

ISSN-0120-0488

REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

Volumen 34 • Número 2 • Julio - Diciembre 2008

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



Publicación oficial de la Sociedad Colombiana de Entomología

Artículo de Revisión

Diversification practices: their effect on pest regulation and production

Prácticas de diversificación: sus efectos en la regulación de plagas y en producción

KATJA POVEDA¹, MARÍA ISABEL GÓMEZ² and ELIANA MARTÍNEZ³

Abstract: The interest to shift pest management strategies from the intensive use of agrochemicals to more sustainable and ecologically friendly practices has increased in recent years. One alternative to conventional farming systems is the implementation of diversification practices that increase diversity in- and around- the field to increase the incidence of natural enemies, reduce pest pressure and enhance crop production. In this review we illustrate the theoretical framework on which diversification practices are based and contrast it with the empirical evidence. The detailed review of 62 original studies published in the last ten years, shows that diversification practices (a) enhance natural enemies in 52%, (b) reduce pest pressure in 53% and (c) increase yield in only 32% of the cases where this was examined. We discuss these results on the basis of the reviewed studies providing key elements that should be taken into account to design diversification practices that can be implemented as competitive pest management strategies that cover the farmers' needs, reducing the intensive use of agrochemicals.

Key words: Crop yield. Intercrop. Flowering-plant. Repellent-plant. Trap- plant.

Resumen: El interés por dirigir las estrategias de manejo de plagas desde el uso intensivo de agroquímicos a prácticas sostenibles y ecológicamente amigables se ha incrementado en los últimos años. Una alternativa para los sistemas de cultivo convencionales es la diversificación tanto dentro como alrededor de los cultivos buscando incrementar la incidencia de enemigos naturales, reducir la presión de las plagas e incrementar o mantener la producción del cultivo. Se presenta una revisión del marco teórico que ha sido base para el estudio de las prácticas de diversificación y se contrasta con la evidencia empírica. Los resultados reportados en 62 estudios originales publicados en los últimos diez años, muestran que las prácticas de diversificación (a) incrementan los enemigos naturales en el 52% de los casos, (b) reducen la presión de las plagas en un 53% de los estudios e (c) incrementan los rendimientos en solo el 32% de los casos. Se discuten estos resultados teniendo como base los estudios que proveen elementos claves para ser tomados en cuenta para el diseño de prácticas de diversificación que puedan ser implementadas como estrategias competitivas de manejo de plagas y que cubran las necesidades de los productores reduciendo el uso intensivo de agroquímicos.

Palabras clave: Producción. Policultivos. Plantas con flores. Plantas repelentes. Plantas trampa.

Introduction

The use of chemically synthesized fertilizers and pesticides to reduce crop pests and weeds and to increase harvest yields is common in current agricultural practices. These practices are coupled with the removal of weeds from within and around crops, large field sizes, tillage operations of varying intensity and the degradation or destruction of non-crop habitats (reviewed by Gurr *et al.* 2003). Although these practices have substantially increased yield, they also increased production costs, pesticide resistance and have affected ecosystem and human health (Matson *et al.* 1997; Krebs *et al.* 1999; Tilman *et al.* 2002). At the ecosystem level they caused serious ecological problems such as water contamination, habitat degradation and loss of biodiversity (Matson *et al.* 1997 ; Krebs *et al.* 1999; Staver *et al.* 2001; Tilman *et al.* 2002) with the concomitant loss of ecological functions such as pollination and biological control (Kruess and Tscharntke 1994; Matthies and Schmid-Hempel 1995; Didham *et al.* 1996; Kruess and Tscharntke 2000; Tilman *et al.* 2002). In response to these negative effects, the world market has increased its demand for residue free food (Thompson 1998; Magnusson and Cranfield 2005). One alternative to conventional farming

practices is the increase of in-and around- crop diversity to reduce pest pressure. It has been generally assumed that this practice stimulates the presence of natural enemies and enhances pest suppression, potentially reducing the need for costly and ecologically disruptive insecticide applications (i.e. Altieri and Nicholls 1994; Gurr *et al.* 2004). However, in order to propose technological packages that can be implemented by the farmers, the link between diversification practices and increased crop yield must be successfully shown (Gurr and Wratten 1999). There is an extensive theoretical literature predicting that biodiversity could enhance natural enemies and increase pest suppression (see next section). Also, empirical studies have tested the relationship between species diversity and functioning of natural enemy assemblages and pest suppression (Cardinale *et al.* 2003; Wilby and Thomas 2002a; Wilby and Thomas 2002b; Finke and Denno 2004; Straub *et al.* 2008), but a convincing link between habitat diversification, pest suppression and crop production seems to be missing.

Our goal is to contrast the theoretical and empirical evidence on how diversification practices affect natural enemies, pest pressure and crop yield. We start this review by summarizing the theoretical background, then we review original literature to determine if the theoretical expectations are met in the

¹ Postdoctoral researcher. Ph.D. Agroecology, Göttingen University, Waldweg 26, 37073 Göttingen, Alemania. kpoveda@gwdg.de. Autor para correspondencia.

² Researcher. MSc. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Ciudad Universitaria. Bogotá, Colombia. migomezj@unal.edu.co.

³ Researcher. MSc. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Biología. Ciudad Universitaria. Bogotá, Colombia. emartinezpa@unal.edu.co.

empirical work, emphasizing studies done on crop yield. Based on the results of this review we discuss the possible causes of any discrepancy between theory and observation, and propose some guidelines for future studies to develop management practices that meet the needs of farmers and reduce the use of agrochemicals.

How does diversity increase pest control and production? Theoretical background

There have been several hypotheses to explain how vegetation diversity can directly affect crop pests. In general, vegetation diversity has been proposed to disrupt the pest's ability to locate the host plant, to increase mortality of the pest or to repel the pest. Here we give a brief overview of the hypotheses that have been proposed until now:

a. **The disruptive crop hypothesis** is equivalent to Root's (1973) resource concentration hypothesis and stipulates that herbivores in polycultures will have more difficulties finding crop plants associated with one or more taxonomically or genetically different plants than finding crop plants in monoculture (Vandermeer 1989).

b. **The trap crop hypothesis** suggests that pests will be attracted to associated plants and hence are less likely to leave the trap crop and wander into the principal crop (Vandermeer 1989).

c. **The natural enemy hypothesis** proposes that a lower number of phytophagous insects are found in complex environments because predators and parasitoids are more diverse and abundant in those environments compared to simple environments (Root 1973; Russell 1989).

d. **The barrier crop hypothesis** or physical obstruction hypothesis bases its effectiveness on the use of taller non-host plants to obstruct the movement of the pest insect within the cropping system (Perrin and Phillips 1978).

e. **The visual camouflage hypothesis** also known as the "apparency hypothesis" incorporates the visual stimuli that induce herbivores to land on plants: color and plant height. Herbivores tend to land on tall green plants, so that using non-crop plants to make the crop "less apparent" by adding more green or taller plants is a useful mechanism to camouflage the crop (reviewed by Finch and Collier 2000).

f. **The associational resistance hypothesis** proposes that non-host plants confer protection to the crop by releasing "odor masking" substances into the air making the crop "invisible" to the herbivore (Tahvanainen and Root 1972).

g. **The repellent chemicals hypothesis** predicts that the non-host plants emit odors that repel the herbivore (Uvah and Coaker 1984).

h. **The altered profile of the host plant odor hypothesis** bases its effect on changes in the physiology of the plant through certain chemicals they take up from the soil (reviewed by Finch and Collier 2000).

The above hypotheses are supported in most cases by experimental evidence (reviewed by Finch and Collier 2000). However, the application of these techniques would be useless for agriculture if pest suppression and enhanced natural enemies do not translate into increased yield. Studies showing the link between pest suppression and yield are limited (Ostman *et al.* 2003; Cardinale *et al.* 2003) but the results are promising. Ostman *et al.* (2003) showed that ground-living natural enemies (ground beetles, Carabidae; rove beetles, Staphylinidae and spiders) of the bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* L.,

1758 dramatically reduce aphid abundance. Aphid suppression led to a 23% increase in barley *Hordeum vulgare* L. (Poaceae) yield compared to scenarios where natural enemies of the bird cherry-oat aphid were absent. In another study performed by Cardinale *et al.* (2003) on the effect of three natural enemies (*Harmonia axyridis* Pallas, 1773, Coccinellidae; *Nabis* sp., Nabidae and *Aphidius ervi* Haliday, 1834 Braconidae) on the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* Harris, 1776 (Aphididae) that feeds on alfalfa *Medicago sativa* L. (Fabaceae) they found an indirect effect of natural enemies on production mediated by herbivore suppression. The presence of all three enemy species reduced pea aphid density in the field. Crop yield was inversely related to pea aphid density and therefore the presence of natural enemies should increase yield. Although previous studies seem to be very promising, we have to take into account that those studies actively manipulate the presence of natural enemies in the field (Cardinale *et al.* 2003; Ostman *et al.* 2003), not reflecting what would happen in an agricultural setting. Thus the question remains open if diversification practices actually do increase the presence of natural enemies and increase pest suppression as would be predicted from the above hypotheses.

