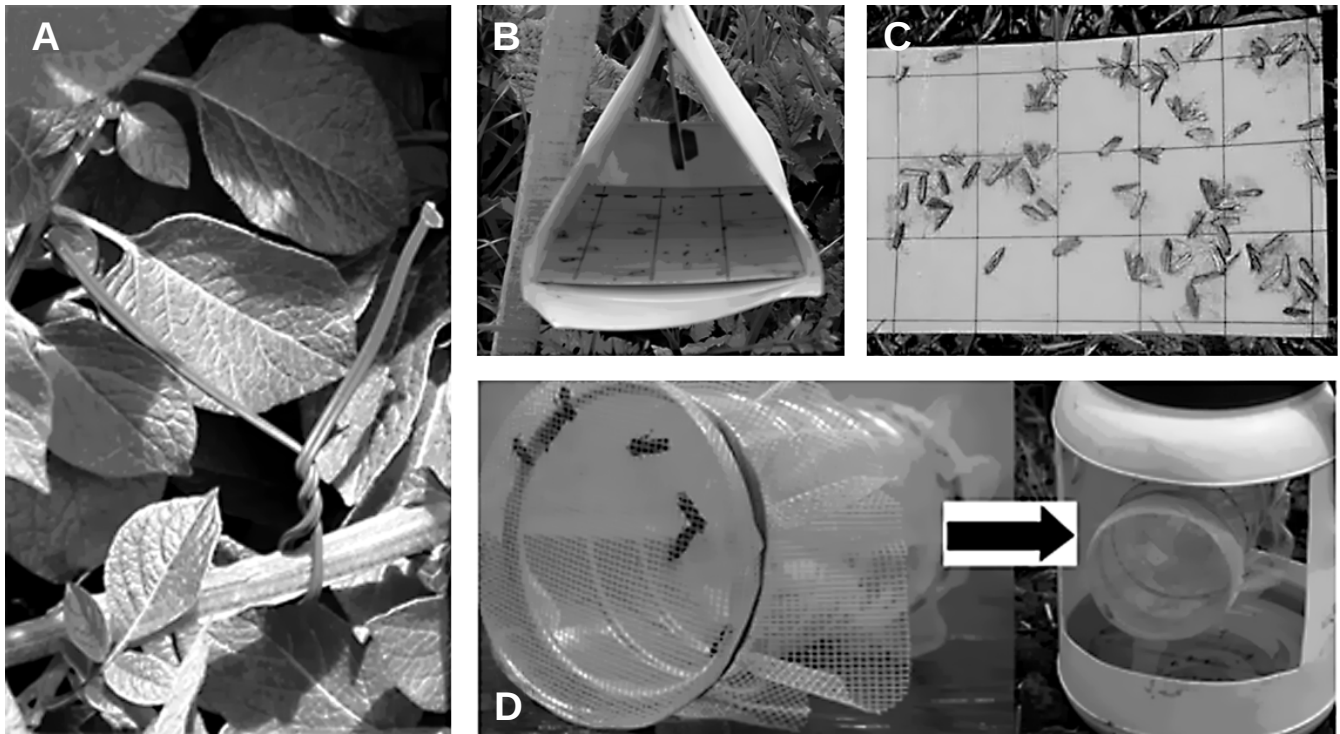


Figura 1. A) Tubo dispensador de polietileno de 20 cm de largo formulado con la mezcla antagonista de la feromona (E3-12Ac, Z3-12Ac y 12Ac). B) Trampa delta de cartón cebada con un caucho tipo farmacéutico impregnado con la mezcla de monitoreo de machos. C) Machos capturados en papel pegante. D) Trampa cebada con diez hembras vírgenes de *T. solanivora* para la captura de machos y a la derecha detalle de su ubicación.

significancia de 0,05. De otra parte, se realizaron observaciones al follaje y al suelo para evidenciar algún tipo de comportamiento del insecto durante este período. Así mismo, se realizaron observaciones adicionales entre las 20:00 y las 3:00 de la madrugada para evidenciar si existía algún tipo de comportamiento de los adultos en el campo durante esas horas.

5) Evaluación del daño en tubérculos ocasionado por *T. solanivora*. Antes de la cosecha de papa en ambas áreas cultivadas, se llevaron a cabo muestreos destructivos de los tubérculos producidos por las plantas. En cada caso, cada muestra consistió en la recolección de todos los tubérculos producidos por tres plantas de papa cercanas a una trampa cebada con la feromona sintética. Para las tres hectáreas, se recolectaron 45 muestras distribuidas en toda el área cultivada y 30 muestras para el sitio de una hectárea (testigo). Con base en las muestras recolectadas se estimó también el rendimiento teórico por hectárea de cada una de las áreas de papa. Los resultados se analizaron mediante una ANOVA y una prueba de comparación de medias de Tukey con un alfa de 0,05.

Resultados y Discusión

Evaluación de los isómeros E y Z de la feromona en campo. La feromona de *T. solanivora* está constituida normalmente por el principal compuesto E3-12Ac y su isómero el Z3-12Ac producidos en la glándula de la feromona en la proporción 100:2, respectivamente (Bosa *et al.* 2005a). Sin embargo, cuando al E3-12Ac se le adicionó el isómero Z en la proporción (100:50, respectivamente), se originó un efecto antagonista en la captura de machos obteniéndose capturas menores promedio de 2 y 0,3 machos por trampa, tanto a la concentración de 10 microgramos (μg) como de 1.000 microgramos (μg) respectivamente (Tabla 1). Esto fue posiblemente debido al in-

cremento en la proporción del isómero Z que ocasionó la confusión de los machos o la repelencia de estos hacia esta mezcla. En contraste, con el principal compuesto (E3-12Ac) a la dosis de 10 (μg) evaluado en forma individual o combinada con el Z3-12Ac en la proporción similar a la de las hembras, se presentaron capturas significativamente mayores con 31 y 50 machos por trampa, respectivamente (Tabla 1).

Se demostró que el isómero (Z3-12Ac) adicionado al 50% al E3-12Ac, originó un efecto inhibitorio significativo en la atracción y captura de machos de *T. solanivora* en trampas. Esto posiblemente indicaría que esta proporción específica de estos dos compuestos puede tener un potencial como mezcla antagonista para su utilización en el control de la plaga.

Evaluación de los isómeros E y Z de la feromona en túnel de viento. En túnel de viento al evaluar el efecto de esta mezcla antagonista, se observó que un 41% de los machos presentó movimiento inicial y tan sólo un 34% de estos realizó un vuelo preliminar pero no continuaron con la trayectoria (Tabla 2). Estos resultados no fueron diferentes de los obtenidos cuando se combinó un dispensador con esta mezcla y diez hembras vírgenes que liberaban la feromona; donde un 43% de los machos presentó vuelo inicial pero no pudieron continuar con la trayectoria de vuelo (Tabla 2).

Estos resultados difieren de los obtenidos en el testigo correspondiente a diez hembras vírgenes, donde se obtuvieron las respuestas de vuelo de machos más significativas; allí, un 85% de los machos presentó actividad inicial y el 69% alcanzó satisfactoriamente a las hembras (Tabla 2). Esto indica que la mezcla en el dispensador en la proporción 100:50 de los compuestos E3-12Ac y Z3-12Ac respectivamente, inhibió significativamente la atracción y respuesta de vuelo de los machos, posiblemente debido a la adición del isómero Z3-12Ac

al 50% y a la concentración de la mezcla en el dispensador a razón de 70 mg, lo que originó el enmascaramiento de la feromona liberada por las hembras.

Estos resultados confirmaron lo evidenciado en campo, donde la proporción antagónica (100:50) del E3-12Ac y Z3-12Ac, respectivamente inhibió la captura de los machos en trampas. A diferencia de lo observado con *T. solanivora*, para otros estudios desarrollados con Lepidópteros de la familia Tortricidae tales como *Grapholita molesta* (Busck, 1916), *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758), *Choristoneura rosaceana* (Harris, 1841) y *Argyrotaenia velutiana* (Walker), donde los machos de estas especies si fueron atraídos hacia tubos dispensadores formulados con la feromona de cada especie a las dosis de 205 a 274 mg de ingrediente activo (Stelinski *et al.* 2004a, b). A la luz de estos resultados, el mecanismo de interrupción de la comunicación sexual en *T. solanivora*, se basa en el camuflaje de la feromona liberada por las hembras, mecanismo posiblemente asociado también a la saturación neurosensorial de las antenas de los machos por la concentración de la feromona en los dispensadores (Minks y Cardé 1988; Sanders 1996).

Eficacia de la interrupción de la cópula de *T. solanivora* en campo. Se observó que las capturas de machos desde la siembra hasta los 120 días fueron muy similares no presentándose diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, obteniéndose un mínimo de siete y cinco machos capturados en estas áreas respectivamente y un máximo de 66 y 100 machos por trampa, respectivamente. Luego, cuando se aplicó el tratamiento con los dispensadores con la mezcla antagónica en el área de 3 ha (15 días antes de floración), se observó que

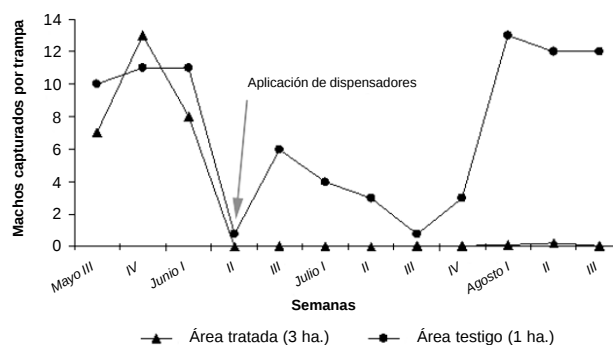


Figura 2. Capturas de machos de *Tecia solanivora* en trampas con la feromona sintética en el área de 3 ha. y en el área testigo de 1 ha. Mezcla E3-12Ac, Z3-12Ac y 12Ac (100:1:20) respectivamente, dosis de 1.000 µg por caucho por trampa.

las capturas fueron afectadas significativamente; no hubo capturas con respecto al promedio de 0,75 machos por trampa en el área testigo (Fig. 2).

Desde el establecimiento de los dispensadores y durante dos meses en el área de 3 ha se redujo casi a cero las capturas de machos en trampas en comparación con el testigo debido a la densidad y a la tasa de liberación obtenida (1.227 dispensadores/ha y 86 g de ingrediente activo/ha). Los resultados concuerdan con los de otros autores como Schroeder *et al.* (2000) quienes encontraron diferencias en el número de machos capturados de la polilla dorso de diamante *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) en cul-

Tabla 1. Captura de machos de *Tecia solanivora* en trampas cebadas con mezclas isoméricas de E3-12Ac en cultivos de papa (Mosquera, Colombia).

Compuestos	Dosis (µg)					
E3-12Ac	10	10	10	1000	1000	1000
Z3-12Ac		0,1	5		10	500
Machos por trampa	31 a ¹	50 a ¹	2 c ¹	9 b ²	13 b ²	0,3 c ²

Valores que comparten letras semejantes no presentan diferencias significativas según prueba de Tukey, n = 10 trampas. ¹(P < 0,05; F = 75,52; g.l. = 2,27; P < 0,0001). ²(P < 0,05; F = 101,17; g.l. = 2,27; P < 0,0001).

Tabla 2. Comportamiento de machos de *T. solanivora* frente a: hembras liberando feromona naturalmente, un dispensador con la mezcla sintética 100:50:100 de E3-12Ac, Z3-12Ac y 12Ac respectivamente (70 mg/dispensador) y la combinación de ambos en un túnel de viento.

Comportamiento	Respuesta de vuelo de machos (%)		
	Dispensador	Dispensador más hembras	Hembras
¹ Actividad inicial en punto de liberación	41 b	49 b	85 a
² Vuelo inicial	34 b	43 b	83 a
Vuelo hasta 100 cm	0	0	76
Aterrizaje en fuente a 180 cm	0	0	69
Movimiento e intento de cópula sobre la fuente	0	0	64

Valores dentro de una misma fila seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes, P < 0,05 (Anova, seguida de test de Tukey) (n = 4 grupos de 20 machos vírgenes cada uno). ¹Actividad inicial (F = 10,4; g.l. = 2,9; P = 0,004). ²Vuelo inicial (F = 13,0; g.l. = 2,9; P = 0,0022).

tivos de repollo tratados con dispensadores, en comparación con un mayor número de capturas en trampas de áreas no tratadas.

En este trabajo, los resultados indican que la aplicación de esta dosis de la feromona fue suficiente para producir la confusión de los machos. Esto es una ventaja competitiva en términos de reducción de costos cuando a futuro se aplique esta técnica en cultivos de papa, ya que para otros insectos plaga se ha reportado la utilización de dosis mayores de una feromona para producir un control; por ejemplo para *C. pomonella* en manzano y durazno, se utilizan dosis mayores de feromona y se aplican 1.000 dispensadores/ha, obteniéndose una tasa de liberación entre 150 y 200 g de i.a/ha, lo cual incrementa los costos para el control de esta plaga (Witzgall *et al.* 1999).

Al cabo de los dos meses de exposición de los dispensadores en el área, se observó un ligero incremento en las capturas de machos por trampa, coincidiendo con la época de cosecha del cultivo (Fig. 2). Este incremento en las capturas pudo obedecer a una disminución de la concentración de la feromona por dispensador, debido posiblemente al efecto de las temperaturas registradas durante el mes de agosto que oscilaron entre 20°C y 21°C.

La técnica de interrupción del apareamiento, ha sido utilizada para el control de otras polillas de la familia Gelechiidae, subfamilia Gelechiinae a la cual pertenece *T. solanivora*; entre estas plagas están el gusano alfiler del tomate *Keiferia lycopersicella* (Walshingham, 1946) (Jenkins *et al.* 1990; Trumble 1996) y el gusano rosado del algodón *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1843) con el cual esta técnica fue utilizada por primera vez, extendiéndose su uso y comercialización durante la década de los 80 y 90 (Staten *et al.* 1996).

En cuanto a las capturas de machos en trampas cebadas con hembras de *T. solanivora* se observó también una reducción en el área tratada, a diferencia de las mayores capturas obtenidas en el área testigo; sin embargo, en el área tratada unos pocos machos fueron capaces de localizar a las hembras confinadas en estas trampas (Fig. 3). La desorientación sexual de los machos por localizar a las hembras confinadas en las trampas fue posiblemente debido a la adición del compuesto isomérico Z3-12Ac adicionado al 50% en los dispensadores, mezcla que produjo también un fuerte efecto inhibitorio en la orientación y atracción de los machos de *T. solanivora* en el túnel de viento (Tabla 2). En campo esta mezcla inhibitoria posiblemente enmascaró la feromona liberada por las hembras confinadas en las trampas. Sin embargo, al cabo de dos meses también se observó un ligero incremento en las capturas de machos en el área tratada con los dispensadores (Fig. 3) con tres machos por trampa en comparación con 56 machos en el área testigo. Estos resultados proponen la hipótesis de que debido a esta mezcla antagónica en los dispensadores, se pudo producir una reducción de los encuentros nupciales y el apareamiento de los machos con las hembras presentes en el área tratada. Esto fue comprobado en la prueba del estatus de apareamiento de las parejas confinadas en jaulas, donde un 23% de las parejas copularon en el área tratada a diferencia de un 70% de cópulas exitosas en el área testigo sin tratar, siendo la inhibición del apareamiento de las parejas de adultos en el área tratada del 67% ($n = 30$ parejas por área, una pareja por jaula, g.l. = 1; $P < 0,001$). Los resultados indicaron que a pesar de observarse un efecto positivo en la inhibición de la cópula de los adultos confinados, un 33% de las parejas copularon en el área tratada lo cual podría indicar que a cortas distancias la comunicación y orientación de los machos hacia las hembras

receptivas a copular, no fue totalmente interrumpida por el tratamiento con la mezcla en dispensadores. Es necesario entonces realizar estudios para esclarecer qué capacidad de migración y vuelo tienen las hembras de *T. solanivora* en campo, además de recomendar el uso de tubos dispensadores de larga duración que garanticen una prolongada liberación de la feromona.

En el área no tratada se evidenció que el período de actividad sexual de los machos estuvo comprendido entre las 5:00 y las 6:15 a.m. que corresponde con la salida del sol, ya que en este período se observó el vuelo de machos, su llegada y captura en las trampas de monitoreo cebadas con la feromona y cebadas con las hembras vírgenes; fuera de este tiempo no se observó ningún tipo de actividad o comportamiento de los machos. De otra parte, se observó muy escasa actividad de machos en vuelo y capturas en el área tratada con los dispensadores a diferencia de la obtenida en el área no tratada (Tabla 3). Se desconoce si en el área tratada, los machos permanecieron inactivos o si estos fueron repelidos fuera del área por acción de la feromona en dispensadores. Se ha demostrado que mezclas de feromonas incompletas en cuanto a sus compuestos constituyentes o desbalanceadas en cuanto a las proporciones de los compuestos, han sido efectivas en experimentos de interrupción de la cópula para el control de varios lepidópteros (Johnson *et al.* 1991; Charmillot y Pasquier 1992; Bengtsson *et al.* 1994; Deland *et al.* 1994; Suckling y Burnip 1996).

No se evidenció atracción de los machos hacia las trampas cebadas con dispensadores en ambas áreas de papa (Tabla 3). Esto confirma lo observado en las pruebas bajo condiciones de túnel de viento, donde la mezcla antagónica fue suficiente para inhibir la respuesta de vuelo de los machos (Tabla 2). Se ha reportado que el comportamiento sexual de machos puede variar de una especie a otra; autores como Witzgall *et al.* (1996b) observaron respuestas de atracción y vuelo de machos de *C. pomonella* hacia dispensadores que contenían la feromona codlemone (E8, E10-12OH) tanto en túnel de viento como campo.

Para *T. solanivora* se desconoce aún la capacidad de migración y vuelo que pueden tener las hembras, lo cual es necesario explorar a futuro para conocer mejor el comportamiento de la plaga en campo. Al estimarse el porcentaje de tubérculos con daño por la plaga durante los muestreos a la cosecha, se encontró un 9% de tubérculos afectados en el área tratada con los dispensadores, en comparación con un 19% en el área tes-

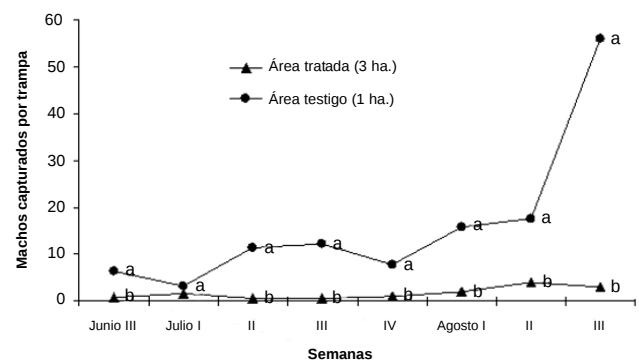


Figura 3. Machos capturados en trampas cebadas con hembras vírgenes de *Tecia solanivora* confinadas ($n = 5$ trampas por área por semana). Valores dentro de una misma semana con diferentes letras presentan diferencias significativas según prueba de Fisher, $P < 0,05$.

Tabla 3. Promedio de machos de *T. solanivora* atraídos hacia las trampas y porcentaje de tubérculos afectados por larvas de *T. solanivora* a cosecha.

Machos capturados por trampa	Trampas cebadas con feromona ¹	Trampas cebadas con hembras ²	Trampas cebadas con dispensadores ³	Tubérculos con daño ⁴ (%)	Rendimiento (kg/ha)
Área tratada (3 ha)	0,51 b	1,10 b	0,09 b	9 b	9.660 a
Área testigo (1 ha)	8,58 a	8,67 a	0,68 a	19 a	7.552 a

Valores dentro de una misma columna con letras diferentes presentan diferencias significativas (α de 0,05). ¹P < 0,0001, ²P < 0,0001, ³P = 0,0210, ⁴P = 0,0149.

tigo, siendo estos valores diferentes. De igual forma, se obtuvieron mayores rendimientos en el área tratada con 9.660 kg por hectárea a diferencia de 7.552 kg/ha en el área testigo (Tabla 3).

La captura de machos en trampas cebadas con hembras, en trampas con la feromona sintética, el estatus de apareamiento de las hembras y la estimación del daño en tubérculos, fueron herramientas fundamentales para evaluar la eficacia de la técnica de interrupción del apareamiento en insectos Lepidópteros como *T. solanivora* como lo describen Baker *et al.* (1997). Para futuros estudios de interrupción, se recomienda colocar los dispensadores de la feromona cuando las plantas tengan una altura aproximada de 15 cm, con el fin de proteger el cultivo del ataque de *T. solanivora* desde los primeros estados fenológicos, ya que la presencia de los tubérculos semilla colocados en la siembra pueden servir como reservorio y fuentes de alimento para mantener las poblaciones de la plaga. Esto se sustenta por las capturas de machos en las trampas de monitoreo desde la siembra hasta la aplicación de los dispensadores (época de floración).

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos por su apoyo financiero al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y a la agencia "Swedish Foundation for International Research and Higher Education (STINT)". Igualmente agradecen a la empresa Japonesa Shin-Etsu por la elaboración y formulación de los tubos dispensadores de la feromona.

Literatura citada

- ARÉVALO, A. 2003. Análisis de la problemática de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae) en Colombia, pp. 129-133. En: Memorias del II taller nacional sobre *Tecia solanivora* "Presente y futuro de la investigación sobre *Tecia solanivora*". CEVIPAPA. Bogotá.
- ARÉVALO, A.; CASTRO, R. 2003. Evaluación post-registro de los insecticidas con licencia de uso para controlar la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae) en Colombia, pp. 86-89. En: Memorias del II taller nacional sobre *Tecia solanivora* "Presente y futuro de la investigación sobre *Tecia solanivora*". CEVIPAPA. Bogotá.
- BÄCKMAN, A. 1999. Olfactory communication in the codling moth, *Cydia pomonella* L. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Crop Science. Agraria 165. ISBN: 91-576-5491-3. Alnarp, Sweden. 33 p.
- BAKER, T.C.; MAFRA-NETO, A.; DITTL, T.; RICE, M. 1997. Novel controlled release device for disrupting sex pheromone communication in moths. IOBC wprs Bulletin 20: 141-149.
- BENGTTSSON, M.; KARG, G.; PHILIPP, P. A.; LÖFQVIST, J.; SAUER, A.; WITZGALL, P. 1994. Mating disruption of pea moth *Cydia nigricana* F. (Lepidoptera: Tortricidae) by a repellent blend of sex pheromone and attraction inhibitors. Journal of Chemical Ecology 20 (4): 871-887.
- BIOSIGNAL. 2006. Pheromones and kairomones for control of pest insects. <http://www.biosignal.org.html>. Fecha último acceso: [15 noviembre 2006].
- BOSA, F.; WITZGALL, P.; BENGTTSSON, M.; COTES, P. 2005a. Caracterización biológica de los compuestos de la feromona sexual de *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). Revista Colombiana de Entomología 31 (2): 139-144.
- BOSA, F.; COTES, A.; FUKUMOTO, T.; BENGTTSSON, M.; WITZGALL, P. 2005b. Pheromone-mediated communication disruption in Guatemalan potato moth *Tecia solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). Entomologia Experimentalis et Applicata 114:137-142.
- BOSA, F.; COTES, A.; OSORIO, P.; FUKUMOTO, T.; BENGTTSSON, M.; WITZGALL, P. 2006. Disruption of pheromone communication in *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae): Flight tunnel and field studies. Journal of Economic Entomology 99 (4): 1245-1250.
- CHARMILLOT, P. J.; PASQUIER, D. 1992. Comparison of three dispensers for mating disruption technique to control the summerfruit tortrix *Adoxophyes orana*. Mitt Schweiz Entomology Ges 65: 107- 113.
- CORACINI, M.; BENGTTSSON, M.; RECKZIEGEL, A.; ALVARO, E.; VILELA, E.; ANDERSON, P.; FRANCKE, W.; LÖFQVIST, J.; WITZGALL, P. 2002. Behavioural effects of minor sex pheromone components in Brazilian apple leafroller *Bonagota cranaodes* (Lepidoptera: Tortricidae), pp. 1-13. En: Coracini, M (ed.). Semiochemicals claim territory - Sex pheromones and plant volatiles for control of codling moth and Brazilian apple leafroller. Doctoral thesis in Chemical ecology, Department of crop science. Swedish University of Agricultural Sciences. Agraria 366. ISSN: 1401-6249, ISBN: 91-576-6193-6. Alnarp, Sweden. 28 p.
- CORREDOR, D.; FLÓREZ, E. 2003. Estudios básicos de la biología y comportamiento de la polilla de la papa en un área piloto en el municipio de Villapinzón, pp. 23-31. En: Memorias del II Taller nacional sobre *Tecia solanivora*. Cevipapa. Bogotá.
- DEKRAMER, J.; HEMBERGER, J. 1987. Pheromone Biochemistry, pp. 433-472. En: Preswich, G. D. (ed). Academic Press Inc. New York. USA. 563 p.
- DELAND, J. P.; JUDD, G. J. R.; ROITBERG, B. D. 1994. Disruption of pheromone communication in three sympatric leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) pests of apple in British Columbia. Environmental Entomology 23: 1084-1090.
- DOWNHAM, M. C. A.; SMIT, N. E. J. M.; LABOKE, P. O.; HALL, D. R.; ODONGO, B. 2001. Reduction of pre-harvest infestations of African sweet potato weevils *Cylas brunneus* and *C. puncticollis* (Coleoptera: Apionidae) using a pheromone mating-disruption technique. Crop Protection 20: 163-166.
- EPA, 2006. 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/.html>. Fecha última revisión: 21 noviembre 2006.
- HAYNES, K.; BAKER, T. 1988. Potential for evolution of resistance to pheromones. *Journal of Chemical Ecology* 14: 1547-1560.
- IOBC WORKING GROUP. 2006. Pheromones and other semiochemicas in integrated production. <http://www.phero.net/iobc/.html>. Fecha última revisión: 3 diciembre 2005. Fecha último acceso: [15 noviembre 2006].
- IORIATTI, C.; BAGNOLI, B.; LUCCHI, A.; VERONELLI, V. 2004. Vine moths control by mating disruption in Italy: results and future prospects. *Redia* 87: 117-128.
- JENKINS, J. W.; DOANE, C. C.; SCHUSTER, D. J.; MCLAUGHLIN, J. R.; JIMENEZ M. J. 1990. Development and commercial application of sex pheromone for control of the tomato pinworm, pp. 269-280. En: Ridgway, R. L.; Silverstein, R. M.; Inscoe, M. N. (eds.). *Behaviour-modifying Chemicals for Insect Management: Applications of Pheromones and other Attractants*. Marcel Dekker. New York. EU. 432 p.
- JOHNSON, D. T.; LEWIS, B.A.; SNOW, J. W. 1991. Control of grape root borer (Lepidoptera: Sesiidae) by mating disruption with two synthetic pheromone compounds. *Environmental Entomology* 20: 930- 934.
- LIÑAN, C. 1997. *Farmacología vegetal*. Ediciones aerotécnicas. S.L. Madrid. 1187 p.
- MINKS, A. K.; CARDE, R. T. 1988. Disruption of pheromone communication in moths: is the natural blend really most efficacious?. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 49: 25-36.
- NESBITT, B.; BEEVOR, P.; CORK, A.; HALL, D.; MURILLO, R.; LEAL, H. 1985. Identification of components of the female sex pheromone of the potato tuber moth, *Scrobipalopsis solanivora*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 38: 81-85.
- OGAWA, K. 1997. The key to success in mating disruption. *IOBC/ WPRS Bulletin* 20 (1): 1-9.
- PEDIGO, L. 1996. *Entomology and pest management*. Academic Press. New York. USA. 987 p.
- SANDERS, C. J. 1996. Mechanisms of Mating Disruption in Moths, pp. 333-347. En: Cardé, R. T.; Minks, A. K. (eds.). *Insect Pheromone Research – New Directions*. Chapman & Hall. London. UK. 684 p.
- SCHROEDER, P.; SHELTON, A.; FERGUSON, C.; HOFFMANN, M.; PETZOLDT, C. 2000. Application of synthetic sex pheromone for management of diamondback moth, *Plutella xylostella*, in cabbage. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 94: 243-248.
- STATEN, RT.; EL-LISSY, O.; ANTILLA, L. 1996. Successful area-wide program to control pink bollworm by mating disruption, pp. 383-396. En: Cardé, R. T.; Minks, A. K. (eds.). *Insect Pheromone Research – New Directions*. Chapman & Hall. London. UK. 684 p.
- STELINSKI, L. L.; GUT, L. J.; PIERZCHALA, A. V.; MILLER, J. R. 2004a. Field observations quantifying attraction of four tortricid moths to high-dosage pheromone dispensers in untreated and pheromone-treated orchards. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 113: 187-196.
- STELINSKI, L. L.; GUT, L. J.; VOGEL, K. J.; MILLER, J. R. 2004b. Behaviours of naive and pheromone pre-exposed leafroller moths in plumes of high-dose pheromone dispensers in a sustained-flight wind tunnel: implications for pheromone-based mating disruption of these species. *Journal of Insect Behaviour* 17: 533-553.
- SUCKLING, D. M.; BURNIP, G. M. 1996. Orientation disruption of *Planotortrix octo* using pheromone or inhibitor blends. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78: 149-158.
- TORRES, F. 1989. Algunos aspectos de la biología y comportamiento de la polilla guatemalteca de la papa *Scrobipalopsis solanivora* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae) en el estado del Táchira Venezuela. Tesis de grado. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. 86 p.
- TRUMBLE, J. T. 1996. Integrating Pheromones Into Vegetable Crop Production, pp. 397-410. En: Cardé, R. T.; Minks, A. K. (eds.). *Insect Pheromone Research – New Directions*. Chapman & Hall. London. UK. 684 p.
- WITZGALL, P.; BÄCKMAN, A.; KARG, G.; BENGTTSSON, M.; STREINZ, L.; KIRSCH, P.; BLUM, Z.; LÖFQVIST, J. 1996a. Behavioral observations and measurements of aerial pheromone in a mating disruption trial against pea moth *Cydia nigricana* F. (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Chemical Ecology* 22 (2): 191-206.
- WITZGALL, P.; BÄCKMAN, A.; SVENSSON, M.; BENGTTSSON, M.; UNELIUS, C.; VIKOC, J.; LÖFQVIST, J. 1996b. Potential of a blend of E8, E10-12OH and E8, E10-12Ac for mating disruption of codling moth, *Cydia pomonella* (L) (Lepidoptera:Tortricidae). *Journal of Applied Entomology* 120: 611-614.
- WITZGALL, P.; BÄCKMAN, A.; SVENSSON, M.; KOCH, U.; RAMA, F.; EL-SAYED, A.; BRAUCHLI, J.; ARN, H.; BENGTTSSON, M.; LÖFQVIST, J. 1999. Behavioral observations of codling moth, *Cydia pomonella*, in orchards permeated with synthetic pheromone. *BioControl* 44: 211-237.
- WITZGALL, P.; BENGTTSSON, M.; RAUSCHER, S.; LIBLIKAS, I.; BACKMAN, A-C.; CORACINI, M.; ANDERSON, P.; LOFQVIST, J. 2001. Identification of further sex pheromone synergists in the codling moth, *Cydia pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 101: 131-141.

Recibido: 16-ene-2007 • Aceptado: 2-abr-2008

Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Anonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)

Insecticidal activity of *Annona muricata* (Anonaceae) seed extracts on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)

CARLOS AUGUSTO HINCAPIÉ LLANOS¹, DAVID LOPERA ARANGO², MARILUZ CEBALLOS GIRALDO³

Resumen: El gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* es una plaga muy importante a nivel mundial que causa grandes daños a granos almacenados ocasionando elevadas pérdidas económicas. En este estudio se evaluó el efecto insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* L. (guanábana). Los extractos fueron obtenidos con hexano (apolar), acetato de etilo (medianamente polar) y etanol (polar), y estos fueron aplicados sobre adultos de *S. zeamais*, por medio de ingestión y aplicación topical. También se evaluó la emergencia de nuevos adultos en semillas de maíz tratadas con los extractos. La CL₅₀ (concentración letal media) obtenida en los bioensayos de ingestión para el extracto hexánico fue de 4.009, 3.854 y 3.760 ppm a las 24, 48 y 72 horas respectivamente. Para el extracto obtenido con acetato de etilo fue de 3.280, 2.667 y 2.542 ppm en los mismos tiempos. La CL₅₀ del extracto hexánico en aplicación topical fue de 9.368 ppm a las 72 horas. Los demás extractos en ambos bioensayos presentaron muy poca actividad. La emergencia se inhibió en 100% a partir de las concentraciones de 2.500 ppm para los extractos obtenidos con acetato de etilo y hexano y de 5.000 ppm para los obtenidos con alcohol etílico. El efecto insecticida de los extractos etanólicos es discutido dada su baja efectividad. Los extractos son más efectivos por ingestión que por contacto. El efecto insecticida es causado probablemente por la presencia de acetogeninas en las fracciones menos polares de la semilla de *A. muricata*.

Palabras clave: Guanábana. Gorgojo del maíz. Efecto Insecticida. Extractos de plantas.

Abstract: The corn weevil *Sitophilus zeamais* is a very significant pest worldwide that causes severe damage to stored grains resulting in high economic losses. In the present study, the insecticidal effect of *Annona muricata* (sour sop) seed extracts was evaluated. The extracts were obtained using hexane (non polar), ethyl acetate (half polar) and ethanol (polar), and these were applied to *S. zeamais* adults using ingestion and topical application. The emergence of new adults in corn seeds treated with the extracts was also evaluated. The LC₅₀ (median lethal concentration) obtained in the ingestion bioassays for the hexane extract was 4,009, 3,854 and 3,760 ppm at 24, 48 and 72 hours, respectively. For the ethyl acetate extract it was 3,280, 2,667 and 2,542 ppm at the same times. The LC₅₀ of the hexane extract in the topical application was 9,368 ppm at 72 hours. The other extracts in both bioassays showed little insecticidal activity. Emergence was 100% inhibited at concentrations of 2,500 ppm for the ethyl acetate and hexane extracts and at 5,000 for the ethanol extract. The insecticidal effect of the ethanol extracts is debatable given their low efficacy. The extracts are more effective through ingestion than by contact. The insecticidal effect is probably caused by the presence of acetogenins in the less polar fractions of the *A. muricata* seeds.

Key words: Soursop. Corn weevil. Insecticide effect. Plant extracts.

Introducción

A nivel mundial, el manejo de los granos almacenados se ha tornado en un problema de difícil control por la gran cantidad de plagas que atacan directamente la calidad física, química y biológica de los diferentes productos. Las pérdidas más relevantes se encuentran en países tropicales y subtropicales en los que las condiciones de humedad relativa y temperatura son idóneas para la propagación a gran escala de toda clase de insectos. Las plagas de los granos almacenados no sólo afectan la calidad, sino que además, son precursores de hongos y otros microorganismos indeseables a la hora de comercializar y consumir los productos (Andrews y Quezada 1989). En Colombia, las deficientes prácticas de cosecha y condiciones precarias de almacenamiento de granos han favorecido la supervivencia de gran cantidad de especies insectívoras, entre las cuales se destaca *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855. Las pérdidas que ocasiona esta especie son incalculables en algunos casos (Vergara 1994). Especialmente en el maíz

(*Zea mays* L.) en regiones tropicales (Throne 1994; Danho *et al.* 2002), con el agravante de que puede atacar incluso pastas alimenticias (Dobie *et al.* 1991).

El gorgojo del maíz *S. zeamais*, es un coleóptero perteneciente a la familia Curculionidae. Fue descrito por Motschulsky en 1855, como aclaración a la clasificación hecha por Linnaeus en 1763 del *S. oryzae*. Muchos autores relacionan *S. zeamais* y *S. oryzae* como una especie; pero en 1961 Kuschel propuso diferenciar ambas especies por medio de su genitalia. Es originario de la India, pero ha sido encontrado también en Europa y en regiones tropicales del mundo entero. Es una especie distribuida extensamente en los trópicos y subtrópicos, presente en países como Brasil, México, Colombia, Venezuela, Perú y Chile (Andrews y Quezada 1989). *S. zeamais* tiene gran capacidad de vuelo, lo que le permite infestar los cereales desde el campo. Ataca todos los cereales, siendo extraordinariamente destructivo. Las hembras horadan el grano y depositan en cada diminuta perforación un huevecillo que posteriormente es cubierto con una secreción, por lo que su presencia pasa

¹ Profesor Titular. Magíster en Ciencias Agrarias. Grupo de Investigaciones Agroindustriales (GRAIN). Universidad Pontificia Bolivariana. A. A. 56006, Medellín, Colombia. carlos.hincapie@upb.edu.co.

² Ingeniero Agroindustrial. Grupo de Investigaciones Agroindustriales (GRAIN). Universidad Pontificia Bolivariana. A.A. 56006, Medellín, Colombia.

³ Ingeniero Agroindustrial. Grupo de Investigaciones Agroindustriales (GRAIN). Universidad Pontificia Bolivariana. A.A. 56006, Medellín, Colombia.

inadvertida. Cada hembra deposita de 300 a 400 huevos que tardan entre cuatro y seis semanas en transformarse en adultos. La larva, carente de patas, se alimenta, se transforma en pupa y finalmente en adulto, dentro del grano. El adulto vive de cuatro a cinco meses. La hembra alcanza su máxima actividad de oviposición después de tres semanas de haber emergido. Se considera una plaga primaria porque los adultos son capaces de perforar los granos (Arias y Dell'Orto 1983).

El uso de insecticidas de síntesis química para tratar este tipo de insectos ya no constituye un medio eficaz de control. Estos compuestos químicos suelen ser altamente tóxicos y tener un espectro bastante amplio, además, pueden generar problemas de residualidad en los alimentos en los cuales han sido utilizados (Vergara *et al.* 2000). Se han utilizado estrategias alternas de control de plagas en los granos almacenados: Uso de temperaturas extremas, radiación, almacenamiento hermético, sonido y percusión, polvos inertes, tierra de diatomeas, atmósferas modificadas, depredadores, parasitoides, polvos vegetales, hongos entomopatógenos y aceites (Silva-Aguayo 2006).

El control con extractos de plantas, utilizando diferentes métodos de obtención y aplicación, también ha sido ampliamente usado, generalmente a nivel artesanal. Las plantas que tradicionalmente se han utilizado en graneros rústicos para evitar el daño del grano por insectos son: cebolla (*Allium cepa* L.), ajo (*Allium sativum* L.), neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), ají o chile (*Capsicum* spp.), cedro (*Cedrela* spp.), *Croton* spp., colorín (*Erythrina americana* Miller), eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.), paraíso (*Melia azedarach* L.), menta (*Mentha spicata* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), hierba santa (*Piper auritum* Kunth), homeoquelite (*Piper sanctum* (Miq.) Schltdl.), saúco (*Sambucus mexicana* Presl.), jaboncillo (*Sapindus* spp.) y ramatinaja (*Trichilia havanensi* Jacq.) (Rodríguez 2000). Los insecticidas botánicos han sido utilizados desde mucho antes que los insecticidas de síntesis química. La mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal, exhiben un efecto insectistático más que insecticida (Silva *et al.* 2002). Los compuestos naturales tienen un efecto repelente, disuasivo de la alimentación o de la oviposición y regulador de crecimiento (Coats 1994). Además, también tienen efecto confusor o disruptor (Metcalf y Metcalf 1992). En el caso de los granos almacenados se debe buscar efectos preventivos, pues una vez que el insecto ya penetró el grano, cualquier polvo vegetal de probada eficacia protectora no tendrá efecto (Lagunes 1994).

Una de las familias vegetales más promisorias para la obtención de fitoinsecticidas es Anonaceae a la cual pertenece la guanábana *Annona muricata* L. (Saxena 1987; McLaughlin *et al.* 1997; González 2000; Salamanca *et al.* 2001; Morales *et al.* 2004). De las semillas de esta familia se han aislado químicamente un grupo de metabolitos secundarios bioactivos conocidos como acetogeninas. Estos compuestos policétidos cuentan con una prometedora actividad antitumoral, antiparasitaria e insecticida (Rupprecht *et al.* 1990). Las acetogeninas exhiben su potencial bioactivo a través de una reducción de los niveles de ATP inhibiendo el complejo I, afectando directamente el proceso de transporte de electrones en la mitocondria y causando apoptosis (Alali *et al.* 1999).

En muchas de las industrias destinadas a la producción de pulpas de fruta, las semillas se convierten en desecho sin ningún valor aparente. Tal es el caso de la guanábana (*A. muricata*) donde existe la posibilidad de dar un valor agregado a través de las utilización de sus semillas como materia prima para la

elaboración de fitoinsecticidas. El objetivo de esta investigación es determinar si diferentes extractos de semilla de guanábana obtenidos a partir de tres solventes orgánicos causan mortalidad o efecto antialimentario en poblaciones adultas de *S. zeamais*.

Materiales y Métodos

El trabajo fue realizado en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Campus Laureles de la Universidad Pontificia Bolivariana. La cepa de *S. zeamais* se obtuvo por intermedio del Museo Entomológico Francisco Luís Gallego (MEFLG) de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Para obtener una cría masiva del insecto, la cepa se replicó repartiendo equitativamente la población inicial en frascos de vidrio y con alimento suficiente. Se taparon con una tela porosa para permitir el paso del aire. Como alimento se utilizaron granos de maíz amarillo tipo cáscara, totalmente sanos.

Para la obtención de los extractos se empleó un kilogramo de semillas de *A. muricata*. Se secaron a 40°C por 72 horas en estufa y posteriormente fueron sometidas a un proceso de reducción de tamaño en un molino de cuchilla (Cutting Mill SM 100 Standard, Retsch GmbH; Haan, Alemania) provisto de una malla de 4 mm. Posteriormente, se maceró dejando sin agitación el material con hexano (C_6H_{14}) durante 72 horas a una temperatura promedio de 25°C $\pm$ 2. Posteriormente, el material vegetal resultante (marco vegetal) se secó a 35 $\pm$ 2°C, para eliminar el hexano. Este marco se sometió a maceración, según proceso descrito anteriormente, con acetato de etilo ($CH_3COOCH_2CH_3$) por igual número de horas e iguales condiciones de temperatura que con el solvente anterior. A continuación, el marco resultante se secó a 35 $\pm$ 2°C, para eliminar el acetato de etilo. Finalmente, el marco del extracto anterior se maceró con alcohol etílico (C_6H_5OH) en iguales condiciones que con los otros solventes para completar el proceso. Este método de extracción, con la misma combinación de solventes o con otras pero con propiedades similares, ha sido usado y recomendado por varios investigadores para la obtención de acetogeninas (Jaramillo 1997; Salamanca *et al.* 2001; Morales *et al.* 2004). En las tres extracciones la relación entre el solvente y el material vegetal fue 2:1. Para evitar su deterioro, el extracto obtenido en cada uno de los tres pasos anteriores se separó de su respectivo solvente por destilación a presión reducida en rotaevaporador (Laborota 4010, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG; Schwabach, Germany). Esta separación se adelantó hasta eliminar los solventes de los extractos para evitar la incidencia de aquellos sobre los tratamientos.