Effect of diversification on natural enemies, herbivores and crop damage and production

Theory predicts that diversified crops in and around the field should have a higher and more effective population of natural enemies, decreased pest pressure on the crop and consequently higher yields in comparison to monoculture. In order to test this prediction we searched for articles published in scientific journals in the last ten years that investigated the effect of diversification practices, like intercropping and local habitat manipulation, on pest suppression and biological control. To avoid biasing the articles with respect to known authors, groups or papers, we searched the literature database (ISI Web of Knowledge: <http://isiknowledge.com>) using the keywords: "pest* AND diversification", "pest* AND intercrop*", "pest* AND habitat manipulation", "habitat manipulation AND agroecosystems", "biological control AND agroecosystems", "biological control AND habitat manipulation". Out of the 279 references obtained in our search, we used the following criteria to finally select the 62 references included in our analysis (Table 1): (1) studies should be conducted at a local scale, including diversification practices in and immediately around the crop, (2) the timing of crop growth and diversification practices should be the same, excluding practices like crop rotation, (3) only studies performed in the field and on crops or their associated organisms are included, and (4) only studies that were available to us through the online libraries of the University of Göttingen (Germany) and Cornell University (USA) were included. For each study we recorded the crop, the diversification mechanism used, the effects (positive, negative and/or neutral) reported on herbivores, natural enemies, crop damage and crop production. Diversification practices were categorized into techniques performed in (52 studies) and around (seven studies) the crop and these categories were further subdivided by the type of plant that was used to increase diversity. Twenty-three studies increased within field diversity with other crops ("in-crop"), seven studies used flowering plants in the field ("in-flowers") to attract natural enemies and four studies used flowering plants around the crop ("around-flowers"). The rest of the studies increased in-field

or around-field diversity by specific functional groups like trap (“in-trap”- five studies) or repellent- plants (“in-repellent”- four studies) to attract or repel herbivores, by crops around the field (“around-crop”- two studies) or non-specifically by using weeds, ground cover plants, or natural diversity (“in-other”- 13 studies, and “around-other”- one study) (Table 1). Only three studies used combined in- and around-field practices and push-pull (“in/around-push-pull”) strategies to simultaneously attract herbivores to trap plants around the field and repel herbivores from the center of the crop (studies 34, 39, 40 in Table 1). In order to quantify if diversification practices decreased, increased or had no effect on natural enemies, herbivores and production, we independently scored each of the effects reported in each study. In those cases where more than one effect was shown, as for example in), who reported different effects on different species of natural enemies, we scored each reported effect independently. Thus, we had 62 articles that report 171 effect cases. Studies reporting

contradictory effects on the same species in different locations or in different years or on different ways of measuring the same response, were quantified as an unclear response. For example, Bukovinszky *et al.* (2004) reported a positive effect of intercropping on the number of *Plutella xylostella* per broccoli plant but a negative effect of the same treatment on the abundance of *P. xylostella* at a plot level, so the effect on the herbivore was scored as unclear.

From the 62 studies only nine (studies 32-34, 41, 44, 47, 50, 54 & 60) actually report positive effects of diversification practices on yield coupled with enhanced presence of natural enemies and / or a reduction in pest pressure. Eight studies showed that diversification practices can cause a reduction in yield as a consequence of both positive as well as negative effects on herbivores, crop damage and / or natural enemies (studies 8, 13, 26, 31, 43, 51, 55 & 62). Most of the studies, however, just reported effects on natural enemies, pest presence or yield and there is high variation in the effect of diversification

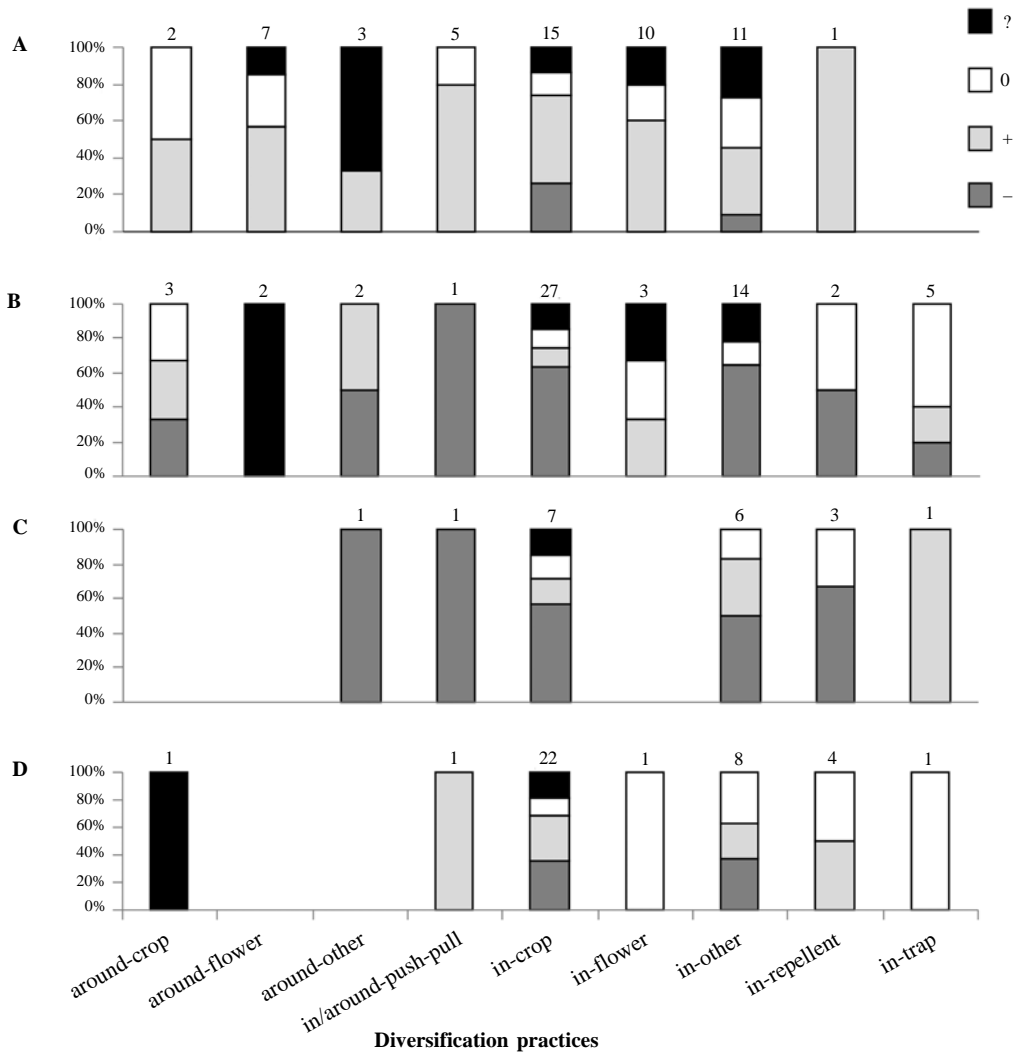


Figure 1. Effect of different diversification practices on (A) natural enemies, (B) herbivores, (C) crop damage and (D) crop yield. The diversification studies are categorized by practices where diversity was altered either within (in-...) or around (around-...) the edges of the crop field. Accordingly, the practices were further divided by the diversity agents that were altered: increased in- field diversity with other crops (“in-crop”), flowering plants (“in-flowers”), trap plants (“in-trap”), repellent plants (“in-repellent”) or other plants that are not crops nor have a specific function (“in-other”); increased diversity around the field using flowering plants (“around –flowers”), crops (“around-crop”) and other plants (“around-other”). Percentages show the number of reported cases with a positive [+], negative [-], none [o], or unclear [?] effect. The total number of cases that comprise 100% are presented on top of each bar.

on each of these response variables. Diversification effects on natural enemy populations were recorded in 35 of the 62 studies. Natural enemies were quantified in terms of abundance or (activity) density of parasitoids (study 18), predators (studies 10, 21, 23-25, 27, 28, 36, 37, 41, 42, 44, 46, 48 & 49), or natural enemies in general (studies 11, 14, 17, 19 & 20), species richness or diversity of predators (study 37), parasitism rates (studies 3, 4, 6, 8, 12, 16, 23, 26, 34, 47 & 50) or predation rates (studies 3 & 36). In those studies where natural enemies were investigated, 52% of the cases reported a positive effect of diversification practices. The diversification practices that frequently led to an enhancement of natural enemies were increasing abundance of flowering plants in the crop (studies 3, 6, 19, 29 & 30), enhancing flowering plants around the crop (studies 15, 48), intercropping mechanisms (studies 12, 14, 21, 53, 54, 60, 62), increasing in-field plant diversity non-specifically (25, 26, 46, 55), increasing in-field diversity with repellent plants (52), and push-pull strategies (studies 39 & 40) (Fig. 1A). In 20% of the cases there was no effect of diversification on natural enemies and only 9.5% of the cases reported a negative effect of diversification. Unclear effects were reported in 18.5% of the cases (Table 1).