Los extractos se dispersaron en agua destilada y esterilizada. Para los extractos con hexano se utilizó un tensoactivo (Polivinil pirrolidona marca PVP K30) en una proporción de 0,01 mg de tensoactivo / mg de extracto. Este polímero se usa para aumentar la solubilidad del extracto polar, pues originalmente es insoluble en agua, que es el solvente utilizado. El control se preparó en las mismas condiciones de los extractos dispersos, utilizando agua destilada y tensoactivo como testigo para los extractos obtenidos por hexano, y solo agua destilada para los extractos obtenidos con acetato de etilo y etanol. Se aplicó un diseño completamente al azar con 11 tratamientos y tres repeticiones para el método de aplicación topical y con 10 tratamientos con igual número de repeticiones para el ensayo por ingestión y para medir la cantidad de emergencia

de los adultos. Los extractos dispersos se aplicaron de manera tópica en las concentraciones de 5.000, 10.000, 25.000 y 50.000 ppm para el hexano y solo las tres últimas para el acetato de etilo y el etanol. Esto se debió a los resultados de pruebas preliminares. Para el método de ingestión se aplicó al alimento en las concentraciones de 1.000, 2.500, 5.000 ppm. Estas concentraciones se escogieron con base en pruebas preliminares a diferentes concentraciones hasta encontrar un rango que permitiera obtener datos donde se pudiera aplicar el método Probit de manera adecuada. Los tratamientos corresponden a los extractos mediante maceración con hexano, acetato de etilo y etanol en las concentraciones mencionadas. Para el bioensayo de aplicación topical se utilizó una unidad experimental de 10 adultos de *S. zeamais* recién emergidos, los cuales se colocaron en cajas de Petri. A cada individuo se le aplicó en el dorso una gota de extracto con un pincel. Este método a diferencia de otros como el de aplicación por *spray*, garantiza que cada individuo sea sometido a aproximadamente la misma cantidad de extracto. El conteo de mortalidad se efectuó a las 24, 48 y 72 horas. Para cada tratamiento se utilizó un testigo absoluto. Se consideró muerto aquel individuo que presentó sus extremidades completamente extendidas y no reaccionó al contacto con un pincel.

Para el método de ingestión se pesaron 7 g de maíz amarillo tipo cáscara, totalmente sano y se impregnaron con cada uno de los extractos. Posteriormente, se ubicaron 10 adultos (cinco machos y cinco hembras) recién emergidos en recipientes de vidrio y posteriormente se taparon con tela para asegurar el paso del aire. Los frascos se colocaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. El conteo de mortalidad se realizó a las 24, 48 y 72 horas. La prueba se extendió posteriormente por dos meses para observar el desarrollo de diferentes estados del insecto (larva, pupa y adulto) y determinar si los insectos son capaces de continuar con su proceso reproductivo habitual y si el extracto inhibe su capacidad de infestar los granos de maíz. En todas las pruebas se aplicó la fórmula de Abbott para corregir la mortalidad (Abbott 1925). Los datos de mortalidad se analizaron usando el módulo PROBIT del programa SAS®, donde se determinó la CL_{50} (Concentración Letal Media). La actividad insecticida de los diferentes extractos sobre *S. zeamais* se expresa en términos de porcentaje de mortalidad de adultos y Concentración Letal Media (CL_{50}). Estos resultados están corregidos para asegurar que la mortalidad es causada por el extracto y no por otras razones. La fórmula de Abbott (1925) para esta corrección es la siguiente:

$$\% \text{ Mortalidad corregida} = \left(\frac{\% \text{ mt} - \% \text{ mta}}{100 - \% \text{ mta}} \right) \times 100$$

mt = mortalidad en el tratamiento.

mta = mortalidad en testigo absoluto.

Resultados y Discusión

Método de aplicación topical. El extracto por maceración con hexano mostró mayor actividad insecticida (Tabla 1) que los demás en este tipo de ensayo, obteniendo a una concentración de 50.000 ppm mortalidades del 100% desde las 48 horas. Este tratamiento es diferente estadísticamente en todos los tiempos de observación del tratamiento que siguió en efectividad (Hexano a 25.000 ppm). Estos dos tratamientos fueron

muy superiores a los demás, los cuales causaron mortalidades muy bajas aún en las concentraciones más altas (Fig. 1). La mayor actividad insecticida se presenta durante las primeras 24 horas, disminuyendo de manera apreciable con el paso de tiempo, lo cual se puede ver en el comportamiento de las curvas de mortalidad (Fig. 1). Para los extractos obtenidos con acetato de etilo y etanol no se pudo determinar por las bajas mortalidades presentadas. Esto impidió el análisis por el método Probit de los datos. La mayor efectividad del extracto hexánico puede deberse a su naturaleza altamente lipofílica, lo que permite penetrar la cutícula de los insectos (Richards 1978).

Método de ingestión. El extracto que presentó mejor actividad insecticida al tratar los granos de maíz fue el obtenido con acetato de etilo a una concentración del 5.000 ppm con una mortalidad del 97% a las 72 horas de aplicación del tratamiento, seguido del extracto hexánico a 5.000 ppm. (Tabla 1). Entre estos dos tratamientos y los demás hay diferencias muy notorias (Fig. 2). Este extracto presentó una CL_{50} de 2.542 ppm a las 72 horas, seguido del extracto hexánico con una CL_{50} de 3.760 ppm (Tabla 2). Los resultados con estos dos extractos pueden ser considerados promisorios, debido a que se encuentran por debajo de la concentración máxima (5.000 ppm) recomendada por la Agencia de Cooperación Técnica Alemana (GTZ) para condiciones de laboratorio (Hellpap 1993).

Resultados similares fueron obtenidos por Salamanca *et al.* (2001) quienes encontraron que los extractos con acetato de etilo a partir de semillas de *A. muricata* mostraron mayor efectividad con respecto a los obtenidos con solventes de polaridades diferentes para el control de *Phyllophaga obsoleta* (Blanchard 1850). Los investigadores mencionados estudiaron diferentes extractos, entre ellos, de semillas de *A. muricata* encontrando que a los 15 días después de la aplicación, con el extracto obtenido usando acetato de etilo, se registró una mortalidad del 40%, con respecto al 20% logrado con el extracto obtenido con éter de petróleo y el 19% para el extracto metanólico. Los resultados de este trabajo son similares a los de Ohsawa *et al.* (1990), quienes obtuvieron sobre *Callosobrochus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae) buenos resultados con el extracto obtenido con éter de petróleo a partir de semillas de la anonácea *A. squamosa*.

La efectividad de las anonáceas sobre *S. zeamais* también se comprobó en un estudio con aceites esenciales de *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae), *Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucalyptus saligna* Smith (Myrtaceae), *Lippia rugosa* L. (Verbenaceae) y *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae). Estos aceites tuvieron importante actividad insecticida desde el primer día de aplicación, pero la actividad decreció después de dos días. Después de ocho días la eficacia se perdió en más de un 50% excepto en *A. senegalensis* (Ngamo-Tinkeu *et al.* 2004).

Los extractos a partir de semillas de *A. muricata* obtenidos en este estudio, mostraron mejores resultados que las plantas estudiadas por Arannilewa *et al.* (2006), quienes analizaron extractos obtenidos con éter de petróleo (apolar) usando *Aristolochia ringens* Vahl., *Al. sativum*, *Garcinia kola* Heckel, *Ficus exasperata* (Vahl.) concentrados a 15.000 ppm. Estos causaron mortalidades de 100, 85, 50 y 20% respectivamente al tercer día después de la aplicación. Igual sucedió con respecto a otras investigaciones. Tal es el caso de la investigación realizada por Silva-Aguayo *et al.* (2005), quienes estu-

Tabla 1. Porcentaje de Mortalidad por los métodos aplicación topical y de ingestión y porcentaje de emergencia para cada tratamiento.

Tipo de extracto	% de mortalidad en cada momento de observación (horas) por aplicación topical				% de mortalidad en cada momento de observación (horas) por ingestión				% de emergencia a los 60 días	
	PPM	24	48	72	PPM	24	48	72	PPM	%
Hexano	5.000	20de*	27d	27d						
	10.000	43c	47c	50c	1.000	7ed	7ed	7ed	1.000	23,2bc
	25.000	80b	83b	83b	2.500	7ed	7ed	7ed	2.500	0c
	50.000	93a	100a	100a	5.000	73b	77b	77b	5.000	0c
Acetato de Etilo	10.000	0a	0a	0a	1.000	0e	7ed	7ed	1.000	16,7bc
	25.000	0a	0a	0a	2.500	17d	30c	37c	2.500	0c
	50.000	17ef	20de	20de	5.000	93a	97a	97a	5.000	0c
Etanol	10.000	0a	0a	0a	1.000	0e	0e	0e	1.000	30d
	25.000	0g	0g	0g	2.500	0e	0e	0e	2.500	30,3d
	50.000	7g	7g	10gf	5.000	0e	0e	0e	5.000	0a
Testigo	0	0g	0g	0g	0	0e	0e	0e	0	100a

* Datos con la misma letra dentro de cada tipo de ensayo no son diferentes estadísticamente según la prueba de Duncan.

diaron polvos vegetales de diferentes partes de tres especies de plantas del género *Chenopodium*. En cuanto a mortalidad, sus mejores resultados se lograron a partir de la pulverización de diferentes partes de *Chenopodium ambrosoides* L., 1753 (37,18 %, 38,51% y 67,90% de mortalidad con concentraciones de 5.000, 10.000 y 20.000 ppm, respectivamente para hojas y tallos; 37,50 %, 45,84% y 69,45% de mortalidad con concentraciones de 5.000, 10.000 y 20.000 ppm, respectivamente para inflorescencias). Las otras plantas estudiadas por ellos y con las que no se obtuvieron buenos resultados fueron *Chenopodium album* L. y *Chenopodium quinoa* Willd. En otra investigación (Silva *et al.* 2003a) se estudiaron polvos a partir de diversas partes de las plantas *Azadirachta indica* J., *Chenopodium ambrosioides*, *P. boldus* M., *Piper auritum* Kunth, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck *Eucalyptus globules* L., *Laurus nobilis* L., *Ligustrum japonicum* T., *Occinum basilicum* L., *Ricinus communis* L., *Rosmarinnus officinalis* L. *Artemis nobilis* L. y *Ruta graveolens* L. La concentración estudiada para cada uno de los polvos aplicados fue de 10.000 ppm. Solo las cuatro primeras tuvieron resultados importantes de mortalidad (semilla 88,4%; 100%; 99,1% y 65,80%, respecti-

vamente); las demás plantas no lograron causar mortalidades superiores al 16,2%. Otra investigación (Silva *et al.* 2003b) sobre *S. zeamais*, usando también polvos de plantas obtuvo las mayores mortalidades con *P. boldus* Mol. a 10.000 y 20.000 ppm con valores de 50,5 y 82,8%, respectivamente. La CL_{50} para este producto fue de 7400 ppm. Esta CL_{50} es significativamente mayor a las obtenidas con los extractos obtenidos con acetato de etilo y hexano (Tabla 2). En otro estudio, Silva *et al.* (2005) después de analizar 23 especies de plantas, encontraron que los mejores resultados se obtuvieron con polvos de *Chenopodium ambrosioides* L. y *Peumus boldus* Mol. con un 65,8% y 99,3% de mortalidad, respectivamente, a 10.000 ppm.

Los resultados de este estudio superan por mucho a los resultados de Ogendo *et al.* (2005) tras la aplicación de polvo a partir de las plantas *Lantana camara* L. y *Tephrosia vogelii* Hook, que causaron 82,7-90,0% y 85,0-93,7% de mortalidad del insecto, pero en concentraciones de 75.000-100.000 ppm, respectivamente. Además, el Tiempo Letal Medio de exposición (TL_{50}) para lograr el 50% de mortalidad estuvo entre cinco y seis días. Con concentraciones de 25.000-50.000 ppm

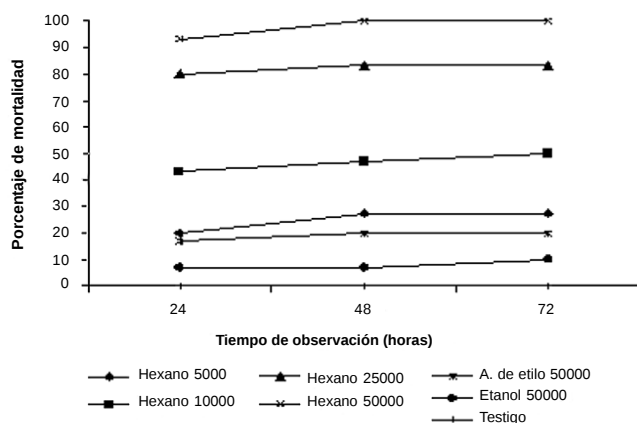
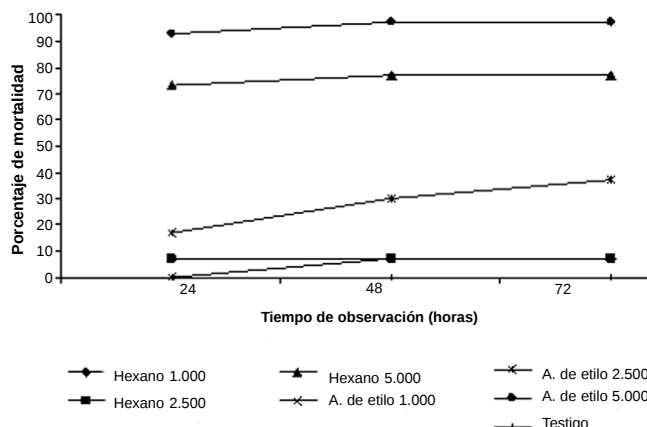
**Figura 1.** Porcentaje de mortalidad causado por los extractos más activos de *A. muricata* analizados sobre *S. zeamais* usando aplicación topical.**Figura 2.** Porcentaje de mortalidad causado por los extractos más activos de *A. muricata* sobre *S. zeamais* usando ingestión.

Tabla 2. CL₅₀ para cada extracto por los métodos de aplicación topical e ingestión.

Tipo de Extracto	Aplicación topical CL ₅₀ (ppm) en cada tiempo (horas)			Ingestión CL ₅₀ (ppm) en cada tiempo (horas)		
	24	48	72	24	48	72
Hexano	11.447	9.635	9.368	4.009	3.854	3.760
Acetato de Etilo	No obtenida	No obtenida	No obtenida	3.280	2.667	2.542
Etanol	No obtenida	No obtenida	No obtenida	No obtenida	No obtenida	No obtenida

para ambas plantas se alcanzó un TL₅₀ de siete a ocho días. Todos estos resultados demuestran la mayor efectividad de los extractos obtenidos con los mencionados solventes sobre los obtenidos por otros investigadores.

Un aspecto relevante en este bioensayo, fue la mortalidad total de todos los insectos tratados con los extractos de hexano y acetato de etilo a los ocho días de la aplicación, mientras que los testigos continuaban todos con vida. Lo anterior da una idea de las propiedades antialimentarias de ambos extractos. Esto puede ser importante en la conservación de granos almacenados para evitar que sean atacados por esta plaga pero deben ser objeto de estudios posteriores. La CL₅₀ del extracto obtenido con etanol para este método no se determinó por no presentarse mortalidad durante el ensayo.

Prueba de emergencia. A los 60 días de la aplicación, se encontró una inhibición total de la emergencia de adultos en los tratamientos con extractos obtenidos con acetato de etilo y hexano en concentraciones de 2.500 y 5.000 ppm, así como en el extracto etanólico a 5.000 ppm. Esto puede servir como prueba preliminar del efecto sobre la reproducción del insecto estudiado (Tabla 1). En la figura 3 se puede observar el porcentaje de emergencia de insectos bajo cada uno de los extractos. Un resultado similar obtuvieron Haque *et al.* (2000), al encontrar que la concentración de 5.000 ppm de extractos de hojas de dos plantas tropicales *Operculina turpethum* (L.) Silva Manso y *Calotropis gigantea* R. Br. sobre *S. zeamais* reducen hasta en un 95% su emergencia. Los resultados del presente trabajo son más promisorios que los de Silva *et al.* (2003b), quienes después de analizar la emergencia de *S.*

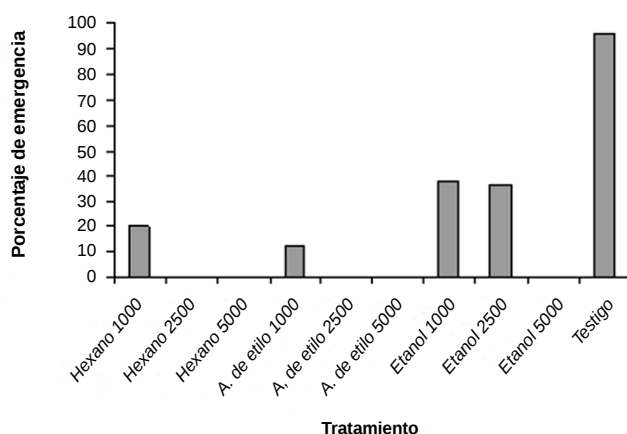


Figura 3. Porcentaje de emergencia reducida causado por los extractos de *A. muricata* sobre *S. zeamais* usando ingestión. Los tratamientos incluyen tanto el tipo de solvente como su concentración.

zeamais después de 55 días de la aplicación del pulverizado de siete plantas, obtuvieron un máximo de inhibición con *P. boldus* en concentraciones de 10.000 y 20.000 ppm con un porcentaje de emergencia de 28,8% y 5,5%, respectivamente. Otros resultados para resaltar fueron los obtenidos con *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* Mill. a 10.000 y 20.000, *Melissa officinalis* L. a 1.000, 10.000 y 20.000 ppm y *Ro. officinalis* a 10.000 ppm. En otra investigación, donde se usaron partes pulverizadas de las plantas *C. ambrosioides* y *P. boldus* a 10.000 ppm la emergencia de insectos fue de un 11,6% y 0% respectivamente. Estos fueron los mejores resultados después de analizar 23 especies de plantas (Silva *et al.* 2005). De igual forma sucede con respecto al trabajo de Silva-Aguayo *et al.* (2005), quienes analizaron polvos vegetales de diferentes partes de tres especies de plantas del género *Chenopodium*. Estos investigadores lograron los mejores resultados a partir de la pulverización de las inflorescencias de *Chenopodium ambrosioides* (15,72 %, 7,21% y 14,26% de emergencia con 5.000, 10.000 y 20.000 ppm, respectivamente). Otra investigación (Silva *et al.* 2003a) evaluó polvos a partir de diversas partes de las plantas *Ar. nobilis*, *Az. indica*, *C. ambrosioides*, *E. globules*, *La. nobilis*, *O. basilicum*, *P. boldus*, *Pi. auritum*, *Ri. communis*, *Ro. officinalis*, *Ci. sinensis*, *Li. japonicum* y *Ru. graveolens*. La concentración estudiada para cada uno de los polvos aplicados fue de 10.000 ppm. Solo las tres últimas no tuvieron resultados importantes de inhibición de la emergencia. Los autores de ese estudio atribuyen estos resultados a un efecto insecticida más que a un efecto insecticida de las plantas, pues los resultados de mortalidad no fueron tan positivos como los de emergencia. Sin embargo, hay que recalcar que estos índices fueron obtenidos a 10.000 ppm, mientras que en el presente trabajo ya había inhibición del 100% de la emergencia desde concentraciones de 2.500 ppm.

Un estudio obtuvo los siguientes resultados de emergencia, después de siete semanas de la aplicación de extractos obtenidos con éter de petróleo (apolar) y utilizando concentraciones de 5.000 ppm los siguientes: *Ar. ringens* (12,5%), *Al. sativum* (21,77%), *G. kola* (33,47%) y *F. exasperata* (68,14%) (Arannilewa *et al.* 2006). A esta misma concentración los extractos del mismo tipo a partir de semillas de *A. muricata* provocaron una inhibición total de la emergencia. Durante toda la investigación el extracto hexánico mostró un efecto insecticida importante con mortalidades superiores al 70%. Como en ambas pruebas la mortalidad fue representativa, este tipo de extracto puede ser más eficaz en un manejo integrado del *S. zeamais*.

Debido a la baja efectividad que mostró el extracto etanólico, su uso como posible fitoinsecticida para tratar al *S. zeamais* es discutido. Sin embargo, este resultado contrasta con los obtenidos por Leatemia e Isman (2004), quienes al

evaluar el efecto tóxico y antialimentario de extracto de semillas de *A. squamosa* contra dos especies de lepidópteros: *Plutella xylostella* (L.) y *Trichoplusia ni* (Hübner), encontraron que extractos acuosos y etanólicos de esta Annonaceae resultaron tóxicos para ambas especies. Usando extractos etanólicos a partir de semillas de esta misma planta Al Lawati *et al.* (2002) encontraron mortalidades del 100% a partir de la cuarta hora de exposición sobre *C. chinensis*. Así mismo, Bobadilla *et al.* (2005), registraron en larvas de *Aedes aegypti* una mortalidad del 100% a las 24 horas de aplicar el tratamiento con extractos etanólicos de semilla de *A. muricata*. De manera similar, Morales *et al.* (2004) utilizaron extractos de semillas *A. muricata* sobre larvas de *Ae. aegypti* L., 1762 y *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 obteniendo unas CL₅₀ para el primer insecto de 74,68 ppm (extracto con etanol), 236,23 ppm (extracto con éter de petróleo); y unas CL₅₀ para el segundo insecto de 0,82 ppm (extracto con etanol) y 16,2 ppm (extracto con éter de petróleo). Aunque las diferencias no son muy grandes, se evidenciaron mejores resultados con los extractos etanólicos.

Una posible explicación de las diferencias en los resultados en este estudio frente a los de otros investigadores puede estar en el método de extracción. Las extracciones en algunas investigaciones se realizaron directamente sobre la semilla seca, mientras que en ésta se realizó después de haber sometido la misma a hexano y posteriormente a acetato de etilo. A pesar de tener polaridades diferentes, con los dos últimos solventes pudo haberse extraído compuestos polares (afines con el etanol) gracias a fuerzas de atracción intermolecular de algunos compuestos apolares y medianamente polares (afines con hexano y acetato de etilo) con los compuestos polares. Sin embargo esto debe ser comprobado por medio de experimentos posteriores, pues también existe la posibilidad de que los compuestos contenidos en la fracción polar (extracto etanólico) no ejerzan ningún efecto sobre *S. zeamais* mientras si lo hagan sobre *P. xylostella*, *T. ni*, *C. chinensis*, *Ae. aegypti* y *An. albimanus*. De todos modos, es importante recordar que el método de extracción usado en esta investigación ha sido utilizado con éxito por muchos investigadores (Jaramillo 1997; Salamanca *et al.* 2001; Morales *et al.* 2004) y contrastar los resultados con los obtenidos mediante otros métodos es relevante pues al momento de escalar el proceso a planta industrial, es necesario buscar cuál es el que permite obtener la mejor actividad biológica, la mayor eficiencia en cuanto a obtención de compuestos activos y los menores costos desde el punto de vista del valor del solvente y el gasto energético.

Conclusiones

Los extractos de semilla de *A. muricata* obtenidos con hexano y aplicados por ingestión son sustancialmente más efectivos para el control de *S. zeamais* que polvos obtenidos a partir de algunas plantas como *P. boldus*, *M. officinalis*, *R. officinalis*, *C. ambrosoides*, *Ar. nobilis*, *Az. indica*, *E. globules*, *La. nobilis*, *O. basilicum*, *Pi. auritum*, *Ri. communis*, *Ci. sinensis*, *L. japonicum* y *Ru. graveolens*, entre otras. Los extractos, en concentraciones mucho menores, provocan un mejor control del insecto. Los polvos de plantas han sido usados de manera recurrente por algunos investigadores en los últimos años (Silva *et al.* 2002, 2003a, 2003b, 2005; Silva-Aguayo 2005; Ogendo *et al.* 2005). Los resultados de inhibición de emergencia de adultos de *S. zeamais* de los extractos obtenidos con semilla

de *A. muricata* son mejores que los obtenidos por otros investigadores con partes pulverizadas de las plantas citadas arriba y los obtenidos con éter de petróleo a partir de *Ar. ringens*, *Al. sativum*, *G. kola* y *F. exasperata*.

El extracto hexánico mostró un importante efecto insecticida en ambas pruebas la mortalidad, por lo que puede concluirse que este tipo de extracto tiene alto potencial para ser usado en un programa de manejo integrado del *S. zeamais*. Los de este estudio amplían el espectro de los insectos que pueden ser controlados con extractos a partir de anonáceas. El efecto insecticida de los extractos de estas plantas es atribuido principalmente a acetogeninas y alcaloides (Rieser *et al.* 1991; Correa 1992; Saxena *et al.* 1993; McLaughlin *et al.* 1997; Alali *et al.* 1998; Alali *et al.* 1999; González 2000; Salamanca *et al.* 2001).

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana y al CIDI por la financiación de este proyecto; al Ingeniero Agrónomo M. Sc. Rodrigo Vergara Ruiz, así como al personal del Museo Entomológico Francisco Luís Gallego de la Universidad Nacional de Medellín.

Literatura citada

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticidal. *Journal of Economical Entomology* 18: 265-267.
- AL LAWATI, H. T.; AZAM K. M.; DEADMAN, M. L. 2002. Insecticidal and repellent properties of subtropical plant extracts against Pulse Beetle, *Callosobruchus chinensis*. *Agricultural Sciences* 7 (1): 37-45.
- ALALI, F. Q.; KAAKEH, W.; BENNETT, G. W.; McLAUGHLIN, J. L. 1998. Annonaceous acetogenins as natural pesticides: potent toxicity against insecticide-susceptible and -resistant German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology* 91 (3): 641-649.
- ALALI, F. Q.; LIU, X.; McLAUGHLIN, J. 1999. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. *Journal of Natural Products* 62 (3): 504-540.
- ANDREWS, K.; QUEZADA, J. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: Estado actual y futuro. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Tegucigalpa, Honduras. 623 p.
- ARANNILEWA, S. T.; EKRAKENE, T.; AKINNEYE, J. O. 2006. Laboratory evaluation of four medicinal plants as protectants against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Mots). *African Journal of Biotechnology* 5 (21): 2032-2036.
- ARIAS, C.; DELL'ORTO, H. 1983. Distribución e importancia de los insectos que dañan granos y productos almacenados en Chile. FAO/INIA, Santiago de Chile. 67 p.
- BOBADILLA, M.; ZAVALA, F.; SISNEGAS, M.; ZAVALA, G.; MOSTACERO, J.; TARAMONA, L. 2005. Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus "guanábana" sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae). *Revista Peruana de Biología* 12 (1): 145-152.
- COATS, J. R. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annual Review of Entomology* 39: 489-515.
- CORREA M., C. A. 1992. Acetogeninas en las semillas de *Rollinia membranacea* (annonacea). Medellín. Tesis (Químico). Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 196 p.
- DANHO, M.; GASPAR, C.; HAUBRUGE, E. 2002. The impact of grain quality on the biology of *Sitophilus zeamais* Motschulsky

- (Coleoptera: Curculionidae): oviposition, distribution of eggs, adult emergence, body weight and sex ratio. *Journal of Stored Products Research* 38 (8): 259-266.
- DOBIE, P.; HAINES, C. P.; HODGES, R. J.; PREVETT, P. F.; REES, D. P. 1991. Insects and Arachnids of tropical stored products: Their biology and identification. A Training Manual. NRI, 2^o edition, UK. 273 p.
- GONZÁLEZ, A. 2000. Insecticidal and mutagenic evaluation of two annonaceous acetogenins. *Journal of Natural Products* 63 (6): 773-776.
- HAQUE, M. A.; NAKAKITA, H.; IKENAGA, H.; SOTA, N. 2000. Development-inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research* 36 (3): 281-287.
- HELLPAP, C. 1993. Steps for developing botanical pesticides. *Manuscrito*. G.T.Z.
- JARAMILLO, M. C. 1997. Evaluación de la actividad leishmanicida in Vitro de los extractos de la cáscara de fruto de *Annona muricata* y aislamiento y caracterización de compuestos activos de la cáscara de *A. muricata* y hojas de *Mamordica charantia*. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas. Universidad de Antioquia, Medellín. 126 p.
- LAGUNES, A. 1994. Uso de extractos y polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Colegio de postgraduados. USAID, CONACYT, BORUCONSA. Texcoco. México. 35 p.
- LEATEMIA, J.; ISMAN, M. B. 2004. Toxicity and antifeedant activity of crude seed extracts of *Annona squamosa* (Annonaceae) against lepidopteran pests and natural enemies. *International Journal of Tropical Insect Science* 24 (1): 150-158.
- MCLAUGHLIN, J. L.; ZENG, L.; OBERLIES, N. H.; ALFONSO, D.; JOHNSON, H. A. CUMMINGS, B. A. 1997. Annonaceous Acetogenins as New Natural Pesticides: Recent Progress, pp. 117-133. En: Hedin, P.A.; Holling gworth, R. M.; Malser, E. P.; Miyamoto, J.; Thompson, D. G. (eds.). *Phytochemical for pest control* (ACS Symposium Series).
- METCALF, R. L.; METCALF, E. R. 1992. Plant kairomones in insect ecology and control. Chapman and Hall. New York. USA. 169 p.
- MORALES, C.; GONZALES, A.; ARAGON, R. 2004. Evaluación de la actividad larvica de extractos polares y no polares de acetogeninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología* 30 (2): 187-192.
- NGAMO-TINKEU, L. S.; GOUDOU, A.; NGASSOUM, M. B.; MAPONGMETSEM, P. M.; KOUNINKI, H.; HANCE, T. 2004. Persistence of the insecticidal activity of five essential oils on the maize weevil *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae). *Commune Agriculture and Applied Biological Science* 69 (3): 145-147.
- OHSAWA, K.; KATO, S.; HONDA, H.; YAMAMOTO, I. 1990. Pesticidal active substances in tropical plants: insecticidal substance from seeds of Annonaceae. *Journal of Agricultural Science* 34 (4): 253-258.
- OGENDO, J. O.; BELMAIN, S. R.; DENG, A. L.; WALKER, D. J. 2005. Efficacy of *Lantana camara* L. and *Tephrosia vogelii* hook against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in stored maize grains. En: ISHS Acta Horticulturae 679: III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants - Volume 5: Quality, Efficacy, Safety, Processing and Trade in Medicinal and Aromatic Plants.
- RICHARDS, A. G. 1978. The chemistry of insect cuticle, pp. 205-232. En: Rockstein, M. (ed.). *Biochemistry of insects*, Academic Press, New York, U.S.A.
- RIESER, M. J.; KOZLOWSKI, J. F.; WOOD, K. V.; MCLAUGHLIN, J. L. 1991. Muricatacin: A simple biologically active acetogenin derivative from the seeds of *Annona muricata* (Annonaceae). *Tetrahedron Letters* 32 (9): 1137-1140.
- RODRÍGUEZ, C. 2000. Plantas contra plagas. RAPAM. Texcoco. México. 133 p.
- RUPPRECHT, J. K.; HUI, Y. H.; MCLAUGHLIN, J. L. 1990. Annonaceous acetogenins a review. *Journal. Natural Products* 53 (2): 237-278.
- SALAMANCA, C.; JARAMILLO, M. C.; ARANGO, G. J.; LONDOÑO, M. E.; TOBÓN, J. A.; HENAO, A. 2001. Evaluación de la actividad biológica de extractos vegetales sobre *Phyllophaga obsoleta* Blanchard (Col: Melolonthidae). *Actualidades Biológicas* 23 (75): 5-11.
- SAXENA, R. C. 1987. Antifeedants in tropical pest management. *Insect Science Applied* 8 (4-6): 731-736.
- SAXENA, R. C.; HARSHAN, V.; SAXENA, A.; SUKURAMAN, P.; SHARMA, M. C.; LAKSHAMANA, M. 1993. Larvicidal and chemosterilant activity of *Annona squamosa* alkaloids against *Anopheles stephensi*. *Journal of American Mosquito Control Association* 9 (1): 84-87.
- SILVA, G.; LAGUNES, A.; RODRÍGUEZ, J. C. RODRÍGUEZ, D. 2002. Insecticidas vegetales; una vieja y nueva alternativa en el manejo de insectos. *Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66: 4-12.
- SILVA, G.; LAGUNES, A.; RODRÍGUEZ, J. 2003a. Control de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) con polvos vegetales solos y en mezcla con carbonato de calcio en maíz almacenado. *Ciencia e Investigación Agraria* 30 (3): 153-160.
- SILVA, G.; PIZARRO, D.; CASALS, P.; BERTI, M. 2003b. Evaluación de plantas medicinales en polvo para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en maíz almacenado. *Revista Brasileira de Agrociência* 9 (4): 383-388.
- SILVA, G.; ORREGO, O.; HEPP, R.; TAPIA, M. 2005. Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. *Pesquisa Agropecuaria. Brasileira* 40 (1): 11-17.
- SILVA-AGUAYO, G. I.; KIGER-MELIVILU, R.; HEPP-GALLO, R.; TAPIA-VARGAS, M. 2005. Control of *Sitophilus zeamais* with vegetable powders of three species of *Chenopodium* genus. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40 (10): 953-960.
- SILVA-AGUAYO, G. 2006. Control orgánico de plagas de los granos almacenados. *Revista Ciencia Ahora* 17: 35-44.
- THRONE, J. E. 1994. Life history of immature maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) on corn stored at constant temperatures and relative humidities in the laboratory. *Environmental Entomology* 23 (6): 1459-1471.
- VERGARA, R. 1994. Artrópodos plagas de los granos, semillas y derivados almacenados (Guías Talleres Prácticos Entomología Económica No. 8). Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 18 p.
- VERGARA, R.; YEPES, F.; SALDARRIAGA, M. 2000. Talleres sobre manejo integrado de plagas y enfermedades. Medellín: Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional. 103 p.

Recibido: 21-sep-2006 • Aceptado: 23-mar-2008

El complejo chisa (Coleoptera: Melolonthidae) asociado a cebolla y pasto en Risaralda, Colombia

The white grub complex (Coleoptera: Melolonthidae) associated with onion and pasture in Risaralda, Colombia

NELLY PATRICIA VILLEGAS¹, ANDREAS GAIGL², LUIS FERNANDO VALLEJO E.³

Resumen: Durante 18 meses (mayo de 2003 a agosto de 2004) se realizaron recolecciones de larvas y adultos de Melolonthidae (Scarabaeidae-Pleurosticti) en cultivos de cebolla (*Allium fistulosum* L.) y pasto (*Pennisetum clandestinum* Hochst) instalados en el municipio de la Florida y en los alrededores de la cabecera municipal de Pereira-Risaralda (Zona Cafetera Central). Se capturaron 1.949 ejemplares de larvas que representan 11 especies de las cuales se identificaron los géneros *Phyllophaga*, *Plectris* y *Cyclocephala*, pertenecientes a tres tribus y tres subfamilias de Melolonthidae. La recolección de adultos totalizó 5.267 ejemplares de especies pertenecientes a los géneros *Cyclocephala*, *Aspidolea*, *Golofa*, *Heterogomphus*, *Plectris*, *Phyllophaga*, *Astaena*, *Chariodema* e *Isonychus*.

Palabras clave: Scarabaeoidea. Gusanos mojoy. Enemigos naturales.

Abstract: During 18 months (May 2003 to August 2004) collections were made of the larvae and adults of Melolonthidae (Scarabaeidae-Pleurosticti) in onion crops (*Allium fistulosum* L.) and pasture (*Pennisetum clandestinum* Hochst) located in the municipality of La Florida and the area surrounding the capital of Pereira, Risaralda (Central Coffee Region, Colombia). A total of 1,949 larval specimens were captured that represented 11 species from which the genera *Phyllophaga*, *Plectris*, and *Cyclocephala* were identified, belonging to three tribes and three subfamilies of Melolonthidae. The adult collection totaled 5,267 specimens belonging to the genera *Cyclocephala*, *Aspidolea*, *Golofa*, *Heterogomphus*, *Plectris*, *Phyllophaga*, *Astaena*, *Chariodema* and *Isonychus*.

Key words: Scarabaeoidea. White grubs. Natural enemies.

Introducción

Los Coleoptera-Melolonthidae referidos para Colombia, comprenden 582 especies de 107 géneros incluidos en 18 tribus de las subfamilias Melolonthinae, Rutelinae, Dynastinae, Trichiinae y Cetoniinae (Restrepo *et al.* 2003). Se considera que durante los últimos años, diversas especies de esta familia han incrementado sus poblaciones causando daños de importancia económica en múltiples cultivos instalados en diferentes pisos térmicos del país (Arias 1996; Vallejo 1997; Pardo 2000). Las larvas denominadas comúnmente como “chisas” o “gusanos mojoy”, se alimentan del sistema de raíces de la planta hospedante, producen debilitamiento, disminución en el rendimiento del cultivo e incremento de los costos de producción. A ello se le agrega el uso excesivo de agroquímicos que elimina insectos benéficos e induce resistencia y el consecuente fenómeno de resurgencia de las poblaciones consideradas como plaga. Por otro lado, la falta de información originada de investigaciones asume serias limitaciones para el registro taxonómico, análisis ecológico, comportamiento, evaluación del daño y el posterior establecimiento de técnicas de manejo adecuadas.

El presente trabajo es parte del proyecto “Plagas Subterráneas de Suramérica” organizado por el Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT, cuyo objetivo es realizar investigaciones en la Zona Cafetera de Colombia que incluyan análisis sistemáticos y bioecológicos del denominado complejo “chisa” de Colombia (Restrepo *et al.* 2003); en este caso incluye el adelantado en los corregimientos de La Florida y La Colonia del municipio de Pereira (Departamento de Risaralda, Colombia).

Materiales y Métodos

Descripción de la zona de estudio. Los muestreos se realizaron en los corregimientos de La Florida y La Colonia al suroriente del municipio de Pereira en el departamento de Risaralda-Colombia, desde el mes de mayo de 2003 hasta el mes de agosto de 2004. El corregimiento de La Florida está ubicado en las coordenadas 4°45'38.65"N, 75°36'57.49"W; a una altitud de 1.660 msnm y posee una temperatura media de 18°C. Por su lado el corregimiento de La Colonia está ubicado en las coordenadas 4°55'47.56" N, 75°44'37.92"W, a una altitud de 1.580 msnm y posee una temperatura media de 19°C; ambas localidades presentan un régimen de lluvias bimodal con un promedio anual de precipitación de 1.800 a 2.100 mm.

Captura de larvas. Mensualmente se establecieron diez cuadrantes de un metro de lado por 15 cm de profundidad en la parcela de pasto y 30 cm de profundidad para la parcela de cebolla. El material entomológico se depositó en bolsas de polietileno (tipo sello clic) más tierra del cultivo, a las bolsas selladas y rotuladas se les registró: número de salida, fecha, localidad, vereda, finca, número de cuadrante, planta hospedante y recolector. Finalmente, el conjunto se guardó en cajas de poliestireno compacto (ICOPOR) para su transporte al Laboratorio de Entomología de la Universidad de Caldas-LEUC.

En el LEUC cada larva se lavó para ser fijada (solución de Pampel) y preservada (alcohol del 70% más glicerina, en proporción de 95% y 5% respectivamente). Posteriormente, se realizó la disección de estructuras clave tales como cápsula

¹ Estudiante. Departamento de Fitotecnia, Universidad de Caldas. nepaviur@hotmail.com.

² Ph. D., Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá, Facultad de Agronomía. agaigl@unal.edu.co.

³ Profesor. Departamento de Fitotecnia, Universidad de Caldas. luis.vallejo_e@ucaldas.edu.co.

cefálica, aparato bucal, epifaringe, espiráculos y distribución de sedas corporales-quetotaxia con el propósito de hacer la identificación taxonómica (Ritcher 1966; Vallejo 1997; Morón 1986, 2000, 2003; Vallejo *et al.* 2000). Finalmente, algunos representantes de cada especie fueron guardados en gabinetes entomológicos de la Colección del Laboratorio de Entomología de la Universidad de Caldas-LEUC.

Captura de adultos. Para esta parte del experimento, se instaló una trampa de luz negra en cada localidad. Las trampas fueron operadas entre las 18:00 y 06:00 horas del día siguiente; cada mañana fueron monitoreadas y el material recolectado se limpió y se depositó en bolsas de polietileno selladas y rotuladas con los siguientes datos: fecha, localidad, vereda, finca, cultivo en el cual estaba instalada la trampa y recolector. Finalmente, el conjunto se guardó en cajas de poliestireno compacto (ICOPOR) para su transporte al LEUC.

De modo semejante al procedido con las larvas, en el LEUC cada espécimen se limpió, se rotuló y se seleccionaron algunos ejemplares representativos para disecar piezas clave tales como genitales, patas y aparato bucal que fueron confirmadas con la literatura (Morón 1986, 2000; Morón *et al.* 1997; Vallejo 1997, 2000, 2001) con el propósito de hacer la identificación taxonómica. Finalmente, algunos representantes de cada especie fueron guardados en gabinetes entomológicos del LEUC.

Establecimiento de colonias. En esta fase se recolectaron 500 larvas maduras, procedentes de cada uno de los cultivos. Las larvas fueron individualizadas en vasos plásticos con suelo previamente esterilizado al vapor. Trozos de zanahoria sirvieron para su alimentación, los vasos plásticos fueron cubiertos con tela de tul para impedir el escape de adultos que culminan el ciclo. Cada quince días se revisaron los vasos para proveer de alimento a los insectos y mantener la humedad del suelo. En el caso en el cual se consiguieron los adultos, se conservó la exuvia y el respectivo adulto en una solución preservante.

Aislamiento de enemigos naturales. Se observaron larvas enfermas y muertas que fueron aisladas de inmediato y lleva-

das al laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Caldas para el proceso de identificación de microorganismos. Los hongos identificados se almacenaron en medios adecuados y se cedieron al laboratorio de Bioecología del Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT.