In 44 out of the 62 articles the effect of diversification practices on crop herbivores was quantified. Herbivores were quantified in terms of larval infestation (study 2), number of eggs (studies 7, 12 & 59), density or abundance of immatures and adults (studies 5, 8, 9, 14, 16-20, 22, 23, 25-29, 35-37, 41-43, 45, 47, 50-53, 55-58, 60 & 62), species richness (study 11) and oviposition preferences (studies 39 & 44). Overall, 53% of the reported cases showed a negative effect of diversification on herbivores as would be expected by theory. The diversification practices that seem to be most effective in leading to a herbivore reduction were intercropping (studies 8, 17, 21, 41, 42, 47, 50, 51, 53, 60 & 62 reporting the expected effects), non-specific in-crop diversity increase (studies 7, 16, 22, 26, 27, 44 & 55 reporting the expected effects) and push-pull strategies (studies 39 & 40) (Fig. 1B). Diversification practices had a positive effect on herbivore presence in 11.9% of the analyzed cases, no effect in 22% of the cases and an unclear effect in 13.1% of the cases (Table 1).

Effects on plant damage were reported in 18 studies and were quantified in terms of foliage consumption (studies 8, 50 & 51), deposits of frass and tunneling (study 28), tissue damage (studies 9, 16, 35, 38, 54 & 62), stem boring (studies 12, 23, 33, 34, 44 & 62), root knotting (study 31) or root necrosis (study 38). In 57.9% of the reported cases, plant damage was reduced with diversification practices. This expected effect was achieved when implementing diversification practices like intercropping (studies 8, 13, 51, 54 & 62), in-field use of repellent plants (studies 32 & 33), push-pull practices (study 34) and the use of non-specific plants in (studies 26, 28 & 44) and around the crop (study 23) (Fig. 1C). Diversification practices increased crop damage in 21.1% of the reported cases. No effect of diversification practices on crop damage occurred in 15.8% of the cases, while only 5.2% reported an unclear effect (Table 1).

Effects on production were quantified in 30 of the 62 studies. Production was quantified in terms of yield (studies 1, 9, 13, 19, 22, 24, 26, 32-35, 38, 41, 43-45, 47, 49, 50-56, 60 & 62), size of the product (studies 8 & 27) and development time (study 31). There was a positive effect of diversification practices in 32% of the cases. Out of all the diversification mechanisms, the push-pull strategy reported a consistently

positive effect on production, however, this strategy was represented by only one study evaluating effects on production (study 34) (Fig. 1D). Diversification practices had a negative effect on production in 28.9% of the cases, no effects in 26.1% of the cases and an unclear effect in 13% of the cases.

Discussion

We did not find that diversification practices consistently enhance natural enemies, decrease herbivores, or increase production. Rather, for natural enemies and herbivores, only about half of the cases report the expected effects. Of even more concern, for practicing farmers, only one third of the cases report an increase in production. Given the somewhat discouraging results we discuss the possible causes that lead to these unexpected effects. Using studies that show positive results as examples, we explore how particular approaches could help future diversification studies achieve the expected goals that will result in farmer adoption of these kinds of technologies.

The importance of the “right kind” of diversity. Although diversification practices base their effectiveness on the fact that high diversity should lead to pest suppression, it is also known that high plant diversity in agroecosystems does not automatically reduce pest pressure and enhance the activity of natural enemies (Landis *et al.* 2000; Heemsbergen *et al.* 2004). Several authors have noted that to selectively enhance natural enemies, the functionally important elements of diversity should be identified and provided, rather than encouraging diversity per se (Landis *et al.* 2000). Heemsbergen *et al.* (2004) suggest that it is not the species number but the degree of functional differences between species that enhance overall ecological functions. The species-specific contribution to the range of functional groups in a community might be an important mechanism by which biodiversity generates positive interactions that enhance ecological services like pest suppression. Therefore, the screening of key plants is of crucial importance to shape agricultural systems to specifically reduce pest pressure and enhance production.

Increasing diversity with other crops and plants. The use of other crops to reduce pest pressure and increase yield of the main crop, known as intercropping, is a long established practice (Vandermeer 1989; Altieri and Nicholls 1994). The effectiveness of this practice is exemplified in one of the reviewed studies where cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae) and okra *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench (Malvaceae) were intercropped with tomato *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae) (Pitan and Olatunde 2006). Intercropping had a negative effect on the herbivores and a positive effect on yield in both crops, though the exact mechanism remains unclear.

However, increasing diversity can increase pest problems (reviewed by Landis *et al.* 2000). This undesired effect can be avoided with knowledge of pest natural history. This was certainly shown in the study by Ngeve (2003) where intercropping cassava *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae) with maize *Zea mays* L. (Poaceae) and groundnuts *Arachis villosulicarpa* Hoehne (Fabaceae) actually increased the severity of root mealybug *Stictococcus vayssierei* Richard (Stictococcidae) infestation. This increased pest pressure was a consequence of using other mealybug host plants as the intercropping species (Ngeve 2003). It becomes obvious from

Table 1. Summary of the selected articles that quantified the effect of diversification practices on herbivores, natural enemies and/or production. The diversification studies are categorized by practices where diversity was altered either within (in-...) or around (around-...) the edges of the crop field. Accordingly, the practices were further divided by the diversity agents that were altered: increased in-field diversity with other crops ("in-crop"), flowering plants ("in-flowers"), trap plants ("in-trap"), repellent plants ("in-repellent") or other plants that are not crops nor have a specific function ("in-other"); increased diversity around the field using flowering plants ("around-flowers"), crops ("around-crop") and other plants ("around-other"). When studied the name of the herbivore and/or natural enemies and the direction of the effect: positive [+], none [o], or unclear [?] is presented. When more than one effect is reported on a group the different outcomes are reported.

Nr.	Reference	Practice	Crop	Effect on		
				Herbivore	Natural enemy	Production
1	Adeniyi 2001	In-crop	Tomato and Okra			[-]
2	Badenes-Perez <i>et al.</i> 2005	In-trap	Cabbage	<i>Plutella xylostella</i> [-]		
3	Begum <i>et al.</i> 2006	In-flower	Vineyard	<i>Epiphyas postvittana</i>	<i>Trichogramma carverae</i> [+o]	
4	Bell <i>et al.</i> 2006	In-flower	Vineyard	<i>Epiphyas postvittana</i>	<i>Dolichogenidea</i> spp. [o]	
5	Bender <i>et al.</i> 1999	In-trap	Cabbage		Lepidoptera [o]	
6	Berndt <i>et al.</i> 2006	In-flower	Vineyard	<i>Epiphyas postvittana</i>	<i>Dolichogenidea tasmanica</i> [+]	
7	Bjorkman <i>et al.</i> 2007	In-other	Cabbage	<i>Delia floralis</i> [-]		
8	Bukovinsky <i>et al.</i> 2004	In-crop	Brussels sprout	<i>Plutella xylostella</i> , <i>Pieris brassicae</i> [-,+]	<i>Diadegma</i> spp. [-o]	[-]
9	Bullas-Appleton <i>et al.</i> 2005	In-trap	Bean	<i>Empoasca fabae</i> [+]		[o]
10	Butts <i>et al.</i> 2003	In-crop	Canola		Coleoptera:Carabidae [-]	
10	Butts <i>et al.</i> 2003	In-crop	Pea		Coleoptera:Carabidae [-]	
11	Cai <i>et al.</i> 2007	Around-crop	Chinese cabbage			[+]
12	Chabi-Olaye <i>et al.</i> 2005a	In-crop	Maize	<i>Busseola fusca</i> [?]	<i>Telenomus</i> spp. [+]	
13	Chabi-Olaye <i>et al.</i> 2005b	In-crop	Maize			[-,?]
14	Cividanes and Barbosa 2001	In-crop	Maize and soybean		Several groups [?,+]	
15	Colley and Luna 2000	Around-flower	Maize		Diptera: Syrphidae	[+]
16	den Belder <i>et al.</i> 2000	In-other	Leek	<i>Thrips tabaci</i> [-]		
17	Duale and Nwanze 1999	In-crop	Sorghum	<i>Chilo partellus</i> [-]		
18	English-Loeb <i>et al.</i> 2003	In-flower	Vineyard	<i>Erythroneura</i> spp. [o]	<i>Anagrus</i> sp. [?]	
19	Fitzgerald and Solomon 2004	In-flower	Apple and Pear orchards	Hemiptera:Psylloidea [?]	Several groups [+]	[o]
20	Frere <i>et al.</i> 2007	Around-flower	Wheat	<i>Metopolophium dirhodum</i> [o]	Parasitoids [o]	
21	Gao <i>et al.</i> 2008	In-crop	Cotton			[+]
22	Gianoli <i>et al.</i> 2006	In-other	Maize	<i>Carpophilus</i> sp., <i>Pagiocerus frontalis</i> [-o]		[o]
23	Girma <i>et al.</i> 2000	Around-other	Bean	beanfly [+]		
23	Girma <i>et al.</i> 2000	Around-other	Maize	Hemiptera:Aphididae [-]	Several groups [?,+]	
24	Guvenc and Yildirim 2006	In-crop	Cabbage			[-,+o]
25	Hanna <i>et al.</i> 2003	In-other	Vineyard	<i>Erythroneura variabilis</i> [o]	Araneae, <i>Anagrus</i> spp. [+o]	
26	Harvey and Eubanks 2004	In-other	Broccoli	<i>Plutella xylostella</i> [-]	<i>Solenopsis invicta</i> [-,+]	[-]
27	Hooks and Johnson 2004	In-other	Broccoli	Lepidoptera [-]	Araneae [?]	
28	Hooks and Johnson 2006	In-other	Broccoli	Lepidoptera [?]	Araneae, parasitoids [?.o]	
29	Jones and Gillett 2005	In-flower	Polyculture system			[+]
30	Jones and Sieving 2006	In-flower	Polyculture system		birds [+]	[+]

(Continued)

(Continuation Table 1)

Nr.	Reference	Practice	Crop	Effect on		
				Herbivore	Natural enemy	Production
31	Kamunya <i>et al.</i> 2008	In-other	Tea			[-]
32	Khan <i>et al.</i> 2006b	In-repellent	Maize	Cereal stemborers		[+]
33	Khan <i>et al.</i> 2006a	In-repellent	Sorghum	Cereal stemborers		[+]
34	Khan <i>et al.</i> 2008b	In/Around-push-pull	Maize	Cereal stemborers		[+]
35	Lale and Sastawa 2000	In-crop	Pearl millet	<i>Coryna</i> sp. <i>Mylabris</i> sp. [o]		[?]
36	LaMondia <i>et al.</i> 2002	In-crop	Strawberry	Coleoptera: Melolonthidae [?]		
37	Lee and Heimpel 2005	Around-flower	Cabbage	Lepidoptera [o]	Hymenoptera, Diptera [?,+,o]	
38	McIntyre <i>et al.</i> 2001	In-repellent	Banana	<i>Cosmopolites sordidus</i> [o]	Predators [+]	[o]
39	Midega <i>et al.</i> 2006	In/Around-push-pull	Maize	<i>Chilo partellus</i> [-]	Araneae [+,o]	
40	Midega <i>et al.</i> 2008	In/Around-push-pull	Maize			
41	Nabirye <i>et al.</i> 2003	In-crop	Cowpea	Several groups [-]		[+]
42	Ndemah <i>et al.</i> 2003	In-crop	Maize	<i>Busseola fusca</i> [-]		
43	Ngeve 2003	In-crop	Cassava	<i>Stictococcus vayssierei</i> [+]		[-]
44	Ogol <i>et al.</i> 1999	In-other	Maize	Cereal stemborers [-]		[+]
45	Parajulee and Slosser 1999	Around-crop	Cotton	Lepidoptera, <i>Aphis gossypii</i> [+,o]	Predators [o]	[?]
46	Perfecto <i>et al.</i> 2004	In-other	Coffee		Predators [+]	
47	Pitan and Olatunde 2006	In-crop	Cowpea	Hemiptera [-]		[+]
47	Pitan and Olatunde 2006	In-crop	Okra	<i>Podagrica</i> spp [-]		[+]
48	Pontin <i>et al.</i> 2006	Around-flower	Broccoli & lucerne		<i>Melanostoma fasciatum</i> [+]	[+,o]
49	Rao and Mathuva 2000	In-other	Maize			
50	Rukazambuga <i>et al.</i> 2002	In-crop	Cooking banana	<i>Cosmopolites sordidus</i> [-]		[+]
51	Sastawa <i>et al.</i> 2004	In-crop	Soybean	<i>Nezara viridula</i> [-]		[-]
52	Schader <i>et al.</i> 2005	In-repellent	Cotton	<i>Pectinophora gossypiella</i> [-]	Predators [+]	[o]
53	Schulthess <i>et al.</i> 2004	In-crop	Cassava	<i>Phenacoccus manihoti</i> [-]	<i>Apoanagyrus lopezi</i> [o]	[?]
53	Schulthess <i>et al.</i> 2004	In-crop	Maize	<i>Sesamia calamistis</i> [-]	<i>Telenomus</i> spp. [+]	[o]
54	Sekamatte <i>et al.</i> 2003	In-crop	Maize	<i>Microtermes</i> sp. [-]	<i>Myrmecaria</i> sp., <i>Lepisiota</i> sp. [+]	[+]
55	Showler and Greenberg 2003	In-other	Cotton	<i>Anthonomus grandis</i> [-]		[-]
56	Skelton and Barrett 2005	In-crop	Wheat and alfalfa	[?]	[?]	[?]
57	Smith and McSorley 2000	In-trap	Bean	<i>Bemisia argentifolii</i> [o]		
58	Smith <i>et al.</i> 2001	In-crop	Bean	<i>Bemisia argentifolii</i> [o]		
59	Smith <i>et al.</i> 2000	In-trap	Bean	<i>Bemisia argentifolii</i> [o]		
60	Songa <i>et al.</i> 2007	In-crop	Maize, millet and sorghum		Parasitoids [+]	[+]
61	Sperber <i>et al.</i> 2004	In-other	Cacao		Parasitoids [?]	
62	Wale <i>et al.</i> 2007	In-crop	Maize	<i>Bussela fusca</i> , <i>Chilo partellus</i> [-]		[-]
62	Wale <i>et al.</i> 2007	In-crop	Sorghum		<i>Cotesia flavipes</i> [+]	[-]

this example that knowledge of the alternative hosts of the pest is crucial, in order not to add additional food resources to a pest that is meant to be controlled. This factor is also important when choosing flowering plants to attract natural enemies, and will be discussed in the next section.