Resultados y Discusión

Captura de larvas. Se capturaron 1.949 ejemplares de larvas que representan tres géneros, tres tribus y tres subfamilias de Melolonthidae (Tabla 1). Aunque es difícil identificar plenamente los estados inmaduros, se puede considerar que las especies encontradas en la región revelan amplia diversidad.

Se desprende de la Tabla 1 que la subfamilia Melolonthinae es la más abundante y la más diversa con 960 ejemplares (49,25%) pertenecientes a las tribus Melolonthini constituida a su vez por el género *Phyllophaga* (72 ejemplares), y 453 ejemplares de un género no identificado; Macroductylini con el género *Plectris* (67 ejemplares) y 300 ejemplares no identificados y Sericini con 68 ejemplares no identificados. La subfamilia Dynastinae alcanzó el 35,6% con 694 ejemplares del género *Cyclocephala* y la subfamilia Rutelinae con el 15,1% estuvo constituida por 295 ejemplares sin identificar. A continuación se indican algunos aspectos que relacionan la composición de cada grupo.

Melolonthinae, Melolonthini (Fig. 1)

***Phyllophaga* Harris.** Este género se considera de gran importancia económica debido al hábito estrictamente rizófago de las larvas de varias de sus especies que afectan diversos cultivos a lo largo de América, igualmente por su amplia distribución que abarca zonas cultivadas ubicadas entre 1.000 y 2.500 msnm. Este género es más frecuente en el cultivo de cebolla (Tabla 1), las larvas se pueden encontrar hasta 60 cm de profundidad con cierta predilección por cultivos de sabana establecidos por encima de 2.000 m. Las especies del género *Phyllophaga* son esencialmente univoltinas y su ciclo de vida está sincronizado con el del cultivo. El análisis fenológico muestra mayor cantidad de larvas maduras justo en el momen-

Tabla 1. Larvas de Melolonthidae encontradas en cultivos de pasto y cebolla en el departamento de Risaralda-Colombia*.

Subfamilia	Tribu	Género	Pasto	Cebolla	Total larvas
Melolonthinae	Melolonthini	<i>Phyllophaga</i> sp.	4	68	72
Melolonthinae sp. 1	no identificada	no identificado	244	—	244
Melolonthinae sp. 2	no identificada	no identificado	45	73	118
Melolonthinae sp. 3	no identificada	no identificado	32	59	91
	Macroductylini	no identificado	245	55	300
		<i>Plectris</i> sp. 1	41	19	60
		<i>Plectris</i> sp. 2	7	—	7
	Sericini	no identificado	49	19	68
Dynastinae	Cyclocephalini	<i>Cyclocephala</i>	410	284	694
Rutelinae sp. 1	no identificada	no identificado	176	116	292
Rutelinae sp. 2	no identificada	no identificado	2	1	3
Total			1.255	694	1.949

* El promedio de larvas por metro cuadrado recolectadas durante el muestreo en ambos cultivos fue de 8,12.

to en el cual la planta hospedante está desarrollando su sistema de raíces hasta cuando llega la cópula de los adultos, que aprovechan las hojas del cultivo para obtener energía. En Antioquia según estudios adelantados por Londoño (1992), Arias (1996) y Vallejo (1995, 1997) Vallejo *et al.* (1998), se observó un predominio de la especie *Phyllophaga obsoleta* Blanchard, haciendo daños en potreros, gramas, hortalizas, frijol, maíz, flores, papa, pastos y frutales, causando pérdidas entre 10 y 80%.

Plectris Burmeister. Se puede considerar que el género *Plectris* está bien distribuido en América, y también ha sido recolectado en cultivos del departamento de Cundinamarca, en el oriente de Antioquia y en otras latitudes de la Zona Cafetera Central de Colombia (Vallejo 1997, 2001) donde se encuentra asociado con otras especies del complejo “chisa”. Los adultos son abundantes en los meses de abril y mayo y sus larvas se recolectan casi todo el año preferiblemente en cultivos instalados por encima de 1.800 m. Este género mostró una marcada preferencia por el pastizal en donde se halló a la mayoría de sus representantes trozando las raíces tiernas.

Dynastinae, Cyclocephalini (Fig. 1)

Cyclocephala Latreille. La subfamilia Dynastinae estuvo representada por el género *Cyclocephala* con 694 ejemplares. La mayoría de los ejemplares se capturaron en cultivos de pasto, especialmente de potreros, lo cual relaciona este género con ambientes perturbados y distribuidos en una amplia franja que empieza desde 600 msnm y se extiende hasta 2.400 msnm (Vallejo 1997). Es común encontrar a las larvas de *Cyclocephala* en la zona más superficial del cultivo en donde aprovecha las raíces tiernas que ofrece el material de cubierta, en este caso, de más fácil acceso en un pastizal que en un cultivo de cebolla.

El género *Cyclocephala* se recolectó durante todo el muestreo, sin embargo presentó un pico de aparición que sugiere un ciclo univoltino predominante, es decir, una generación al año. La importancia de este género consiste en su

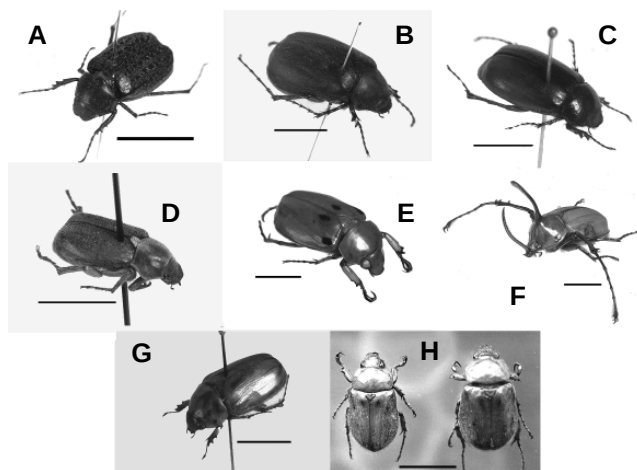


Figura 1. Especies más frecuentes de la familia Melolonthidae. A. *Plectris pavidus* Burmeister, 1845. B. *Phyllophaga menetriesi* Blanchard, 1850. C. *Phyllophaga obsoleta* Blanchard, 1850. D. *Chariodema xylinum* Blanchard, 1850. E. *Ancognatha vulgaris* Arrow, 1911. F. *Golofa porteri* Hope, 1837. G. *Cyclocephala lunulata* Burmeister, 1847. H. *Cyclocephala fulgurata* Burmeister, 1847. Escala 1 cm.

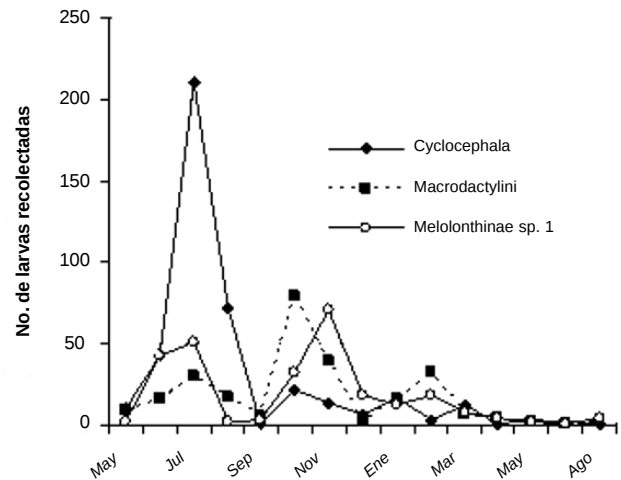


Figura 2. Abundancia mensual de las especies de larvas de Melolonthidae más importantes para el Departamento de Risaralda-Colombia.

amplia distribución por el continente americano, siendo registrado en cultivos como caña de azúcar y pasto en México, de avena y cebada en Uruguay (Morón y Aragón 2003), en el departamento del Tolima (Colombia), este género se reconoció en cultivos de arracacha (Vásquez y Sánchez 1999), y en el Oriente del departamento de Antioquia se encontró asociado a cultivos de papa, maíz, frijol y hortalizas (Vallejo 1997).

La captura de larvas permite determinar la estacionalidad de las especies recolectadas en la zona, presentándose dos periodos en los cuales se incrementa su abundancia y riqueza. El primer periodo corresponde a los meses de junio, julio y agosto, época en la cual se recolectó el 51% de las larvas y un segundo periodo menos abundante que correspondió a los meses de octubre y noviembre (Fig. 2).

Estos periodos de recolección coinciden con las épocas previa y posterior a las temporadas de mayor pluviosidad. Una primera que normalmente sucede entre marzo-mayo y una segunda menos cuantiosa entre septiembre y octubre (Fig. 2). Esta tendencia ha sido señalada por Pardo y Rubiano (1993), quienes afirman que la abundancia de larvas se incrementa desde los meses secos hacia los de lluvia.

Descripción de las principales especies de larvas

Descripción de *Phyllophaga* sp. (Figs. 3A-C). *Epifaringe*, de forma trapezoidal con *plegmata* ancha bien definida por 14-15 *plegmas*; *chaetoparia* con *heli* sencillos, presencia de *dextiotorma* y *laetotorma* con más de 5 *heli*. *Mandíbulas*, fuertemente esclerosadas, grandes, afiladas y alargadas, zona molar con 3 procesos molares, zona incisiva con 2 dientes de fácil diferenciación. *Raster*, alargado con *palidia* en forma regular que describen dos hileras casi paralelas; abertura anal hendida en forma de “Y” invertida.

Descripción de *Macroductylini* (Figs. 3D-F). *Epifaringe*, con *plegmata* angosta definida por 10-11 *plegmas*. *Haptomerum* con una fila transversal encorvada. *Mandíbulas*, alargadas, afiladas, fuertemente esclerosadas, zona distal con dos dientes, zona basal con 3 molares definidos. Presencia de cóndilo. *Raster*, amplio, abertura anal en forma de “Y” invertida, con

palidia alargados y delgados que al enfrentarse forman una curva dilatada.

Descripción de *Plectris* sp. 1 (Figs. 3G-I). *Epifaringe* de forma trapecoidal con *plegmata* amplia y definida por 5-6

plegmas. *Haptomerum*, presenta 6 heli amplios y agudos. No posee *epizygum*. *Mandíbulas*, delgadas, alargadas con 2 dientes en la zona distal y 3 molares en la zona basal. *Raster*, abertura anal en forma de "Y" invertida, *palidia*, paralelas en la parte anterior y ampliamente divergentes en la parte posterior.

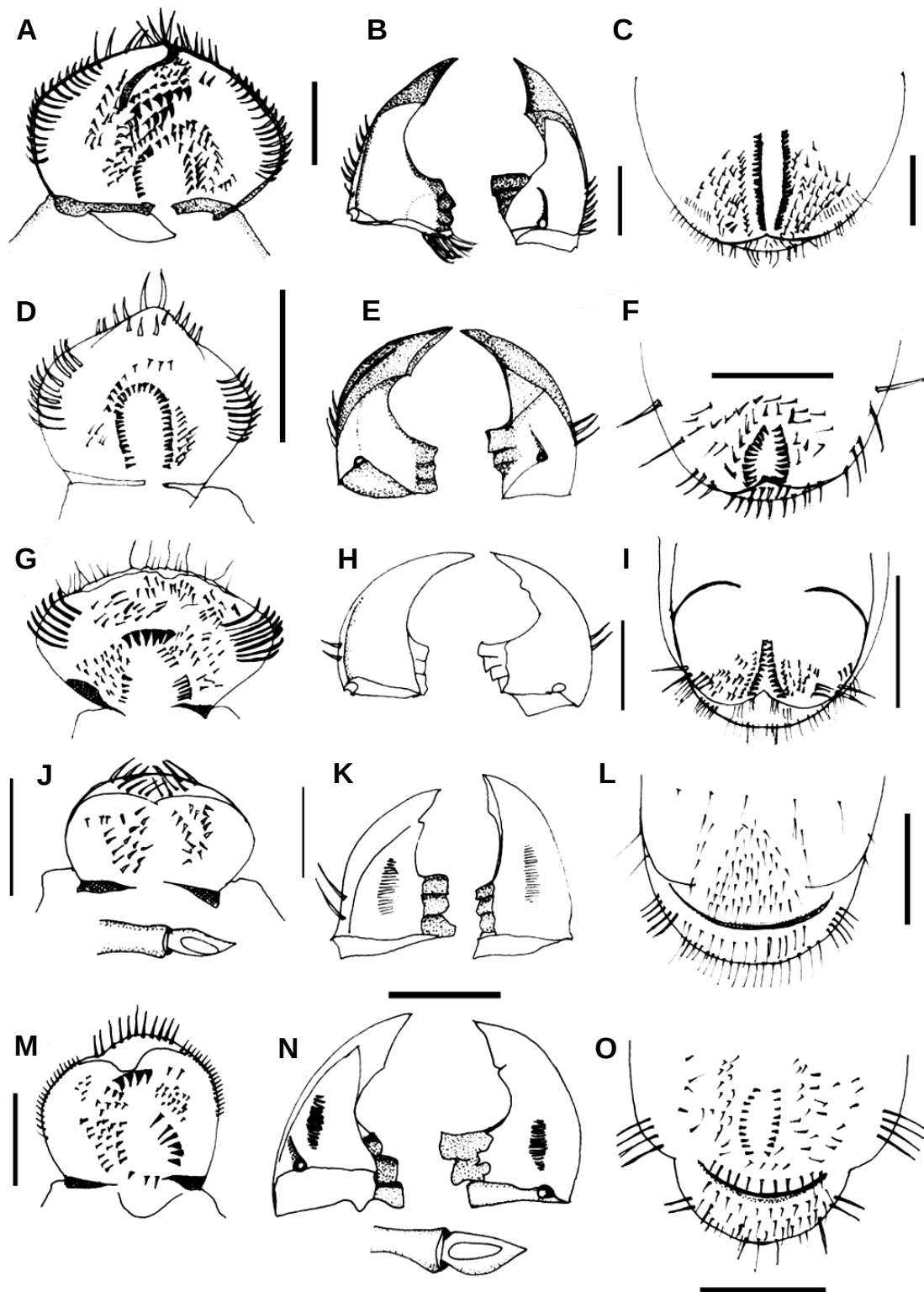


Figura 3. Epifaringe, mandíbula izquierda (vista dorsal y ventral) y raster de *Phyllophaga* sp. (A-C), Macroductylini (D-F), *Plectris* sp. 1. (G-I), *Cyclocephala* sp. (J-L), Rutelinae (M-O). Nótese detalle del último segmento antenal en J y N para *Cyclocephala* sp. y Rutelinae respectivamente. Escala 1 mm.

Descripción de *Cyclocephala* sp. 1 (Figs. 3J-L). *Epifaringe*, semi-redondeada, sin *plegmata*. *Haptomerum*, amplio, destacado, oblicuo y conformado por dos secciones afiladas. *Mandíbulas*, gruesas, fuertemente esclerosadas, presencia de pequeños excavaciones que conforman la zona estridulatoria (posición ventral) dos dientes en la zona incisiva distal y tres muelas en la zona basal. *Raster*, abertura anal transversa, sin palidia, muestra hileras transversales de sedas gruesas y delgadas. Último artejo antenal con una mancha sensorial amplia (posición dorsal).

Descripción de Rutelinae (Figs. 3M-O). *Epifaringe*, más ancha que larga, márgenes laterales redondeadas, *haptomerum* irregular, 4 heli, largos y destacados. *Mandíbulas*, asimétricas, afiladas, de forma subtriangular, presencia de zona estridulatoria que consiste de pequeñas excavaciones de líneas transversales en la parte ventral de la mandíbula. *Raster*, abertura anal transversa en forma de "V", *palidia* pequeños formando un par de hileras cortas que describen una trayectoria curva. Último artejo antenal con una mancha sensorial amplia en posición dorsal.

Estudio de adultos. Se capturaron 5.267 ejemplares en ambas localidades de los cuales el 54,75% fueron colectados en el corregimiento de La Colonia y un 45,25% en el corregimiento de La Florida (Tabla 2). Sobresale por su abundancia la subfamilia Rutelinae con 47,28% del total, le siguen en su orden la subfamilia Dynastinae con 39,49% y la subfamilia Melolonthinae con el restante 13,23%.

En la subfamilia Dynastinae predominó la tribu *Cyclocephalini* con cuatro especies siendo *Cyclocephala fulgurata* Burmeister, 1847 la más abundante con un 20% de los especímenes colectados. En la subfamilia Melolonthinae sobresalen por su importancia económica las especies *Phyllophaga obsoleta* y *Ph. menetriesi* (Blanchard, 1850), su captura fue relativamente baja si se compara con las otras especies, aún así, es muy importante no pasar por alto su presencia ya que estas especies son plagas relevantes en diferentes zonas del oriente y el norte del departamento de Antioquia (Londoño y Ríos 1994; Vallejo 1995, 1997) y del departamento del Cauca (CIAT 2003, 2004).

Con los datos de las trampas de luz negra, se logró determinar la estacionalidad de especies de importancia económica pertenecientes a los géneros *Anomala*, *Cyclocephala*, *Phyllophaga* y *Plectris* las cuales presentan el máximo periodo de aparición en abril y en septiembre. Los resultados concuerdan con otros obtenidos por Vallejo (1997); Pardo (2002) y Morón (2003), al afirmar que los diferentes estados de desarrollo tienen una sugestiva sincronía con las dos temporadas de lluvias (marzo a mayo y agosto a octubre) que aparecen en un año y que reflejan especialmente ciclos univoltinos para la mayoría de las especies. En la época de abundancia de ejemplares adultos coincidencialmente existe mayor disponibilidad de alimento representada por especies arbóreas que están florecidas o que tienen mayor follaje; éstas servirán de aporte energético para la cópula y la continuidad del ciclo vital. Los adultos de *Anomala cincta* Say, 1835 se han capturado en épocas lluviosas en el Valle del Cauca (Pardo 2002) y Antioquia

Tabla 2. Diversidad y abundancia de adultos de Melolonthidae capturados en el departamento de Risaralda-Colombia.

Género/Especie	Localidades		Total de ejemplares
	La Florida	La Colonia	
Subfamilia Dynastinae			
<i>Cyclocephala fulgurata</i> Burmeister, 1847	261	744	1005
<i>Cyclocephala lunulata</i> Burmeister, 1847	514	398	912
<i>Ancognatha vulgaris</i> Arrow, 1911	44	76	120
<i>Cyclocephala amblyopsis</i> Bates, 1888	12	11	23
<i>Golofa porteri</i> (Hope, 1837)	4	12	16
<i>Heterogomphus</i> sp. 1		2	2
<i>Heterogomphus schoenherri</i> Burmeister, 1847	2		2
Subtotal			2.080
Subfamilia Melolonthinae			
<i>Aspidolea</i> sp. 2	47	229	276
<i>Phyllophaga obsoleta</i> (Blanchard, 1850)	4	156	160
<i>Ceraspis</i> sp.	90	36	126
<i>Phyllophaga menetriesi</i> (Blanchard, 1850)	78	15	93
<i>Chariodema</i> sp. 3	3	14	17
<i>Isonychus</i> sp. 1		4	4
<i>Chariodema</i> sp. 1	10	4	14
<i>Chariodema</i> sp. 2	3		3
<i>Chariodema xylinea</i> (Blanchard, 1850)	3		3
<i>Phyleurus didymus</i> (L., 1758)		1	1
Subtotal			697
Subfamilia Rutelinae			
<i>Anomala undulata</i> (Melsheimer, 1844)	720	565	1.285
<i>Anomala cincta</i> (Say, 1835)	613	573	1.186
<i>Anomala</i> sp. 1	12	7	19
Subtotal			2.490
Total	2.420	2.847	5.267

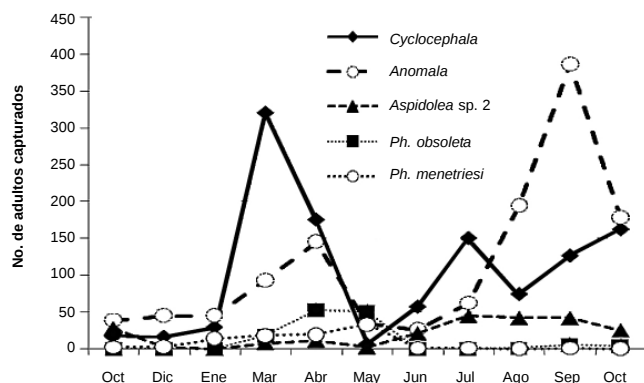
Tabla 3. Especies encontradas en campo y criadas en el laboratorio.

Género/especie	Número de larvas recolectadas		
	Pasto	Cebolla	Total
<i>Cyclocephala lunulata</i>	14	39	53
<i>Cyclocephala fulgurata</i>	10	30	40
<i>Anomala cincta</i>	13	29	42
<i>Anomala undulata</i>			
<i>Ceraspis</i> sp.	7	11	18
<i>Plectris</i> sp.		2	2
<i>Chariodema</i> sp. 1		3	3
<i>Chariodema</i> sp. 3	9	7	16
<i>Astaena</i> sp. 1		5	5
<i>Astaena</i> sp. 2		6	6
<i>Aspidolea</i> sp. 1	7	8	15
TOTAL	70	180	250

(Londoño 1992) además registran capturas esporádicas a lo largo del año, al igual que en la zona de estudio (ciclos bivoltinos).

Mantenimiento de las larvas. Durante el proceso de la cría se presentó en un principio alta mortalidad posiblemente debido a factores como cambios de clima, transporte del material, manipulación de larvas, altitud y el ataque de ácaros que provocaron disminución de su población. Debido a esto se realizaron varios muestreos para reponer las larvas muertas. A pesar de los inconvenientes de las larvas traídas de campo, se lograron obtener 250 adultos cuya determinación se muestran en la Tabla 3.

Enemigos naturales. Al realizar el aislamiento de posibles patógenos en larvas de ambos cultivos, 45 de ellas se encontraron infectadas con agentes bióticos que afectaron su desarrollo, otro cantidad semejante murió por causas abióticas como exceso de humedad, fallas en la manipulación y problemas en el establecimiento de la cría en el LEUC. Los detalles sobre el número de larvas enfermas y tipos de enemigos naturales encontrados se muestran en la Tabla 4.

**Figura 4.** Abundancia mensual de adultos de Melolonthidae en las localidades de La Florida y La Colonia, (Risaralda, Colombia).**Tabla 4.** Enemigos naturales encontrados en larvas de Melolonthidae en el departamento de Risaralda-Colombia.

Enemigos naturales	Pasto	Cebolla	Total
<i>Fusarium</i> spp.	4	11	15
<i>Metarhizium</i> spp.	8	10	18
<i>Trichoderma</i> spp.	6	4	10
Hymenoptera-Tiphiidae		2	2
TOTAL	18	27	45

Conclusiones

La destrucción del bosque para parcelarlo, la apertura de terrenos a cultivos de gramíneas para instalar potreros y el monocultivo extensivo con deterioro del suelo han favorecido el establecimiento y la dispersión de especies de Melolonthidae que aprovechan cualquier tipo de raíz disponible para su desarrollo. En términos generales y tomando en cuenta que la disposición específica de los géneros de larvas y adultos mencionados varía considerablemente de una localidad a otra, de un período de lluvias a otro y de un cultivo a otro, se ha considerado en los años recientes denominar a este grupo como el “complejo chisa” de Colombia (Morón 1995; Vallejo 1997; Vallejo *et al.* 1998, 2000; Restrepo *et al.* 2003). Bajo este punto de vista se empieza a perfilar el interés ecológico y económico que adquieren las especies rizófagas.

Las especies edafícolas de Melolonthidae contribuyen sustancialmente a las redes tróficas de los suelos colombianos, en este caso de la Zona Cafetera Central al aportar con sus hábitos, la abundancia, biomasa, diversidad y distribución geográfica y ecológica.

Agradecimientos

Al Ministerio de Cooperación Económica (BMZ) de la República Federal de Alemania que financió este trabajo. De forma muy especial a las siguientes personas que con su colaboración hicieron posible la realización del presente trabajo: Manuel Aristizabal, Profesor, Universidad de Caldas; Misael Salgado Morales, Laboratorista, Universidad de Caldas; Gonzalo Hoyos, Cenicafe, por el diseño y la toma del material fotográfico; Juan Carlos López, Investigador Cenicafe; Patricia Marín, investigador Cenicafe; Anuar Morales, Unidad Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades, CIAT; Luis Carlos Pardo, investigador CIAT; Josefina Martínez, secretaria, Unidad Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades, CIAT.

Literatura citada

- ARIAS, J. H. 1996. Evaluación y transferencia del efecto de la trampa de luz y de hongos entomopatógenos en el control de chisas en el Oriente Antioqueño. Segundo informe de avance. Rionegro, octubre 1995 a junio de 1996. Medellín: CORPOICA-Fundación Buen Pastor, 23 p.
- CIAT. 2003. Soil pests - cassava and other crops. Activity 1. Integrated control of subterranean pests in South America, pp. 53-70. In: Centro Internacional de Agricultura Tropical. Integrated pest and disease management in major agroecosystems: Project PE-1: Summary Annual Report 2003. CIAT, Cali, Colombia. http://w.w.w.ciat.cgiar.org/ipm/pdfs/seccion_gaigl_03.pdf.

- CIAT. 2004. Soil Pests on cassava and other crops, pp. 116-164. In: Integrated pest and disease management in major agroecosystems. Cali, Colombia. http://www.ciat.cgiar.org/ipm/pdfs/seccion_gaigl_03.pdf.
- LONDOÑO, M. E. 1992. Programa de leguminosas. Informe anual de progreso. Medellín: ICA. 42 p.
- LONDOÑO, M. E.; RÍOS, A. M. 1994. Efecto de diferentes agentes de control biológico sobre *Phyllophaga obsoleta* y *Anomala undulata* (Col: Melolonthidae), pp. 35-42. En: Aconteceres Entomológicos, Medellín.
- MORÓN, M. A. 1986. El género *Phyllophaga* en México. Morfología, distribución y sistemática supraespecífica (Insecta: Coleoptera). México D. F. Méx.: Instituto de Ecología, publicación 19. Tesis (Ph. D.) Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. 341 p.
- MORÓN, M. A. 1995. La diversidad de coleópteros Scarabaeoidea o Lamellicornia en Colombia y su repercusión en el complejo de plagas subterráneas. En: II Reunión Latinoamericana de Scarabaeoidología. Memorias: II Reunión Latinoamericana de Scarabaeoidología. Santafé de Bogotá, Dic 6-10 de 1995. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias.
- MORÓN, M. A. 2000. Twelve new species of *Phyllophaga* subgenus *Phytalus* (Coleoptera: Melolonthidae) from eastern and southern Mexico. Journal Kansas Entomological Society 73 (1): 36-61.
- MORÓN, M. A. 2003. Revision of the *Phyllophaga* s. s. *schizornia* species group (Coleoptera: Melolonthidae: Melolonthinae). The Canadian Entomologist 135: 213-302.
- MORÓN, M. A.; RATCLIFFE, B. C.; DELOYA, C. 1997. Atlas de los Escarabajos de México (Coleoptera: Lamellicornia). Vol. I. Familia Melolonthidae. México D. F., Méx.: Comisión Nacional para el Desarrollo del Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO), Sociedad Mexicana de Entomología, A. C. 280 p.
- MORÓN, M. A.; ARAGÓN A. 2003. Importancia ecológica de las especies americanas de Coleoptera Scarabaeoidea. Dugesiana 10 (1): 13-29.
- PARDO, L. C. 2000. Avance en el estudio de chisas rizófagas (Coleoptera: Melolonthidae) en Colombia, observaciones sobre los complejos regionales y nuevos patrones morfológicos de larvas. pp. 1-19. En: III curso nacional sobre taxonomía de escarabajos de importancia económica en Colombia. Memorias. Cali. Universidad del Valle-CIAT-IIAP.
- PARDO, L. C. 2002. Aspectos sistemáticos y bioecológicos del complejo chisa (Coleoptera: Melolonthidae) de Caldon, Norte del Cauca, Colombia. Cali. Tesis (M. Sc. En Ciencias Biológicas). Universidad del Valle, Facultad de Ciencias.
- PARDO, L. C.; RUBIANO, R. M. 1993. Registros y observaciones preliminares de los escarabajos (Coleoptera: Scarabaeidae) del páramo Las Hermosas. Valle, Colombia. Cespedesia 21: 64-65.
- RESTREPO, H.; MORÓN, M. A.; VALLEJO, L. F.; PARDO, L. C. 2003. Catálogo de Coleoptera Melolonthidae (Scarabaeidae-Pleuristicti) de Colombia. Folia Entomológica Mexicana 42 (2): 239-263.
- RITCHER, R. O. 1966. White grubs and their allies. Corvallis, Oregon: Oregon State University Press. 219 p.
- VALLEJO, L. F. 1995. Las chisas en el oriente Antioqueño. Perspectivas biológicas para el establecimiento de un Programa de Control. En: Asociación Colombiana de Flores (2°:1995: Rionegro). Memorias II Simposio Nacional del Crisantemo. Plagas y Enfermedades. Rionegro. ASOCOLFLORES. 114 p.
- VALLEJO, L. F. 1997. Contribución al conocimiento de las plagas subterráneas (chisas) (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae) del oriente de Antioquia – Colombia. Medellín. Tesis (M. Sc. En Entomología). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias y Ciencias Agropecuarias. 309 p.
- VALLEJO, L. F. 2001. Primeros registros de melolontidos-chisas (Coleoptera: Melolonthidae) para el departamento de Caldas-Colombia. Boletín Fitotecnia 59. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Fitotecnia. pp. 1-2.
- VALLEJO, L. F.; MORÓN, M. A.; ORDUZ, S. 1998. First Report and description of immature stages of *Phyllophaga obsoleta* (Blanchard) (Col: Melolonthidae) in Colombia. The Coleopterist's Bulletin 52 (2): 109-117.
- VALLEJO, L. F.; MORÓN, M. A.; ORDUZ, S. 2000. Avances en el conocimiento morfológico del complejo chisa (Col: Melolonthidae) de Colombia, pp. 306-323. En: Memorias, XXVII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología-SOCOLEN. Medellín, julio 26, 27 y 28 de 2000.
- VÁSQUEZ, N.; SÁNCHEZ, G. 1999. Propuesta de manejo integrado de las chisas (Coleoptera: Melolonthidae) en el cultivo de la arracacha, pp. 127-148. En: Raíces Andinas, contribuciones al conocimiento y a la capacitación. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-CORPOICA Regional Tolima.

Recibido: 2-oct-2006 • Aceptado: 12-abr-2008

Patogenicidad de *Lecanicillium lecanii* (Fungi) sobre la garrapata *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) en laboratorio

Pathogenicity of *Lecanicillium lecanii* (Fungi) on the tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in the laboratory conditions

CATALINA BELTRÁN ALZATE¹, ANA ISABEL GUTIÉRREZ G.², YAMILLÉ SALDARRIAGA O.³

Resumen: Se determinó en laboratorio la patogenicidad del hongo *Lecanicillium lecanii* sobre la garrapata del ganado *Boophilus microplus*. Se sumergieron las garrapatas en soluciones con concentraciones de *L. lecanii* (CIAT 215), $1,25 \times 10^1$, $1,25 \times 10^5$ y $1,25 \times 10^8$ conidios/mL colocándolas individualmente en cajas de Petri. Los testigos fueron sumergidos en agua destilada. El análisis estadístico mostró que los periodos de preoviposición en las hembras tratadas con *L. lecanii* y los testigos presentaron diferencias significativas. En el periodo de oviposición hubo diferencias significativas entre los testigos y las concentraciones $1,25 \times 10^1$, $1,25 \times 10^5$ y $1,25 \times 10^8$ conidios/mL. La supervivencia de las garrapatas mostró diferencias entre los testigos y las concentraciones de *L. lecanii*. De las 120 garrapatas inoculadas 115 (95,8%) fueron conidiadas, y se observó una invasión total al noveno día. El porcentaje de eclosión se redujo notablemente en todos los tratamientos comparados con el testigo. Se observó una supervivencia reducida de las larvas tratadas a la concentración $1,25 \times 10^8$ conidios/mL (73%) comparada con el testigo (100%). La concentración $1,25 \times 10^8$ conidios/mL del hongo *L. lecanii* presentó un efecto significativo sobre la oviposición, la supervivencia de las hembras teleoginas inoculadas, el porcentaje de eclosión de las masas de huevos y la supervivencia de larvas provenientes de huevos de *B. microplus* inoculados.

Palabras clave: Supervivencia. Hongo entomopatógeno. Oviposición. Preoviposición.

Abstract: The pathogenicity of the fungus *Lecanicillium lecanii* on the cattle tick *Boophilus microplus* was determined under laboratory conditions. Ticks were submerged in solutions of three concentrations of *L. lecanii* (CIAT 215), $1,25 \times 10^1$, $1,25 \times 10^5$, and $1,25 \times 10^8$ conidia/mL, and these were placed individually in Petri dishes. Control ticks were submerged in distilled water. Statistical analyses showed significant differences in the period of preoviposition of females treated with *L. lecanii* between treatments and the control. In the period of oviposition there were significant differences between the controls and the concentrations $1,25 \times 10^1$, $1,25 \times 10^5$, and $1,25 \times 10^8$ conidia/mL. The survival of ticks showed differences between the control and the concentrations of *L. lecanii*. Of the 120 ticks inoculated, 115 (95,8%) were conidiated, and a total invasion was observed at ninth day. The percentage of emergence was notably reduced in all treatments compared with the control. A reduced survival of the larvae was observed at the concentration $1,25 \times 10^8$ conidia/mL (73%), compared with the control (100%). The concentration $1,25 \times 10^8$ conidia/mL of the fungus *L. lecanii* presented a significant effect on oviposition, the survival of the engorged females inoculated, the percentage of emergence of egg masses, and the survival of the larvae coming from the inoculated eggs of *B. microplus*.

Key words: Survival. Entomopathogenic fungus. Oviposition. Preoviposition.

Introducción

En áreas tropicales y subtropicales como Colombia, existen serias limitantes para el desarrollo de la industria bovina por la presencia de diversas especies de garrapatas, no sólo por los daños directos que ocasionan, sino también por ser transmisoras de microorganismos, principalmente los causantes de la anaplasmosis y babesiosis bovina. Estas enfermedades están ampliamente difundidas en Colombia desde el nivel del mar hasta los 2.200 msnm, en las cuales los factores climáticos (temperatura, humedad, precipitación y altitud) son favorables para la multiplicación y desarrollo de la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Benavides 1983; Benavides *et al.* 1999; Lamberti y Bulman 2002; De la Cruz y Vahos 2004). *B. microplus*, es un ectoparásito hematófago, con cubierta quitinosa, dura y protectora que puede soportar largos periodos de inanición; cuenta con un amplio rango de

hospederos, alta tasa de oviposición, prácticamente carece de enemigos naturales y las condiciones ecológicas donde se encuentra comúnmente favorecen la infestación provocando graves alteraciones en los animales con repercusiones en la economía de la actividad ganadera (Marín 2002; Armendáriz 2003).

Una de las estrategias más utilizadas para el tratamiento de animales infestados con *B. microplus* es la aplicación de acaricidas como organofosforados, amidinas, piretroides e ivermectinas a intervalos específicos; también se han utilizado extractos de plantas y semillas. Sin embargo, la resistencia adquirida por las garrapatas a estos productos ha motivado el uso de métodos alternativos de control parasitario como el uso de hongos entomopatógenos. Estos organismos se han constituido en grandes biocontroladores de insectos y ácaros plagas de cultivos y animales. El control biológico utilizando estas alternativas consiste en el empleo de biopreparados a partir de

¹ Bióloga. Grupo de Micología. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación para el estudio de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. A.A 1226. Medellín, Colombia. catabeltran01@yahoo.es.

² Bióloga. M. Sc. Investigadora Asociada al Grupo de Micología. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación para el Estudio de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. A. A. 1226. Medellín, Colombia. anaaisaguti@gmail.com.

³ Autor para correspondencia: Licenciada en Biología y Química. M. Sc. Profesora de Micología. Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Corporación para el Estudio de Patologías Tropicales. Universidad de Antioquia. A. A. 1226. Medellín, Colombia. Fax: 2105666. ysaldar@matematicas.udea.edu.co.

los hongos que son aplicados por medio de baños al ganado o en el pasto (García 2002; Martínez *et al.* 2002; Fragas *et al.* 2006).

El hongo *Lecanicillium lecanii* (Zimmerman) Zare & Gams, 2001 [= *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viégas] tiene amplia distribución mundial y un gran espectro como agente potencial en control biológico de diferentes hospederos como áfidos, escamas, coleópteros, dípteros, colémbolos y garrapatas, por esta razón ha sido estudiado como posible agente de control de estos artrópodos en diferentes investigaciones (Tanada y Kaya 1993; Humber 1997; Obregón 2002). Rijo *et al.* (1998) realizaron un estudio en la Provincia de la Habana (Cuba) determinando la efectividad del biopreparado a base del hongo *V. lecanii* cepa LBVL-2 para infectar a los estados parasíticos de *B. microplus* encontrando una efectividad entre el 47,5 y 78,7%. Vitorte *et al.* (1998, 2003) realizaron estudios en novillos de establo asperjados con biopreparados de *L. lecanii* encontrando resultados similares.

Por otro lado, Díaz y Chuquiyauri (2002) en la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco (Perú), evaluaron el efecto de las dosis de los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill, 1912 y *L. lecanii* a concentraciones de 3×10^{11} conidios/g en 92 vacunos de diferentes razas, sexo y con diferentes grados de infestación de garrapatas, obteniendo mortalidad a los 12 días después de la inoculación. La mezcla de ambos entomopatógenos, produjo una mejor respuesta con un 77% de efectividad. En un estudio en Colombia se evaluaron de forma comparativa 10 aislamientos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. 1883, *B. bassiana* y *L. lecanii* sobre teleoginas ingurgitadas (hembras maduras y listas para desprenderse del hospedador) de *B. microplus* encontrándose el mayor efecto sobre la reproducción con el aislamiento Mt019 de *M. anisopliae* con el cual se obtuvo un 87% de inhibición en la reproducción a la dosis de 10^9 conidios/mL (FAO 2003).

Recientemente, Cardona (2005), evaluó el efecto de *B. bassiana* y *M. anisopliae* y una combinación de ambos hongos sobre *B. microplus* adultas y su oviposición en condiciones de laboratorio. En sus resultados se observó que tanto la supervivencia de los adultos como el porcentaje de eclosión de larvas se redujo por efectos del hongo entomopatógeno, especialmente por la mezcla de ambos.

El potencial biocontrolador del hongo *L. lecanii* contra *B. microplus*, demostrado en los estudios mencionados, justifica la búsqueda de aislados mas eficientes, no sólo en el control de las hembras teleoginas sino también en huevos o larvas. El objetivo de este estudio fue evaluar en el laboratorio la patogenicidad del hongo entomopatógeno *L. lecanii* (CIAT 215) en hembras ingurgitadas de *B. microplus* y sus huevos.

Materiales y Métodos

Recolección de las garrapatas. El estudio se realizó en el laboratorio de Micología del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia. Se colectaron manualmente aproximadamente 500 garrapatas teleoginas de *B. microplus* sobre bovinos en la Central Ganadera de la ciudad de Medellín. Las garrapatas se depositaron en frascos de vidrio de boca ancha (7cm de diámetro) que fueron tapados con gasa y llevados al laboratorio donde se verificó su identidad taxonómica utilizando las claves de López (1980) y Parra *et al.* (1999). Las garrapatas se lavaron con agua y se sumergieron durante un minuto en solución de hipoclorito de sodio al 1% para desinfectarlas, luego se secaron y pesaron individualmente en una

balanza (Adam Equipment, AE, ACB 600, $max = 600$ g, $d = 0,02$ g). Se conformaron tres grupos homogéneos en peso (el primero de 0,10 a 0,19 g, el segundo de 0,20 a 0,29 g y el tercero de 0,30 a 0,39 g).

Origen y mantenimiento de la cepa del hongo. El hongo *L. lecanii* aislado de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, 1856 (Hemiptera: Aleyrodidae) (CIAT 215) fue suministrado por el laboratorio Biotropica, Medellín, Colombia y cultivado a temperatura ambiente en botellas de arroz acidificado (ácido láctico) y en cajas de Petri con Agar Papa Dextrosa (PDA), MERCK KgaA Darmstadt, Alemania, al cual se le adicionó un macerado de garrapatas (1,5 g) obtenido después de someterlas por un tiempo de 30 minutos a soluciones de HCl al 0,2 N y NaOH al 0,1 N (Protocolo adaptado de Barranco *et al.* 2002). El hongo se mantuvo en el laboratorio de Micología del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia por un tiempo de cultivo de 20 días antes de la inoculación. Para reactivar *in vivo* la patogenicidad del hongo se realizaron bioensayos con 90 hembras de *B. microplus* ingurgitadas utilizando diferentes concentraciones como tratamientos: $1,25 \times 10^1$, $1,25 \times 10^5$ y $1,25 \times 10^8$ conidios/mL de *L. lecanii*. Las garrapatas muertas diariamente fueron llevadas a cámara de humedad para evaluar la conidiación del hongo como una prueba de su patogenicidad. Del hongo obtenido a partir de los cadáveres se realizaron cultivos monospóricos siguiendo la técnica descrita por Calle (2000). La determinación taxonómica y verificación del hongo, previo a cada ensayo, se realizó siguiendo las claves de Barnett (1967), Samson *et al.* (1984), Domsch y Gams (1993), Kirk *et al.* (2001) y Barnett y Hunter (2003).

Pruebas de Patogenicidad

Preparación de la suspensión de conidios. A partir de los cultivos en PDA y Arroz acidificado se preparó una suspensión inicial de conidios de *L. lecanii* en 200 mL de agua destilada con Tween 80 (0,05%), y se estimó su concentración mediante conteo de conidios utilizando cámara de Neubauer (Goettel e Inglis 1997; Pérez 1997). A continuación se prepararon las concentraciones de $1,25 \times 10^1$, $1,25 \times 10^5$ y $1,25 \times 10^8$ conidios/mL.

Bioensayos

1. Inoculación de hembras teleoginas de *Boophilus microplus*.

Se conformaron 16 grupos cada uno constituido por 30 hembras de *B. microplus* completamente ingurgitadas, homogéneas en cuanto a peso, tamaño y vitalidad. Se seleccionaron cuatro grupos como testigos, los doce grupos restantes fueron utilizados con las concentraciones a evaluar. Cada uno se sumergió en 100 mL de las suspensiones conidiales de *L. lecanii* ($1,25 \times 10^1$, $1,25 \times 10^5$ y $1,25 \times 10^8$ conidios/mL) durante diez minutos y los testigos se sumergieron en agua destilada estéril. Se eliminó el exceso de humedad y después cada garrapata se depositó de manera individual en una caja de Petri y fue incubada en cámara climatizada (WTBbinder 78532, Tuttlingen, Alemania) con temperatura controlada de $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$ y humedad relativa superior al 85% durante 21 días, periodo en el cual la hembra ingurgitada no necesita alimentarse y lleva a cabo la oviposición.