Regardless of the previously published work on how pest suppression leads to an increased yield (Cardinale *et al.* 2003; Ostman *et al.* 2003), our literature review demonstrates that diversification practices that reduce pest pressure do not necessarily achieve an increased production (i.e. Showler and Greenberg 2003; Sastawa *et al.* 2004; Schulthess *et al.* 2004). Mechanisms like competition and allelopathic effects between plants could be responsible for these effects. Sastawa *et al.* (2004) compared intercropping systems varying in their complexity: simple intercrops of millet *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. (Poaceae) and soybean *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae), and more complex intercrops of millet, soybean, groundnut and cowpea. They found that the more complex systems actually led to a reduction in the number of the pod sucking bug *Nezara viridula* Linnaeus, 1758 (Pentatomidae) and a reduction in the defoliation caused by two carabids (*Egadroma discriminatum* Basi and *Siderodactylus sagitarius* Meigen) to soybean. However, soybean yield also decreased in the more complex diversification systems. The authors suggest that competition and shading by the intercropped plants were the possible causes for the reduced production (Sastawa *et al.* 2004). Very similar results are reported by Schulthess *et al.* (2004) and Showler and Greenberg (2003) where diversification practices suppress the pest but simultaneously reduce yield, probably as a consequence of competition. Moreover, empirical evidence shows that competition not only decreases yield, but could also be the cause of reduced pest pressure. Bukovinszky *et al.* (2004) assessed the effect of intercropping Brussels sprouts *Brassica oleracea* var. *gemmifera* D. C. (Brassicaceae) with malting barley (*H. vulgare*) on the populations of *P. xylostella* and *Brevicoryne brassicae* L., 1758 (Aphididae). They reported a lower incidence of both herbivores on the intercropped Brussels sprout in comparison to monocrops, but the effect seemed to be caused by the effect of competition between both plants. Competition caused drought stress on Brussels sprout plants, leading to reduced size and delayed phenology, which made those plants less apparent and less attractive to the herbivore (Bukovinszky *et al.* 2004). Effects of plant-plant interactions like competition and allelopathy (Kamunya *et al.* 2008) can negatively affect production and override positive effects on pest suppression. The previous examples make clear that effects on pest pressure cannot be simply extrapolated to crop yield and that great caution has to be taken when choosing the plant to intercrop.

The goal of diversifying crops is often to increase the availability of appropriate microhabitats for the natural enemies of the pests (Sunderland and Samu 2000; Gurr *et al.* 2003). Examples from our literature review show that broccoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L. - Brassicaceae) stands intercropped with different kinds of clover (*Trifolium fragiferum* L., *Trifolium repens* L., *Melilotus officinalis* (L.) Lam.) have increased spider density and increased yield in comparison to broccoli monocrops (Hooks and Johnson 2004). Also intercropping maize with groundnut, soybean and *Phaseolus* beans increases nesting of predatory ants in the field, reducing termite attack and increasing yield (Sekamatte *et al.* 2003). In both cases the enhanced predator presence is explained by the

provision of extra food resources and refuges as proposed by Root (1973), making these desirable characteristics in the plants used to intercrop. However, there is a confounding effect in the last two studies when reporting a yield increase given by the use of legumes as intercrop. Legumes are known for their nitrogen fixing capacity that should increase the nitrogen available to the main crop through organic residues and the residual effect of the biologically fixed nitrogen (Lal *et al.* 1978). Although in the previous examples it is not clear if the increased yield was accomplished by pest suppression or by the presence of legumes, the desired effect of increased yield was reached. The previous examples show that legumes are excellent candidates for intercropping giving their characteristics of enhancing the presence of natural enemies and at the same time increasing yield. However, factors like competition for resources can also be playing a role when intercropping legumes. In one study Rao and Mathuva (2000) report two different outcomes of intercropping legumes. They showed that intercropping maize with pigeonpea *Cajanus cajan* (L.) Millsp. (Fabaceae) increased yield by 24% in comparison to monocultured maize, while intercropping maize with the perennial legume *Gliricidia sepium* (Jacq. Kunth ex Walp.) did not affect maize yield. The difference in the response was attributed to the type of legume. The competition for water between the superficial roots of *Gliricidia* and maize seem to be the reason that there was no yield increase (Govindarajan *et al.* 1996; Rao and Mathuva 2000). Negative yield effects as a result of intercropping with a legume are reported by Harvey and Eubanks (2004), who intercropped white clover (*T. repens*) in broccoli to control *P. xylostella* with fire ants. Competition lead to smaller, fewer and deformed broccoli leaves and finally to a reduced yield. These latter studies show that although legumes can have the added advantage of increasing yield through their nitrogen fixing capacities, this effect cannot be generalized for all legumes in all crops. Competition between the chosen legume and the crop has to be tested before implementing them in a diversification practice.

Like plants from other groups, legumes can also have an effect on pest oviposition. Bjorkman *et al.* (2007) showed that the turnip root fly *Delia radicum* L., 1758 (Anthomyiidae) reduced oviposition by approximately 50% when intercropping cabbage *Brassica oleracea* L. (Brassicaceae) with red clover *T. pratense*. A similar result was reported by Chabi-Olaye *et al.* (2005a) who showed that intercropping maize with legumes could reduce the percentage of plants with stem borer eggs also by approximately 50%. The incidence of *Thrips tabaci* Lindeman, 1889 (Thripidae) is also reduced when intercropping leek *Allium porrum* L. (Liliaceae) with the legume *T. fragiferum* (den Belder *et al.* 2000). In neither study was the effect on production reported, thus it remains unclear if the negative effect on herbivore oviposition translates into a positive effect on production. Although none of the studies emphasized the mechanism underlying the herbivore response, the disruption of host finding could be a feasible explanation (Chabi-Olaye *et al.* 2005a; Bjorkman *et al.* 2007), and changes in plant quality through intercropping seem also to be playing a role (den Belder *et al.* 2000).

Flowering plants to enhance natural enemies. Potential mechanisms of positive diversity effects include improving the availability of alternative foods such as nectar, pollen and honeydew for the natural enemies of pests (Patt *et al.* 1997; Landis *et al.* 2000; Tylianakis *et al.* 2004). However, the mere

presence of flowering plants in an agroecosystem is not always sufficient to guarantee nectar supply for parasitoids (Baggen and Gurr 1998; Wäckers 2004) and identification of the key flowering plants for certain parasitoids is required to guarantee the enhancement of natural enemies. The first important factor is to determine plant identity. Colley and Luna (2000) studied the effect of 11 different flowering plants on the presence of aphidophagous hoverflies (Syrphidae) giving an example of how a screening process for a flowering plant takes place. However, it is important to take into account that resources that are available for natural enemies could also be a food source for herbivorous pests (Lavandero *et al.* 2006). For example, Jones and Gillett (2005) intercropped polycultures with sunflowers *Helianthus annuus* L. (Asteraceae), which increased the presence of arthropod natural enemies (Jones and Gillett 2005) and insectivorous birds (Jones and Sieving 2006), but at the same time herbivorous pests (Jones and Gillett 2005). For this reason screening for suitable flowering plants should also include the screening of the suitability for pest herbivores as was done by Begum *et al.* (2006). They screened five flowering plants to detect their effect on natural enemies and herbivores. After greenhouse and field experiments they determined that *Lobularia maritima* (L.) Desv. (Brassicaceae) provided benefits to the egg parasitoid *Trichogramma carverae* Oatman and Pinto (Trichogrammatidae) when mass released in vineyards, but not on the leafroller pest *Epiphyas postvittana* (Walker) (Tortricidae). Another important factor is that field conditions and the type of management can alter the outcome of diversification practices. Although the results from Begum *et al.* (2006) seem very promising, the applicability to different conditions seems to be inconsistent. Bell *et al.* (2006) used the same species (*L. maritima*) in vineyards to control the same type of pest (*E. postvittana*) but they did not find the same results; plots intercropped with the flowering species did not have increased parasitism rates. In this case biotic factors like proximity to an orchard, which seems to be the source for parasitoids, had a higher effect on parasitism than the increased availability of local resources like *L. maritima*. This emphasizes screening for the right flowering plant is not sufficient to achieve the expected results, but that results from laboratory settings or given field conditions may not yield the same effects under different conditions.

Using flowering plants around the crop could have the disadvantage that the population of predators and parasitoids stays within the flowering strips around the crop and does not migrate to the field when resources in that strip are more abundant (Rand *et al.* 2006). This was exemplified by the study of Frere *et al.* (2007) where rose *Rosa rugosa* Thunb. (Rosaceae) bushes were used to increase diversity around wheat *Triticum aestivum* L. (Poaceae) fields. However, the presence of rose bushes did not influence the aphid population within the field. One likely explanation is the relatively higher availability of resources such as pollen, nectar, aphid hosts for predators and parasitoids in the rose borders.

Although reviews and original studies (Baggen and Gurr 1998; Gurr and Wratten 1999; Landis *et al.* 2000; Wäckers 2004; Lavandero *et al.* 2006) have already highlighted the importance of selecting the appropriate flowering plant, our literature review reveals that the link between enhancing natural enemies through flowering plants and increasing crop yield is still missing. Only one of the eleven studies in which diversity was increased with flowering plants reported an effect on production. Fitzgerald and Solomon (2004) found no effect on

apple *Malus domestica* Borkh. (Rosaceae) yield when the trees were undersown with flowering plants. However, there is evidence from other studies that flowering plants can reduce yield, probably as a result of competition (Brown and Glenn 1999).