Después de la inoculación se determinó el período de prepostura, de oviposición y la supervivencia de las garrapatas. Luego de 21 días de realizado el ensayo y una vez finalizado el periodo de oviposición, se recogieron los huevos de cada garrapata, se pesaron en masa, cada masa de huevos se depositó en un tubo de ensayo y se llevaron a cámara climatizada en condiciones similares a las descritas anteriormente durante ocho días para medir el porcentaje de eclosión. Para evaluar el desarrollo del hongo en el cuerpo de las garrapatas muertas éstas se colocaron en cámara de humedad y se observaron diariamente, se estableció el tiempo de aparición del micelio hasta la invasión completa. Posteriormente se realizaron montajes con azul de lactofenol del hongo obtenido de algunas garrapatas muertas colonizadas para verificar la presencia de *L. lecanii* en el cuerpo.

2. Inoculación de huevos obtenidos de hembras teleoginas de *B. microplus*

Se recolectaron hembras de *B. microplus* teleoginas y se incubaron en cámara climatizada (a $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$ y humedad relativa superior a 85%) durante 21 días para obtener huevos. Después de este tiempo, los huevos se pesaron y se formaron 40 grupos de 0,1 g de peso y se sumergieron en 50 mL de las suspensiones de hongo así: diez para la concentración $1,25 \times 10^1$, diez para la concentración $1,25 \times 10^5$, diez para la concentración $1,25 \times 10^8$ conidios/mL, y diez para los testigos (agua destilada estéril). Luego se eliminaron los excesos de la solución y se dejaron sin tapar durante 24 horas para permitir un secado adecuado. Para cada tubo se utilizó un tapón con una envoltura adherible transparente que permitió la ventilación y se dejaron en cámara climatizada durante 21 días realizando observaciones al estereomicroscopio para determinar el tiempo de eclosión y el porcentaje de supervivencia larvaria postinoculación de los huevos.

Parámetros evaluados

Supervivencia de garrapatas adultas. Se registró diariamente el número de garrapatas adultas muertas para cada concentración del hongo *L. lecanii*.

Periodo de preoviposición y oviposición. Se calculó el periodo de preoviposición y oviposición en las hembras teleoginas inoculadas con las diferentes concentraciones del hongo.

Porcentaje de eclosión y supervivencia larvaria. Para los dos ensayos el porcentaje de eclosión se calculó mediante un conteo de cascarones y la supervivencia larvaria se determinó ocho días después de observar la eclosión de todos los huevos.

Índice de eficiencia de la conversión (IEC). (IEC) = Peso de los huevos de la unidad experimental / peso de las hembras de la unidad experimental al inicio del ensayo, es un parámetro cuantitativo utilizado para determinar la conversión del peso de una hembra ingurgitada en huevos (Benavides *et al.* 1999).

Eficiencia del hongo (EH). El índice de eficiencia de la conversión (IEC) de cada grupo de garrapatas tratadas se comparó con el IEC de los grupos control para obtener la eficiencia del hongo. $EH = (\text{IEC grupo control} - \text{IEC grupo tratado}) / (\text{IEC grupo control}) \times 100$ (Raymond *et al.* 2004).

Análisis estadístico. Las variables peso final, peso de la oviposición, periodo de preoviposición, periodo de oviposición, y porcentaje de eclosión de huevos se estudiaron mediante análisis de varianza bifactorial teniendo en cuenta como factores el peso inicial de la garrapata y la concentración del hongo. La mortalidad diaria para cada concentración se comparó mediante las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier aplicando la prueba Generalizada de Gehan Wilcoxon. Se calculó también el tiempo letal 50 (TL_{50}) para cada concentración. Las comparaciones múltiples de medias se efectuaron con la prueba de Newman-Keuls para $\alpha = 0,05$. Los análisis se realizaron con el paquete estadístico STATISTICA 7.0 (Statsoft, Inc. Tulsa, Ok, U.S.A.).

Resultados y Discusión

Periodos de preoviposición y oviposición. Independientemente de la concentración de *L. lecanii* el peso inicial más bajo de las hembras inoculadas de *B. microplus* (0,10 – 0,19 g) presentó mayor tiempo promedio de preoviposición (Anova Peso inicial: $F_{2,461} = 23,48$, $P < 0,001$. Concentración: $F_{3,461} = 1,75$; $P = 0,16$. Interacción: $F_{6,461} = 1,01$; $P = 0,42$) (Tabla 1). A diferencia de este resultado, Gallardo y Morales (1999) trabajando con *B. microplus* no inoculadas en condiciones de laboratorio ($23 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura y $85 \pm 10\%$ de humedad relativa y fotoperiodo de 12:12 horas Días: Noche) encontraron una correlación baja y positiva entre el peso inicial de las teleoginas y el periodo de preoviposición, ($r = 0,27$). Una correlación negativa como la encontrada en el presente estudio se registró por Davey *et al.* (1980) y la Universidad de la Habana (1974) (citados por Gallardo y Morales 1999), en este último trabajo se resaltó que solo existe esta correlación negativa entre los dos factores a temperaturas entre 30 y 32°C pero que dado que la correlación es débil quizás un número mayor de garrapatas podrían detectar lo que ocurre a temperaturas inferiores.

En el presente estudio se evaluaron 120 garrapatas en grupos de peso homogéneos a temperatura de $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$ (superior a la reportada por Gallardo y Morales y un poco inferior a la reportada por el trabajo de la Universidad de la Habana) y la relación entre las dos variables fue negativa (menor peso, mayor periodo de preoviposición), sugiriendo de esta manera que dicha correlación depende de la temperatura y que ella podría ser un factor crítico para aumentar o disminuir el periodo de preoviposición de acuerdo al peso de las garrapatas. En cuanto a la concentración ésta no tuvo efecto en dicho periodo, estos resultados concuerdan con lo encontrado por Cardona (2005) trabajando con *B. microplus*, utilizando *M. anisopliae* y *B. bassiana* en condiciones de laboratorio a concentración $1,25 \times 10^8$ conidios/mL. Además, Cardona (2005) encontró que el periodo de preoviposición fue de 5,42 y 5,5 días respectivamente, mucho mayor que el encontrado en este trabajo.

Por otro lado, el periodo de oviposición de *B. microplus* resultó influenciado significativamente tanto por el peso inicial como por la concentración (Tabla 1). La prueba de Newman-Keuls mostró que a medida que crece la concentración del hongo disminuye el periodo de oviposición (18,5, 16,3, 13,6 y 7,2 días respectivamente) y, por otra parte, las garrapatas con mayor peso inicial presentaron un periodo de oviposición más prolongado (14,8 días); sin embargo, el periodo más corto fue para el peso intermedio (0,20 – 0,29 g) con 13 días (ANOVA Peso inicial: $F_{2,461} = 13,41$; $P < 0,001$.

Tabla 1. Efecto del hongo *L. lecanii* sobre los periodos de preoviposición, oviposición, peso de oviposición y peso final en hembras de *B. microplus* en relación con peso inicial de las garrapatas en condiciones controladas de laboratorio. Media $\pm$ desviación estándar.

Dosificación	Peso inicial garrapata (g)	Periodo preoviposición (días)	Periodo oviposición (días)	Peso de oviposición (g)	Peso final garrapatas	IEC ER
Testigo	0,10-0,19	1,63 $\pm$ 0,56	17,80 $\pm$ 2,22	0,074 $\pm$ 0,028	0,024 $\pm$ 0,019	0,5103
1,25x10 ¹	0,10-0,19	1,62 $\pm$ 0,62	15,48 $\pm$ 3,28	0,073 $\pm$ 0,023	0,019 $\pm$ 0,017	0,5034
1,25x10 ⁵	0,10-0,19	1,93 $\pm$ 0,52	14,73 $\pm$ 4,35	0,063 $\pm$ 0,032	0,023 $\pm$ 0,027	0,4344
1,25x10 ⁸	0,10-0,19	1,70 $\pm$ 0,47	7,70 $\pm$ 0,88	0,066 $\pm$ 0,029	0,043 $\pm$ 0,023	0,4551
Testigo	0,20-0,29	1,37 $\pm$ 0,52	18,47 $\pm$ 2,02	0,123 $\pm$ 0,036	0,050 $\pm$ 0,028	0,5020
1,25x10 ¹	0,20-0,29	1,40 $\pm$ 0,59	14,86 $\pm$ 3,90	0,120 $\pm$ 0,038	0,044 $\pm$ 0,029	0,4897
1,25x10 ⁵	0,20-0,29	1,47 $\pm$ 0,73	12,41 $\pm$ 4,00	0,126 $\pm$ 0,035	0,052 $\pm$ 0,027	0,5142
1,25x10 ⁸	0,20-0,29	1,25 $\pm$ 0,54	6,22 $\pm$ 2,92	0,078 $\pm$ 0,047	0,095 $\pm$ 0,029	0,3183
Testigo	0,30-0,38	1,17 $\pm$ 0,46	19,20 $\pm$ 1,42	0,138 $\pm$ 0,045	0,077 $\pm$ 0,029	0,4058
1,25x10 ¹	0,30-0,38	1,33 $\pm$ 0,48	18,43 $\pm$ 1,91	0,130 $\pm$ 0,055	0,062 $\pm$ 0,020	0,3823
1,25x10 ⁵	0,30-0,38	1,24 $\pm$ 0,44	13,59 $\pm$ 4,08	0,166 $\pm$ 0,044	0,076 $\pm$ 0,038	0,4882
1,25x10 ⁸	0,30-0,38	1,27 $\pm$ 0,52	7,80 $\pm$ 2,85	0,116 $\pm$ 0,057	0,111 $\pm$ 0,033	0,3411

Concentración: $F_{3,461} = 266,4$; $P < 0,001$. Interacción: $F_{6,461} = 3,70$; $P = 0,0013$). Cardona (2005) además encontró que a 1,25 x 10⁸ conidios/mL el período de oviposición fue de 6,7 y 4,53 días respectivamente.

Gallardo y Morales (1999) encontraron que el período de preoviposición y oviposición de *B. microplus* sin tratamiento con hongo en condiciones controladas de laboratorio fueron mayores (4,74, 23,4 días respectivamente) que los obtenidos en nuestro estudio con los testigos. Al respecto, Gallardo y Morales, (1999) encontraron que durante el proceso de oviposición el 58,61% del peso de la garrapata se convirtió en huevos. Meléndez (1998) reporta que en hembras ingurgitadas el 55-60% de su peso corporal corresponde a huevos y el 40-45% restante a sangre y órganos.

Índice de eficiencia de la conversión. Al calcular el índice de eficiencia de la conversión (IEC) se encontró que para los testigos fue de 0,4727 y para las garrapatas inoculadas a la concentración más alta, 0,3715 lo que indica que *L. lecanii* reduce la conversión del peso corporal de la garrapata en huevos (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de eclosión de huevos, índice de eficiencia de la Conversión (IEC), eficiencia reproductiva (ER) y eficiencia del hongo (EH) sobre *B. microplus* inoculadas a diferentes concentraciones con *L. lecanii*.

Dosificación	Eclosión %	Índice de eficiencia de la conversión (IEC)	Eficiencia del hongo (EH) %
Testigo	93,8	0,4727	0
1,25x10 ¹	89,4	0,4584	3,025
1,25x10 ⁵	90,7	0,4789	-1,311
1,25x10 ⁸	74,4	0,3715	21,41

En cuanto a la concentración se encontró que solamente la más alta (1,25 x 10⁸ conidios/mL) redujo significativamente el peso de la masa de huevos (0,087 g.) comparado con el peso promedio de las demás que presentaron un peso similar (0,118; 0,106 y 0,112 g en orden decreciente respectivamente), (Tabla 1) (ANOVA Peso inicial: $F_{2,461} = 87,2$; $P < 0,001$. Concentración: $F_{3,461} = 12,1$; $P < 0,001$. Interacción: $F_{6,461} = 4,8$; $P < 0,001$). Aunque la interacción peso inicial versus concentración fue significativa, ésta no fue influyente (Fig. 1).

El porcentaje de eclosión de huevos que provenían de teleoginas, inoculadas con *L. lecanii* no resultó influenciado por el peso inicial de la garrapata pero si lo fue por la concentración del hongo. La concentración más alta obtuvo el porcentaje de eclosión más bajo (74,4%) mientras que las demás presentaron porcentajes similares (90,7, 89,4 y 93,8%) (ANOVA Peso inicial: $F_{2,432} = 0,54$; $P = 0,58$. Concentración: $F_{3,432} = 10,45$; $P < 0,01$. Interacción: $F_{6,432} = 1,52$; $P = 0,17$). Cardona (2005) en estudios similares realizados con *B. microplus*, a la concentración 1,25 x 10⁸ conidios/mL con *M. anisopliae* y *B. bassiana* en condiciones de laboratorio, encontró que el porcentaje de eclosión de larvas fue de 95% y 93,33% respectivamente.

El análisis de supervivencia de las hembras teleoginas de *B. microplus* inoculadas con diferentes concentraciones de *L. lecanii* mostró diferencias significativas entre las concentraciones del hongo $X_2 = 299,3$; $P < 0,001$ (Fig. 2). Las curvas se compararon entre sí siguiendo el método de Bonferroni con $\alpha = 0,017$. Se encontró que a mayor concentración del hongo fue menor el promedio de días de supervivencia como el TL_{50} (Tabla 3). Cardona (2005) con *B. microplus*, encontró que a esta misma concentración utilizando *M. anisopliae* y *B. bassiana*, el tiempo promedio de supervivencia de garrapatas adultas inoculadas fue de 15,1 y 11,4 días, respectivamente.

Por su parte, Benjamín *et al.* (2002) evaluaron en condiciones de campo y de laboratorio el efecto del hongo *M. anisopliae* sobre garrapatas adultas *Ixodes scapularis* Say, 1821 encontrando que a 4,0 x 10⁹ conidios/mL hubo una mortalidad del 53% y 96% respectivamente después de cuatro se-

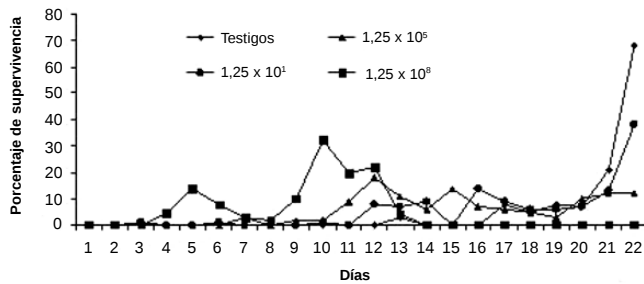


Figura 1. Peso de oviposición según el peso inicial de las garrapatas y la concentración del hongo *L. lecanii*.

manas de inoculado el hongo. En condiciones de campo la mortalidad más alta de garrapatas ocurrió entre las semanas dos y tres. La mortalidad del grupo testigo fue del 3% en las garrapatas infectadas en condiciones de campo y del 2% para las inoculadas en condiciones de laboratorio.

Comparando los resultados de supervivencia obtenidos en el presente estudio con los investigadores anteriores, se observa un mayor efecto potencial de *L. lecanii* sobre *B. microplus* seguido por *B. bassiana* y *M. anisopliae*, concluyéndose que a medida que se aumentan las concentraciones del hongo disminuye la supervivencia de las garrapatas. Igualmente, Khodadad *et al.* (2007) en un estudio en Irán evaluaron la virulencia de 11 aislamientos nativos de hongos entomopatógenos; *M. anisopliae* (tres aislamientos), *B. bassiana* (seis aislamientos) y *Lecanicillium psalliotae* (Treschow) Zare & W. Gams (dos aislamientos) que fueron estudiados contra diferentes estados de desarrollo de *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (Say, 1821) a diferentes concentraciones 10^3 , 10^5 , 10^7 conidios/mL, encontrando que el porcentaje de mortalidad de las hembras ingurgitadas era dependiente de la dosis con respecto a la concentración conidial usada y los porcentajes de mortalidad total observados fueron de 90-100%, 70 y 56,6% para *M. anisopliae* (IRAN 437 C y DEMI 001), *B. bassiana* (IRAN 403 C) y *L. psalliotae* (IRAN 468 C) postinoculación con 10^7 conidios/mL, respectivamente.

En laboratorio, la patogenicidad de *M. anisopliae* sobre los adultos de *I. scapularis* fue evaluada encontrándose que la mortalidad de la garrapata *I. scapularis* fue positivamente relacionada con la concentración de esporas de *M. anisopliae*, como fue demostrado previamente con adultos y larvas de *I. scapularis* por Zhioua *et al.* 1997 (citados por Benjamín *et al.* 2002). Una concentración de 10^6 conidios/mL tendría un efecto bajo en la mortalidad de garrapatas, mientras que una concentración de 10^7 conidios/mL produciría una mortalidad cercana al 50%. Similares resultados han sido registrados para *B. microplus* por otros autores (Benjamín *et al.* 2002). En cuanto a la conidiación, observada en los cadáveres de las garrapatas analizados en placas con azul de lactofenol para identificación, se encontró que a medida que aumenta la concentración del hongo también aumenta el porcentaje de garrapatas conidiadas (Tabla 4) y presentaron invasión total entre el noveno y catorceavo día postinoculación (Figs. 3A-E).

Cardona (2005) en estudios realizados con *B. microplus*, a $1,25 \times 10^8$ conidios/mL con *M. anisopliae* y *B. bassiana* en condiciones de laboratorio, encontró que a las dos semanas el 75% y el 90% de las garrapatas tratadas estaban completamente cubiertas por los hongos después de ocho días postinoculación. Benjamín *et al.* (2002) evaluaron el efecto de *M.*

anisopliae y *B. bassiana* a $4,0 \times 10^9$ conidios/mL en *I. scapularis* observando que el hongo requiere dos semanas para invadir las y que a mayor concentración de *L. lecanii*, se presenta mayor invasión de éste sobre la garrapata.

De los testigos el 45% resultaron infectados por hongos ambientales: *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp., bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona* sp. y *Serratia* sp., lo que concuerda con Jonsson (2004) quien plantea que muchas especies de bacterias como *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, y *Escherichia coli* han sido aisladas de garrapatas.

En este estudio las garrapatas inoculadas con diferentes concentraciones del hongo *L. lecanii* presentaron infección por bacterias, pero no infección por bacterias y hongos al mismo tiempo (Tabla 4). El aclaramiento de estas garrapatas inoculadas con KOH al 5, 10, 15 y 20% y las preparaciones con azul de lactofenol mostraron que la conidiación fue la causa principal de su muerte.

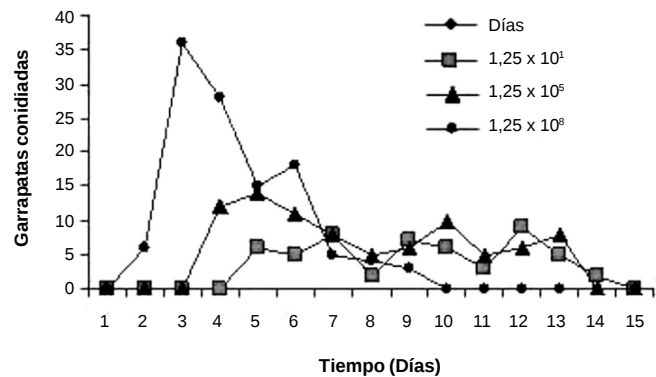


Figura 2. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para hembras teleginas de *B. microplus* inoculadas con el hongo *L. lecanii*.

Porcentaje de eclosión de huevos de *B. microplus* inoculados con *L. lecanii*. El porcentaje de eclosión, de la masa de huevos (0,1 g) al día ocho para la concentración $1,25 \times 10^8$ conidios/mL fue significativamente inferior al porcentaje para las demás concentraciones. (ANOVA Concentración: $F_{3,36} = 12,2$; $P < 0,001$). Khodadad *et al.* (2007) en un estudio en Irán al evaluar el efecto de aislamientos nativos de hongos entomopatógenos; *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *L. psalliotae* sobre los huevos de *R.(B.) annulatus* a una concentración de 10^7 conidios/ml encontraron que dichos hongos disminuyeron el porcentaje de eclosión de los huevos siendo de 89,1%, 35,5% y 56,3% para cada especie.

Tabla 3. Estadísticos descriptivos para la supervivencia de garrapatas hembras inoculadas con *L. lecanii*, durante 21 días ($n = 120$).

Dosificación	Media $\pm$ DE	TL ₅₀ (Mediana)
Testigo	20,2 $\pm$ 1,7	21
1,25 x 10 ¹	17,9 $\pm$ 3,7	19
1,25 x 10 ⁵	15,6 $\pm$ 4,0	15
1,25 x 10 ⁸	9,3 $\pm$ 2,6	10

Tabla 4. Causa y frecuencia de muerte de las garrapatas hembras inoculadas con las diferentes concentraciones del hongo *L. lecanii*.

Causa de muerte	Testigos	1,25x10 ¹	1,25x10 ⁵	1,25x10 ⁸
<i>L. lecanii</i>	0 (0%)	53 (44,2%)	85 (70,8%)	115 (95,8%)
Otros hongos o bacterias	54 (45%)	67 (55,8)	35 (29,2%)	5 (4,2%)
Causas naturales	66 (55%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Total	120	120	120	120

Con respecto al porcentaje de supervivencia de las larvas provenientes de huevos de *B. microplus*, 21 días después de inoculación, los resultados mostraron que la concentración 1,25 x 10⁸ conidios/mL presentó un porcentaje significativamente inferior al de las otras concentraciones (ANOVA Concentración: $F_{3,36} = 94,5$; $P < 0,001$). Este resultado se esperaba dado que las concentraciones mayores del hongo entomopatógeno poseen una mayor cantidad de conidios que se adhieren a la cutícula de la garrapata aumentando las probabilidades de que un mayor número de propágulos infectivos penetren y se multipliquen dentro del cuerpo de la garrapata, ocasionando daños, ya sea mecánicos (destrucción de tejidos), deficiencias nutricionales o liberación de toxinas que disminuyen la supervivencia (Steinhaus 1949; Tanada y Kaya 1993). Igualmente la densidad de los conidios debe lograr un umbral para alcanzar una efectiva penetración a la cutícula de la garrapata y la

posterior muerte del hospedero (Benjamín *et al.* 2002). Cardona (2005), utilizando masas de huevos de 2,85 g e inoculándolas a la concentración 1,25 x 10⁸ conidios/mL con *M. anisopliae* y *B. bassiana* en condiciones de laboratorio, encontró porcentajes de mortalidad superiores al 95% para ambos hongos.

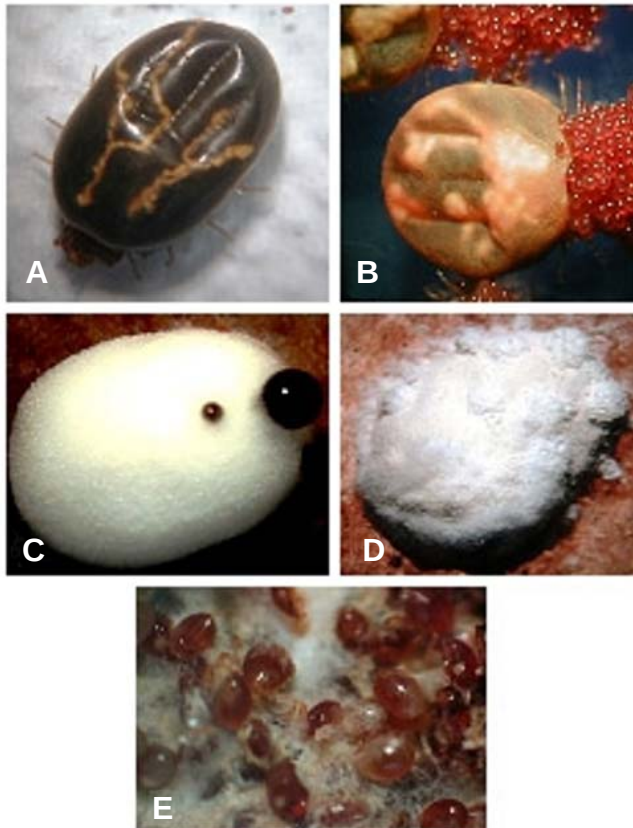
Conclusiones

El uso de hongos entomopatógenos, la aplicación de extractos vegetales, el pastoreo conjunto o alternado con animales no aptos para la garrapata, así como la utilización de una vacuna antigarrapaticida, son alternativas de control que se hallan bajo evaluación. Los resultados del presente trabajo sugieren que el aislado de *L. lecanii* (CIAT 215) debería ser probado en campo; en condiciones *in Vitro* el hongo mostró ser efectivo contra hembras teleoginas de *B. microplus* especialmente en la concentración 1,25 x 10⁸ conidios/mL que indujo un 100% mortalidad, un menor tiempo de supervivencia, un menor tiempo de oviposición y de eclosión de huevos provenientes de teleoginas de *B. microplus* inoculadas. Además, la habilidad de este aislado para penetrar la cutícula de garrapatas adultas y la duración del proceso de invasión total que para este caso fue entre el noveno y catorceavo día postinoculación, podría permitir en campo que garrapatas infectadas inoculen a las no infectadas.

Debido a la importancia económica que *B. microplus* representa al ser uno de los principales ectoparásitos presentes en la ganadería bovina, el estudio sobre su biología contribuye al mejor diseño de estrategias de control de esta garrapata. Más investigaciones sobre sus enemigos naturales, bioecología y dinámica de poblaciones permitirán mejorar puntos clave en los programas de control.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los profesores Abel Díaz Cadavid por el análisis estadístico y la redacción de los resultados, Sandra Uribe Soto, Fabio Pineda Gutiérrez y Duverney Chaverra Rodríguez por las correcciones y aportes científicos a este manuscrito, Edison Cardona Zuluaga por el planteamiento y sugerencias al proyecto. A los compañeros del laboratorio de Micología y Microbiología de la Universidad de Antioquia por el soporte técnico y logístico en el desarrollo de esta investigación. A Jorge Henao y a Saulo Correa Zapata por el soporte técnico del equipo utilizado en esta investigación. Se agradece a la Corporación para el Estudio de Patologías Tropicales y al Instituto de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Antioquia por el apoyo logístico y técnico.

**Figura 3.** A. Hembra de *B. Microplus*. B. huevos testigo. C. y D. *B. microplus* invadido con *L. lecanii*. E. Huevos de *B. microplus* invadidos con *L. lecanii*.

Literatura citada

- ARMENDÁRIZ, G. I. 2003. Informe de un caso de resistencia múltiple a ixodidas en *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) en Tamaulipas, México. *Veterinaria México* 34 (4): 397-401.
- BARNETT, H. L. 1967. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company, Minneapolis (U.S.A). 225 p.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. 2003. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. The American Pathology Society. Minnesota, Estados Unidos. 218 p.
- BARRANCO, F. J. E.; ALATORRE, R. R. M.; GUTIÉRREZ, R. G.; VINIEGRA, G. G.; SAUCEDO, C. 2002. Criteria for the selection of strains of entomopathogenic fungi *Verticillium lecanii* for solid state cultivation. *Enzyme and Microbial Technology* 30: 910-915.
- BENAVIDES, E. 1983. Observaciones sobre la fase no parasítica del ciclo evolutivo de *Boophilus microplus* en la altillanura plana colombiana. *Revista ICA*. 18 Número Extraordinario: 513-524.
- BENAVIDES, E.; ROMERO, N. A.; RODRÍGUEZ, B. J. 1999. Situación actual de resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a acaricidas. Primera parte. Carta Fedegán. Santa Fé de Bogotá, Colombia 59: 7-22.
- BENJAMÍN, M.; ZHIOUA, E.; OSTFELD, R. 2002. Laboratory and field evaluation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) for controlling questing adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* 39 (5): 723-728.
- CALLE, J. 2000. Vers um controle Microbiologique des populations Colombiennes de Triatomineae, insectes vecteurs de la maladie de chagas. Tesis presentada para obtener el título de Doctor de la Universidad de Paris V-René Descartes-Facultad de Medicina Necker. 141 p.
- CARDONA, Z. A. 2005. Evaluación de *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* sobre los estados de desarrollo de *Boophilus microplus*. Tesis de investigación presentada como requisito para optar al título de Magister en Entomología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. 73 p.
- CORONADO, A.; MUJICA, F.; HENRÍQUEZ, H.; TRIANA, D.; ALVARADO J. 1997. Efecto de factores abióticos en la oviposición de *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae) bajo condiciones de laboratorio. *Revista Científica (Maracaibo) FCV-LUZ* 7 (2): 87-91.
- DE LA CRUZ, M. J.; VAHOS, Z. R. 2004. Evaluación de los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* para el control de la garrapata *Boophilus microplus* a nivel de campo. *Revista de Investigaciones (Santa Fé de Bogotá)* 3 (1): 75-94.
- DÍAZ, Z. J.; CHUQUIYAURY, T. M. 2002. Estudio de los hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana* y *Verticillium lecanii*) como controladores biológicos de la garrapata (*Boophilus microplus*) en el ganado vacuno. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Universidad Nacional "Hermilio Valdizán, Huanuco". Asociación Peruana de Producción Animal APPA. 5 p.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W. 1993. Compendium of soil fungi. Traute Heidi Anderson. IHW Verlag. 1: 859 p.
- FAO. 2003. Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual con énfasis en América Latina. Título de la serie: ESTUDIOS FAO: Producción y Sanidad Animal 157- Dirección de Producción y Salud Animal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO. 64 p.
- FRAGAS, I.; GEMA, G. F.; HIDALGO, L. 2006. Formulación de hongos entomopatógenos como control biológico. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La Habana, Cuba. <<http://appaperu.org/appa2002/invpdf/sani/85Sanal.pdf>> Fecha último acceso: [15-dic-2006].
- GALLARDO, V. J. S.; MORALES, J. 1999. *Boophilus microplus* (acari: Ixodidae): preoviposición, oviposición, incubación de los huevos y geotropismo. *Bioagro* 11 (3): 77-87.
- GARCÍA, Z. 2002. Diagnóstico enzimático para identificar la resistencia de garrapatas a los productos químicos utilizados para su control. Ficha Tecnológica. CENID- Parasitología Veterinaria. INIFAP: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 2 p.
- GOETTEL, M.; INGLIS, G. D. 1997. Fungi Hyphomycetes, pp. 213-249. En: Lawrence Lacey (ed.). Manual of techniques in insect pathology. USDA, ARS. Great Britain Academia Press.
- HUMBER, R. A. 1997. Fungi Identification, pp. 153-185. En: Lawrence Lacey (ed.). Manual of techniques in insect pathology. USDA, ARS. Great Britain Academia Press.
- KHODADAD, P. K.; HAMIDREZA, H.; MEHDI, R. A.; SAEED, B.; RASOUL, Z.; MEHRAN, G.; MASOOMEH, S. G. 2007. Biological control of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* by different strains of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium psalliotae* fungi. *Parasitology Research* 100 (6): 1297-1302.
- KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. 2001. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi. Ninth Edition. CABI Publishing. 655 p.
- JONSSON, N. 2004. Integrated control programs for ticks on cattle: An: Examination of some possible components. FAO Animal Production and Health Paper. School of Veterinary Science, University of Queensland, Australia. 82 p.
- LAMBERTI, J. C.; BULMAN, G. M. 2002. Eficacia de cipermetrina y clorpirifos en pour-on frente a *Boophilus microplus*: Estudios en Brasil y Argentina. Trabajo presentado en Poster en el XXIº Congreso Brasileiro de Parasitología Veterinaria, en Río de Janeiro, 2-5 de septiembre, 2002.
- LÓPEZ, G. 1980. Biología, morfología y taxonomía de garrapatas de interés económico, pp. 1-16. En: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) Regional 4. (ed.). Control de garrapatas. Medellín, Colombia. Compendium 39: 171 p.
- MARÍN, R. F. 2002. Biología, control y resistencia en garrapatas *Boophilus microplus*. Curso - Taller Sobre "Manejo de Ganado Bovino, Ovino y Caprino". p. 61- 71.
- MARTÍNEZ, I. F.; ORTIZ, N. A.; GILES, H. I.; DE LABRA, V. G.; FRAGOSO, S. H.; NERI, O. S. 2002. Comparación biológica de cuatro ivermectinas al 1% para el control de la garrapata *Boophilus microplus*, mediante pruebas de campo. XXVI Congreso Nacional de BUIATRIA. Asociación Mexicana de Médicos veterinarios especialistas en bovinos A.C. Acapulco, Guerrero, México. 2 p.
- OBREGÓN G. M. 2002. Uso de microorganismos en el combate de patógenos e insectos en los cultivos agrícolas. Núcleo Agropecuario. Centro Nacional especializado en agricultura orgánica. Instituto Nacional de Aprendizaje INA. Técnica (Costa Rica) 7 (3): 16-25.
- PARRA, T. M.; PELÁEZ, S. L.; SEGURA, C. F.; ARCOS, D. J.; LONDOÑO, A. J.; DÍAZ, R. E.; VANEGAS, R. M. 1999. Manejo Integrado de garrapatas en bovinos. Módulo Instruccional. Publicación de CORPOICA, Regional 6. 80 p.
- PÉREZ, L. E. 1997. Desarrollo para evaluar virulencia de *Verticillium lecanii* sobre *Myzus persicae* y *Trialeurodes vaporariorum*. Tesis Magister en entomología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. 79 p.
- RAYMOND, K.; ROJAS, F.; BENAVIDES, E.; COTES, A. M.; VILLAMIZAR, L.; RONDEROS, V.; GARCÍA, P. 2004. Efecto de hongos entomopatógenos sobre la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Acari: Ixodida): Uso de activadores de patogenicidad. *Revista Colombiana de Entomología* 30 (1): 1-6
- RIJO, C. E.; NAVARRO, G.; RODRÍGUEZ, R. M.; MURILLO, E. Y. 1998. Efectividad de *Verticillium lecanii* sobre la fase parasítica de la garrapata *Boophilus microplus* (Acari: Metastigmata: Ixodidae). *Revista Colombiana de Entomología* 24 (1-2): 67-69.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; OORSCHOT, A. N. 1984. Introduction to food - borne fungi. Second edition. Central bureau voor Schimmelcultures. Institute of the Royal Netherlands. Academy of arts and sciences. 247 p.

- STEINHAUS, E. A. 1949. Principles of insect pathology. Chapter 10 Fungous infections (Mycoses), pp. 318-416. McGraw-Hill Book Company, Inc. United States of America. 757 p.
- TANADA, Y.; KAYA, H. K. 1993. Insect pathology. Chapter 10 Fungal infections, pp. 318-387. Academia Press, Inc. Harcourt Brace Javanovich. Printed United States of America. 666 p.
- VITORTE, S. E.; RIJO, C. E.; LUJÁN, M. M.; TOLEDO, D. C.; MARTÍNEZ, R. J. 1998. Biopesticida a base de *Verticillium lecanii* para el control biológico de garrapatas. Certificado de Autor de Invención. República de Cuba. 8 p.
- VITORTE, S. E.; RIJO, C. E.; LUJÁN, M. M.; TOLEDO, D. C.; MARTÍNEZ, R. J. 2003. Biopesticida a base de *Verticillium lecanii* para la lucha biológica contra garrapatas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. República de Cuba. Escuela de Medicina Veterinaria Universidad Nacional. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Boletín de Parasitología 4 (1): 4.

Recibido: 4-ene-2007 • Aceptado: 24-mar-2008

Sección Médica

Nota científica

Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) de la Reserva Serranía de Coraza y Montes de María, ColombiaLutzomyia* (Diptera: Psychodidae) from the Reserva Serranía de Coraza y Montes de María, ColombiaALVEIRO PÉREZ-DORIA¹, ELA HERNÁNDEZ-OVIEDO², EDUAR ELÍAS BEJARANO³

Resumen: El número de especies del género *Lutzomyia* registradas en la Costa Norte de Colombia, es relativamente pequeño al compararse con la diversidad observada en otras zonas biogeográficas del país. Esta situación puede atribuirse, en parte, a que persisten áreas sin estudiar en la región. El propósito de este estudio fue explorar la diversidad del género *Lutzomyia* en la Reserva Forestal Protectora Serranía de Coraza y Montes de María, departamento de Sucre. Los insectos se recolectaron en abril y junio de 2006 utilizando una trampa de luz tipo CDC modificada, operada entre las 18:00 y las 06:00 horas. Se obtuvieron 3.335 ejemplares pertenecientes a ocho especies, incluidas *L. evansi*, *L. panamensis*, *L. longipalpis*, *L. gomezi*, *L. trinidadensis*, *L. dubitans*, *L. carpenteri* y *L. camposi*. Cuatro especies de reconocida importancia médica se registraron como las más abundantes, *L. evansi* con el 97,24% de los flebotomíneos encontrados, seguida por *L. panamensis* con el 2,01%, *L. longipalpis* con el 0,33% y *L. gomezi* con el 0,27%. Se discute desde el punto de vista taxonómico y biogeográfico la presencia de *L. carpenteri* y *L. camposi*, que constituyen los primeros representantes del grupo *aragaoi* y del subgénero *Pressatia*, respectivamente, encontrados en la Costa Atlántica Colombiana.

Palabras clave: Flebotomíneos. Biodiversidad. Costa Caribe Colombiana. Leishmaniosis.

Abstract: The number of species of the genus *Lutzomyia* found in the North coast of Colombia is relatively small compared to the diversity observed in other biogeographic zones of the country. In part, this situation may be attributed to the many unexplored areas that remain in the region. The goal of this study was to examine the diversity of the genus *Lutzomyia* in the Reserva Forestal Protectora Serranía de Coraza y Montes de María, department of Sucre. Insects were collected in April and June 2006, by using a modified CDC light trap operated between 18:00 and 06:00 hours. A total of 3.335 specimens were obtained belonging to eight species, including *L. evansi*, *L. panamensis*, *L. longipalpis*, *L. gomezi*, *L. trinidadensis*, *L. dubitans*, *L. carpenteri* and *L. camposi*. Four medically important species were the most abundant, *L. evansi* with 97.24% of the sand flies found, followed by *L. panamensis* with 2.01%, *L. longipalpis* with 0.33%, and *L. gomezi* with 0.27%. The presence of *L. carpenteri* and *L. camposi* is discussed from the taxonomic and biogeographic viewpoint as the first representatives of the *Lutzomyia aragaoi* group and the subgenus *Pressatia*, respectively, found in the Colombian Atlantic coast.

Key words: Sand flies. Biodiversity. Colombian Caribbean coast. Leishmaniosis.

Introducción

Los insectos del género *Lutzomyia* França, 1924, transmiten la leishmaniosis en América, enfermedad producida por el parásito *Leishmania* Ross, 1903, que se aloja en la piel, mucosas o vísceras de los mamíferos, incluido el humano. Por su carácter endémico, la leishmaniosis es de especial interés en áreas rurales de la Costa Atlántica Colombiana, principalmente en Los Montes de María, considerado históricamente como el foco de leishmaniosis visceral más importante del país (Zambrano 2006). Hasta la fecha están registradas 26 especies de *Lutzomyia* en la Costa Norte, distribuidas en siete subgéneros, cuatro grupos de especies y una especie sin agrupar (Bejarano 2006; Cortés 2006). Esto constituye un número relativamente pequeño de taxones al compararse con la diversidad observada en otras zonas biogeográficas del país (Montoya-Lerma y Ferro 1999), y puede atribuirse, en parte, a que permanecen áreas sin estudiar en la región.

El grupo *aragaoi* Theodor, 1965, alberga las especies de *Lutzomyia* que exhiben cabeza ancha con ojos grandes, ascoides antenales con una prolongación proximal corta y palpómero quinto con una longitud equivalente a la suma del tercero y cuarto (Theodor 1965). El macho posee genitalia grande, coxita sin penacho de setas o con setas dispersas, y estilo con cuatro espinas, desprovisto de seta subterminal. Su parámetro es simple, comúnmente con una prominencia dorsal cerca de la base, mientras la punta de los filamentos genitales aparece modificada en algunos taxones. La hembra presenta espermatecas globulares lisas o cilíndricas estriadas, ductos individuales más largos que el ducto común, y armadura cibarial compuesta por dientes horizontales (entre cuatro y doce), con varias hileras de dientes verticales (Ibáñez-Bernal 2002).

El subgénero *Pressatia* Mangabeira, 1942, es un conjunto taxonómicamente estable de ocho especies flebotomíneas que tienen en común la presencia de uno a tres grupos de setas en la coxita, entre los cuales sobresale un penacho basal de setas

¹ Biólogo. Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Carrera 14 No. 16 B-32, Sincelejo, Colombia. alveiro_perez@yahoo.com.

² Zootecnista. Estación Experimental de Fauna Silvestre, Corporación Autónoma Regional de Sucre – CARSUCRE, Colosó, Colombia. ellayolima@yahoo.com.

³ Autor para correspondencia: Bacteriólogo, M. Sc. Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Carrera 14 No. 16 B-32, Sincelejo, Colombia. eduardelias@yahoo.com.

gruesas y aplanadas con el ápice curvo (Mangabeira 1942; Le Pont *et al.* 1998). Su estilo tiene tres espinas y una seta subterminal, mientras que el parámetro muestra una punta ventral aguda y una prolongación dorsal delgada. El lóbulo lateral es largo y curvo, y los filamentos genitales se encuentran parcialmente estriados. La hembra muestra espermatecas capsulares lisas, con botón terminal grande, y ductos individuales esclerotizados y de menor longitud que el ducto común. El cibario contiene dientes verticales pequeños situados lateralmente, cuatro dientes horizontales y arco cibarial completo (Young y Duncan 1994).

En el presente artículo se registra y analiza desde el punto de vista taxonómico y biogeográfico, la presencia de especies flebotomíneas del grupo *aragaoi* y del subgénero *Pressatia* en el Atlántico colombiano.

Materiales y Métodos

Área de estudio. El estudio se desarrolló en la Estación Experimental de Fauna Silvestre del municipio de Colosó, departamento de Sucre (09°31'48.0"N, 75°21'4.3"W), ubicada dentro de la Reserva Forestal Protectora Serranía de Coraza y Montes de María, que corresponde a las últimas estribaciones de la Cordillera Occidental de Los Andes. Ecológicamente, constituye un relicto de transición de bosque seco premontano a bosque seco tropical, con una altura de 300 msnm, una temperatura media de 27°C y una pluviometría que alcanza los 1.200 mm anuales.