Repellent plants for herbivores. An alternative method to reduce pest pressure is to identify key plants that repel herbivores (Vanhuys 1991; Finch *et al.* 2003; Lapointe *et al.* 2003; Morley *et al.* 2005). In this review only four studies that used repellent plants against herbivores also studied their effects on production. Two out of the four studies successfully achieved the goal of reducing pests, increase yield and even suppress weeds (Khan *et al.* 2006a; Khan *et al.* 2006b). One of the studies (Khan *et al.* 2006b) exemplifies the importance of continuing screening for appropriate plants, to cover the different needs and the heterogeneity found in different regions. Knowing that *Desmodium uncinatum* (Jacq.) DC. (Fabaceae) had the potential to control the stemborers *Chilo partellus* (Swinhoe) (Crambidae) and *Busseola fusca* (Füller) (Noctuidae) on maize and suppress the witchweed *Striga hermonthica* (Del.) Benth. (Scrophulariaceae), Khan *et al.* (2006b) continued searching for the effectiveness of four other species of *Desmodium* to be used under different agroecological conditions. All *Desmodium* species tested achieved the same results on stemborer suppression, witchweed control, and maize yield increase as *D. uncinatum*. This result is the basis for a technological tool that does not depend on a single species, increasing the range of sites where the technology can be implemented. Once a promising plant is identified as having a repellent effect, its properties to control herbivores in different crops should be investigated. This was performed by Khan *et al.* (2006a), who studied the effectiveness of *D. uncinatum* in sorghum *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Poaceae) fields after demonstrating their effectiveness in maize. They found that with the same repellent plant (*D. uncinatum*) they could achieve pest reduction, weed control, and increased yield not only in maize but also in sorghum (Khan *et al.* 2006a), increasing the applicability of a given technology to more than one crop.

Schader *et al.* (2005) reported that intercropping cotton *Gossypium barbadense* L. (Malvaceae) with basil *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) as a repellent plant reduced pest infestation and increased the abundance of the epigeic fauna. However, no correlation between pest infestation and cotton yield was detected; there was no decreased cotton yield even though there was a 33% decrease in the amount of cotton cultivated due to the intercropping. It is assumed that both a basil-induced repellence against pest insects and a stimulation of beneficial epigeic fauna might be responsible for the lower pest infestation observed in intercropped plots.

The previous results emphasize that the identification of appropriate plants is a long-lasting process that is based on the screening of hundreds of species (as will be discussed in the section of push-pull strategies) or a longer history of research on each plant. Moreover, it is very important to study the chemical properties of plants such as repellent plants, to better understand their interaction with the crop and pest, and to permit future manipulation of the desired effects. For example the reduced infestation by stemborers in maize-*D. uncinatum* intercrops has been shown to be mediated by specific volatiles released by the repellent plant (Khan *et al.* 2000). Knowing the chemical properties of repellence not only permits a better

understanding of the mechanisms, but it also gives the possibility to produce synthetic volatiles, to simulate those of the plant and have the potential to repel the herbivore or recruit natural enemies (Pickett *et al.* 1997; Khan *et al.* 2008a). Using molecular tools it may also be possible to modify the secondary metabolism of the plant to release a higher concentration of the repellent volatiles at all or only some stages of development (Khan *et al.* 2008a).

Not all pests react in the same way to repellent plants; what can be very effective for one pest is not necessarily effective on another pest. This was exemplified by the study of McIntyre *et al.* (2001), who intercropped banana with three leguminous crops, that had previously been reported as having repellent or insecticidal properties on different pest species of different crops. They failed to detect any negative effects of legumes on the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Curculionidae) population and the presence of the nematodes *Radopholus similis* (Cobb) and *Helicotylenchus* spp, demonstrating that the repellence of several different organisms does not mean that a plant will be effective on other pests.

Trap plants to attract herbivores. Trap crops can be plants of a preferred growth stage, cultivar, variety, or species that are more attractive to the pest than the main crop. Thus trap crops reduce herbivore pressure and concentrate the pest population to a limited area, where it can be easily controlled by traditional methods (Hokkanen 1991; Asman 2002; Shelton and Nault 2004; Shelton and Badenes-Perez 2006). In this literature review five studies used trap plants as intercrops to control pests (Bender *et al.* 1999; Smith *et al.* 2000; Smith and McSorley 2000; Badenes-Perez *et al.* 2005; Bullas-Appleton *et al.* 2005). As for the repellent plants, the effective identification and use of trap plants will depend on an exhaustive screening of the potential trap crop (Khan *et al.* 2000), its effectiveness when using different crops or different pests and the importance of local differences in abiotic and biotic factors (Khan *et al.* 2008b). For example, Bender *et al.* (1999) used Indian mustard *Brassica juncea* (L.) Czern. intercropped in cabbage to study its effectiveness on controlling lepidopterous larvae, mainly of the diamondback moth *P. xylostella*. In the introduction of their study they already report contradictory results of the effectiveness of this potential trap species on the diamondback moth in cabbage in regions as different as Taiwan, India, and Hawaii. They tested the effectiveness of this trap species in Texas and concluded that there was no effect of intercropping cabbage with Indian mustard on any lepidopterous larvae. The actual causes of the differences achieved using the same trap plant in the same crop on the same pest remains inconclusive. However, it is clear that regional differences in biotic or abiotic factors could determine the effectiveness of such a practice. A similar case is reported in the paper by Smith and McSorley (2000) who studied the effect of intercropping eggplant *Solanum melongena* L. (Solanaceae) as a trap crop for management of whiteflies *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Aleyrodidae) on bean *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae). They report no effect of the eggplant intercropping system on the density of eggs and nymphs. This experiment exemplifies that the trap plant used was not effective under their growing conditions and they report that air currents determine the migration of adult whiteflies into plots, showing again that abiotic factors can be playing a crucial role.

The importance of determining if a reduced pest pressure translates into an increased productivity is a concern in the studies with trap crops. Only one study showed the effect of an attractive plant on pest suppression and production. Bullas-Appleton *et al.* (2005) investigated the effect of inter-planting the highly susceptible cultivar Berna Dutch brown bean as a trap crop in the moderately susceptible cultivar Stingray white bean *P. vulgaris* on pest pressure and yield. Although they reported that at the beginning of the season intercropping reduced damage on the plants by potato leafhoppers *Empoasca fabae* (Harris) (Cicadellidae), this effect disappeared at the end of the season, and there was no effect of intercropping with trap plants on yield.

The integrated use of repellent and attractive plant stimuli: the push-pull strategy. From the previous section we could infer that repellent stimuli seem to be very effective to reduce pest pressure and increase yield, while trap plants seem not to be as effective and their effects on production remain unclear. One possible reason for the mixed results when using trap plants is that the local attraction sought in trap crops also causes a regional attraction that increases the presence of the pest in the field since they are more attracted from outside the field by the trap plants (Vandermeer 1989). This negative effect could be compensated for by the integrated use of behavior-modifying stimuli to manipulate the distribution and abundance of pests, which has been named a “push-pull” strategy. This strategy is based on selectively increasing plant diversity to decrease pest pressure by identifying key plants that repel herbivores to make the protected culture unattractive for the pests (push) (Vanhuys 1991; Lapointe *et al.* 2003), while at the same time using trap plants that lure the pest toward them (pull) (Hokkanen 1991). A review on the principles of this strategy and the current knowledge is presented by Cook *et al.* (2007).