Recolección y determinación taxonómica de flebotomíneos. Las recolecciones entomológicas se realizaron el 7 de abril y 28 junio de 2006 utilizando una trampa de luz tipo CDC (Center for Disease Center) operada con corriente eléctrica (110/120V, 60Hz), instalada a 1,5 m del suelo entre las 18:00 y las 06:00 horas. A la trampa CDC se le adaptó una bombilla de 7.5W, 120V, y un extractor tipo Sun Sp 200A, 115V, Ac-50/60 Hz, 0,21A, con el propósito de mejorar su rendimiento.

Los flebotomíneos recolectados se aclararon en lactofenol (ácido láctico y fenol, en proporción 1:1) durante 24-48 horas para visualizar sus estructuras internas y se montaron en láminas portaobjeto con el medio de Hoyer. La determinación de especie se llevó a cabo con las claves de Young y Duncan (1994) y Galati (2003). El material analizado está depositado en la "Colección de Artrópodos de Importancia Médica de la Universidad de Sucre – CAIMUS", en Sincelejo, Colombia.

Resultados y Discusión

Se obtuvieron 3.335 ejemplares pertenecientes a ocho especies de *Lutzomyia*, incluyendo *L. evansi* (Núñez-Tovar, 1924), *L. panamensis* (Shannon, 1926), *L. longipalpis* (Lutz y Neiva, 1912), *L. gomezi* (Nitzulescu, 1931), *L. trinidadensis* (Newstead, 1922), *L. dubitans* (Sherlock, 1962), *L. carpenteri* (Fairchild y Hertig, 1953) y *L. camposi* (Rodríguez, 1952) (Figs. 1 y 2). La distribución numérica por especie y sexo aparece detallada en la Tabla 1.

Entre las especies flebotomíneas encontradas sobresalen *L. evansi*, *L. longipalpis*, *L. panamensis* y *L. gomezi* por sus historiales epidemiológicos. *L. evansi* fue la especie que presentó la mayor abundancia (97,24%), lo que facilitaría su ya comprobado papel protagónico en la transmisión de leishmaniosis visceral en la Costa Atlántica (Travi *et al.* 1996; Cochero 2003), por encima de *L. longipalpis* que apareció pobremente representada (0,33%). *L. panamensis* y *L. gomezi* también se registraron en bajo número y han sido asociadas en Colombia, con la transmisión de *Le. (Viannia) panamensis* Lainson y Shaw, 1972, conocido agente etiológico de leishmaniosis cutánea (Santamaría *et al.* 2006). *L. carpenteri* y *L. camposi* son los primeros representantes del grupo *aragaoi* y del subgénero *Pressatia* hallados en el litoral Atlántico de Colombia.

En el territorio nacional el grupo *aragaoi* está conformado por *L. abunaensis* (Martins, Falcao y Silva, 1965), *L. aragaoi* (Costa Lima, 1932), *L. barrettoii barrettoii* (Mangabeira, 1942), *L. barrettoii majuscula* Young, 1979, *L. carpenteri* (Fairchild y Hertig, 1953) y *L. runoides* (Fairchild y Hertig, 1953) (Bejarano 2006). A este grupo también pertenece *L. texana* (Dampf, 1938), la cual aunque no está presente en Colombia, es una de las especies más similares morfológicamente a *L. carpenteri* (Ibáñez-Bernal 2002). No obstante, éstas se diferencian porque en *L. texana* la coxita es recta y tiene un grupo denso de setas en su parte media, mientras en *L. carpenteri* la coxita está claramente arqueada y posee escasas setas (Figs. 1A y 1B). Del mismo modo, en la primera especie el ápice de los filamentos genitales y del parámetro es recto, en tanto que en la segunda el extremo de los filamentos genitales tiene forma de gancho y la punta del parámetro se encuentra dirigida hacia arriba (Fig. 1C). La hembra de *L. carpenteri* exhibe la típica espermateca globular de los miembros de la serie *aragaoi*, pero se diferencia de otros taxones por tener sutiles estrías transversales en las paredes de los ductos espermáticos individuales (Fig. 1D). Aunque *L. carpenteri* pudo ser identi-

Tabla 1. Composición numérica y porcentual de especies de *Lutzomyia* de la Reserva Forestal Protectora Serranía de Coraza y Montes de María, Colombia.

Especie	Hembras	Machos	Total	Porcentaje
<i>L. evansi</i> (Núñez-Tovar, 1924)	2.502	741	3.243	97,24%
<i>L. panamensis</i> (Shannon, 1926)	56	11	67	2,01%
<i>L. longipalpis</i> (Lutz y Neiva, 1912)	8	3	11	0,33%
<i>L. gomezi</i> (Nitzulescu, 1931)	5	4	9	0,27%
<i>L. trinidadensis</i> (Newstead, 1922)	1	0	1	0,03%
<i>L. dubitans</i> (Sherlock, 1962)	1	0	1	0,03%
<i>L. carpenteri</i> (Fairchild y Hertig, 1953)	1	1	2	0,06%
<i>L. camposi</i> (Rodríguez, 1952)	0	1	1	0,03%
Total	2.574	761	3.335	100%

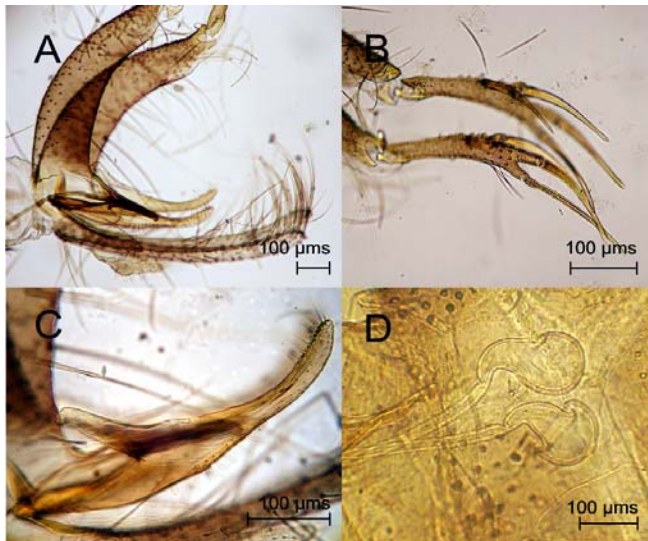


Figura 1. *Lutzomyia carpenteri* (Fairchild y Hertig, 1953). A. Terminalia masculina. B. Espinas estilares. C. Parámetro. D. Espermatecas.



Figura 2. *Lutzomyia camposi* (Rodríguez, 1952). A. Terminalia masculina. B. Parámetro. C. Grupo de setas.

ficada fácilmente por presentar la coxita arqueada, llama la atención que en las claves taxonómicas disponibles (Forattini 1973; Young 1979; Young y Duncan 1994; Galati 2003) no se mencione esta evidente característica morfológica que podría ser de utilidad en la determinación de especie.

De otro lado, *L. camposi* se distingue de las demás especies del subgénero *Pressatia* por poseer aproximadamente diez setas laminares insertadas en la porción ventral media del parámetro (Fig. 2A), el cual exhibe una dilatación lateral en el margen externo, recubierta por setas (Fig. 2B). Sobre el penacho de setas laminares de la coxita, aparece un segundo grupo de setas numerosas, entre las cuales sobresalen las distales que muestran una mayor longitud que las proximales y cuyo ápice es curvo (Fig. 2C). La hembra de *L. camposi* es prácticamente indistinguible de otras especies del subgénero *Pressatia*, por lo tanto la determinación de especie en este taxón se basa en las características morfológicas de los machos (Young y Duncan 1994). Los representantes del subgénero *Pressatia* registrados en Colombia son *L. camposi* (Rodríguez, 1952), *L. choti* (Floch y Abonnenc, 1941), *L. dysponeta* (Fairchild y

Hertig, 1952) y *L. triacantha* (Mangabeira, 1942) (Montoya-Lerma y Ferro 1999; Bejarano 2006).

El hallazgo de *L. carpenteri* y *L. camposi* en Colosó, es inesperado considerando que previamente se llevaron a cabo en la localidad recolecciones de flebotomíneos mediante trampas de luz tipo Shannon, trampas de papel impregnado con aceite de ricino y búsqueda en sitios de reposo (Travi *et al.* 2002). Por lo tanto, la detección de estos taxones ahora podría atribuirse, en parte, al tipo de trampa empleada, sin descartar las modificaciones realizadas a la misma.

La presencia y escasa abundancia de *L. carpenteri* y *L. camposi* en una zona de vida tipificada como transición de bosque seco premontano a bosque seco tropical denotan una rareza biogeográfica, que puede ser consecuencia de las particulares condiciones ecológicas que presenta esta reserva ecológica. En Colombia, el ámbito geográfico de *L. carpenteri* se encuentra restringido a los departamentos de Antioquia, Chocó y Cundinamarca, mientras que *L. camposi* se distribuye en Antioquia, Boyacá, Caldas, Chocó, Nariño, Santander, Tolima y Valle del Cauca (Montoya-Lerma y Ferro 1999, Bejarano 2006). Al analizar la distribución se observa que estas localidades comparten características ecológicas que corresponden generalmente a bosque húmedo, lo cual difiere de la zona de vida predominante en la mayor parte de la planicie del Atlántico colombiano. Esto permite plantear que los Montes de María alguna vez compartieron condiciones ecológicas semejantes a la que exhiben tales regiones, lo que facilitó la presencia de *L. carpenteri* y *L. camposi*. Más aún, es probable que en el pasado la extensión y abundancia de estas especies en la Costa Atlántica, hubiese sido mayor a la observada en la actualidad, pero los cambios climáticos y geológicos conllevaron a su aislamiento y reducción poblacional en Los Montes de María. Este hecho es soportado por la presencia en la reserva de algunas especies vegetales típicas de bosque húmedo, lo cual es consistente con lo expuesto por Hernández-Camacho *et al.* (1992), al plantear que en la zona existieron pequeños refugios de bosque nublado originados por la intercepción de vientos cargados de humedad.

Los nuevos hallazgos aumentan el número de especies de *Lutzomyia* registradas en el litoral Atlántico Colombiano a 28, representando ahora a ocho subgéneros, cinco grupos de especies y una especie no agrupada.

Agradecimientos

A la Universidad de Sucre y al Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología “Francisco José de Caldas” - COLCIENCIAS por la beca-pasantía otorgada a Alveiro José Pérez Doria, dentro del Programa de Jóvenes Investigadores.

Literatura citada

- BEJARANO, E. E. 2006. Lista actualizada de los psicódidos (Diptera: Psychodidae) de Colombia. *Folia Entomológica Mexicana* 45 (1): 47-56.
- COCHERO, S. 2003. Papel de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) como vector de leishmaniasis visceral en un foco de Los Montes de María. Tesis de Bióloga con énfasis en Biotecnología. Universidad de Sucre, Facultad de Educación y Ciencias, Sincelejo, Colombia. 97 p.
- CORTÉS, L. 2006. Foco de leishmaniasis en El Hobo, municipio de El Carmen de Bolívar, Bolívar, Colombia. *Biomédica* 26 (Supl.1): 236-241.

- FORATTINI, O. P. 1973. Entomologia Médica, 4º vol. Editora Edgard Blücher Ltda., São Paulo, Brasil. 658 p.
- GALATI, E. A. B. 2003. Morfologia, terminologia de adultos e identificação dos táxons da América, pp. 53-175. En: Rangel, E. F.; Lainson, R. (eds.). Flebotomíneos do Brasil. Editora Fiocruz, Rio do Janeiro, Brasil. 368 p.
- HERNÁNDEZ-CAMACHO, J.; WALSCHBURGER, T.; ORTÍZ-QUIJANO, R.; HURTADO-GUERRA, A. 1992. Origen y distribución de la biota suramericana y colombiana, pp. 55-104. En: Halffter, G. (ed.). La Diversidad Biológica de Iberoamérica I. Acta Zoológica Mexicana (nueva serie), Volumen Especial. Instituto de Ecología, Xalapa, México. 389 p.
- IBÁÑEZ-BERNAL, S. 2002. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de México. III. Las especies de *Lutzomyia* (*Psathyromyia*) Barretto, del grupo *Aragoi*, de *L. (Trichopygomyia)* Barretto, del grupo *Dreisbachi* y de *L. (Nyssomyia)* Barretto. Folia Entomológica Mexicana 41 (2): 149-183.
- LE PONT, F.; MARTÍNEZ, E.; TORREZ-ESPEJO, J. M.; DUJARDIN, J. P. 1998. Phlébotomes de Bolivie: description de cinq nouvelles espèces de *Lutzomyia* de la région subandine (Diptera, Psychodidae). Bulletin de la Société entomologique de France 103 (2): 159-173.
- MANGABEIRA, O. 1942. 7.a Contribuição ao estudo dos *Flebotomus* (Diptera: Psychodidae). Descrição dos machos de 24 novas espécies. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 37 (2): 111-218.
- MONTOYA-LERMA, J.; FERRO, C. 1999. Flebótomos (Diptera: Psychodidae) de Colombia, pp. 211-245. En: Amat, G.; Andrade-C., G.; Fernández, F. (eds.). Insectos de Colombia. Volumen II. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Jorge Álvarez Lleras. No. 13. Editora Guadalupe Ltda., Santafé de Bogotá, Colombia. 492 p.
- SANTAMARÍA, E.; PONCE, N.; ZIPA, Y.; FERRO, C. 2006. Presencia en el peridomicilio de vectores infectados con *Leishmania (Viannia) panamensis* en dos focos endémicos en el occidente de Boyacá, piedemonte del valle del Magdalena medio, Colombia. Biomédica 26 (Supl.1): 82-94.
- THEODOR, O. 1965. On the classification of American Phlebotominae. Journal of Medical Entomology 2 (2): 171-197.
- TRAVI, B. L.; MONTOYA, J.; GALLEGU, J.; JARAMILLO, C.; LLANO, R.; VÉLEZ, I. D. 1996. Bionomics of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) vector of visceral leishmaniasis in northern Colombia. Journal of Medical Entomology 33 (3): 278-285.
- TRAVI, B. L.; ADLER, G. H.; LOZANO, M.; CADENA, H.; MONTOYA-LERMA, J. 2002. Impact of habitat degradation on phlebotominae (Diptera: Psychodidae) of tropical dry forests in Northern Colombia. Journal of Medical Entomology 39 (3): 451-456.
- YOUNG, D. G. 1979. A review of the bloodsucking psychodid flies of Colombia (Diptera: Phlebotominae and Sycoracinae), Technical Bulletin 806. Agricultural Experiment Stations, Institute of Food and Agricultural Sciences, Gainesville, Florida, USA. 265 p.
- YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Memories of the American Entomological Institute, Number 54. Associated Publishers, Gainesville, Florida, USA. 881 p.
- ZAMBRANO, P. 2006. Informe de leishmaniasis, Colombia semanas 1 a 52 de 2005. Informe Quincenal Epidemiológico Nacional 11 (3): 40-43.

Recibido: 22-feb-2007 • Aceptado: 19-feb-2008

Nota científica

Primer registro de *Lutzomyia scorzai* y *Lutzomyia reburra* (Diptera: Psychodidae) en Antioquia, Colombia

First record of *Lutzomyia scorzai* and *Lutzomyia reburra* (Diptera: Psychodidae) in Antioquia, Colombia

DANIELA VERGARA¹, EDUAR ELÍAS BEJARANO², LINA MARÍA CARRILLO³,
DIANA SIERRA⁴, IVÁN DARÍO VÉLEZ⁵

Resumen: Durante el estudio de dos focos de leishmaniosis cutánea en el departamento de Antioquia, Colombia, se recolectaron siete especies de *Lutzomyia* y una de *Brumptomyia* así: *Lutzomyia gomezi*, *Lu. scorzai*, *Lu. trapidoi*, *Lu. triramula*, *Lu. panamensis*, *Lu. aragaoi*, *Lu. reburra* y *Brumptomyia galindoi*. Dos de estos taxones constituyen nuevos registros para el departamento, *Lu. scorzai* del subgénero *Helcocyrtomyia* y *Lu. reburra* del subgénero *Trichophoromyia*. Los individuos de *Lu. scorzai* se obtuvieron con una trampa de luz tipo Shannon en el municipio de Tarazá, mientras que los de *Lu. reburra* se recolectaron usando una trampa de luz tipo CDC instalada cerca de una cueva de armadillo, en el municipio de Urrao. Se comenta la importancia biogeográfica del hallazgo teniendo en cuenta la limitada distribución de ambas especies en el territorio colombiano.

Palabras clave: Flebotomíneo. *Helcocyrtomyia*. *Trichophoromyia*. Leishmaniosis.

Abstract: Seven species of *Lutzomyia* and one of *Brumptomyia* were collected while surveying two cutaneous leishmaniosis foci in the department Antioquia, Colombia, these are: *Lutzomyia gomezi*, *Lu. scorzai*, *Lu. trapidoi*, *Lu. triramula*, *Lu. panamensis*, *Lu. aragaoi*, *Lu. reburra* and *Brumptomyia galindoi*. *Lu. scorzai* (subgenus *Helcocyrtomyia*) and *Lu. reburra* (subgenus *Trichophoromyia*) are new records for the department. The specimens of *Lu. scorzai* were captured using a Shannon light trap in the municipality of Tarazá, while those of *Lu. reburra* were collected using CDC-like light traps near a nest of armadillo in the municipality of Urrao. The biogeographic importance of these findings is discussed given the limited distribution of both species in Colombia.

Key words: Sand fly. *Helcocyrtomyia*. *Trichophoromyia*. Leishmaniasis.

Introducción

Los miembros de la familia Psychodidae Newman, 1834, son insectos pequeños que muestran un vuelo irregular y tienen el cuerpo recubierto por pelos. Sus antenas están constituidas generalmente por 16 segmentos y sus alas poseen 10 venas longitudinales. Los psicódidos están distribuidos en una amplia variedad de nichos, aunque los estadios inmaduros requieren una cantidad moderada de humedad. La mayoría de los adultos son nocturnos y en el día se encuentran reposando en áreas sombreadas como agujeros en rocas o árboles (Quate y Vockeroth 1981).

Las especies de la subfamilia Phlebotominae Rondani, 1840, tienen un ciclo de vida que desarrollan en ecosistemas terrestres, incluidas áreas desérticas (Young y Duncan 1994). Las hembras son hematófagas y se asocian comúnmente con reptiles o mamíferos; en muchas regiones tropicales son de gran importancia como vectores de leishmaniosis, bartonelosis y algunas virosis como el virus de la estomatitis vesicular (Sherlock 2003). En el género americano *Lutzomyia* França, 1924, se han identificado a la fecha cerca de 470 especies, de éstas sólo el 10% están asociadas con la transmisión de leishmaniosis.

En Colombia, los flebotomíneos del género *Lutzomyia* se encuentran desde los 0 a los 2.400 msnm en una gran variedad de ecosistemas (Montoya-Lerma y Ferro 1999). A la fecha se han identificado 143 especies de *Lutzomyia* en el país (Bejarano 2006; Bejarano *et al.* 2006; Cabrera *et al.* 2006; Flórez y Ferro 2007), sólo nueve considerados como vectores de *Leishmania* spp., que son *Lu. longipalpis* (Lutz y Neiva, 1912), *Lu. evansi* (Nuñez-Tovar, 1924), *Lu. spinicrassa* Morales, Osorno, Osorno y Muñoz, 1969, *Lu. trapidoi* (Fairchild y Hertig, 1952), *Lu. umbratilis* Ward y Fraiha, 1977, *Lu. hartmanni* (Fairchild y Hertig, 1957), *Lu. gomezi* (Nitzulescu, 1931), *Lu. yuilli* Young y Porter, 1972, y *Lu. panamensis* (Shannon, 1926) (Montoya-Lerma y Ferro 1999; Santamaría *et al.* 2006). El objetivo de esta nota es registrar el hallazgo de *Lu. scorzai* (Ortiz, 1965) y *Lu. reburra* (Fairchild y Hertig, 1961) en el departamento de Antioquia, durante una evaluación entomológica de focos de leishmaniosis.

Los flebotomíneos se coleccionaron en área rural del municipio de Tarazá, noroccidente del departamento de Antioquia, cerca de la ladera del río Cauca, que registra una temperatura promedio de 27°C y una precipitación anual de 3.133 mm. Se empleó una trampa de luz tipo Shannon, la cual se instaló en

¹ Autor para correspondencia: B. Sc. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales - PECET, Universidad de Antioquia. Calle 62 No. 52-59, Medellín, Colombia. PhD student, Indiana University. verdaniela@gmail.com.

² M. Sc. Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre. Carrera 14 No. 16 B-32, Sincelejo, Colombia. eduardelias@yahoo.com.

³ M. Sc. Docente Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad de Antioquia. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales - PECET, Universidad de Antioquia. Calle 62 No. 52-59, Medellín, Colombia. linacarrillo@gmail.com.

⁴ M. Sc. Department of Microbiology, Immunology and Pathology, Colorado State University, Central receiving 200 W. Lake St. Campus Delivery 1619, CO 80523, USA. dsierra68@yahoo.com.

⁵ Ph. D. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales - PECET, Universidad de Antioquia. Calle 62 No. 52-59, Medellín, Colombia. id_vezel@yahoo.com.

una zona de arbustos distante 20 m de una vivienda y se manipuló por tres recolectores entre las 18:00 y las 21:00 horas, que corresponde a un periodo total de muestreo de nueve horas, también se colocaron trampas CDC sin éxito en ellas de captura. Por otro lado se llevaron a cabo recolecciones en el municipio de Urrao, situado al sur oriente de Antioquia, el cual posee una temperatura promedio de 20°C, con una extensión geográfica de 2.556 kms², incluidas 166.000 ha de bosque natural. Para el muestreo se usaron dos trampas de luz tipo CDC, instaladas en el intra y extra domicilio, operadas entre las 18:00 y las 06:00 horas durante tres días, para un periodo total de recolección de 72 horas. La trampa del extradomicilio se situó cerca de una cueva de armadillo (Dasyrodidae). Se utilizaron viales de 1.5 mL con etanol al 80% para transportar las muestras. En ambos lugares las trampas se localizaron cerca o en casas donde había personas con antecedentes de leishmaniosis.

La determinación a especie se realizó con la clave taxonómica de Young y Duncan (1994) y los ejemplares se depositaron en la "Colección de Vectores y Hospedadores Intermedios de Enfermedades Tropicales" (VHET) del Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET) de la Universidad de Antioquia en Medellín, Colombia.

Subfamilia Phlebotominae Rondani, 1840

Lutzomyia gomezi (Nitzulescu, 1931)

Material examinado: 86♀. COLOMBIA. Antioquia. Tarazá, La Esperanza. 07°42'35"N, 75°31'46"W, 50 m, 1-ago-2006. Trampa Shannon. Vergara, D. Carrillo, L. [VHET].

Lutzomyia scorzai (Ortiz, 1965)

Material examinado: 2♂. COLOMBIA. Antioquia. Tarazá, La Esperanza. 07°42'35"N, 75°31'46"W, 50 m, 1-ago-2006. Trampa Shannon. Vergara, D. Carrillo, L. [VHET].

Lutzomyia trapidoi (Fairchild y Hertig, 1952)

Material examinado: 1♀. COLOMBIA. Antioquia. Tarazá, La Esperanza. 07°42'35"N, 75°31'46"W, 50 m, 1-ago-2006. Trampa Shannon. Vergara, D. Carrillo, L. [VHET].

Lutzomyia triramula (Fairchild y Hertig, 1952)

Material examinado: 26♂. COLOMBIA. Antioquia. Urrao, Taitá. 06°18'58"N, 76°28'32"W, 50 m, feb-2002. Trampa CDC. Sierra, D. [VHET].

Lutzomyia panamensis (Shannon, 1926)

Material examinado: 22♀, 2♂. COLOMBIA. Antioquia. Urrao, Taitá. 06°18'58"N, 76°28'32"W, 50 m, feb-2002. Trampa CDC. Sierra, D. [VHET].

Lutzomyia aragaoi (Floch y Abonnenc, 1944)

Material examinado: 3♀, 10♂. COLOMBIA. Antioquia. Urrao, Taitá. 06°18'58"N, 76°28'32"W, 50 m, feb-2002. Trampa CDC. Sierra, D. [VHET].

Lutzomyia reburra (Fairchild y Hertig, 1961)

Material examinado: 11♀, 1♂. COLOMBIA. Antioquia. Urrao, Taitá. 06°18'58"N, 76°28'32"W, 50 m, feb-2002. Trampa CDC. Sierra, D. [VHET].

Brumptomyia galindoi (Fairchild y Hertig, 1947)

Material examinado: 2♀, 1♂. COLOMBIA. Antioquia. Urrao, Taitá. 06°18'58"N, 76°28'32"W, 50 m, feb-2002. Trampa CDC. Sierra, D. [VHET].

Comentarios: El hallazgo de *Lu. scorzai* y *Lu. reburra* en los municipios de Tarazá y Urrao, respectivamente, aumenta el número de flebotomíneos encontrados en el departamento de Antioquia a 58 y el número de especies de *Lutzomyia* a 55. La importancia de estos hallazgos radica en que amplía el conocimiento del ámbito geográfico de ambas especies en el territorio nacional (Montoya-Lerma y Ferro 1999; Bejarano 2006). *Lu. scorzai* está registrada sólo en seis de los 32 departamentos de Colombia, específicamente en Cauca, Cundinamarca, Nariño, Tolima, Risaralda y Valle del Cauca, mientras que *Lu. reburra* está restringida a cuatro departamentos, que son Cauca, Chocó, Nariño y Valle del Cauca. Sin embargo, las regiones de las cuales provienen los registros, muestran condiciones ambientales disímiles variando desde la zona selvática del Chocó cerca al mar Pacífico, pasando por áreas montañosas del altiplano cundiboyacense, hasta llegar a zonas cafeteras del Cauca. Considerando lo anterior, es probable que la distribución geográfica de estas especies en el territorio colombiano sea mayor a la observada hasta ahora.

Lu. scorzai es un insecto endémico de Colombia (Young 1979), Venezuela (Ortiz 1965) y Perú (Cáceres *et al.* 2000). En el país es escasamente registrado en estudios entomológicos debido a su restringido ámbito geográfico y baja densidad relativa (Barreto *et al.* 1997). Aunque a la fecha *Lu. scorzai* no está incriminado como vector de leishmaniosis, éste pertenece al subgénero *Helcocyrtomyia* Barreto, 1962, el cual posee importancia médica debido a que varias especies allí agrupadas participan en la transmisión de *Leishmania* spp. en diferentes países neotropicales, incluido Colombia (Young y Duncan 1994). Es importante destacar que en algunos lugares del territorio nacional se han recolectado hembras de *Lu. scorzai* usando cebo humano (Alexander *et al.* 1995; Barreto *et al.* 2006).

Por su parte, *Lu. reburra* que tampoco ha sido implicada como vector de leishmaniosis, aparece registrada a Costa Rica (Murillo y Zeledón 1985), Panamá (Fairchild y Hertig 1961), Colombia (Young 1979) y Ecuador (Young y Rogers 1984). Esta especie es el único miembro del subgénero *Trichophoromyia* Barretto, 1962, presente al norte de los Andes, teniendo en cuenta que los demás integrantes habitan en bosques amazónicos (Young y Duncan 1994). El hallazgo de *Lu. reburra* en las proximidades de una cueva de armadillo coincide con los estudios previos de Duque *et al.* (2004) en el departamento del Chocó, que habían señalado a este tipo de ambiente como el sitio predilecto de reposo y alimentación de la especie. Aunque las hembras del subgénero *Trichophoromyia* se caracterizan por no ser antropofílicas, *Lu. ubiquitalis* (Mangabeira, 1942) está incriminada en la transmisión de *Le. lainsoni* Silveira, Shaw, Braga e Ishikawa, 1987, en Brasil (Lainson *et al.* 1992).

Finalmente, teniendo en cuenta los antecedentes vectoriales de otras especies recolectadas como *Lu. gomezi*, *Lu. trapidoi* y *Lu. panamensis*, reconocidas transmisoras de leishmaniosis en Colombia, es probable que estén implicadas en la ocurrencia de los casos de leishmaniosis en los municipios estudiados. Sin embargo, se deben llevar a cabo estudios de incriminación vectorial en estas zonas para esclarecer el papel de las demás especies flebotomíneas en el ciclo de la enfermedad.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó dentro del marco del convenio firmado entre la Secretaría de Salud del departamento de Antioquia y

el Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET) de la Universidad de Antioquia. Agradecemos a las comunidades de La Esperanza en Tarazá y Taitá en Urrao por su colaboración.

Literatura citada

- ALEXANDER, B.; USMA, M. C.; CADENA, H.; QUESADA, B. L.; SOLARTE, Y.; ROA, W.; MONTOYA, J.; JARAMILLO, C.; TRAVI, B. L. 1995. Phlebotomine sandflies associated with a focus of cutaneous leishmaniasis in Valle del Cauca, Colombia. *Medical and Veterinary Entomology* 9 (3): 273-278.
- BARRETO, M.; BURBANO, M. E.; BARRETO, P. 1997. Nuevos registros de flebotominos (Diptera: Psychodidae) y triatominos (Hemiptera: Reduviidae) para Risaralda, Cauca y Valle del Cauca, Colombia. *Colombia Médica* 28 (3): 116-122.
- BARRETO, M.; BURBANO, M. E.; BARRETO, P. 2006. Registros de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) en nuevas localidades de Colombia. *Colombia Médica* 37 (1): 39-45.
- BEJARANO, E. E. 2006. Lista actualizada de los psicódidos (Diptera: Psychodidae) de Colombia. *Folia Entomológica Mexicana* 45(1): 47-56.
- BEJARANO, E. E.; DUQUE, P.; VÉLEZ, I. D. 2006. Redescrición de la hembra de *Lutzomyia vattierae* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) de la serranía de La Macarena, Colombia. *Biomédica* 26 (4): 556-561.
- CABRERA, O. L.; MOSQUERA, L.; SANTAMARÍA, E.; FERRO, C. 2006. Especies de *Lutzomyia* registradas en una Vereda del Municipio de San José del Guaviare, donde se notificaron casos de leishmaniasis cutánea. *Memorias, XLI Congreso Nacional de Ciencias Biológicas, Quibdo, Colombia*.
- CÁCERES, A. G.; GALATI, E. A. B.; PINTO, J.; PAREDES, R.; REÁTEGUI, E.; PÉREZ, J.; CHEVARRÍA, L.; YÁÑEZ, H.; ZORRILLA, V. 2000. Psychodidae (Diptera) del Perú I: Phlebotominae en Huánuco, Pasco y Cusco, su relación con la enfermedad de Carrión y la leishmaniosis tegumentaria. *Revista Peruana de Biología* 7 (1): 27-43.
- DUQUE, P.; VÉLEZ, I. D.; MORALES, M.; SIERRA, D. 2004. Sand flies fauna involved in the transmission of cutaneous leishmaniasis in Afro-Colombian and Amerindian communities of Choco, Pacific Coast of Colombia. *Neotropical Entomology* 33 (2): 255-264.
- FAIRCHILD, G. B.; HERTIG, M. 1961. Notes on the *Phlebotomus* of Panama (Diptera, Psychodidae). XVI. Descriptions of new and little-known species from Panama and Central America. *Annals of the Entomological Society of America* 54 (2): 237-255.
- FLÓREZ, L.; FERRO, C. 2007. Especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) encontradas en el municipio de Inírida, departamento de Guainía, Colombia. *Biomédica* 27 (Supl. 1): 222.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J.; SOUZA, A. A.; SILVEIRA, F. T.; FALQUETO, A. 1992. Further observations on *Lutzomyia ubiquitalis* (Psychodidae: Phlebotominae), the sandfly vector of *Leishmania (Viannia) lainsoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 87 (3): 437-439.
- MONTOYA-LERMA, J.; FERRO, C. 1999. Flebótomos (Diptera: Psychodidae) de Colombia, pp. 211-245. En: Amat, G.; Andrade-C., G.; Fernández, F. (eds.). *Insectos de Colombia. Volumen II. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Jorge Álvarez Lleras. No. 13. Editora Guadalupe Ltda., Santafé de Bogotá, Colombia*. 492 p.
- MURILLO, J.; ZELEDÓN, R. 1985. Flebótomos de Costa Rica. *Brenesia* 23: 1-137.
- ORTIZ, I. 1965. Contribución al estudio de los flebótomos americanos del grupo *sanguinarius* con la descripción de una nueva especie: *Phlebotomus scorzai* n. sp. (Diptera: Psychodidae). *Acta Biológica Venezolánica* 5 (2): 25-39.
- QUATE, L. W.; VOCKEROTH, J. R. 1981. Psychodidae, pp. 293-300. En: McAlpine, J. F.; Peterson, B. V.; Shewell, G. E.; Teskey, H. J.; Vockeroth, J. R.; Wood, D. M. (eds.). *Manual of Nearctic Diptera. Volume 1. Monograph No. 27. Research Branch, Agriculture Canada, Ottawa*. 674 p.
- SANTAMARÍA, E.; PONCE, N.; ZIPA, Y.; FERRO, C. 2006. Presencia en el peridomicilio de vectores infectados con *Leishmania (Viannia) panamensis* en dos focos endémicos en el occidente de Boyacá, piedemonte del valle del Magdalena medio, Colombia. *Biomédica* 26 (Supl. 1): 82-94.
- SHERLOCK, I. A. 2003. Importância médico-veterinária, pp. 15-21. En: Rangel, E.F.; Lainson, R. (eds.). *Flebotozíneos do Brasil*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil. 368 p.
- YOUNG, D. G. 1979. A review of the bloodsucking psychodid flies of Colombia (Diptera: Phlebotominae and Sycoracinae). *Technical Bulletin 806, Institute of Food and Agricultural Sciences, Agricultural Experiment Stations, Gainesville, Florida, USA*. 266 p.
- YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memories of the American Entomological Institute, Number 54. Associated Publishers, Gainesville, Florida, USA*. 881 p.
- YOUNG, D. G.; ROGERS, T. E. 1984. The phlebotomine sand fly fauna (Diptera: Psychodidae) of Ecuador. *Journal of Medical Entomology* 21 (5): 597-611.

Recibido: 5-may-2007 • Aceptado: 2-abr-2008

Sección Morfología, Comportamiento, Ecología, Evolución y Sistemática

Análisis morfométrico en especies de *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) del grupo *repleta* de ecosistemas semiáridos colombianosMorphometric analysis in species of *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) of group *repleta* of semiarid Colombian ecosystemsMARÍA MAGDALENA E. DE POLANCO¹, RODRIGO PRIETO S.², LUISA F. GALINDO³,
LUIS A. LOZANO B.⁴, MARINA ORDÓÑEZ V.⁵

Resumen: El presente trabajo evaluó los aedeagos de los machos de las especies *Drosophila martensis*, *D. starmeri*, *D. uniseta* y *D. aldrichi* recolectadas en las poblaciones colombianas de Camarones cerca de Riohacha, Santa Marta (Costa Norte) y Rosalía en el Desierto de la Tatacoa (Huila). Este carácter es uno de los que ha presentado más rápida evolución, favorecida por selección natural en los procesos de formación de nuevas especies, especialmente en insectos, por lo tanto es considerado un adecuado indicador para la determinación del avance de los mencionados procesos. El análisis morfométrico con descriptores de Fourier elípticos y el MANOVA-CVA realizado mostró que entre las poblaciones de *D. martensis* ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 0,1816$) al igual que en *D. uniseta* ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 0,0507$) no existieron diferencias estadísticas en la forma del aedeago, contrario a lo obtenido para *D. starmeri* ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 0,0004$). Esta misma prueba determinó que en las tres especies del conglomerado *martensis* la genitalia de los machos mostró diferencias significativas ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 4,23E-163$). Se evidencia que las tres especies del conglomerado *martensis* mantienen su identidad taxonómica en el análisis. Así mismo, al comparar cada una de las especies del conglomerado con *D. aldrichi*, otra especie del grupo *repleta* recolectada en Tatacoa y perteneciente al complejo *mulleri*, se encuentra que los datos de *D. martensis* aparecieron sobrepuestos con los de *D. aldrichi*, lo cual estaría mostrando que existe una relación filogenética más cercana entre estas dos especies que entre *D. martensis* y las otras de su mismo conglomerado.

Palabras clave: Especiación alopátrica. Variabilidad morfológica. Morfometría geométrica. Sinmórficas.

Abstract: The present work evaluated the aedeagus of males of the species *D. martensis*, *D. starmeri*, *D. uniseta* and *D. aldrichi* collected in the Colombian localities of Camarones near Riohacha, Santa Marta (North Coast) and Rosalía in the Tatacoa Desert (Huila Department). This character is one of those that has shown the most rapid evolution, favored by natural selection in the processes of new species formation, particularly in insects, and therefore it is considered an adequate indicator to determine the advancement of the aforementioned processes. Morphometric analysis with Fourier elliptical and MANOVA-CVA descriptors showed that among populations of *D. martensis* ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 0.1816$), as well as *D. uniseta* ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 0.0507$), there were no statistical differences in the form of the aedeagus, as opposed to that obtained for *D. starmeri* ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 0.0004$). This same test determined that in the three species of the *martensis* cluster, the genitalia of the males demonstrated significant differences ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 4.23E-163$). These results are evidence that each species in the *martensis* cluster maintains its taxonomic identity in the analysis. Likewise, when comparing each species of the cluster with *D. aldrichi*, another species of the *repleta* group collected in Tatacoa and belonging to the *mulleri* cluster, it was found that the data of *D. martensis* appeared to be superimposed over those of *D. aldrichi*, which would show the existence of a closer phylogenetic relation among these two species, than between *D. martensis* and others of the same cluster.

Key words: Allopatric speciation. Morphological variability. Geometric morphometrics. Siblings.

Introducción

El grupo *repleta* de amplia distribución en el Neotrópico es uno de los más grandes y más estudiados del género *Drosophila* (Etges *et al.* 2001; Mafla 2005). Los procesos evolutivos del grupo *repleta* y el conglomerado *martensis* en Colombia, han sido evaluados desde diferentes ángulos, que permiten visualizar la posible formación de razas geográficas y eventos de divergencia entre las especies, es así como se ha planteado que las poblaciones colombianas de la Costa Norte y el desierto de la Tatacoa de *Drosophila martensis* Wasserman & Wilson, 1957, *D. starmeri* Wasserman & Koepfer, 1973 y *D. uniseta* Wasserman & Koepfer, 1973, manifiestan divergen-

cias morfológicas y reproductivas (Álvarez *et al.* 1989; Rojas 2001; Pérez 2002; Prieto 2008) y a nivel cromosómico y molecular la existencia de polimorfismos (De Polanco 1998; Prada *et al.* 2003; Ordóñez *et al.* 2004).

Frecuentemente la prueba de muchas hipótesis evolutivas requiere análisis de patrones morfológicos (Sota y Kubota 1998; Adams *et al.* 2002), pues es claro que el resultado final de todo el proceso evolutivo vivido por las especies puede reflejarse en la diversidad fenotípica, particularmente de caracteres de rápida evolución como el aedeago. De tal manera, la variación morfológica es uno de los criterios básicos para evaluar el avance de procesos como la formación de razas geográficas y la divergencia entre las especies, aún más si se pre-

¹ Autor para correspondencia: Ph. D. Genética. Lab. de Citogenética, Fac. de Ciencias, Universidad del Tolima. Cll. 42 -Cra. 4 Santa Helena. Ibagué, Colombia. mmpol@lycos.com.

² M. Sc. Biología. Departamento de Biología. Universidad de Nariño. Ciudadela Universitaria, sede Torobajo. Tel: 7311449 ext. 263. San Juan de Pasto, Colombia. bioprieto@yahoo.es.

³ M. Sc. Biología. Instituto de Genética. Universidad de los Andes. Cra. 1 No. 18^a-10. Bogotá, Colombia.

⁴ M. Sc. Biología. Programa de Ingeniería Forestal. Universidad del Tolima. Cll. 42 Cra. 4 Santa Helena. Ibagué, Colombia. lozanobotache@hotmail.com.

⁵ M. Sc. Biología. Instituto de Genética. Universidad de los Andes. Cra. 1 No. 18^a - 10. Bogotá, Colombia. marordon@uniandes.edu.co.

sentan poblaciones aisladas en ecosistemas diferentes. Existe entonces una gran relación entre la variación de las características morfológicas y los procesos evolutivos particulares en las especies; por tal razón se consideró pertinente el análisis morfométrico del aedeago con el fin de evaluar estos aspectos en las poblaciones colombianas del conglomerado *martensis*. Para esto, la morfometría provee las técnicas que permiten cuantificar dicha variación y separar los componentes genético y ambiental del carácter examinado (Rohlf y Marcus 1993; Castañeda 2000; Jaramillo 2000; Jaramillo y Dujardin 2003). En este contexto en el presente trabajo se involucró el análisis de la forma del aedeago a través del análisis elíptico de Fourier de las especies *D. martensis*, *D. uniseta* y *D. starmeri* recolectadas en Riohacha y Santa Marta en la Costa Norte y el desierto de la Tatacoa (Huila) y *D. aldrichi* Patterson & Crown, 1940, recolectada solo en Tatacoa.

Materiales y Métodos

Se utilizaron machos recolectados en Camarones, Riohacha (12°28'N y 10°23'N, 71°06' y 63°W), y Santa Marta en la costa norte (11°15'N y 74°13'W) y en Rosalía en el desierto de la Tatacoa (3°N y 75°13'W) (Fig. 1), de las especies *D. martensis*, *D. starmeri*, *D. uniseta* y *D. aldrichi* (25 individuos por cada población y especie). Las recolecciones se realizaron en noviembre y diciembre del 2004 utilizando trampas con frutas fermentadas. Los adultos recolectados fueron sexados inmediatamente y se colocaron en grupos de máximo 15 individuos en frascos con medio de cultivo, modificado del de Sans de la Rosa *et al.* (1987). El establecimiento de un cepario se hizo necesario debido a la dificultad que presenta la determinación de los organismos en campo, en consecuencia de su carácter

de especies sinmórficas, así mismo, la plasticidad fenotípica propia de los organismos, tendrá un menor efecto sobre las diferencias morfológicas, como resultado de un ambiente de laboratorio uniforme. Como base para la determinación de las especies, se tomaron las descripciones morfológicas de Wasserman y Wilson (1957), Strickberger (1962), Vilela (1983) y De Polanco (1998).