Only three studies in our literature review evaluated the effect of push-pull strategies as pest management systems (Midega *et al.* 2006; Khan *et al.* 2008b; Midega *et al.* 2008). All three studies were performed by the same group of investigators and are based on the same system. They developed a push-pull strategy to control the corn stem borers *C. partellus* and *B. fusca* in maize fields from Kenya. This strategy is based on the use of herbaceous plants of economic importance. The push stimulus is an intercrop of the forage legume *D. uncinatum*, and border rows of Napier grass *Pennisetum purpureum* Schumach. (Poaceae) exert the pull effect. This practice enhanced the abundance of natural enemies like spiders (Midega *et al.* 2008), increased predation rates of *C. partellus* (Midega *et al.* 2006) and reduced oviposition of *C. partellus* (Midega *et al.* 2006). Khan *et al.* (2008b) evaluated the effectiveness of this attractive-repellent practice under farmers’ conditions, comparing the push-pull technology against maize monocrops in 280 farms. Field surveys agree with the farmers’ perception that the push-pull strategy reduced stem borers and increased yield. Besides controlling the stem borers and increasing yield, witchweed (which decreases maize yield) is also controlled (Khan *et al.* 2008b). Although the push-pull technology seems to be achieving more than the expected results of a diversification practice on pest suppression and yield increase, we are aware that these results were only obtained as a consequence of many years of studying the system and its effectiveness (as can be inferred from the

following studies: Khan *et al.* 1997; Khan *et al.* 2000; Khan and Pickett 2004; Khan *et al.* 2006b; Cook *et al.* 2007). The starting point to develop this technology involved a screening process of several hundred plant species, mainly of the family Poaceae, but also Cyperaceae, Thyphaceae and some Fabaceae (Khan *et al.* 2000). The attack rate by the different species of stem borers was examined and the colonization rate was taken to choose potential trap plants (as being those species with the highest colonization rates) and potential repellent plants (as being the least attractive plants). The two most attractive crop plants were Napier grass and Sudan grass, *Sorghum sudanensis* Stapf (Poaceae), while the most repellent plants were molasses grass, *Melinis minutiflora* Beauv. (Poaceae) and two legume species, silverleaf, *D. uncinatum*, and greenleaf, *D. intortum* (Mill.) Urb. (Fabaceae) (Khan *et al.* 2000). The legumes had the added advantage of suppressing development of the problematic weed *S. hermonthica*. With these potentially effective trap and repellent plants, experiments were performed in 1996. Napier grass was highly effective as a trap plant since it attracted most of the oviposition but at the same time reduced larval survival on the plant to 20% (in comparison with 80% on maize) (Khan *et al.* 2000). The effect was caused by the production of sticky sap by the Napier grass that trapped and killed the larvae (Khan and Pickett 2004). This effect was confirmed in further years of experiments that showed a yield improvement of more than 1 t/ha (Khan *et al.* 2000). The effectiveness of intercropping with the repellent plants was also confirmed in the field showing that the use of *M. minutiflora* and *Desmodium* significantly reduced the presence of the stem borers. The rate at which the repellent plants had to be intercropped in the fields was also assessed in further studies determining that *M. minutiflora* would be ideally planted at a density of 1:3 although it could be planted in densities of 1:10 while still achieving the expected results (Khan *et al.* 2000). After choosing the plants responsible for pest control, the mechanisms behind the effect were analyzed to increase the robustness and reliability of this pest control method. Plants use indirect defenses such as volatile organic compounds (VOCs) to attract or repel herbivores and their natural enemies (Karban and Baldwin 1997). Khan *et al.* (2008a) reported that for stem borer control, the plant chemistry responsible involves release of attractant VOCs (hexanal, (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexen-1-ol, (Z)-3-hexen-yl acetate) from the trap plants and repellent VOCs ((E)-ocimene, β -terpinolene, β -caryophyllene, humulene, (E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene, β -cedrene) from the intercrops. If the selected plant can have additional properties that meet other farmer needs like increased nitrogen input in the soil or weed suppression, these qualities should be promoted to achieve multiple goals with only one plant. Such is the case of the repellent plant *Desmodium uncinatum*, which has a series of very astonishing properties. For example, the weed suppressing property is achieved by a blend of secondary metabolites in the root exudates that include seed germination stimulants and at the same time post-germination inhibitors resulting in "suicidal germination" (Tsanuo *et al.* 2003). Not only its weed suppressive properties but also the fact that *Desmodium* is a legume that increases nitrogen availability in the soil that improves land productivity, and increases gross cash returns (e.g. Khan *et al.* 2001) makes it highly attractive. At the same time, farmers can use this species as a nutritious

and perennial fodder for cattle improving the productivity of meat and milk. Moreover the seeds of *D. uncinatum* represent a valuable commodity that has a local high demand among different groups of farmers (Khan *et al.* 2000). Screening for multiple properties can therefore increase the advantages of diversifying a crop, by supplying natural fertilizers, herbicides, pesticides and also providing fodder for cattle.

But development of the push-pull strategy does not end here. Khan *et al.* (2008a) also studied the adoption of this practice as a technological package by farmers, showing that by 2007 it was already adopted by thousands of farmers in eastern Africa and the program is still expanding (Khan *et al.* 2008b). The implementation of this push-pull technology has been shown to increase maize yields by 30%, providing the best evidence that diversification practices are useful in managing pests, increasing yield and moreover giving farmers the possibility of additional income, without an intensive use of pesticides.

Summary

Our literature review revealed contradictory effects of increased diversity on natural enemies, herbivores and production, and the expected results of reduced pest damage were only achieved in 50% of the cases. However, some examples demonstrate that diversification practices can translate into a successful management technology that is adopted by thousands of farmers. The current available data suggest a series of steps that should be taken to design successful and competitive diversification practices that can be adopted by the farmers:

- Gather precise information on the natural history of the pest and their natural enemies to selectively provide resources and shelter for the natural enemies, but not for the pest.
- Take into account the farmer's needs to choose the "right" plant(s).
- Be open in the search for the appropriate functional plant and screen as many plants as possible.
- Favor plants that fulfill more than one function at the same time.
- Evaluate the effect of the chosen plant(s) on pests, natural enemies, crop damage, crop development and yield.
- Study the effectiveness of different arrangement patterns.
- Perform comparative field experiments at different locations and in different years to define the limitations of the proposed practice.
- Perform an economic study comparing the conventional methods with the proposed practice.
- Evaluate the labor intensity of the practice and the willingness of the farmer to implement it.
- Reach a mechanistic understanding of how the selected plant achieves the expected results to reinforce those characteristics on the selected plants or search for them in other plants.
- Test if the combination of several different functional plants leads to a synergistic effect on pest suppression and crop yield.
- Distribute the knowledge among farmers, including on-farm experiments where farmers evaluate and quantify the effectiveness of the practice.

Acknowledgements

The authors want to thank Andre Kessler for discussion and Elizabeth Wheat and Jason Tylianakis for helpful comments on the manuscript. K. Poveda was funded by the German Science Foundation (DFG).