Se dejaron machos adultos inmersos en KOH 1N durante seis días y posteriormente, se guardaron en frascos con alcohol (Brower 1996a, 1996b). El abdomen se diseccionó directamente en una gota de KOH y las estructuras quitinosas (*aedeagus* e *hypopygium*) se limpiaron en un estereoscopio e inmediatamente se llevaron al microscopio y se fotografiaron con cámara digital con objetivo de 40X.

El método geométrico utilizado en este trabajo, Series de Fourier elípticas, ha sido probado en otras investigaciones que involucran la genitalia de los machos, para tratar de evidenciar tipos de selección sexual postcopulatoria y herencia aditiva en caracteres cuantitativos (Liu *et al.* 1996; Laurie *et al.* 1997) se basa en la toma de coordenadas del contorno de la estructura a analizar "Outlines" y en el ajuste de los puntos con la función matemática de la ecuación:

$$f(\theta) = A_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos n\theta + \sum_{n=1}^N b_n \sin n\theta$$

Esta ecuación reproduce gráficamente la forma de la imagen de la estructura originalmente digitalizada, luego de varias repeticiones. Las curvas se comparan, usando los coeficientes que representan la forma en una matriz comprendida por las variables producto de las repeticiones en las armónicas, en un análisis multivariado (Adams *et al.* 2002; Galindo 2004). El método utiliza la forma del aedeago conservando su relación geométrica a lo largo del análisis como una configuración de datos en un espacio invariante con respecto a los efectos de la rotación, la escala y el desplazamiento de la estructura, tomando en cuenta la información proveniente de las relaciones espaciales entre las variables, en este caso las coordenadas que definen la forma (Lestrel 1997; Rohlf 1999; Adams *et al.* 2002).

Para este análisis se utilizaron los programas ACDSee 5.0 (copyright 2003 ACD, Systems Ltd.) para dibujar sobre la fotografía, TPSdig para convertir los puntos del dibujo a coordenadas TPS - EFA para hacer el paso de los datos a EFAWIN, EFAWIN para las series de Fourier elípticas (Laurie *et al.* 1997), Efa-estadística para convertir los datos de EFAWIN a matrices de extensión .TXT que pueden ser trabajadas desde Excel, Excel para construir las matrices, PAST 1.22 (copyright Hammer *et al.* 2001), para los análisis multivariados y Notepad para transcribir datos. Los programas de la serie TPS y EFA WIN se encuentran disponibles en <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>>.

Resultados y Discusión

Los individuos analizados presentaron una amplia variación inter-específica en la forma del aedeago, mostrando una forma particular en cada especie (Fig. 2). Las tres especies del conglomerado *martensis* mantienen su identidad taxonómica, manifestando diferencias estadísticas entre si en el carácter utilizado. Esto se refleja en el análisis canónico discriminante



Figura 1. Mapa de Colombia y la ubicación de las tres zonas de muestreo.

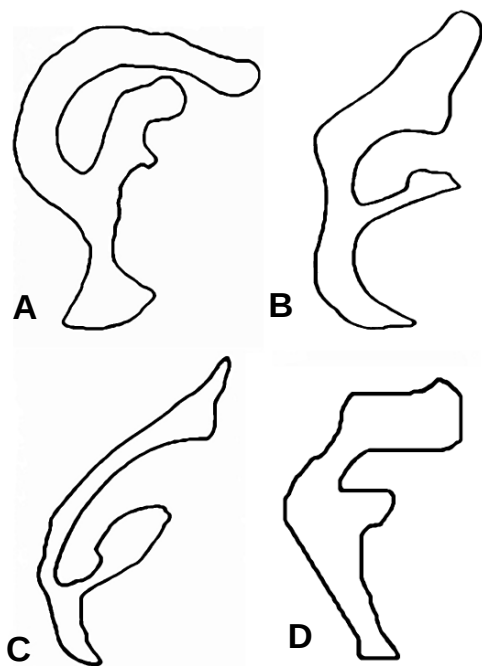


Figura 2. Contorno digitalizado del aedeago a partir de imágenes digitales de 400X: **A.** *D. starmeri*. **B.** *D. martensis*. **C.** *D. aldrichi*. **D.** *D. uniseta*.

(CVA), entre las cuatro especies presentes en la Tatacoa: *D. martensis*, *D. uniseta*, *D. aldrichi* y *D. starmeri* (Fig. 3), el cual mostró diferencias entre las especies ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 7,516\text{E-}83$, $P_{\lambda \text{ wilk}} = 1,357\text{E-}41$), al igual que el CVA entre *Drosophila aldrichi* y las tres especies provenientes de Camarones ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 3,286\text{E-}63$, $P_{\lambda \text{ wilk}} = 2,189\text{E-}30$) (Fig. 4).

Hubo diferencias estadísticas entre *D. aldrichi* y las dos especies de Santa Marta ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 4,2\text{E-}29$, $P_{\lambda \text{ wilk}} = 1,052\text{E-}9$) (Fig. 5), con lo que se puede atribuir la condición de carácter diagnóstico de especie al aedeago de los machos. El CVA entre las nueve agrupaciones muestra diferencias significativas entre las poblaciones y entre las especies ($P < 0,05$) en Wilk $4.23\text{e-}163$. Las gráficas señalan la gran similitud entre *D. martensis* y *D. aldrichi*, al ser comparadas en todas las poblaciones y confirman las diferencias entre estas dos especies y *D. uniseta* y *D. starmeri* (Fig. 6).

El CVA entre las tres poblaciones de *Drosophila martensis*: Tatacoa, Camarones y Santa Marta no mostró diferencias significativas entre las poblaciones ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 0,1816$, $P_{\lambda \text{ wilk}} = 0,1652$), lo que indica que para esta especie no hay evidencia de formación de razas, aunque si se empieza a notar una clara distribución de polimorfismos, propios de cada una de las tres poblaciones. La misma prueba en *D. starmeri* para Tatacoa, Camarones y Santa Marta, permitió establecer diferencias significativas ($P < 0,05$), $0,0004799$ en Wilk, lo cual apoya la hipótesis de formación de razas geográficas. Aunque no hay una total separación de grupos, pues aún se observan traslapes, la diferenciación es más clara que en *D. martensis*. Las dos poblaciones de *D. uniseta*: Tatacoa y Camarones, parecen estar en el límite del valor significativo ($P_{\lambda \text{ wilk}} = 0,05079$, $P_{\lambda \text{ wilk}} = 0,04878$) aunque empieza a notarse una clara diferenciación de polimorfismos propios de cada una de las poblaciones, en las zonas no traslapadas.

Del análisis del contorno de los aedeagos se evidencia la formación de razas geográficas en *D. starmeri* tendiendo en

cuenta que la variación morfológica es un reflejo de la diferente arquitectura genética y de los procesos microevolutivos asociados con las condiciones ecológicas que pueden ser particulares. Precisamente en este caso se compararon poblaciones en ecosistemas totalmente diferentes como lo son poblaciones costeras en el caso de Riohacha y Santa Marta con una diversidad más baja de especies cactáceas y la población del desierto de la Tatacoa en donde las condiciones edáficas y la vegetación cactácea es más diversa. La variación encontrada en el contorno del aedeago de *D. starmeri* puede ser el resultado de procesos estocásticos o de la acción de la selección natural, sin embargo, antes de determinar cual de estos mecanismos es el responsable de la variación inter-poblacional en esta especie, es patente que la existencia de variación propia en cada población sustentada en cualquiera de las dos hipótesis y en la imposibilidad de ser compartida por el aislamiento geográfico se ajusta a las primeras etapas del modelo de especiación alopátrica el cual incluye la formación de razas geográficas.

En *D. uniseta* se empiezan a definir polimorfismos propios de cada población al observarse la formación de al menos dos grupos de individuos dentro de cada población. *D. martensis* y *D. aldrichi* se sobrepone totalmente como si fueran la misma especie, pero se diferencian perfectamente de *D. starmeri* y *D. uniseta*. La alta similitud en la forma del aedeago entre *D. aldrichi* y *D. martensis* es muy interesante bajo el

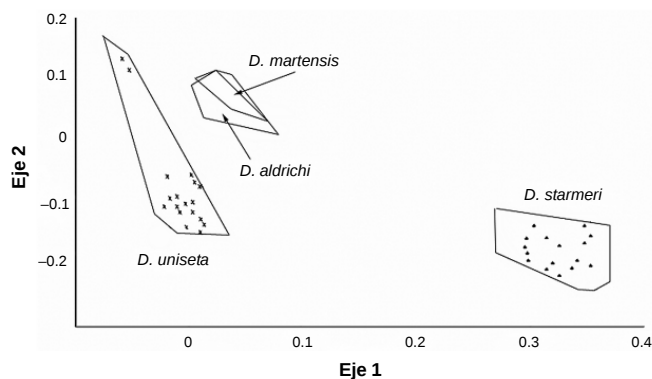


Figura 3. Ordenamiento de los ejes canónicos luego del análisis discriminante, para la forma del aedeago a través del método "outlines" en las cuatro especies de Tatacoa.

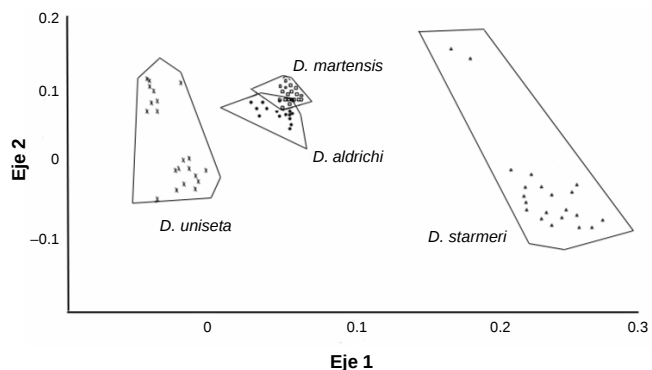


Figura 4. Ordenamiento de los ejes canónicos luego del análisis discriminante, para la forma del aedeago a través del método "outlines" entre *Drosophila aldrichi* y las tres especies de Camarones: *D. uniseta*, *D. starmeri* y *D. martensis*.

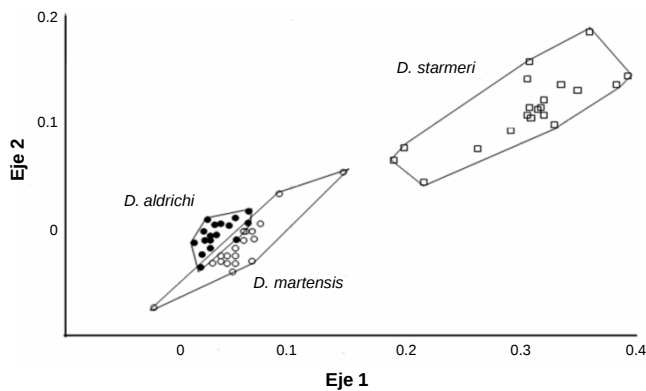


Figura 5. Ordenamiento de los ejes canónicos luego del análisis discriminante, para la forma del aedeago a través del método “outlines” entre *Drosophila aldrichi* y las dos especies de Santa Marta. (*D. starmeri*, *D. martensis*).

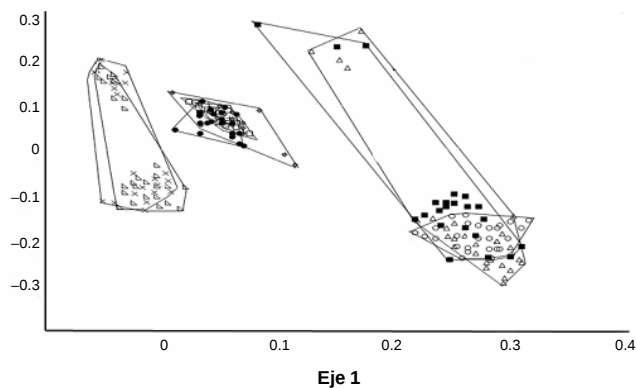


Figura 6. Ordenamiento de los ejes canónicos luego del análisis discriminante, para la forma del aedeago a través del método “outlines” entre las nueve agrupaciones: *D. aldrichi* (•), *D. starmeri* Sta. Marta (■), *D. martensis* Sta. Marta (+), *D. uniseta* Camarones (x), *D. starmeri* Camarones; *D. martensis* Camarones; *D. uniseta* Tatacoa (△), *D. starmeri* Tatacoa; MT= *D. martensis* Tatacoa. *Drosophila aldrichi* (•) y las tres especies de Camarones: *D. uniseta* (x), *D. starmeri* (Δ) y *D. martensis* (□).

contexto planteado por Wasserman y Ruiz (1993), quienes definen a *D. aldrichi* no como una única especie sino como una categoría “mixed bag” o ensalada de formas homogéneas, pudiendo ser un grupo de especies crípticas al determinarlas por simple inspección, solo distinguibles por pruebas de apareamiento, lo que plantea que se debe hacer un estudio sistemático de su morfología y reproducción, no solo para determinar la naturaleza de la categoría “*D. aldrichi*” si no también para entender la evolución de las especies de su conglomerado y la relación con las del conglomerado *martensis*, particularmente con *D. martensis*.

La evolución requiere la sucesión de una serie de hechos que generalmente se hallan distribuidos en un periodo considerable por lo que resulta difícil determinar todos y cada uno de estos. A pesar de esto, es claro con estos resultados que la forma del eadeago puede constituirse en un carácter clave en el esclarecimiento del proceso evolutivo del grupo *repleta* de modo que con el modelo biológico utilizado se han encontrado evidencias de este fenómeno que en teoría resulta abstracto. Así mismo, es una herramienta fundamental en la resolu-

ción de el problema taxonómico de las especies sinmorficas o crípticas de dicho grupo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Comité Central de Investigaciones de la Universidad del Tolima por la financiación del trabajo.

Literatura citada

- ADAMS, D. C.; ROHLF, F. J.; SLICE, D. E. 2002. Geometric morphometrics: ten years of progress following the ‘Revolution’. Italian Journal of Zoology. Special issue of the workshop in Rome.
- ÁLVAREZ, D. IANNINI; CÁRDENAS, H.; HOENIGSBERG, H. F. 1989. Population Genetics in the American Tropics XXXIX: Asymmetry as a divergence factor in demes of *Drosophila pseudoobscura* in the cundiboyacense altiplano of Colombia. *Evolución Biológica* 3: 269-311.
- BROWER, A.V. Z. 1996a. Parallel RACE formation and the evolutionary of mimicry in *Heliconius* butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Evolution* 50 (1): 195-221.
- BROWER, A.V. Z. 1996b. A new mimetic species of *Heliconius* (Lepidoptera: Nymphalidae), from southeastern Colombia, revealed by cladistic analysis of mitochondrial DNA sequences. *Zoological Journal of the Linnean Society of London* 116: 317-332.
- CASTAÑEDA, H. C. 2000. Análisis morfológico comparativo en *Drosophila starmeri* de las poblaciones de Camarones (Guajira), Santa Marta (Magdalena) y Tatacoa (Desierto de la Tatacoa, Huila). Bogotá. Tesis Maestría. Universidad de los Andes, Instituto de Genética.
- DE POLANCO, M. M. E. 1998. Estudios cromosómicos comparados de *Drosophila repleta* (Cepa Siboney, Cuba) vs. *Drosophila repleta* (Wharton 1942) y *Drosophila martensis* (Valledupar, Barrancas y Riohacha), Tesis doctoral, Universidad de los Andes.
- ETGES, J. W.; ARMELLA, A. M.; O’GRADY, P.M.; HEED, B. W. 2001. Two new species of *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) in the repleta group from Mexico. *Annals of the Entomological Society of America* 94 (1): 16-20.
- GALINDO, L. F. 2004. Evaluación del estatus sistemático de *Heliconius tristero* Brower (Lepidoptera: Nymphalidae): datos morfométricos, observaciones ecológicas y experimentos de cruces genéticos. Tesis de Maestría en Biología, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
- HAMMER, O.; HARPER, D.; RYAN, P. 2001. Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontología electrónica* 4 (1): 9.
- JARAMILLO, N. 2000. Caracterización en tamaño y forma de los caracteres métricos y su interés en los estudios poblacionales aplicados a los *Triatominae*. Universidad de Antioquia, Tesis de doctorado en Ciencias Básicas Biomédicas, Medellín.
- JARAMILLO, N.; DUJARDIN, J. P. 2003. Análisis morfométrico: Significado biológico del tamaño y la conformación. pp. 151-166. In: Guhl, F.; Schofield, C. J. (eds.). *Proceedings Fourth International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae*, Cartagena de Indias (ECLAT 4). CIMPAT, Universidad de los Andes, Corcas Editores Ltda., Bogotá, Colombia.
- LAURIE, C.; TRUE, J. R.; LIU, J.; MERCER, J. M. 1997. An introgression analysis of quantitative trait loci that contribute to a morphological difference between *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. *Genetics* 145: 339-348.
- LESTREL, P. (ed.) 1997. Fourier descriptors and their applications in Biology. Cambridge Univ. Press. 466 p.
- LIU, J.; MERCER, J. M.; STAM, L.; GIBSON, G.; ZENG, Z.; LAURIE, C. 1996. Genetic analysis of a morphological shape difference in the male genitalia of *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. *Genetics* 142: 1129-1145.

- MAFLA, A. 2005. Ciclos de vida y componentes de la aptitud de *Drosophila inca* y *D. yangana* (Diptera, Drosophilidae). Iheringia Série Zoológica 95 (1): 89-91.
- ORDÓÑEZ, M.; ARENAS, A.; BETANCOURT, L. A.; DE POLANCO, M. M. 2004. Análisis electroforético de las relaciones evolutivas en las especies de *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) del enjambre *martensis*: *D. martensis*, *D. starmeri* y *D. uniseta*. Revista Colombiana de Entomología 30 (1): 65-74.
- PÉREZ, C. 2002. Selección sexual y cortejo entre poblaciones colombianas de *Drosophila starmeri*. Trabajo de Grado (Biólogo). Universidad de los Andes. Instituto de Genética. 97 p.
- PRADA, C. F.; De POLANCO, E. M.; ORDÓÑEZ, M. 2003. Citogenética de *Drosophila starmeri* (Diptera: Drosophilidae) de dos ecosistemas áridos aislados colombianos. Revista Colombiana de Entomología 29 (1): 83-88.
- PRIETO, R. 2008. Análisis morfométrico de cuatro especies del grupo *repleta*: *D. martensis*, *D. starmeri*, *D. uniseta* y *D. aldrichi* de dos ecosistemas semiáridos, desierto de la Tatacoa y costa norte colombiana. Tesis de Maestría. Universidad del Tolima. 110 p.
- ROHLF, F. J. 1999. Shape statistics: procrustes superimposition and tangent spaces. Journal of Classification 16: 197-223.
- ROHLF, F. J.; MARCUS, L. F. 1993. A revolution in morphometrics. Trends in ecology and evolution 8 (4): 129-132.
- ROJAS, M. A. P. 2001. Análisis del aislamiento reproductivo en las especies cactofílicas del enjambre *martensis*, en dos regiones Colombianas (Costa Norte y Desierto de la Tatacoa). Bogotá. Tesis Maestría. Universidad de los Andes, Instituto de Genética. 105 p.
- SANS DE LA ROSA, M.; MORENO-ROSSI, A.; BUSTOS, E. 1987. Nuevo medio de cultivo para las especies de *Drosophila starmeri*, *Drosophila uniseta*, *Drosophila martensis*, y *Drosophila venezolana* del grupo *repleta* del enjambre *martensis*, recientemente colectadas en los desiertos de la Guajira Colombiana. Evolución Biológica 2: 305-306.
- SOTA, T.; KUBOTA, K. 1998. Genital lock and key as a selective agent against hybridization. Evolution 52 (5): 1507-1513.
- STRICKBERGER, M. N. 1962. Experiments in genetics with *Drosophila*. John Wiley; New York. 345 p.
- VILELA, R. C. A. 1983. Revision of the *Drosophila repleta* species group (Diptera, Drosophilidae). Revista Brasileira de Entomología 27 (1): 78-81.
- WASSERMAN, M.; KOEPFER, H. R. 1973. Cytogenetics of the South American *Drosophila mulleri* complex: the *martensis* cluster, more interespecific shuffling of inversions. Genetics 93: 935-946.
- WASSERMAN, M.; RUIZ, A. 1993. Evolutionary cytogenetics of the *Drosophila buzzatii* species complex. Heredity 70: 582-596.
- WASSERMAN, M.; WILSON, F. D. 1957. Further studies on the *repleta* group. University of Texas Publications 5721: 132-156.

Recibido: 7-abr-2007 • Aceptado: 21-mar-2008

***Technomyrmex* (Formicidae: Dolichoderinae) in the New World: synopsis and description of a new species**

Technomyrmex (Formicidae: Dolichoderinae) en el Nuevo Mundo: sinopsis y descripción de una nueva especie

FERNANDO FERNÁNDEZ¹ and ROBERTO J. GUERRERO²

Abstract: A synopsis of dolichoderine ants of the genus *Technomyrmex* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) in the New World is offered including notes, keys, pictures of all known species, and the description of *T. gorgona* sp. n. from SW Colombia. This is the first record of the genus from continental South America. Currently *Technomyrmex* comprises six species (two extinct, marked by *) in the New World: **T. caritatis* Brandão & Baroni Urbani (Dominican amber), *T. difficilis* Forel (tramp species collected in Washington, Puerto Rico, Antigua and Nevis), *T. fulvus* (Wheeler) (Costa Rica, Panama and Colombia), *T. gorgona* sp. n. (Colombia), the first record for Colombia and South America, **T. hispaniolae* (Wilson) (Dominican amber) and *T. vitiensis* Mann (tramp species collected in California).

Key words: Ants. South America. Taxonomy. *Technomyrmex*.

Resumen: Se ofrece una sinopsis de las hormigas dolichoderinas del género *Technomyrmex* Mayr (Hymenoptera: Formicidae), incluyendo notas, claves, fotografías para todas las especies conocidas en el Nuevo Mundo, y la descripción de *T. gorgona* sp. n. del SO de Colombia. Este es el primer registro del género para la parte continental de América del Sur. Actualmente, *Technomyrmex* está constituido por seis especies (dos extintas, indicadas con un *) en el Nuevo Mundo: **T. caritatis* Brandão & Baroni Urbani (ámbar dominicano), *T. difficilis* Forel (especie introducida recolectada in Washington, Puerto Rico, Antigua y Nevis), *T. fulvus* (Wheeler) (Costa Rica, Panamá y Colombia), *T. gorgona* sp. n. (Colombia), el primer registro para Colombia y América del Sur, **T. hispaniolae* (Wilson) (ámbar dominicano) y *T. vitiensis* Mann (especie introducida recolectada en California).

Palabras clave: Hormigas. América del Sur. Taxonomía. *Technomyrmex*.

Introduction

Technomyrmex Mayr (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae) is a primarily Old World genus with asymmetrical distribution, with most of the species in Africa and southern Asia, and with a discrete faunae also present in Australia and Madagascar. One extant species described from Panama by Wheeler in 1934 is also known. Shattuck (1992a:160) says about this species: "The occurrence of an apparently native species of *Technomyrmex* in the New World tropics presents an interesting situation because the group is otherwise entirely Old World". This situation changed with the confirmation of the presence of the genus in Miocene Dominican amber (Brandão *et al.* 1999; but see below), suggesting an old presence of the genus in the Neotropics with their withdrawal from these areas in modern times and leading to scattered samples in Panama and Costa Rica. This situation is similar in other groups such as *Leptomyrmex* (Baroni Urbani 1980) and some species *Pheidole* (Baroni Urbani 1995), with ants also known in Dominican amber but otherwise extinct from New World. Bolton (2007) revised the genus and synonymised *T. fulvus subliquidum* under *T. fulvus*, and provided a key to New World extant taxa, including two tramp species (*T. difficilis* and *T. vitiensis* in USA), and other two tramp species (not known in New World) potentially to be introduced (*T. albipes* and *T. pallipes*).

Ants sorted by one of us (RJG) from the collections of the Instituto Humboldt (IAvH) and Instituto de Ciencias Natura-

les (ICN) permitted us to confirm the presence of *Technomyrmex* as native and extant in the Neotropics. Being *T. fulvus* found in Colombia and a new species, the genus belongs to the humid low rain forest of south western Colombia.

Materials and Methods

Measurements and depositories. All measurements follow Bolton (2007) and were made using a Wild stereomicroscope at 80X magnification with ocular micrometer. All of the following measurements are expressed in millimeters: Total Length (TL). The total outstretched length of the ant from the mandibular apex to the gastral apex. Head Length (HL). The length of the head capsule excluding the mandibles; measured in full-face view a straight line from the mid-point of the anterior clypeal margin to the mid-point of the posterior margin. Head Width (HW). The maximum width of the head behind the eyes, measured in full-face view. Scape Length (SL). The maximum straight-line length of the scape, excluding the basal constriction or neck that occurs just distal of the condyle bulb. Pronotal Width (PW). The maximum width of the pronotum in dorsal view. Weber's Length of Mesosoma (WL). The diagonal length of the mesosoma in profile, from the anteriormost point of the pronotum to the posterior basal angle of the metapleuron.

Indices. Cephalic Index (CI). HW divided by HL, x 100. Scape Index (SI). SL divided by HW, x 100. Ocular Index (OI).

¹ Author for correspondence: Biologist, Ph. D. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Apartado 7495, Bogotá D.C., Colombia ffernandezca@unal.edu.co.

² Biologist. Grupo de Investigación en Insectos Neotropicales. Instituto de Investigaciones Tropicales. Universidad del Magdalena. Carrera 32 N° 22-08. San Pedro Alejandrino. Santa Marta, Colombia. rguerrero@unimagdalena.edu.co.

Maximum diameter of eye divided by HW, $\times 100$. Eye Position Index (EPI). In full-face view the straight-line length (parallel to the long axis of the head) from the anteriormost point of the eye to the anterior clypeal margin, divided by the straight-line length from the posteriormost point of the eye to the posterior margin, $\times 100$. Dorsal Thoracic Index (DTI). In dorsal view the length from the mid-point of the anterior pronotal margin to the midpoint of the metanotal groove, divided by PW, $\times 100$.

Depositories of types. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Villa de Leyva, Colombia (IAvH), Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C. (ICN), and California Academy of Sciences, San Francisco (CAS).

Checklist of New World species of *Technomyrmex*

(For diagnosis, taxonomic history and other notes see Bolton (2007); the asterisk indicates extinct species).

Technomyrmex difficilis Forel, 1892
(Fig. 1)

Technomyrmex mayri difficilis: Forel 1892:242 (w).
Technomyrmex difficilis: Bolton 2007:47.

This species is separated from others in the New World by morphological traits such as dorsum of head behind posterior margin of eye with a single pair of setae and tarsus of hind leg distinctly lighter than the tibia. It is a tramp species detected in at the zoo in Washington and outdoors in Florida and Puerto Rico (Bolton 2007 and personal communication).

Technomyrmex fulvus (W. M. Wheeler, 1934)
(Fig. 2)

Tapinoma fulvum Wheeler, W. M. 1934:184 (w).
Tapinoma fulvum sublucidum Wheeler, W. M. 1934:185.
Synonymy in Bolton, 2007.
Technomyrmex fulvus: Shattuck 1992a:161.
Technomyrmex fulvus sublucidum: Shattuck 1992a:161.

This was the only extant native species of *Technomyrmex* in the New World known previously from Panama (Shattuck 1992a; Bolton 1995) and Costa Rica (Bolton 2007). Its uniform yellow body color immediately distinguishes it from any other native or tramp species that are likely to be encountered in the Nearctic and Neotropical regions. The Chocó record is the first for Colombia and South America for the genus and species.

Material examined: 1 worker. COLOMBIA. Chocó. La Balsa. Bajo Atrato. 07°02'26"N 77°20'16"W. mar-1994. Mendoza, L. [ICN] No. 057.

Technomyrmex gorgona sp. n.
(Fig. 3)

Worker measurements. Holotype (Paratypes, N= 2): TL 3.17 (3.27 – 3.32), HL 0.69 (0.66 – 0.67), HW 0.68 (0.65 – 0.66), SL 0.72 (0.71), PW 0.46 (0.45 – 0.46), WL 0.95 (0.97 – 0.99), CI 99 (98 – 99), SI 104 (106 – 108), OI 32 (36), EPI 56 (55 – 56), DTI 125 (124 – 127).

Head in full-face view with the posterior margin feebly concave in the middle. Outer margin of eye very close to the side of the head. Anterior clypeal margin with median concavity. Mesonotum in profile shallowly convex anteriorly and with a steeply sloping declivitous face that extends down to the tuberculiform metathoracic spiracle. Propodeal dorsum convex in profile; dorsum rounded evenly into declivity. Body smooth and shining, except for a fine reticulation in the posterior half of pronotum, dense and fine punctuation on the dorsum and sides (mesopleuron) of mesonotum and dorsum of propodeum. Head dorsum in profile entirely lacks setae behind the level of the posterior margin of the eye; dorsum of head with numerous very short spaced erect and suberect setae (less than $0.50 \times$ the maximum diameter of the eye), numerous suberect (0.03 mm) setae between the torulus and the level of the midlength of the eye, anterior clypeus with four hairs, about 0.13 mm each long; pronotum with 2 pairs of long setae, arising from very well-marked pits; Gastral tergites 1 – 4 each with 2 – 4 very long erect setae. Short pubescence on scapes and dorsal (outer) surfaces of middle and hind tibiae usually almost appressed, but slightly elevated in some. Body dark brown. Head and body brown, scape apex, flagellomeres and mandibles lighter.

Material examined: Holotype worker: COLOMBIA. Cauca. Gorgona Island National Park. 02°58'N 78°11'W. 180 m. 01-mar-04-abr-2000. Sharkey, M. [IAvH]. Paratype workers (2 workers): Same data, deposited in ICN, CAS.

Etymology: The name *gorgona* refers to the Gorgona National Park, and is given as a noun in apposition.

Comments and diagnosis. This is the second extant species of *Technomyrmex* native to the New World is restricted to Gorgona National Park, Cauca, Colombia, a small continental Island in the Pacific Ocean. Its dark brown color, heavy fine punctuation on the mesonotum and dorsum of propodeum distinguishes it from *T. fulvus*, the first native species.

Technomyrmex vitiensis Mann, 1921
(Fig. 4)

Technomyrmex albipes vitiensis Mann, 1921:473 (w). Junior synonym of *albipes*: Wilson and Taylor 1967:82.
Technomyrmex vitiensis: Bolton 2007:104.

California, USA (Bolton 2007)

Tramp species potentially present in the New World

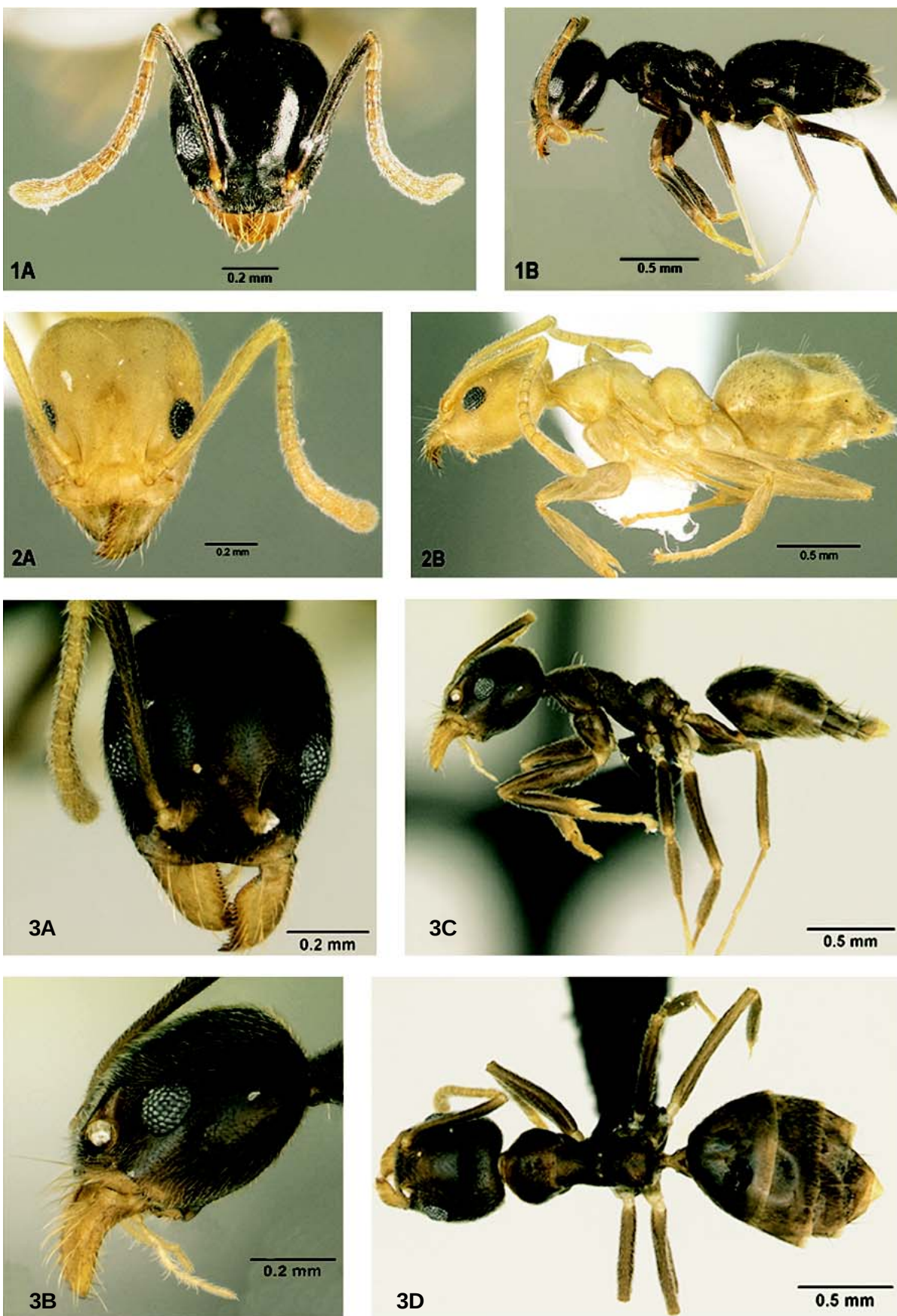
In the key to New World species of *Technomyrmex* presented below, Bolton (2007) added *T. albipes* and *T. pallipes* as two tramp species, inhabiting hothouses in the Palaearctic Region and potentially introduced to New World (as *T. difficilis* and *T. vitiensis*). We include pictures of both species.

Technomyrmex albipes (F. Smith, 1861)
(Fig. 5)

Tramp species, in hothouses, Palaearctic, potentially to be imported to the New World.

Technomyrmex pallipes (F. Smith, 1876)
(Fig. 6)

Tramp species, in hothouses, Palaearctic, potentially to be imported to the New World.



Figures 1-3. *Technomyrmex* spp.: 1. *T. difficilis* worker, A. Head in full face view, B. Body in lateral view. Specimen: CASENT0003175. 2. *T. fulvus* worker. A. Head in full face view, B. Body in lateral view. Specimen CASENT0173587. 3. *T. gorgona* sp. n., paratype worker. A. Head in full face view, B. Head in lateral view, C. Body in lateral view, D. Body in dorsal view. Specimen CASENT0173586. Photographer: April Nobile.



Figures 4-6. *Technomyrmex* spp.: 4. *T. vitiensis*. A. Head in full face view, B. Body in lateral view. Specimen CAsENT0172776. 5. *T. albipes*. A. Head in full face view, B. Body in lateral view. Specimen CAsENT0055965. 6. *T. pallipes*. A. Head in full face view, B. Body in lateral view. Specimen: CAsENT0005970. Photographer: April Nobile.

Fossil species ascribed to *Technomyrmex*

There are two dolichoderine species described from Dominican amber that are ascribed to *Technomyrmex* (Brandão *et al.* 1999). However, Bolton (2007:122) points out that both species “lack some critical diagnostic characters of the genus, the absence of which would argue for their exclusion”. Bolton also questioned the classification of *T. hispaniolae* in *Iridomyrmex* or *Linepithema*, leaving both taxa as *incertae sedis* in *Technomyrmex*.

* *Technomyrmex caritatis* Brandão & Baroni Urbani, 1999
Technomyrmex caritatis Brandão & Baroni Urbani 1999:416 (w) (Figs. 1, 4-6) in Brandão *et al.* 1999.

This extinct species is characterized by long scape, two pairs of setae on clypeus (none central), one pair of long setae on vertex, none on mesosoma. Described from Dominican amber.

* *Technomyrmex hispaniolae* (Wilson, 1985)

Iridomyrmex hispaniolae Wilson, 1985:33 (w) (Fig. 10).

Linepithema hispaniolae: Shattuck 1992b:16.

Technomyrmex hispaniolae: Brandão *et al.* 1999:414 (Figs. 2-3).

This extinct species is characterized by long scape, metanotum longitudinally striate, petiole very long and slender and the presence of one pair of long setae on vertex. This species has been described from Dominican amber fragments.

Key to the extant *Technomyrmex* workers from the New World (from Bolton 2007)

1 Dorsum behind the level of the posterior margin of the eye without setae (head in profile view) (Fig. 3B) 2
- Dorsum behind the level of the posterior margin of the eye with one or two pairs of setae (head in profile view) (Fig. 6B) 5

2 Head, mesosoma, petiole, gaster, and leg segments entirely yellow to light brownish yellow (Figs. 2A, B); middle and hind coxae may be slightly lighter in shade than the mesosoma; Costa Rica, Panama, and Colombia *T. fulvus*

- Head, mesosoma, petiole and gaster brown to black; colour may be more or less uniform or slightly different on separate tagmata, but never entirely yellow; middle and hind coxae the same colour as the mesosoma to distinctly lighter 3

3 Mesonotum, mesopleuron, and most of propodeal dorsum with dense and fine puncturation (Fig. 3C); propodeal spiracles protruding (Fig. 3D); SW Colombia *T. gorgona* sp. n.
- Mesosoma without dense fine puncturation; propodeal spiracles **not** protruding; tramp species, California (USA) and West Palaearctic 4

4 Scape relatively short and promesonotum relatively short and broad, SI 91 - 102, DTI 110 - 124; eye somewhat smaller, OI 24 - 27; with mesosoma in absolute profile, the mesonotal dorsal outline convex more or less evenly rounded (Fig. 5B); in same view the junction of the propodeal dorsum and declivity is blunt; tramp species, no New World records but very widespread and occurs in West Palaearctic hothouses *T. albipes*
- Scape relatively long and promesonotum relatively long and narrow, SI 104 - 115, DTI 128 - 141; eye somewhat larger, OI 29 - 32; with mesosoma in absolute profile the mesonotal dorsal outline with a more or less flat anterior section that passes through an obtuse angle to a distinctly more strongly sloped posterior declivity (Fig. 4B); in same view the junction of the propodeal dorsum and declivity sharply defined; tramp species, California (hothouses), USA *T. vitiensis*

5 Hind leg tarsus distinctly lighter in colour than the tibia; dorsum of head behind level of posterior margin of eye with a single pair of setae, located about two-thirds the way between the level of the posterior margin of the eye and the posterior margin of the head (Fig. 1B); eyes located somewhat more posteriorly, EPI 72 - 86; tramp species; Florida (outdoors and in houses), Washington (zoo), Puerto Rico, Antigua, Nevis....
..... *T. difficilis*
- Hind leg tarsus of the same colour as the tibia; dorsum of head behind level of posterior margin of eye with two pairs of very short, stubby setae; first pair located about two-thirds

the way between the level of the posterior margin of the eye and the posterior margin of the head; second pair at the posterior margin (Fig. 6B); eyes located somewhat more anteriorly, EPI 55 - 71; tramp species, no New World records, occurs in West Palaearctic hothouses *T. pallipes*

Discussion

Initially seen as an biogeographic anomaly (Shattuck 1992a), the finding of two extinct species in Dominican amber (Brandão *et al.* 1999), and the new species described here, confirms the native status of *Technomyrmex* in the New World. *T. fulvus* was previously known only from Barro Colorado Island, Panama, until the recent discovery of scattered samples from tropical rain forests in Costa Rica (Bolton 2007) that proves their status as native (not imported) species to the Neotropics. The identification of *Technomyrmex* is not easy, because of the subtle traits that characterize this genus (as others in the subfamily, Shattuck 1992a), which opens the possibility that many other samples from collections may be awaiting discovery in other countries. This situation is similar to that of the genus *Paedalgus* (now junior synonym of *Carebara*), until recently known to be confined to Old World, but now reported from several native species from Costa Rica to Brazil. Dubovikoff and Longino (2004) also described a new species of the other Old World element, *Bothriomyrmex*, from the tropical rain forest in Costa Rica.

Technomyrmex and *Bothriomyrmex* could represent those groups probably widespread in the past and now limited to some scattered forested spots in the Neotropical forests, probably as retreating lineages. *Leptomyrmex*, also present in Miocene times were extinct in the New World, as some others ants taxa (Wilson 1988). Curators and ant collectors must be aware of the presence of interesting genera awaiting to be discovered and published; these must enrich the understanding of the evolution and the biogeography of the Neotropical ants.

Acknowledgements

To Mónica Ospina and Diego Perico (Instituto Humboldt), Carlos Sarmiento (ICN) for the loan of material, and Brian L. Fisher for the permission of the use of excellent colour pictures. Brian Fisher and April Nobile take the pictures of *T. fulvus* and *T. gorgona* sp. n. Thanks to Barry Bolton for advice and providing information from the revision of *Technomyrmex* and to help us with English writing. Julio Valle (University of Magdalena) edited pictures. This work was supported by Jóvenes Investigadores Program of Colciencias -University of Magdalena agreement # 122 to RJGF and partially supported by NSF Grant No. DEB No. 9972024 to M. Sharkey (University of Kentucky) and Brian Brown (LACM). Thanks also to Dr. Mike Sharkey for reading and improving the MS.

Literature cited

- BARONI URBANI, C. 1980. The first fossil species of the Australian ant genus *Leptomyrmex* in amber from the Dominican Republic. *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde Serie B.* 62: 1-10.
BARONI URBANI, C. 1995. Invasion and extinction in the West Indian ant fauna revisited: the example of *Pheidole* (Amber Collection Stuttgart: Hymenoptera, Formicidae, VIII: Myrmicinae, partim.). *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde Serie B.* 222: 1-20.

- BOLTON, B. 1995. A new general catalogue of the ants of the world. Harvard University Press, 504 p.
- BOLTON, B. 2007. Taxonomy of the dolichoderine ant genus *Technomyrmex* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) based on the worker caste. Contributions of the American Entomological Institute 35 (1): 1-150.
- BRANDÃO, C. R. F.; BARONI URBANI, C.; WAGENSBERG, J.; YAMAMOTO, C. I. 1999. New *Technomyrmex* in Dominican amber (Hymenoptera: Formicidae), with a reappraisal of Dolichoderinae phylogeny. Entomologica Scandinavica 29: 411-428.
- 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.
- FOREL, A. 1892. Histoire naturelle des Hyménoptères. Deuxième partie. Les formicides. Supplément au 28e fascicule. In: Grandidier, A. Histoire physique, naturelle, et politique de Madagascar, 20 (2): 229-280.
- MANN, W. M. 1921. The ants of the Fiji Islands. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College 64: 401-499.
- SHATTUCK, S. O. 1992a. Generic revision of the ant subfamily Dolichoderinae (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology 21 (1): 1-181.
- SHATTUCK, S. O. 1992b. Review of the dolichoderinae ant genus *Iridomyrmex* Mayr with descriptions of three new genera (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Australian Entomological Society 31: 13-18.
- SMITH, F. R. 1876. Preliminary notice of new species of Hymenoptera, Diptera, and Forficulidae collected in the Island of Rodríguez by the naturalists accompanying the Transit-of-Venus Expedition. Annals and Magazine of Natural History (4) 7: 447-451.
- SMITH, F. R. 1861. Catalogue of the hymenopterous insects collected by Mr. A. R. Wallace in the Islands of Ceram, Celebes, Ternate, and Gilolo. Journal of the Proceedings of the Linnean Society, Zoology 6: 36-48.
- WHEELER, W. M. 1934. Neotropical ants collected by Dr. Elisabeth Skwarra and other. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College 77 (5): 160-240.
- WILSON, E. O. 1985. Ants of the dominican amber (Hymenoptera: Formicidae). 3. The subfamily Dolichoderinae. Psyche 92: 17-37.
- WILSON, E. O. 1988. The biogeography of West Indian ants (Hymenoptera: Formicidae), pp. 214-230. En: Liebherr, J. (ed.). Zoogeography of Caribbean Insects, Cornell University Press.
- WILSON, E. O.; TAYLOR, R. W. 1967. The ants of Polynesia (Hymenoptera: Formicidae). Pacific Insect Monographs 14: 1-109.

Recibido: 7-feb-2008 • Aceptado: 22-abr-2008

Tabla de vida de *Pseudodirphia pallida* (Lepidoptera: Saturniidae) en condiciones de laboratorio

Life table of *Pseudodirphia pallida* (Lepidoptera: Saturniidae) in laboratory conditions

CLAUDIA MILENA ALGARIN¹, MARIO ALEJANDRO MARIN^{1,2}, SANDRA URIBE³,
ANDRE V. L. FREITAS⁴

Resumen: Saturniidae y en particular *Dirphia* sensu lato incluye muchas polillas de importancia económica que han generado gran interés en los últimos años en relación con los daños causados a eucalipto, caña de azúcar y palma africana. Sin embargo, existe gran desconocimiento sobre aspectos básicos del grupo y su taxonomía es difícil. Muchas de las especies no han sido bien descritas y existen pocos estudios detallados sobre la biología y la dinámica de sus poblaciones. En el presente trabajo se hace una descripción morfológica de los estadios inmaduros de *Pseudodirphia pallida*. La especie fue criada bajo condiciones de laboratorio y se registraron aspectos generales sobre su tabla de vida. Se presenta además un registro fotográfico de sus estadios y se amplía su descripción con base en características morfológicas de inmaduros y adultos. Los individuos estudiados se criaron en el insectario de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, a una temperatura promedio de 24°C y H. R. de 71%. Las larvas fueron alimentadas con hojas de búcaro (*Erythrina fusca*). Se observó un ciclo bivoltino con duración entre 136 a 171 días y un total de cinco estadios larvales. Los estadios inmaduros con menor duración fueron L2 y L3 y el más largo L4. Las tasas de mortalidad más altas se encontraron en L1 y prepupa-pupa. Las larvas exhibieron un comportamiento gregario hasta L3.

Palabras clave: Ciclo de vida. *Paradirphia*. *Dirphia*. Hemileucinae.

Abstract: Saturniidae and particularly *Dirphia* sensu lato include many economically important moth species that have generated considerable attention during the last years in relation to damage caused to eucalyptus, sugar cane and oil palm plants. However, the knowledge of basic aspects of the group is incomplete and the taxonomy is difficult. Many species have not been described and there are few detailed studies on biology and population dynamics. In the present study a morphological description is made of the immature stages of *Pseudodirphia pallida*. The species was reared under laboratory conditions and general aspects of life table are registered. Photographic aspects of the different immature stages are also presented and an expanded species description is provided based on both immature and adult characteristics. The specimens were reared in the insectary of the Universidad Nacional de Colombia at Medellín at a mean temperature of 24°C and relative humidity 71%. The larvae were fed with Búcaro (*Erythrina fusca*) leaves. A bivoltine life cycle was observed with a duration between 136 and 171 days and a total of five larval instars. The immature stages of shortest duration were L2 and L3 and the longest L4. The highest mortality rates were found in L1 and the prepupal stage. Larvae exhibited a gregarious behavior until L3.

Key words: Life cycle. *Paradirphia*. *Dirphia*. Hemileucinae.

Introducción

Saturniidae (Lepidoptera) es una familia de gran diversidad biológica con aproximadamente 1.450 especies descritas, de las cuales 942 ocurren en América. La subfamilia Hemileucinae exhibe una de las diversidades más altas en el continente con 650 especies registradas (Camargo y Becker 1999) y está representada en el Neotrópico por cerca de 600 especies (Amarillo 2000). En esta subfamilia se encuentra el género *Pseudodirphia* con treinta especies conocidas, diez de las cuales han sido registradas en Colombia (Amarillo 2000) y quince en Ecuador (Racheli y Racheli 2005). El género *Pseudodirphia* se encuentra relacionado con otros géneros como *Heliconisa*, *Kentroleuca*, *Eudyaria*, *Ithomisa*, *Dirphiopsis*, *Dirphia* y *Periphoba* e incluso algunos autores han incluido especies de *Pseudodirphia* en los géneros *Dirphia* y *Dirphiopsis* (Michener 1952). En el presente artículo nos referiremos a *Dirphia* s.l.,

haciendo referencia a especies y géneros de *Pseudodirphia*, *Heliconisa*, *Kentroleuca*, *Eudyaria*, *Ithomisa*, *Dirphiopsis*, *Dirphia* y *Periphoba*.

En la subfamilia Hemileucinae, las larvas se caracterizan por ser gregarias, hacer largas filas de procesión, alimentarse de noche y formar agrupaciones densas durante el día (Gardiner 1974; Días 1988, 1994). En algunas especies este hábito se mantiene para todos los estadios larvales, pero en otras el comportamiento solo persiste en los primeros instares (Gardiner 1974; Dias 1988, 1994; Furtado 2002; Furtado y Lemaire 1999). La mayoría de las larvas de los Saturniidae, se caracterizan por la presencia de *scoli* urticantes, hecho que dificulta su cría, manejo y control (Deml y Dettner 2002). En *Dirphia* esta característica es variable, encontrándose que en *Dirphia avia* (Stoll, 1780) y *D. curitiba* (Draudt, 1930) los *scoli* son urticantes mientras que en *D. baroma* (Schaus, 1906) y *D. ursina* (Walker, 1855) no lo son (Gardiner 1974; Dias 1988).

¹ Grupo de Investigación en Sistemática Molecular. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. alga81@gmail.com.

² Ingeniero Agrónomo. Estudiante Maestría en Entomología. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. mamarin0@unal.edu.co. Autor para correspondencia: Autopista norte Car 64 x Cl. 65. Bloque 18-102.

³ Ingeniera Agrónoma M. Sc., Ph. D. Profesora Asociada, Escuela de Biociencias. Directora Grupo de Investigación en Sistemática Molecular, Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. suribe@unal.edu.co.

⁴ Biólogo, M. Sc., Ph. D. Departamento de Zoología y Museu de História Natural, Instituto de Biología. Universidade Estadual de Campinas. CP 6109, CEP 13083970, Campinas, São Paulo, Brasil. baku@unicamp.br.

Las características morfológicas que deben considerarse para diferenciar *Pseudodirphia* Bouvier, 1928 (tratado como subgénero *Dirphiopsis* por Michener 1952), incluyen las antenas bipectinadas de los machos y las bidentadas de las hembras, la distancia entre los ojos en comparación con la longitud de los ojos, las márgenes de los ojos y el tamaño de la protuberancia frontal, además del tamaño de los palpos, la apariencia de la gálea y la ausencia de espinas en los tarsos. Como característica principal los individuos descritos originalmente como *Pseudodirphia*, por Bouvier no exhiben la carina ventral, presente en los otros grupos incluidos en *Dirphiopsis* (Michener 1952).

Pseudodirphia pallida (Walker, 1865) fue registrada para Colombia por Amarillo (2000) en su revisión sobre polillas de Colombia. Adicionalmente, Madrigal (2003), registró individuos de la especie *Dirphia medinensis* (Draudt, 1930) atacando cultivos de caña de azúcar en el Ingenio Río Paila (sur del departamento de Risaralda) y previamente en árboles de búcaro en la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín (Madrigal. com. pers.). Durante la realización del presente estudio, los individuos depositados en el Museo Entomológico Francisco Luís Gallego de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín y que corresponden a dichas observaciones, fueron revisados y verificados por el especialista como *P. pallida*. Iguales resultados fueron obtenidos cuando se revisó el material identificado como *Dirphia medinensis* y que fue registrado como plaga de maíz y palma *Washingtonia* por el doctor Gallego en 1946.

Observaciones morfológicas detalladas y aspectos generales de las tablas de vida constituyen herramientas importantes para el conocimiento adecuado de una especie y en este caso de importancia económica. En particular los datos generales sobre tablas de vida generan sumarios estadísticos simples sobre las expectativas de vida y las tasas de supervivencia de una cohorte (Harcourt 1969; Price 1984; Carey 2001). En este estudio los resultados constituyen datos preliminares relevantes sobre una especie para la cual no se tienen registros publicados en cuanto a morfología, taxonomía o ciclo de vida bajo condiciones de laboratorio.

Materiales y Métodos

Los adultos utilizados como material parental fueron recolectados sobre árboles de búcaro en los predios de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín (6°13'55"N y 75°34'05"W) a 1.550 msnm. Las recolecciones se realizaron mediante jama entomológica al inicio de la primera temporada húmeda en el mes de marzo entre las siete y las nueve de la mañana y los individuos fueron trasladados al insectario donde fueron mantenidos bajo condiciones de temperatura promedio de 24°C (min. noche 18°C máx. día 33°C) y humedad relativa 71%.

Las hembras y los machos fueron diferenciados con base en características morfológicas (antenas) y fueron colocados en jaulas cubiertas con una tela oscura para propiciar la cópula y obtener huevos. Adicionalmente, algunas hembras fueron seleccionadas cuidadosamente y depositadas en jaulas cilíndricas cubiertas con una red de polímero con tiras de papel colgando para facilitar la oviposición en el caso de estar apareadas. Esto se realizó de acuerdo con la metodología modificada de Madrigal (2003).

Los huevos fueron recolectados diariamente recortando el trozo de papel con la postura, contados, rotulados y separados

por postura. El número de huevos por postura y el número total de huevos por hembra fueron registrados, así como el tamaño promedio de los mismos bajo estereomicroscopio (Bausch & Lomb 31-33-40) con micrómetro y un aumento de 40X.

Las posturas se depositaron en cajas de petri, donde se mantuvieron desde la eclosión hasta finalizar L1. Durante L1 se suministraron diariamente hojas frescas de búcaro (*Erythrina fusca* Lour.) en discos de 5 cm² colocados en el fondo de la caja de petri. Una vez alcanzado L2 las larvas de cada postura se trasladaron a cajas plásticas de 30 x 30 cm, y su alimentación se continuó suministrando diariamente hojas de búcaro completas. Las pupas se mantuvieron en el lugar en el cual se formaron y una vez ocurrió la emergencia de los adultos, éstos se colocaron en cajas de madera cubiertas con una tela oscura para propiciar la cópula cuyas características fueron registradas.

En una etapa preliminar se observaron y registraron datos sobre la duración en días de cada uno de los instar larvales provenientes de diferentes posturas de una misma hembra, determinándose mediante un ANOVA (α 0,05) que no existían diferencias significativas en la duración de los mismos. Con base en ello y aunque las observaciones de los estadíos inmaduros se realizaron sobre 385 individuos, los datos finales para la elaboración de la tabla de vida se obtuvieron sobre las segundas posturas de cinco hembras lo cual correspondió a 132 huevos; este número facilitó el registro y manejo adecuado de los datos. Las larvas de cada una de las cinco posturas fueron mantenidas de forma gregaria durante todo el ciclo. La definición de cada instar larval se realizó teniendo como base la aparición de las exuvias y las cápsulas cefálicas que fueron medidas para cada estadío con la ayuda de un micrómetro ocular de un estereomicroscopio Bausch & Lomb 31-33-40.

La tabla de vida se elaboró utilizando el método específico u horizontal (Rabinovich 1978; Stiling 1999), para lo cual se registró la duración de los estadíos en días y la mortalidad en cada estadío. Los parámetros utilizados en la tabla de vida fueron: estadío (x), proporción de sobrevivientes a la edad x (lx), número de individuos muertos entre estadíos (dx), probabilidad de morir en cada estadío (qx), media de la probabilidad de sobrevivencia entre dos estadíos sucesivos (Lx), número total de días que quedan de sobrevivencia (Tx) y esperanza de vida (ex).

Resultados y Discusión

Huevo. Se obtuvieron huevos tanto de parejas que copularon en el laboratorio como de hembras recolectadas en los árboles de búcaro. Los huevos son puestos en masa (Fig. 1A). En condiciones de laboratorio una misma hembra puede depositar entre 200 y 250 huevos, en varias posturas. En el presente estudio el número promedio de posturas por hembra fue 27 y el número de huevos por postura varió entre 10 y 60. En estudios con una especie de *Paradirphia* sp., se registró un número similar de huevos por hembra (Gutiérrez y Gómez 2003).

Los huevos son ovoides de color blanco hueso con un tamaño promedio de 2,25 mm de alto x 1,5 mm por 1 mm de ancho (n = 100). Estos resultados son similares a los encontrados para otras especies como *Paradirphia* sp. en cuanto al color (Gutiérrez y Gómez 2003) y para *Dirphia* sp. en cuanto al tamaño (1,75-2,50 mm. Gardiner 1974; Dias 1988). La duración promedio del estadío de huevo fue de 23,43 días (Tabla 1). En especies como *Dirphia araucariae* Jones, 1908 bajo

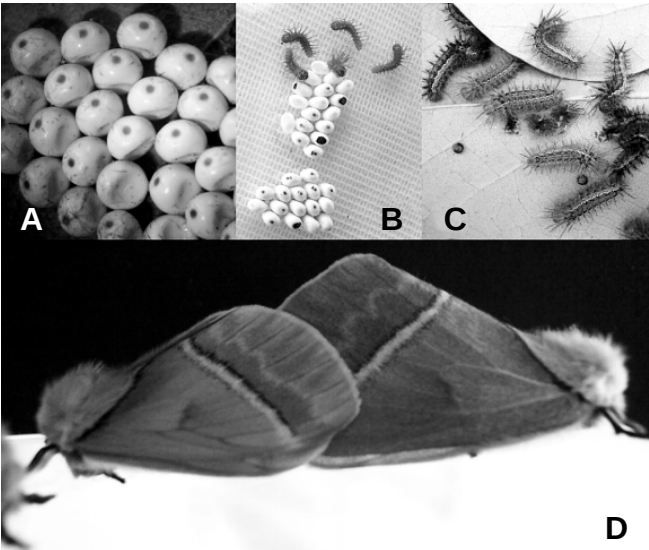


Figura 1. A. Huevos en postura típica. B. Larvas recién eclosionadas. C. Larvas en tercer instar. D. Adultos en cópula; macho a la izquierda y hembra a la derecha.

condiciones de laboratorio el promedio de duración del huevo fue de 26 días (Borges 1985).

Larva. Después de la eclosión, la larva (Fig. 1B) devoró el corión y tardó unas 24 horas en empezar a alimentarse de las hojas de búcaro. En total se observaron cinco estadios larvales, que fueron verificados por la presencia de las cápsulas cefálicas y las exuvias. Las medidas promedio de las cápsulas cefálicas de los cinco estadios de larvas para la tabla de vida fueron: 1,08, 2,03, 2,85, 3,61, 4,64 mm.

Las larvas se alimentaron preferiblemente durante la noche y en el día formaron agrupaciones densas (Fig. 1C), similar a lo registrado en especies como *Dirphia avia* (Stoll, 1780), *D. curitiba* (Gardiner 1974), *Pseudodirphia eumedide* (Stoll, 1782) (Gardiner 1965) y *Paradirphia* sp. (Gutiérrez y Gómez 2003). La duración de los estadios larvales fue variable, siendo los más cortos L2 y L3 con siete días y el más largo L4 con una duración entre diez a veintiséis días (Tabla 1). Las larvas mantuvieron su comportamiento gregario hasta L3 y luego pasaron a ser solitarias, similar a lo descrito para otros Hemileucinae (Dias 1994; Furtado 2002).

Las larvas fueron del tipo eruciforme, similares entre los estadios, alcanzando una longitud en el último instar entre 7 y 9 cm. Presentaron *scoli* urticantes sobre todo el dorso, los cuales se consideran un mecanismo eficaz de defensa ya que al contacto con la piel causan ardor y enrojecimiento. Las larvas fueron de color marrón oscuro durante todo el ciclo, aunque después de las mudas se observó un cambio momentáneo de color en los *scoli*, los cuales se tornaron vinotinto, pero recuperaron su coloración normal luego de una o dos horas. Como es típico en los Saturniidae, las larvas presentaron una línea longitudinal de color vistoso, en este caso blanca a lo largo de los espiráculos.

No hubo rastros de parásitos o patógenos que afectarían los huevos, larvas, pupas o adultos en condiciones de laboratorio. La sobrevivencia en el estadio de larva fue de 79% (Tabla 2). Este hallazgo concuerda con el de Borges (1985) quién para la especie *D. araucariae* registró una tasa de sobrevivencia del 76,11% bajo condiciones similares de laboratorio. Dado que no se registraron larvas enfermas, los porcentajes de mortalidad están probablemente relacionados con la manipulación y cuidado de las larvas en el laboratorio.

Prepupa-Pupa. En el último instar, las larvas entraron en un período de quietud en el que no se alimentaron y perdieron gran parte de su actividad normal pero sin perder su forma larval. Este estadio duró 19 días, en los cuales empezó a tejer el capullo enrollado entre hojarasca (Tabla 1). Autores como Lemaire y Wolfe (1988) mencionan que la construcción del capullo de seda diferencia a *Pseudodirphia* de *Paradirphia* ya que esta última no hila capullo. Sin embargo, Gutiérrez y Gómez (2003), registran la formación de capullo en *Paradirphia* sp. lo cual merece especial atención en posteriores estudios.

Las pupas son de tipo obtecto y midieron en promedio 3,57 cm. de largo Este estadio duró 48 días y se registró un porcentaje de sobrevivencia del 39% (Tabla 2). La pupa se formó en medio de un capullo de seda en el que se unieron partes de vegetación, sedimento y excrementos. La pupa de color marrón oscuro es completamente simétrica y exhibió alta movilidad durante los primeros días de formación. Ésta se mantuvo unida al capullo gracias al cremaster ubicado en la parte extrema posterior. Al final del estadio de pupa se registró el porcentaje más bajo de sobrevivencia correspondiente a un 10%. Iguaes resultados fueron registrados por Borges (1985), quien obtuvo en prepupa-pupa un 8,33% de sobrevivencia para *D. arauracariae*. De acuerdo con este autor y con las observa-

Tabla 1. Duración en días de los diferentes estadios de *Pseudodirphia pallida*.

Estadio	n	Rango duración (días)	Duración promedio (días)	Desviación estándar
Huevo	132	20-24	23,34	0,77
L1	132	13-14	13,75	0,44
L2	106	6-7	6,25	0,43
L3	105	7	7,00	0
L4	105	10-25	18,82	7,42
L5	105	19-20	19,59	0,49
Prepupa	104	15	15,00	0
Pupa	52	48	48,00	0
Adulto	13	4-7	5,57	1,11

ciones del presente estudio, la baja sobrevivencia en prepupa-pupa, podría estar relacionada con el hecho de que las condiciones de laboratorio no satisfacen la naturaleza de estas especies que normalmente pupan en el suelo, el cual posee una elevada humedad relativa en comparación con el laboratorio.

Adulto. La envergadura alar fue de 6,5 a 7,5 cm en la hembra y 5,0 a 6,0 cm en el macho, ambos emergieron al mismo tiempo y los patrones de coloración alar fueron similares siendo suave, continuo y de tono parecido al palo de rosa o durazno con los extremos distales más claros que el centro y la base (Fig. 2). Las alas exhibieron una línea ante-medial arqueada casi perpendicular al cuerpo y una línea pos-medial ancha, recta y blanca, rodeada distalmente por otra línea negra proximal. Las antenas negras, bipectinadas en el macho y bidentadas en las hembras. El abdomen amarillo con anillos negros y espiráculos blancos circulares con margen negro.

Las características más importantes para reconocer la especie y verificadas por el especialista Carlos Mielke de la Universidad Federal de Parana (Brasil), fueron la vena M1 en el ala anterior que surge posterior a la celda discal, y Rs, M1 y M2 que en el ala posterior parecen originarse en el mismo sitio. Así mismo, los palpos labiales trisegmentados con el segundo segmento marcadamente más grande, la ausencia de carina y la fórmula tibial 0-2-4.

El estadio de adulto duró en promedio 5,57 días (Tabla 1); la cópula duró alrededor de 24 horas y ocurrió inmediatamente después de la emergencia del adulto (Fig. 1D), después de unos minutos las hembras iniciaron la oviposición sobre cualquier superficie (suelo, mallas, ramas). El ciclo registrado en el presente estudio es bivoltino con una duración promedio de 157,32 días sin solapamiento de generaciones (Tablas 1 y 2). Gardiner había reportado ya en 1965 un ciclo bivoltino para la especie *P. eumedide*.

Los parámetros de la tabla de vida (Tabla 2; Fig. 3), muestran que los valores más altos de mortalidad ocurrieron en el primer instar y en prepupa-pupa. La alta mortalidad en L1 podría deberse a que las larvas pequeñas no son capaces de alimentarse de la planta y mueren de inanición. También podría estar relacionada con que la planta suministrada a las larvas no fuera la adecuada; sin embargo, a lo largo del estudio se verificó el búcaro como planta hospedera en el campus de

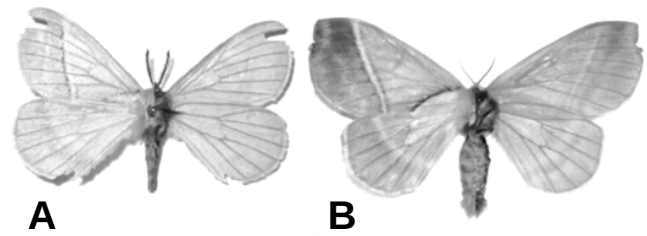


Figura 2. Vista dorsal (lado izquierdo) y ventral (lado derecho) de *P. pallida*. A) macho y B) hembra.

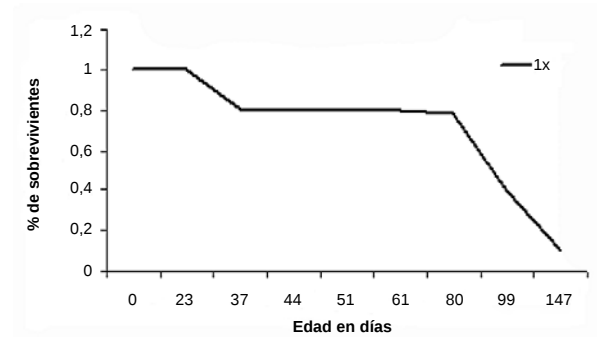


Figura 3. Curva de sobrevivencia de *P. pallida* bajo condiciones de laboratorio.

la universidad ya que se observaron y colectaron huevos sobre hojas de esta planta y se visualizó el daño en las hojas de los árboles plantados en la universidad.

Estos datos concuerdan con las observaciones de Madrigal en el año 2003 (Madrigal, com. pers.). Como un dato importante y en relación con el daño en los árboles de búcaro del campus universitario, se observó que las tasas más altas de oviposición se presentaron al comienzo de la temporada de lluvias, período en el cual la mayoría de las plantas emiten hojas nuevas de las cuales se alimentan las larvas en sus primeros instar.

Tabla 2. Parámetros de la tabla de vida horizontal de *Pseudodirphia pallida*.

Estadio	Edad en días al comienzo del estadio	n_x	d_x	l_x	q_x	L_x	T_x	e_x (días)	e_x (meses)
Huevo	0	132	0	1	0	132	788	179,09	5,97
L1	23	132	26	1	0,20	119	656	149,09	4,97
L2	37 - 38	106	1	0,80	0,01	105,5	537	151,98	5,07
L3	44 - 45	105	0	0,80	0	105	431,5	123,28	4,11
L4	51 - 52	105	0	0,80	0	105	326,5	93,28	3,11
L5	61 - 78	105	1	0,80	0,01	104,5	221,5	63,28	2,11
Prepupa	80 - 97	104	52	0,79	0,50	78	117	33,75	1,13
Pupa	99 - 119	52	39	0,39	0,75	32,5	39	22,5	0,75
Adulto	147 - 151	13	13	0,10	1	6,5	6,5	15	0,50

d_x = Número de individuos muertos entre estadios, l_x = Proporción de sobrevivientes a la edad x , q_x = Probabilidad de morir en cada estadio, L_x = Media de la probabilidad de sobrevivencia entre dos estadios sucesivos, T_x = Número total de días que quedan de sobrevivencia, e_x = Esperanza de vida.

Un comportamiento similar se observó en *Pseudodirphia* sp., atacando anonáceas en Brasil, donde la larva en sus primeros estadios se alimentó casi exclusivamente de los brotes de la planta (Ramos *et al.* 2002) y en *Pseudodirphia albosignata* (Bouvier, 1924) que consumió los brotes tiernos de las hojas del Eucalipto que aparecieron durante la temporada de lluvia (Rosales 2001). En los instares posteriores las larvas se alimentaron de hojas tanto jóvenes como maduras, aunque siempre evitaron consumir las hojas que presentaron lesiones por enfermedades. Estas observaciones podrían explicar en parte las altas tasas de mortalidad encontradas en L1 en el presente estudio, ya que al momento de suministrar las hojas a las larvas en el primer estadio no se tenían los elementos necesarios para seleccionar y suministrar solo hojas tiernas a las larvas recién emergidas.

En condiciones de laboratorio también se suministró hojas de caña las cuales fueron consumidas en su totalidad, por lo cual se iniciaron estudios de ciclo de vida más completos y detallados que permitan analizar comparativamente los resultados del presente estudio y en relación con ambas plantas.

Agradecimientos

Carlos Guilherme C. Mielke, por su participación y enseñanzas en la identificación de la especie. Al maestro Rodrigo Vergara Ruiz, que con sus sugerencias enriqueció el análisis del trabajo y al doctor Luís Antonio Gómez Laverde de Cenicaña por sus comentarios.

Literatura citada

- AMARILLO, A. R. 2000. Polillas satúrnidas (Lepidoptera: Saturniidae) de Colombia. Biota Colombiana 1 (2): 177-186.
- BORGES, J. D. 1985. Biología de *Dirphia araucariae*, em laboratório. Pesquisa Agropecuária Brasileira (Brasília) 20 (2): 155-158.
- CAMARGO, J. A.; BECKER, V. O. 1999. Saturniidae (Lepidoptera) from the Brazilian Cerrado: composition and biogeographic relationships. Biotropica 31 (4): 696-705.
- CAREY, J. R. 2001. Insect biodemography. Annual Review of Entomology 46: 79-110.
- DEML, R.; DETTNER, K. 2002. Morphology and classification of larval *scoli* of Saturniinae and Hemileucinae (Lepidoptera: Saturniidae). Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research 40: 82-91.
- DIAS, M. M. 1988. Estágios imaturos de *Dirphia* (*Dirphia*) *moderata* Bouvier, 1929 (Lepidoptera, Saturniidae). Revista Brasileira de Entomologia 32 (2): 273-278.
- DIAS, M. M. 1994. Morfologia e bionomia dos estágios imaturos de *Automeris hamata* Schaus (Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae). Revista Brasileira de Entomologia 38 (1): 23-31.
- FURTADO, E. 2002. *Automerula auletes* (Eric-Schäffer, [1854]) e seus estágios imaturos (Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae). Lambillionea, CII (1): 110-112.
- FURTADO, E.; LEMAIRE, C. 1999. The biology and immature stages of *Automeris granulosa* (Lepidoptera: Saturniidae: Hemileucinae). Tropical Lepidoptera 10 (1): 27-29.
- GALLEGO, F. M. 1946. Catalogo de insectos determinados correspondientes al orden Lepidoptera existentes en la sección de la facultad nacional de agronomía-Medellín. Parte II nocturnas, Heterocera Chalinoptera. Revista de la Facultad Nacional de Agronomía de Medellín 6 (6): 415-473.
- GARDINER, B. O. C. 1965. The rearing of *Dirphiopsis eumedide* (Saturniidae). Journal of Research on the Lepidoptera 4 (4): 287-292.
- GARDINER, B. O. C. 1974. The early stages of various species of the genus *Dirphia* (Saturniidae). Journal of Research on the Lepidoptera 13: 101-114.
- GUTIÉRREZ, Y.; GÓMEZ, L. A. 2003. Polilla habana ataca lotes de caña de azúcar en el Valle del río Cauca. Carta Trimestral CENICAÑA 25 (4): 12-13.
- HARCOURT, D. G. 1969. The development and use of life tables in the study of natural insect populations. Annual Review of Entomology 14: 175-196.
- LEMAIRE, C.; WOLFE, K. L. 1988. Three new species of *Paradirphia* (Saturniidae: Hemileucinae) from Mexico and Central America with notes on the immature stages. Journal of Research on the Lepidoptera 27 (3-4): 197-212.
- MADRIGAL, A. 2003. Insectos forestales en Colombia: biología, hábitos, ecología y manejo. Editorial Marin Vieco. Medellín. Colombia. 848 p.
- MICHENER, C. D. 1952. The Saturniidae (Lepidoptera) of the western hemisphere: morphology, phylogeny and classification. Bulletin of the American Museum of Natural History 98 (5): 335-502.
- PRICE, P. W. 1984. Insect Ecology. John Wiley & Sons. New York. 607 p.
- RABINOVICH, J. E. 1978. Ecología de las poblaciones animales. Programa regional de desarrollo científico. Departamento de asuntos científicos. Secretaria general de la organización de estados americanos. Washington. 114 p.
- RACHELI, L.; RACHELI, T. 2005. An update checklist of the Saturniidae of Ecuador. Part I: Hemileucinae (Lepidoptera: Saturniidae). SHILAP Revista de Lepidopterología 33 (130): 203-223.
- RAMOS, V. H.; OLIVEIRA, M. A.; PINTO, A. C.; JUNQUEIRA, N. T.; ICUMA, I. M. 2002. Manejo e praticas culturais e fitossanitário em graviroleira no Cerrado. Comunicado Técnico 81. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 5 p.
- ROSALES, C. J. 2001. Observaciones sobre natación en larvas de *Periphoba hircia* (Cramer) y *Pseudodirphia albosignata* (Bouvier) (Lepidoptera: Saturniidae). Entomotropica 16 (1): 63-65.
- STILING, P. D. 1999. Ecology Theories and Applications. Editorial Prentice. New Jersey. 638 p.

Recibido: 7-ago-2006 • Aceptado: 9-ene-2008

Heterópteros acuáticos del Quindío (Colombia): Los infraórdenes Gerromorpha y Nepomorpha

Aquatic heteropterans of Quindio (Colombia): The infraorders Gerromorpha and Nepomorpha

IRINA T. MORALES-CASTAÑO¹ y FREDY MOLANO-RENDÓN²

Resumen: Se realizó un inventario de los Heterópteros acuáticos en el departamento del Quindío, Colombia en sistemas lóticos y lénticos durante los meses de abril a octubre del 2005. Se recolectaron 3.355 especímenes pertenecientes a 13 familias, 27 géneros y 53 especies. Gerromorpha fue el infraorden más rico con 28 especies (52%) y Nepomorpha el segundo con 25 especies, las que representan el 47% del muestreo total. Se registran por primera vez para el departamento 42 especies y para el país nueve especies. Los géneros *Buenoa* (Notonectidae) y *Rhagovelia* (Veliidae) fueron los mejor representados (11,3%) con seis especies cada uno. *Rhagovelia cauca* fue la especie más abundante en todo el muestreo; la alta frecuencia de encuentro de esta especie, puede deberse a su amplia distribución altitudinal. Se presentaron valores de diversidad bajos a mayores altitudes lo cual puede deberse a la limitante altitudinal de algunas especies, mientras que los parámetros físicos y químicos presentaron valores que facilitan la vida acuática, obteniéndose alta riqueza de individuos en las 104 estaciones de muestreo. La distribución de las especies de Nepomorpha estuvo relacionada con las características fisicoquímicas del agua, mientras que las especies de Gerromorpha estuvieron relacionadas principalmente con el tipo de cuerpo de agua.

Palabras clave: Chinchas acuáticas. Diversidad de Heteroptera. Variables físicas y químicas.

Abstract: A survey of the aquatic Heteroptera was made in lotic and lentic systems in the Quindío department, Colombia, over the months of April to October 2005. A total of 3,355 specimens were collected belonging to 13 families, 27 genera and 53 species. Gerromorpha was the most diverse suborder with 28 species (52%) and Nepomorpha was the second with 25 species, which represented 47% of the total collection. For the department 42 new species are registered and for the country nine. The genera *Buenoa* (Notonectidae) and *Rhagovelia* (Veliidae) were the best represented (11,3%) with six species each. *Rhagovelia cauca* was the most abundant species in all of the survey; the high frequency of encounter of this species could be due to its wide altitudinal distribution. Low diversity values were found at higher altitudes, which could be due to the altitudinal limit of species, whereas the physical and chemical parameters showed values that allow aquatic life, yielding a high richness of individuals at the 104 sample stations. The distribution of Nepomorpha species was related to the physiochemical characteristics of the water while Gerromorpha species were mainly related to the type of body of water.

Key words: Aquatic bugs. Heteroptera diversity. Physical and chemical variables.

Introducción

Los heterópteros asociados a los ecosistemas acuáticos, comúnmente conocidos como “chinchas de agua”, se encuentran entre un grupo de insectos poco estudiados en el Neotropico, pues no representan un peligro o utilidad práctica inmediata. Sin embargo, se sabe que tanto las formas acuáticas como semiacuáticas son depredadoras de larvas de mosquitos, lo que podría ser utilizado como un posible control biológico (García *et al.* 1996).

Entre las muchas especies de insectos acuáticos, algunas son importantes como indicadores de la calidad del agua (Álvarez y Roldán 1983), ya que la falta de estudios en estos grupos hace desconocer cualquier otro valor potencial para el hombre. Aristizábal (2002) considera que las familias de Heterópteros que se encuentran en la película superficial (Gerromorpha) pueden ser utilizados como indicadores de calidad de agua, especialmente en el contenido de grasas, aceites y de sustancias tensoactivas como detergentes, jabones, dispersantes de petróleo y en general las genéricamente cono-

cidas como sustancias activas al azul de metileno, las cuales rompen la tensión superficial del agua, haciendo imposible el sostén físico de estos organismos.

Dentro de los países del Neotropico, Colombia es en el que menos se ha dedicado esfuerzos para estudiar los heterópteros asociados a los ecosistemas acuáticos (Nieser 1975, 1981; Álvarez y Roldán 1983; Polhemus 1984). Adicional a este desconocimiento, actualmente se observa una degradación acelerada del hábitat producto de las actividades humanas presentándose daños irremediables en estos ecosistemas. Por lo tanto, se hace necesario realizar estudios tendientes al conocimiento de la entomofauna acuática como una base importante para la conservación y preservación de las fuentes de agua. Con esta perspectiva, el objetivo de este trabajo es contribuir al conocimiento de los chinchas acuáticos y semiacuáticos (infraórdenes Gerromorpha y Nepomorpha) en fuentes de agua lóticas y lénticas del departamento del Quindío.

¹ Bióloga, M. Sc. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Grupo Insectos de Colombia, Bogotá, Colombia. irinamoraless@gmail.com.

² Biólogo, M. Sc. Profesor Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Escuela de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Básicas. Avenida Central del Norte. Tunja - Boyacá.

Materiales y Métodos

La presente investigación se llevó a cabo en el departamento del Quindío, ubicado en la vertiente occidental de la cordillera central de Colombia, entre los 4°04' y 4°44'N y los 75°26' y los 75°22'W (FOREC 2000). Las recolecciones se realizaron durante los meses de abril a octubre del 2005. En total se muestrearon 104 sitios, distribuidos en los municipios de Armenia (4), Calarcá (16), Circasia (6), Córdoba (8), Filandia (9), La Tebaida (13), Montenegro (15), Salento (8) y Quimbaya (13). Los sitios de recolección fueron seleccionados mediante un diseño de muestreo por líneas interceptas, el cual traza en un mapa del departamento los sitios de colecta. De tal manera, también se muestrearon tres municipios del norte del Valle, Alcalá (6), Caicedonia (3) y Corozal (3) (Fig. 1). Los municipios de Génova y Pijao no fueron muestreados por presentar problemas de orden público.

Las recolecciones fueron específicas para estos insectos por medio de redes entomológicas acuáticas, tanto para las especies de superficie como para las de masa de agua. El esfuerzo de captura fue de una hora persona, en un área de 5 m² a partir del punto de muestreo; los individuos recolectados fueron preservados en alcohol etílico al 70%, con su respectiva información. Se buscó siempre que todos los micro-hábitats quedaran representados (p. ej.: áreas de corriente fuerte, áreas de remanso, áreas protegidas de la luz directa del sol y lagos o charcas aisladas de la corriente principal). En las estaciones de captura se registraron las características físicas, químicas y ambientales del agua como: pH, Oxígeno disuelto (O.D), conductividad, temperatura ambiental y del agua, la presencia o ausencia de corriente (velocidad), carácter estacional o permanente de los cursos de agua, coordenadas geográficas, altitud, ancho y diámetro del lago, profundidad, existencia o no de vegetación total o parcialmente sumergida y tipo de sustrato

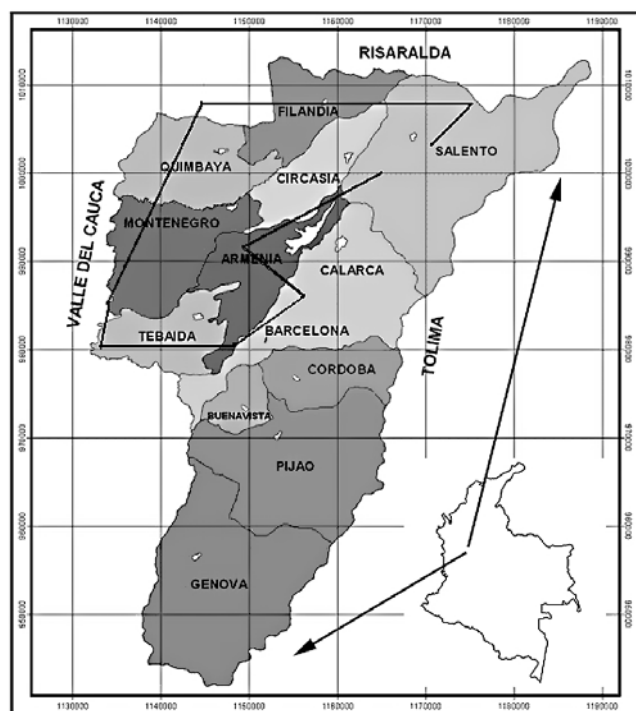


Figura 1. Mapa del departamento del Quindío, los sitios de recolección se indican en las líneas interceptas en el mapa.

(fango, arena, grava, piedra, vegetal o artificial) (Jaimes-Cuellar *et al.* 2000).

Los especímenes se determinaron a nivel taxonómico de especie con las siguientes referencias: Drake y Harris (1932, 1934), Hungerford y Matsuda (1960), Mychajliw (1961), Drake (1963), Roback y Nieser (1974), Nieser (1975), Andersen (1982), López-Ruf (1991a, 1991b, 1993, 2004), Nieser *et al.* (1993), Bachmann y López-Ruf (1994), Manzano *et al.* (1995), Schuh y Slater (1995), Polhemus (1997), Estévez y Polhemus (2001), Nieser y López-Ruf (2001), Pérez (2001), Aristizábal (2002), Padilla (2002), López-Ruf *et al.* (2003), Padilla y Nieser (2003), Williams (2003), Andersen y Weir (2004), Camacho y Molano (2005). La colección fue depositada en el Laboratorio de Entomología de la Universidad del Quindío (LEUQ).

Se calculó la abundancia de individuos, por suborden, familia, género, especie y por estaciones de muestreo. Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con el objeto de caracterizar las estaciones de estudio; identificando agrupaciones de las localidades según la abundancia de las especies de chinches acuáticas y semiacuáticas. Así mismo, se llevaron a cabo las comparaciones de índices de diversidad por rangos altitudinales (Margalef, Shannon-Wiener y Simpson). Finalmente se llevó a cabo un análisis de correlación canónica con el fin de correlacionar la abundancia de las especies y las variables físicas y químicas, lo cual permite caracterizar el hábitat de la comunidad de hemípteros. Los análisis se realizaron mediante el programa Statistica 6.0; los índices de diversidad se realizaron mediante el programa DIVERS (Pérez y Sala 1993).

Resultados y Discusión

Se coleccionaron 3.355 especímenes de chinches acuáticos (Infraorden Nepomorpha) y semiacuáticos (Infraorden Gerromorpha) pertenecientes a 13 familias, 27 géneros y 53 especies (Tabla 1). Algunos estudios en Colombia reportan cifras similares en cuanto a número de familias y géneros, como el de Álvarez y Roldán (1983) en el departamento de Antioquia, encontrándose sólo diferencias en el número de especies (38 especies). Para la costa Pacífica Colombiana, Manzano *et al.* (1995) determinaron siete familias, 16 géneros y 17 especies. Roback y Nieser (1974) para los llanos orientales colombianos, registraron 11 familias, 22 géneros y 48 especies. A pesar que el área del departamento del Quindío es menor que las áreas de los otros estudios se evidencia una mayor riqueza de especies.

Las chinches acuáticas y semiacuáticas son pobremente conocidas en el departamento del Quindío, teniendo registros de solo 11 especies para Gerridae (Rivera-Usme y Camacho-Pinzón 2006; Molano y Camacho 2006). En este estudio, 42 especies corresponden a nuevos reportes para el departamento del Quindío y nueve para Colombia. Estas últimas son: infraorden Nepomorpha: *Pelocoris binotulatus binotulatus* Stål, 1860, *Pelocoris binotulatus nigriculus* Berg, 1879, *Cryphocricos barozzii* Signoret, 1850, *Belostoma bergi* Montandon, 1913, *Neoplea maculosa* (Berg, 1879), *Neoplea semipicta* (Horváth, 1918) y *Gelastocoris oculatus* (Fabricius, 1798); y para Gerromorpha: *Hydrometra sztolcmani* Jaczewski, 1928 e *Hydrometra thomasi* Mychajliw, 1961.

El infraorden mejor representado fue Gerromorpha con 28 especies (52%) y un total de 2.534 individuos (75,5%). En Nepomorpha se identificaron 25 especies que representan el

47%, con 821 individuos (24,4%) (Tabla 1). Estas proporciones difieren de las encontradas en otros estudios, donde el infraorden con mayor riqueza es Nepomorpha. Para los llanos orientales, se identificaron once especies de Gerromorpha y de Nepomorpha 37 especies (Roback y Nieser 1974). Manzano *et al.* (1995) reportan ocho especies de Gerromorpha y nueve de Nepomorpha. En estudios realizados en Argentina, se identificaron once especies de Gerromorpha y 32 para Nepomorpha (López-Ruf *et al.* 2003). Vianna y Melo (2003) para el Brasil, registraron 14 de Gerromorpha y 17 Nepomorpha. Este último es más rico en especies a nivel mundial que Gerromorpha con 2.000 y 1.800 especies respectivamente (Andersen y Weir 2004).

Las familias mejor representadas fueron Gerridae con 12 especies (23%) y Veliidae con nueve especies (17%), seguida en su orden por Naucoridae con ocho (15%) y Notonectidae con siete (13%) (Tabla 1). Gerridae junto con Veliidae se caracterizan por ser de las familias más diversas dentro de los Gerromorpha; sus especies ocupan toda clase de microhábitats tanto permanentes como temporales, desde las grandes altitudes hasta el mar, encontrándose tanto en ambientes lóticos como lénticos (Andersen 1982; Andersen y Weir 2004). Dentro de éstas, los géneros *Buenoa* (Notonectidae) y *Rhagovelia* (Veliidae) fueron los mejor representados (11,3%) con seis especies cada uno, y con 232 (6,9%) y 917 (27,3%) individuos respectivamente (Tabla 1). Según Padilla (2002) *Buenoa* es un género con amplia distribución y con especificidad de hábitats; este grupo prefiere aguas quietas en charcas, lagos y remansos de ríos, viven entre las plantas flotantes y el fondo (López-Ruf 2004); las especies de este género cohabitan los mismos lugares, por esta razón fue uno de los grupos con mayor número de especies.

La abundancia de *Rhagovelia* puede deberse a que es uno de los géneros de chinches patinadores más frecuentes dentro de los heterópteros acuáticos que habitan en las regiones neotropicales; se han descrito cerca de 200 especies para esta región, ocupando toda clase de hábitats lóticos (Polhemus 1997). Este género aparece como uno de los más ricos y abundantes en los muestreos (Manzano *et al.* 1995), caso contrario citan Roback y Nieser (1974), quienes encontraron para los llanos orientales a *Tenagobia* y *Belostoma* como los géneros con mayor número de especies e individuos.

Las especies más abundantes del infraorden Gerromorpha fueron *Rhagovelia cauca* Polhemus, 1997 (15,3%), *Trepobates trepidus* Drake & Harris, 1928 (5,6%), *Microvelia pulchella* Westwood, 1834 (5,6%), *Limnogonus aduncus* Drake & Harris, 1933 (5,6%), *Trepobates taylori* (Kirkaldy, 1899) (5%) (Tabla 1). Todas estas, tienen comportamiento de “agregación”, al cual puede atribuirse su mayor abundancia. Según Andersen (1982), este comportamiento de agregación se da principalmente para incrementar captura de las presas; además es un método eficaz al huir de los depredadores (Spence y Andersen 1994).

Todas las especies del infraorden Nepomorpha se encontraron con abundancias menores del 5% (Tabla 1). Este resultado puede deberse a la selectividad de este grupo frente al microhábitat a ocupar; algunos viven en lugares de fuerte corriente, bénticos o enterrados, en lugares escasamente vegetados o sin vegetación, asociados a raíces flotantes o sumergidas, y algunos son relativamente independientes de la presencia abundante de plantas. La mayoría de especies de este infraorden no tienden a agregarse como si lo hacen los Gerromorpha, más bien prefieren estar en grupos de pocos individuos (López-Ruf *et al.* 2003).

Rhagovelia cauca presentó una alta frecuencia de ocurrencia (34%); este comportamiento puede ser producto de su “alta” abundancia en algunas estaciones (21 y 37 en especial). Otra especie muy abundante fue *L. aduncus*, presente en 33 lugares; en su orden siguió *M. pulchella* (29 estaciones), *T. trepidus* (28 estaciones), *T. taylori* (24 estaciones), *Limnocoris angulatus* Nieser *et al.*, 1993 y *Rhagovelia cali* Polhemus, 1997 ambas recolectadas en 19 estaciones (Tabla 1). La alta frecuencia de encuentro de estas especies en los sitios de muestreo puede deberse a su amplia distribución altitudinal como es el caso de *Rhagovelia* (Álvarez y Roldán 1983). En el presente estudio este género se reporta desde los 1.000 a los 2.000 msnm, distribución que concuerda con lo citado por Polhemus (1997) para el Valle del Cauca y Antioquia. Molano *et al.* (2005), registraron a *L. aduncus* ampliamente distribuida en el país, desde los 20 a 1.700 msnm; en este estudio se reporta desde los 1.000 a los 1.600 msnm. Según Drake y Hussey (1955), *M. pulchella*, *T. trepidus* y *T. taylori*, son especies ampliamente distribuidas encontrándose desde los cinco a los 1.700 msnm; sin embargo, en las estaciones se recolectaron desde los 1.000 a los 2.000 msnm. Para *L. angulatus* no existen registros de distribución para Colombia, no obstante Nieser y López-Ruf (2001) definen a este género como predominante en Suramérica.

Las cinco especies más abundantes alcanzan 40,1% del total (Tabla 1); mientras que 29 especies tienen una abundancia relativa menor a 1%. Este alto número de especies con pocos individuos usando un único método de captura y gran variedad de hábitat muestreados en una región, parece corroborar la particularidad poblacional de los Heterópteros acuáticos, de mostrar un número representativo de especies, en las cuales la mayoría exhiben bajas densidades poblacionales o son raras. Esto se evidenció con los valores del índice de Simpson (Fig. 2).

El mayor número de individuos se reportó en las estaciones Lago El Cuzco y Lago Murillo con 142 individuos cada una, constituyendo el 4,2%, seguido de la estación Lago Higuerón con 105 individuos los cuales representaron el 3,1% del total, seguido de Quebrada Bremen con 102 individuos y la estación Lago El Edén con 80. En las estaciones Lago Murillo y Lago Higuerón se obtuvo el más alto número de especies, 17 cada uno. En la estación Lago El Cuzco se registraron 14 especies, seguido de la estación Quebrada Corozal con doce especies y la estación Lago El Edén con once.

La mayoría de las estaciones con alto número de individuos y especies pertenecen a lagos artificiales, generalmente usados para la pesca, con o sin vegetación emergente, totalmente expuestos a la luz solar, y con fondo lodoso. La mayoría de los heterópteros acuáticos prefieren sistemas lénticos o zonas de remanso de sistemas lóticos, ocupando diversos nichos en sus ecosistemas (Álvarez y Roldán 1983; López-Ruf *et al.* 2003). La abundancia de este grupo de organismos en las fuentes de agua se atribuye a la suma de factores tales como su alta voracidad, eficiencia como depredadores de otros insectos y su tolerancia a diversas condiciones ambientales (Roback y Nieser 1974).

En el análisis de componentes principales (ACP), se trabajó con la matriz de covarianza puesto que ésta explica la variación en términos absolutos y es utilizada cuando las variables son homogéneas, en este caso se eligió debido a que se estaba tratando con las mismas unidades (número de individuos). El ACP presentó autovalores bajos, es así como solo con el cuarto componente se explica un 67,4% de la misma (Tabla 2) esto

Tabla 1. Abundancia total, abundancia relativa y altitud de las especies de heterópteros colectadas en sistemas lóticos y lénticos del departamento del Quindío.

Taxón	Abundancia	Abundancia relativa	Altitud (m)
NEPOMORPHA Popov, 1968			
Corixidae Leach, 1815			
<i>Centrocorisa</i> Lundblad, 1928			
<i>Centrocorisa</i> sp. 1	85	2,5	1.000-1.800
<i>Tenagobia</i> Bergroth, 1899			
<i>Tenagobia</i> sp. 1	25	0,7	1.100-1.750
Naucoridae Leach, 1851			
<i>Limnocoris</i> Stål, 1860			
<i>Limnocoris angulatus</i> Nieser et al., 1993	138	4,1	1.000-1.900
<i>Limnocoris calii</i> Nieser et al., 1993	41	1,2	1.200-1.713
<i>Limnocoris obscurus</i> Montandon, 1898	6	0,1	1.100-1.900
<i>Limnocoris</i> sp. 1	1	0,03	1.600
<i>Pelocoris</i> Stål, 1876			
<i>Pelocoris binotulatus binotulatus</i> Stål, 1860	64	1,9	1.000-1.700
<i>Pelocoris binotulatus nigriculus</i> Berg, 1879	39	1,1	1.200-1.800
<i>Pelocoris</i> sp.	7	0,2	1.000-1.200
<i>Cryphocricos</i> Signoret, 1850			
<i>Cryphocricos barozzii</i> Signoret, 1850	11	0,3	1.200-1.500
Belostomatidae Leach, 1815			
<i>Belostoma</i> Latreille, 1807			
<i>Belostoma</i> sp. 1	37	1,1	1.000-1.600
<i>Belostoma bergi</i> Montandon, 1913	13	0,4	1.000-1.700
Notonectidae Latreille, 1802			
<i>Buenoa</i> Kirkaldy, 1904			
<i>Buenoa salutis</i> Kirkaldy, 1904	76	2,2	1.000-1.700
<i>Buenoa cucunubensis</i> Padilla & Nieser, 1992	7	0,2	1.100-1.600
<i>Buenoa</i> sp. 1	91	2,7	1.000-1.800
<i>Buenoa gracilis</i> Truxal, 1953	32	0,9	800-1.700
<i>Buenoa pallens</i> (Champion, 1901)	11	0,3	1.100-1.800
<i>Buenoa pallipes</i> (Fabricius, 1803)	15	0,4	1.000-1.200
<i>Notonecta</i> Linnaeus, 1758			
<i>Notonecta</i> sp. 1	19	0,5	1.600-1.800
Pleidae Fieber, 1851			
<i>Neoplea</i> Esaki & China, 1928			
<i>Neoplea maculosa</i> (Berg, 1879)	32	0,9	1.000-1.300
<i>Neoplea semipicta</i> (Horváth, 1918)	8	0,2	1.000-1.700
<i>Paraplea</i> Esaki & China, 1928			
<i>Paraplea</i> sp.	10	0,3	1.000
Nepidae Latreille, 1802			
<i>Ranatra</i> Fabricius, 1790			
<i>Ranatra</i> sp.	43	1,3	1.000-1.700
Ochteridae Kirkaldy, 1906			
<i>Ochterus</i> Latreille, 1807			
<i>Ochterus</i> sp. 1	2	0,06	1.500
Gelastocoridae Kirkaldy, 1897			
<i>Gelastocoris</i> Kirkaldy, 1897			
<i>Gelastocoris oculatus</i> (Fabricius, 1798)	8	0,2	1.100-1.600
GERROMORPHA Popov, 1971			
Hydrometridae Billberg, 1820			
<i>Hydrometra</i> Latreille, 1796			
<i>Hydrometra sztolcmani</i> Jaczewski, 1928	18	0,5	1.000-1.300
<i>Hydrometra caraiba</i> Guérin, 1856	28	0,8	800-1.300
<i>Hydrometra thomasi</i> Mychajliw, 1961	1	0,03	1.045
<i>Hydrometra</i> sp. 1	26	0,8	1.000-1.700
Mesoveliidae Douglas & Scott, 1867			
<i>Mesovelia</i> Mulsant & Rey, 1852			
<i>Mesovelia mulsanti</i> Mulsant & Rey, 1852	114	3,4	1.000-1.700

Continúa

Continuación Tabla 1.

Taxón	Abundancia	Abundancia relativa	Altitud (m)
Mesoveloidea Hungerford, 1929			
<i>Mesoveloidea williamsi</i> Hungerford, 1929	2	0,06	1.000-1.600
Veliidae Brullé, 1836			
Microvelia Westwood, 1834			
<i>Microvelia pulchella</i> Westwood, 1834	188	5,6	1.000-2.000
<i>Microvelia longipes</i> Uhler, 1894	33	1	1.000-1.200
<i>Microvelia</i> sp. 1	2	0,06	1.100
Rhagovelia Mayr, 1865			
<i>Rhagovelia cauca</i> Polhemus, 1997	513	15,3	1.000-2.000
<i>Rhagovelia cali</i> Polhemus, 1997	155	4,6	1.000-2.000
<i>Rhagovelia elegans</i> Uhler, 1894	15	0,4	1.000-1.110
<i>Rhagovelia perija</i> ? Polhemus, 1997	4	0,11	1.200
<i>Rhagovelia</i> sp. 1	188	5,6	1.000-1.700
<i>Rhagovelia</i> sp. 2	42	1,2	1.000-1.100
Gerridae Leach, 1815			
Metrobates Uhler, 1871			
<i>Metrobates</i> sp.	80	2,4	1.000-1.200
Trepobates Uhler, 1894			
<i>Trepobates taylori</i> (Kirkaldy, 1899)	165	5	1.000-1.700
<i>Trepobates trepidus</i> Drake & Harris, 1928	290	8,6	1.000-1.700
<i>Trepobates panamensis</i> Drake & Hottes, 1952	8	0,2	1.300-1.600
Brachymetra Mayr, 1865			
<i>Brachymetra albinervis</i> (Amyot & Seville, 1843)	67	2	800-1.600
Limnogonus Stål, 1868			
<i>Limnogonus aduncus</i> Drake & Harris, 1933	187	5,6	1.000-1.600
<i>Limnogonus franciscanus</i> (Stål, 1859)	61	1,8	800-1.300
Potamobates Champion, 1898			
<i>Potamobates carvalhoi</i> Polhemus & Polhemus, 1995	7	0,2	800-1.100
Tachygerris Drake, 1957			
<i>Tachygerris opacus</i> (Champion, 1901)	47	1,4	1.000-1.400
Rheumatobates Bergroth, 1892			
<i>Rheumatobates crassifemur crassifemur</i> Esaki, 1926	162	4,8	800-1.300
<i>Rheumatobates</i> sp.	1	0,03	1.100
Eurygerris Hungerford & Matsuda, 1958			
<i>Eurygerris fuscineris</i> (Berg, 1898)	129	3,8	1.600-2.000
Hebridae Amyot & Serville, 1843			
Hebrus Curtis, 1833			
<i>Hebrus major</i>	1	0,03	1.050
TOTAL	3.355	100	

se manifiesta por la variación relativamente homogénea de las especies. En tal sentido, dado que no existen especies (variables) que presentaron una dominancia marcada por sus grandes abundancias, no se presentó un mayor valor de variación explicada en el primer componente de los autovalores. Es decir que la especie dominante no representa una variación muy alta que redunde en un alto porcentaje de la misma explicado por el primer componente.

La especie con mayor aporte al componente uno fue *R. cauca*, en tanto que para el componente dos *T. trepidus* presentó el vector más grande pero en sentido negativo, a su vez *Rhagovelia* sp. 1, se mostró como la segunda especie en aporte para este vector, lo que estableció a estas especies como las dominantes en términos generales para las estaciones de estudio.

La estación 21 fue la más diferenciada, producto de la marcada dominancia de *R. cauca* y *Eurygerris fuscineris* (Berg,

1898) en esta estación. De hecho, las dos estaciones más cercanas a ésta fueron la 37 y la cinco, donde *R. cauca* mostró su segunda mayor abundancia; esto apoya la importancia de esta especie en el ordenamiento espacial de las estaciones; estos resultados pueden deberse a su distribución altitudinal y a su comportamiento de agregación.

Los valores más altos de diversidad se obtuvieron mediante el índice de Margalef (800 - 1.100 m: 5,67; 1.001 - 1.400 m: 5,53; 1.401 - 1.700 m: 5,04; 1.701 - 2.000 m: 2,4), seguido por el índice de Shannon - Wiener (3,18, 3,12, 2,55, 2,08) y los valores más bajos se obtuvieron mediante el índice de Simpson (0,05, 0,05, 0,12, 0,17), aunque este último es un inverso de diversidad (Fig. 2). Los índices sugieren que la diversidad de chinches acuáticos y semiacuáticos disminuye a medida que aumenta la altitud, resultados similares son reportados por Álvarez y Roldán (1983), quienes encontraron que la diversidad de chinches acuáticos y semiacuáticos tiende a disminuir

Tabla 2. Análisis de componentes principales (ACP) para la abundancia de las especies de chinches acuáticos y semiacuáticos recolectadas en el departamento del Quindío.

	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 3	Comp. 4
Autovalores	131,807	58,420	45,5734	37,9885
Porcentaje var.	30,395	18,359	10,442	8,242
Porcentaje acum.	30,395	48,754	59,196	67,438

a medida que baja la temperatura del agua y aumenta la altitud sobre el nivel del mar, sobre todo en los sistemas lóticos, mientras que en los sistemas lénticos no se observó dicha relación. Los valores de diversidad bajos a mayores altitudes pueden deberse a la limitante altitudinal de algunas especies (Aristizábal 1995), como es el caso de *E. fuscinervis*, especie que se encuentra registrada desde los 1.800 a los 2.000, indicando que los chinches acuáticos y semiacuáticos recolectados en el departamento se encuentran por lo general por debajo de los 2.000 msnm, altitudes donde estos individuos encuentran condiciones más propicias para habitar.

Con relación a las variables físicas y químicas, la conductividad dada en $\mu\text{mhos/cm}$ fluctuó de 0 a 3,49 y tuvo un promedio de 0,294 $\mu\text{mhos/cm}$. Según Roldán (1992), la conductividad aumenta progresivamente a medida que aumenta la carga por erosión, arrastre de sedimentos y escorrentía, posiblemente fue lo que sucedió en las estaciones donde se presentaron los valores más altos de conductividad (estaciones siete y nueve). Este mismo autor argumenta que las altas riquezas presentadas en los ecosistemas acuáticos corresponden a menudo a bajas conductividades, lo que se evidencia en las estaciones muestreadas.

El pH presentó un rango entre 6,1 y 10,29. Los ambientes acuáticos naturales tienen un pH que oscila entre 5,0 y 9,0 (Rojas *et al.* 2006); estos valores facilitan la vida acuática y según lo plantean Correa *et al.* (1981) el pH no debe ser menor a 4,5 ni mayor a 8,5 puesto que son valores límites para la supervivencia de organismos acuáticos. Sin embargo, esto no concuerda con el valor encontrado para la estación 74 donde se presentó un valor de 10,29, donde se puede presentar una alta productividad primaria (Roldán 1992); lo cual puede tener su explicación en la constitución del suelo del sitio que puede ser rico en calcio (Rivera y Mejía 2005).

La temperatura del aire varió significativamente a lo largo del estudio, registrando valores mínimos de 16,7°C y máximos de 33,1°C con un promedio de 25,53°C y la temperatura

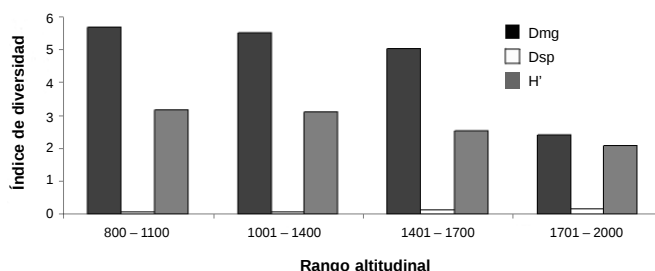
del agua por su parte, registró valores desde los 16,2°C a 36°C con un promedio de 23,61°C. Los máximos valores se registraron en la Vereda Varalla (La Tebaida estación 93) y en La Tigrera (Quimbaya, estación 102), aunque en los ecosistemas tropicales las temperaturas no sufren grandes variaciones como las que ocurren en las zonas templadas, se presentaron diferencias significativas referidas a variaciones altitudinales de las diferentes estaciones (Roldán *et al.* 2001; Rivera y Mejía 2005; Rojas *et al.* 2006). El oxígeno disuelto presentó concentraciones mínimas de 0,56 mg/L a 10 mg/L con un valor promedio de 5,52 mg/L. Estas variaciones que se presentaron en los sistemas lóticos dependen de la presión atmosférica, de la altitud sobre el nivel del mar, temperatura, características del cauce de y procesos químicos y biológicos (Rivera y Camacho 2006).

Se correlacionaron las variables físicas y químicas con la abundancia de 42 especies. El r canónico general fue de 0,90, el cual es significativo ($\chi^2(400) = 529,73$ $P = 0,00002$), por lo cual se puede decir que las variables físicas y químicas del agua predicen en un 90% la abundancia de las especies de chinches en los sistemas estudiados. Se establecieron dos pares de variables canónicas de los coeficientes de las especies. Para el primer par, la especie que más aportó fue *Paraplea* sp. (-0,625656) y las variables físicas y químicas que más aportaron fueron el oxígeno disuelto (OD) (-5,35756) y el porcentaje de saturación de oxígeno (5,37838). Para el segundo par establecido, la especie que tuvo un mayor aporte fue *Buenoa pallens* (Champion, 1901) (1,071540) y las variables que obtuvieron un mayor aporte fueron la temperatura del agua (-1,30848) seguida de la temperatura del aire (0,52853).

Paraplea sp. y *B. pallens* presentaron los mayores valores para las variables físicas y químicas, lo cual podría indicar una influencia significativa de las variables en cuestión sobre la distribución de las especies que son totalmente acuáticas. De esta manera, se puede inferir que Gerromorpha es influido poco por variables físicas y químicas del agua; en cambio, depende sobre todo de la altitud, de la temperatura del aire y del tipo de medio acuático, coincidiendo de esta manera con las observaciones de López y Hernández (2001) realizadas en Madrid (España).

Agradecimientos

A la vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Quindío por el financiamiento del proyecto 249 y al Centro de investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología de la Universidad del Quindío (CIBUQ), por el apoyo logístico. Muy especialmente al profesor José Ricardo Cobos-Vallejo, a Claudia M. Rivera, Lorena García y Harold Suárez, por su valiosa colaboración en el trabajo de campo. Finalmente a los evaluadores anónimos que enriquecieron el manuscrito original con sus comentarios.

**Figura 2.** Índices de diversidad (Dmg: Margalef; Dsp: Simpson; H':Shannon-Wiener) en diferentes rangos altitudinales, para los heterópteros recolectados en el departamento del Quindío.

Literatura citada

- ÁLVAREZ, L. F.; ROLDÁN, G. 1983. Estudio del orden Hemiptera (Heteroptera) en el Departamento de Antioquia en diferentes pisos altitudinales. *Actualidades Biológicas* 12 (44): 31-45.
- ANDERSEN, N. M. 1982. The semiaquatic bugs (Hemiptera: Gerromorpha). Phylogeny, adaptations, biogeography and classification. *Entomograph* 3. Scandinavian Science Press LTD Klampenborg. 453 p.
- ANDERSEN, N. M.; WEIR, T. A. 2004. Australian water bugs. Their biology and identification (Hemiptera- Heteroptera, Gerromorpha & Nepomorpha). *Entomograph* 14 Apollo Books Stenstrup and CSIRO Publishing Collingwood. 344 p.
- ARISTIZÁBAL, H. 2002. Los hemípteros de la película superficial del agua en Colombia. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Colección Jorge Álvarez Lleras. N. 20. Editora Guadalupe. Bogotá. 245 p.
- BACHMANN, A.; LÓPEZ-RUF, M. 1994. Los Pleoidea de la Argentina (Insecta: Hemiptera). Fauna de agua dulce de la República Argentina. 35 Insecta Hemiptera 3 Pleoidea. Buenos Aires. 32 p.
- CAMACHO, D.; MOLANO, F. 2005. Clave ilustrada de especies de Gerridae (Heteroptera: Gerromorpha) para el departamento del Quindío-Colombia. *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío* 15: 75-82.
- CORREA, M.; MACHADO T.; ROLDÁN, G. 1981. Taxonomía y ecología del orden Trichoptera en el departamento de Antioquia en diferentes pisos altitudinales. *Actualidades Biológicas* 10 (36): 35-48.
- DRAKE, C. J. 1963. A new Neotropical water-strider (Hemiptera: Gerridae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 36: 93-95.
- DRAKE, C. J.; HARRIS, H. M. 1932. A survey of the species of *Trepobates* Uhler (Hemiptera, Gerridae). *Bulletin of the Brooklyn Entomological Society* 27: 113-123.
- DRAKE, C. J.; HARRIS, H. M. 1934. The Gerrinae of the western hemisphere (Hemiptera). *Annals of the Carnegie Museum* 23: 179-241.
- DRAKE, C. J.; HUSSEY, R. F. 1955. Concerning the genus *Microvelia* Westwood, with description of two new species and a check-list of the American forms (Hemiptera: Veliidae). *The Florida Entomologist* 38 (3): 95-115.
- ESTÉVEZ, A.; POLHEMUS, J. 2001. The small species of *Belostoma* (Heteroptera, Belostomatidae). I. Key to species groups and revision of the *denticolle* group. *Iheringia, Series Zoology* 91: 151-158.
- FONDO DE RECONSTRUCCIÓN (FOREC). 2000. Quindío, territorio y planeación. Planeación departamental. Gobernación del Quindío. Armenia.
- GARCÍA, I.; VIVAR, R.; QUEZADA, J.; HUAMÁN, H. 1996. Insectos acuáticos biorreguladores de larvas de mosquito presentes en los "Pantanos de Villa", Lima, Perú. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 48 (3): 227-228.
- HUNGERFORD, H.; MATSUDA, R. 1960. Two new genera of Gerridae with the description of a new species. *Journal of the Kansas Entomological Society* 31 (2): 113-117.
- JÁIMEZ-CUÉLLAR, P.; LUZÓN-ORTEGA, J. M.; TIerno DE FIGUEROA, M. 2000. Contribución al conocimiento de los Hemípteros acuáticos (Insecta: Heteroptera) del Parque Natural de la Sierra de Huétor (Granada, España). *Zoologica Baetica* 11: 115-126.
- LÓPEZ, T.; HERNÁNDEZ, J. M. 2001. Répartition des hétéroptères aquatiques (Gerromorpha et Nepomorpha) de la province de Madrid (Espagne). *Vie et milieu* 51 (3): 113-121.
- LOPÉZ-RUF, M. 1991a. El género *Cryphocricos* en la Argentina (Hemiptera: Limnecoridae). *Revista de la Sociedad de Entomología Argentina* 49 (1-4): 103-120.
- LOPÉZ-RUF, M. 1991b. El género *Pelocoris* en la Argentina (Heteroptera: Limnecoridae). I. Introducción, diagnosis, clave de especies y redescrición de *P. (P.) binotulatus nigriculus* Berg, *P. (P.) binotulatus binotulatus* Stal y *P. (P.) impicticollis* Stål. *Physis* 49 (116-117): 13-22.
- LOPÉZ-RUF, M. 1993. Nuevas consideraciones sobre *Cryphocricos barozii* Signoret y descripción de la ninfa III (Insecta - Heteroptera - Limnecoridae). *Physis* 51 (120-121): 7-8.
- LOPÉZ-RUF, M.; MAZZUCCONI, S.; BACHMANN, A. 2003. Heteroptera Acuáticos y semiacuáticos del Parque Nacional Mburucuyá (provincia de Corrientes, Argentina). *Revista de la Sociedad de Entomología Argentina* 62 (1-2): 65-71.
- LÓPEZ-RUF, M. 2004. Situación ambiental de la provincia de Buenos Aires. A. Recursos y Rangos Naturales en la Evaluación Ambiental. *Temas de Entomología. Los hemípteros acuáticos y semiacuáticos de la Argentina* 27: 1-23.
- MANZANO, M.; NIESER, N.; CAICEDO, G. 1995. Lista preliminar de heterópteros acuáticos en la isla de Gorgona y Llanura del Pacífico, pp. 47-72. En: Pinto, P. (ed.). La isla de Gorgona nuevos estudios biológicos. Instituto de Ciencias Naturales Museo de Historia Natural, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- MOLANO, F.; CAMACHO, D.; SERRATO, C. 2005. Gerridae (Heteroptera: Gerromorpha) de Colombia. *Biota Colombiana* 6 (2): 163-172.
- MOLANO, F.; CAMACHO, D. L. 2006. Especies de Gerridae (Heteroptera: Gerromorpha) del Departamento del Quindío, pp. 370-376. En: Riqueza biótica quindiana. ed. Armenia, Universidad del Quindío.
- MYCHAJLIW, S. 1961. Four new species of *Hydrometra* from the new world (Hemiptera: Hydrometridae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 34 (1): 27-33.
- NIESER, N. 1975. The water bugs (Heteroptera-Nepomorpha) of the Guyana Region. *Studies in Fauna Suriname* 16: 1-308.
- NIESER, N. 1981. Hemiptera, pp. 100-128. En: Hulbert, S. H.; Rodríguez, G.; Dias Dos Santos, N. (eds.). *Biota of Tropical South America*. San Diego, California.
- NIESER, N.; GONZÁLEZ, R.; EICHELKRAUT, E. 1993. Nuevas especies de Naucoridae Fallen, (Heteroptera: Nepomorpha). *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle* 1 (1): 1-11.
- NIESER, N.; LÓPEZ-RUF, M. 2001. A review of *Limnecoris* Stål (Heteroptera: Naucoridae) in southern South America east of the Andes. *Tijdschrift Voor Entomologie* 144: 261-328.
- PADILLA, D. N. 2002. Revisión del género *Buenoa* (Hemiptera, Notonectidae) en Colombia. *Caldasia* 24 (2): 481-491.
- PADILLA, D. N.; NIESER, N. 2003. Nueva especie de *Tachygerris* y nuevos registros de colecta de las Gerridae (Hemiptera: Heteroptera) de Colombia. *Actualidades Biológicas* 25 (78): 39-49.
- PÉREZ, P. 2001. A new *Hydrometra* species from Argentina (Heteroptera: Hydrometridae). *Florida Entomologist* 84 (1): 127-130.
- PÉREZ, F.; SALA, F. 1993. DIVERS. Programa para el cálculo de los índices de diversidad. Programa informático en línea. <<http://Perso.wanadoo.es/jp-l/descargas.htm>>. Fecha última revisión: 29 septiembre 2006.
- POLHEMUS, J. 1984. Aquatic and Semi aquatic Hemiptera, pp. 231-255. En: Merritt R. W; Cummins, K W. (eds.). *An Introduction to the aquatic insects of North America* Kendall/Hunt Publishing company, Dubuque.
- POLHEMUS, D. 1997. Systematic of the genus *Rhagovelia* Mayr (Heteroptera: Veliidae) in the western Hemisphere (Exclusive of the angustipes Complex). *Monographs Thomas Say Publications in Entomology. Entomological Society of America* Lanham, Maryland, 385 p.
- RIVERA, J.; CAMACHO, D. 2006. Composición y abundancia de insectos acuáticos en tres reservas naturales del departamento del Quindío-Colombia. *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío* 16: 71-80.

- RIVERA, J.; MEJÍA, D. 2005. Estudio de algunos índices de calidad del agua para las épocas de altas y bajas lluvias en la quebrada La Jaramilla. La Tebaida-Quindío. *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío* 15: 45-54.
- ROBACK, S.; NIESER, N. 1974. Aquatic Hemiptera (Heteroptera) from the Llanos of Colombia. *Proceeding of the Academy of Natural Science of Philadelphia* 126 (4): 29-49.
- ROJAS, M.; MOLANO, F.; MORALES, I. 2006. Contribución al conocimiento de chinches semiacuáticos (Hemiptera: Gerridae) en ambientes lóticos y lénticos del departamento de Risaralda. *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío* 16: 37-47.
- RIVERA-USME, J.; CAMACHO-PINZÓN, D. 2006. Composición y abundancia de insectos acuáticos en tres reservas naturales del departamento del Quindío-Colombia. *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío* 16: 71-79.
- ROLDÁN, G. 1992. Fundamentos de limnología Neotropical. Editorial Universidad de Antioquia, Colección ciencia y tecnología. Medellín, 529 p.
- ROLDÁN, G.; POSADA, J.; GUTIÉRREZ, J. 2001. Estudio limnológico de los recursos hídricos del parque de Piedras Blancas. Editora Guadalupe, Bogotá, 137 p.
- SCHUH, R.; SLATER, J. 1995. True bugs of the World (Hemiptera: Heteroptera): Classification and Natural History. Comstock Publishing Associates, Nueva York, 336 p.
- SPENCE, J. R.; ANDERSEN, N. M. 1994. Biology of the Water Striders: Interactions Between Systematic and Ecology. *Annual Review of Entomology* 39: 101-128.
- VIANNA G. J.; MELO A. 2003. Distribution patterns of aquatic and semi aquatic Heteroptera in Retiro das Pedras, Brumadinho, Minas Gerais, Brazil. *Lundiana* 4 (2): 125-128.
- WILLIAMS, J. 2003. Florida Gelastocoridae (Heteroptera) Species key. <http://entnemdept.ifaus.ufl.edu/choate/Gelastocoridae.pdf>. Fecha última revisión: 8 septiembre 2005.

Recibido: 21-feb-2007 • Aceptado: 5-abr-2008

Fe de erratas

<https://doi.org/10.25100/socolen.v34i1.9267>

En el número 33 (2) junio-diciembre 2007 se presentaron los siguientes errores, ofrecemos excusas a los autores:

Trabajo

Frecuencia de cópula de la polilla guatemalteca de la papa *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae)

D. Rincón y J. García.

- Introducción, renglón dos, segunda columna, sobra la palabra «a». La frase completa queda: «En los insectos con reproducción sexual, la cópula es indispensable para la transferencia de esperma y tiene efectos importantes en la producción y fertilización de los huevos, la oviposición, e incluso en la longevidad de los adultos...»
- Materiales y Métodos, renglón 30, segunda columna, cambiar «Zig Poterman Calligraphy®» por «Zig Posterman Calligraphy®».
- Figura 1: (1) la numeración del eje «y» está errada, este eje debe ir de 10 en 10 hasta 100 y (2) en las convenciones de la figura en mención aparece «N» en mayúscula cuando debería aparecer en minúscula dado que es una muestra de la población y no la población completa.
- Página 5, renglón 17, segunda columna, cambiar «(L. 1758)» por «(L., 1758)».
- Figura 6, reemplazar «á» por “á”.

Trabajo

Digitonthophagus gazella (Coleoptera: Scarabaeidae): distribución en América y dos nuevos registros para Colombia.

C. Rivera y M. Wolff.

Se omitió la figura 1.

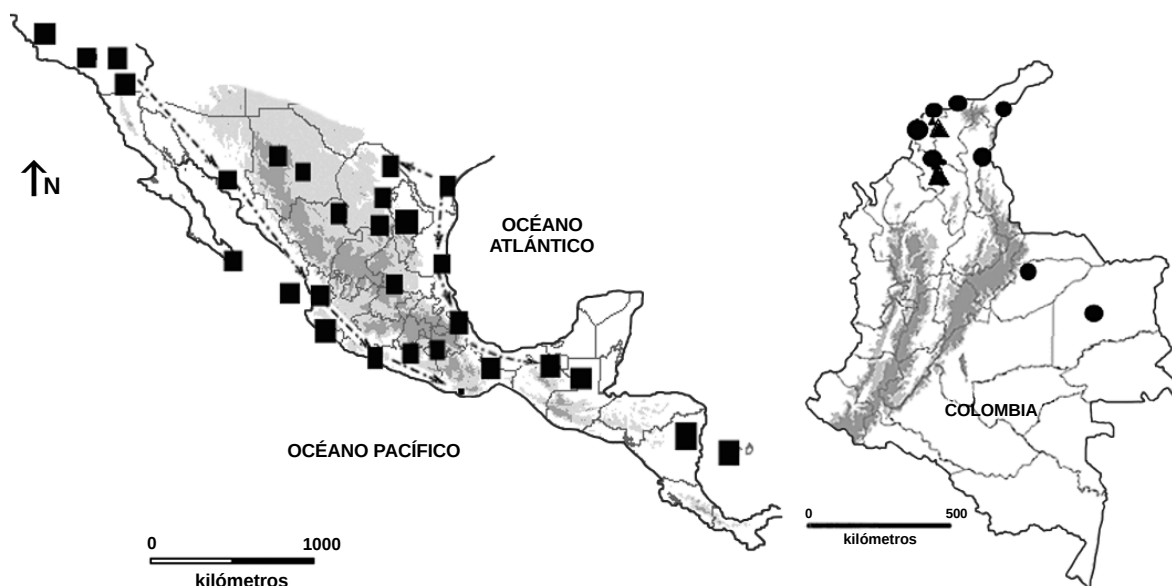


Figura 1. Mapa de distribución y dispersión de *D. gazella* en América. Los cuadrados indican los registros de la especie hasta el año 2002 (Centroamérica y San Andrés-Colombia), los círculos indican los primeros registros de la especie en territorio continental Colombiano (Noriega et al., 2006 en revisión) y los triángulos indican los dos nuevos registros para Colombia que aporta el presente trabajo. Zonas gris claro muestran altitudes entre 1.000 y 2.000 metros; Zonas gris oscuro muestran altitudes superiores a 2.000 metros.

REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

Volumen 34 No. 1 Enero - Junio 2008

Artículo de Revisión / Review paper The systematics of the Hemiptera

Dimitri Forero 1

Sección Agrícola / Agriculture

- Preformulados para control de la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) en condiciones de laboratorio
Carlos Espinel, Lissette Torres, Erika Grijalba, Laura Villamizar, Alba Marina Cotes 22
- Desarrollo y reproducción de *Bemisia tabaci* "B" (Hemiptera: Aleyrodidae) sobre genotipos de yuca (*Manihot esculenta*)
Arturo Carabali, James Montoya-Lerma, Anthony C. Bellotti 28
- Primer registro de *Lecanoideus floccissimus* (Hemiptera: Aleyrodidae) en cacao de Tabasco, México
Hipólito Cortéz-Madrigal, María Cruz Martínez-López, Francisco Reyes-Izquierdo, Laura Delia Ortega-Arenas 33
- Susceptibilidad de cuatro nóctuidos plaga (Lepidoptera) al gene Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* incorporado al algodónero
Ingeborg Zenner de Polanía, J. Alonso Álvarez Rodríguez, Helber Adrian Arévalo Maldonado, Rodolfo Mejía Cruz, Martín A. Bayona R. 41
- Capacidad de búsqueda del nematodo entomopatógeno *Steinernema* sp. SNIO 198 (Rhabditida: Steinernematidae)
Adriana Sáenz Aponte y William Olivares 51
- Velocidad de desplazamiento del primer instar de *Sagalassa valida* (Lepidoptera: Glyphipterigidae)
Adriana Sáenz y William Olivares 57
- Efecto de dos nematodos entomopatógenos sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae)
Paula A. Sepúlveda-Cano, Juan C. López-Núñez, Alberto Soto-Giraldo 62
- Control de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae) mediante su feromona para la interrupción del apareamiento
Felipe Bosa O., Pablo Osorio M., Alba Marina Cotes P., Marie Bengtsson, Peter Witzgall, Takehiko Fukumoto 68
- Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Anonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)
Carlos Augusto Hincapié Llanos, David Lopera Arango, Mariluz Ceballos Giraldo 76
- El complejo chisa (Coleoptera: Melolonthidae) asociado a cebolla y pasto en Risaralda, Colombia
Nelly Patricia Villegas, Andreas Gaigl, Luis Fernando Vallejo E. 83
- Patogenicidad de *Lecanicillium lecanii* (Fungi) sobre la garrapata *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) en laboratorio
Catalina Beltrán Alzate, Ana Isabel Gutiérrez G., Yamilé Saldarriaga O. 90

Sección Médica / Medical

Notas científicas / Scientific notes

- Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) de la Reserva Serranía de Coraza y Montes de María, Colombia
Alveiro Pérez-Doria, Ela Hernández-Oviedo, Eduar Elías Bejarano 98
- Primer registro de *Lutzomyia scorzai* y *Lutzomyia reburra* (Diptera: Psychodidae) en Antioquia, Colombia
Daniela Vergara, Eduar Elías Bejarano, Lina María Carrillo, Diana Sierra, Iván Darío Vélez 102

Sección Morfología, Comportamiento, Ecología, Evolución y Sistemática /

Morphology, Behavior, Ecology, Evolution and Systematics

- Análisis morfométrico en especies de *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) del grupo *repleta* de ecosistemas semiáridos colombianos
María Magdalena E. de Polanco, Rodrigo Prieto S., Luisa F. Galindo, Luis A. Lozano B., Marina Ordóñez V. 105
- Technomyrmex* (Formicidae: Dolichoderinae) in the New World: synopsis and description of a new species
Fernando Fernández and Roberto J. Guerrero 110
- Tabla de vida de *Pseudodirphia pallida* (Lepidoptera: Saturniidae) en condiciones de laboratorio
Claudia Milena Algarín, Mario Alejandro Marín, Sandra Uribe, Andre V. L. Freitas 116
- Heterópteros acuáticos del Quindío (Colombia): Los infraórdenes Gerromorpha y Nepomorpha
Irina T. Morales-Castaño, Fredy Molano-Rendón 121

Fe de erratas 33 (2) 2007

129



Sociedad Colombiana de Entomología

Apartado Aéreo 11366 • Bogotá, D. C. Tarifa postal reducida para libros y revistas No. 239 de Adpostal, vence Dic. 31 2008