Cited literature

- ADENIYI, O. R. 2001. An economic evaluation of intercropping with tomato and okra in a rain forest zone of Nigeria. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 76 (3): 347-349.
- ALTIERI, M. A.; NICHOLLS, C. 1994. *Biodiversity and Pest Management in Agroecosystems*, New York, USA, Haworth Press. 214 p.
- ASMAN, K. 2002. Trap cropping effect on oviposition behaviour of the leek moth *Acrolepiopsis assectella* and the diamondback moth *Plutella xylostella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 105 (2): 153-164.
- BADENES-PEREZ, F. R.; SHELTON, A. M.; NAULT, B. A. 2005. Using yellow rocket as a trap crop for diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology* 98 (3): 884-890.
- BAGGEN, L. R.; GURR, G. M. 1998. The influence of food on *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera Encyrtidae), and the use of flowering plants as a habitat management tool to enhance biological control of potato moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biological Control* 11: 9-17.
- BEGUM, M.; GURR, G. M.; WRATTEN, S. D.; HEDBERG, P. R.; NICOL, H. I. 2006. Using selective food plants to maximize biological control of vineyard pests. *Journal of Applied Ecology* 43 (3): 547-554.
- BELL, V. A.; BRIGHTWELL, R. J.; LESTER, P. J. 2006. Increasing vineyard floral resources may not enhance localised biological control of the leafroller *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera: Tortricidae) by *Dolichogenideia* spp. (Hymenoptera: Braconidae) parasitoids. *Biocontrol Science and Technology* 16 (10): 1031-1042.
- BENDER, D. A.; MORRISON, W. P.; FRISBIE, R. E. 1999. Intercropping cabbage and Indian mustard for potential control of lepidopterous and other insects. *Hortscience* 34 (2): 275-279.
- BERNDT, L. A.; WRATTEN, S. D.; SCARRATT, S. L. 2006. The influence of floral resource subsidies on parasitism rates of leafrollers (Lepidoptera: Tortricidae) in New Zealand vineyards. *Biological Control* 37 (1): 50-55.
- BJORKMAN, M.; HAMBACK, P. A.; RAMERT, B. 2007. Neighbouring monocultures enhance the effect of intercropping on the turnip root fly (*Delia floralis*). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124 (3): 319-326.
- BROWN, M. W.; GLENN, D. M. 1999. Ground cover plants and selective insecticides as pest management tools in apple orchards. *Journal of Economic Entomology* 92 (4): 899-905.
- BUKOVINSZKY, T.; TREFAS, H.; VAN LENTEREN, J. C.; VET, L. E. M.; FREMONT, J. 2004. Plant competition in pest-suppressive intercropping systems complicates evaluation of herbivore responses. *Agriculture Ecosystems & Environment* 102 (2): 185-196.
- BULLAS-APPLETON, E. S.; GILLARD, C.; SCHAAFSMA, A. W. 2005. Aggregation of potato leaf hoppers, *Empoasca fabae* (Harris) (Homoptera: Cicadellidae), on a trap crop in an edible bean, *Phaseolus vulgaris* L., intercropping system. *Canadian Journal of Plant Science* 85 (1): 237-242.
- BUTTS, R. A.; FLOATE, K. D.; DAVID, M.; BLACKSHAW, R. E.; BURNETT, P. A. 2003. Influence of intercropping canola or pea with barley on assemblages of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Environmental Entomology* 32 (3): 535-541.
- CAI, H. J.; LI, Z. S.; YOU, M. S. 2007. Impact of habitat diversification on arthropod communities: a study in the fields of Chinese cabbage, *Brassica chinensis*. *Insect Science* 14 (3): 241-249.
- CARDINALE, B. J.; HARVEY, C. T.; GROSS, K.; IVES, A. R. 2003. Biodiversity and biocontrol: emergent impacts of a multi-enemy assemblage on pest suppression and crop yield in an agroecosystem. *Ecology Letters* 6 (9): 857-865.
- CHABI-OLAYE, A.; NOLTE, C.; SCHULTHESS, F.; BORGEMEISTER, C. 2005a. Abundance, dispersion and parasitism of the stem borer *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize in the humid forest zone of southern Cameroon. *Bulletin of Entomological Research* 95 (2): 169-177.
- CHABI-OLAYE, A.; NOLTE, C.; SCHULTHESS, F.; BORGEMEISTER, C. 2005b. Relationships of intercropped maize, stem borer damage to maize yield and land-use efficiency in the humid forest of Cameroon. *Bulletin of Entomological Research* 95 (5): 417-427.
- CIVIDANES, F. J.; BARBOSA, J. C. 2001. Effects of no-tillage and of soybean-corn intercropping on natural enemies and pests. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 36 (2): 235-241.
- COLLEY, M. R.; LUNA, J. M. 2000. Relative attractiveness of potential beneficial insectary plants to aphidophagous hoverflies (Diptera: Syrphidae). *Environmental Entomology* 29 (5): 1054-1059.
- COOK, S. M.; KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A. 2007. The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annual Review of Entomology* 52: 375-400.
- DEN BELDER, E.; ELDERSON, J.; VEREIJKEN, P. F. G. 2000. Effects of undersown clover on host-plant selection by *Thrips tabaci* adults in leek. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 94 (2): 173-182.
- DIDHAM, R. K.; GHAZOU, J.; STORK, N. E.; DAVIS, A. J. 1996. Insects in fragmented forests: a functional approach. *Trends in Ecology & Evolution* 11 (6): 255-260.
- DUALE, A. H.; NWANZE, K. F. 1999. Incidence and distribution in sorghum of the spotted stem borer *Chilo partellus* and associated natural enemies in farmers' fields in Andhra Pradesh and Maharashtra states. *International Journal of Pest Management* 45 (1): 3-7.
- ENGLISH-LOEB, G.; RHAINDS, M.; MARTINSON, T.; UGINE, T. 2003. Influence of flowering cover crops on *Anagrus* parasitoids (Hymenoptera: Mymaridae) and *Erythroneura* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) in New York vineyards. *Agricultural and Forest Entomology* 5 (2): 173-181.
- FINCH, S.; BILLIARD, H.; COLLIER, R. H. 2003. Companion planting - do aromatic plants disrupt host-plant finding by the cabbage root fly and the onion fly more effectively than non-aromatic plants? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 109 (3): 183-195.
- FINCH, S.; COLLIER, R. H. 2000. Host-plant selection by insects - a theory based on 'appropriate/inappropriate landings' by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 96 (2): 91-102.
- FINKE, D. L.; DENNO, R. F. 2004. Predator diversity dampens trophic cascades. *Nature* 429: 407-410.
- FITZGERALD, J. D.; SOLOMON, M. G. 2004. Can flowering plants enhance numbers of beneficial arthropods in UK apple and pear orchards? *Biocontrol Science and Technology* 14 (3): 291-300.
- FRERE, I.; FABRY, J.; HANCE, T. 2007. Apparent competition or apparent mutualism? An analysis of the influence of rose bush strip management on aphid population in wheat field. *Journal of Applied Entomology* 131 (4): 275-283.
- GAO, F.; GE, F.; LIU, X.; SONG, Y. 2008. Impact of insecticides on the structure and productivity of insect pest and natural enemy communities associated with intercropping in cotton agroecosystems. *International Journal of Pest Management* 54 (2): 103-114.
- GIANOLI, E.; RAMOS, I.; ALFARO-TAPIA, A.; VALDEZ, Y.; ECHEGARAY, E. R.; YABAR, E. 2006. Benefits of a maize-

- bean-weeds mixed cropping system in Urubamba Valley, Peruvian Andes. *International Journal of Pest Management* 52 (4): 283-289.
- GIRMA, H.; RAO, M. R.; SITHANANTHAM, S. 2000. Insect pests and beneficial arthropod populations under different hedgerow intercropping systems in semiarid Kenya. *Agroforestry Systems* 50 (3): 279-292.
- GOVINDARAJAN, M.; RAO, M. R.; MATHUVA, M. N.; NAIR, P. K. R. 1996. Soil-water and root dynamics under hedgerow intercropping in semiarid Kenya. *Agronomy Journal* 88 (4): 513-520.
- GURR, G. M.; WRATTEN, S.; ALTIERI, M. A. 2004. *Ecological Engineering for Pest Management: advances in habitat manipulation for arthropods*. CABI, Wallington. CABI, Wallingford. UK. 252 p.
- GURR, G. M.; WRATTEN, S. D. 1999. 'Integrated biological control': a proposal for enhancing success in biological control. *International Journal of Pest Management* 45 (2): 81-84.
- GURR, G. M.; WRATTEN, S. D.; LUNA, J. M. 2003. Multi-function agricultural biodiversity: pest management and other benefits. *Basic and Applied Ecology* 4 (2): 107-116.
- GUVENC, I. N.; YILDIRIM, E. 2006. Increasing productivity with intercropping systems in cabbage production. *Journal of Sustainable Agriculture* 28 (4): 29-44.
- HANNA, R.; ZALOM, F. G.; ROLTSCH, W. J. 2003. Relative impact of spider predation and cover crop on population dynamics of *Erythroneura variabilis* in a raisin grape vineyard. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 107 (3): 177-191.
- HARVEY, C. T.; EUBANKS, M. D. 2004. Effect of habitat complexity on biological control by the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) in collards. *Biological Control* 29 (3): 348-358.
- HEEMSBERGEN, D. A.; BERG, M. P.; LOREAU, M.; VAN HAJ, J. R.; FABER, J. H.; VERHOEF, H. A. 2004. Biodiversity effects on soil processes explained by interspecific functional dissimilarity. *Science* 306 (5698): 1019-1020.
- HOKKANEN, H. M. T. 1991. Trap cropping in pest management. *Annual Review of Entomology* 36: 119-138.
- HOOKS, C. R. R.; JOHNSON, M. W. 2004. Using undersown clovers as living mulches: effects on yields, lepidopteran pest infestations, and spider densities in a Hawaiian broccoli agroecosystem. *International Journal of Pest Management* 50 (2): 115-120.
- HOOKS, C. R. R.; JOHNSON, M. W. 2006. Population densities of herbivorous lepidopterans in diverse cruciferous cropping habitats: effects of mixed cropping and using a living mulch. *Biocontrol* 51 (4): 485-506.
- JONES, G. A.; GILLET, J. L. 2005. Intercropping with sunflowers to attract beneficial insects in organic agriculture. *Florida Entomologist* 88 (1): 91-96.
- JONES, G. A.; SIEVING, K. E. 2006. Intercropping sunflower in organic vegetables to augment bird predators of arthropods. *Agriculture Ecosystems & Environment* 117 (2-3): 171-177.
- KAMUNYA, S. M.; WACHIRA, F. N.; LANG'AT, J.; OTIENO, W.; SUDO, V. 2008. Integrated management of root knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in tea (*Camellia sinensis*) in Kenya. *International Journal of Pest Management* 54 (2): 129-136.
- KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. (1997) Induced responses to herbivory, Chicago and London, The University of Chicago Press.
- KHAN, Z.; PICKETT, J. A. 2004. The 'push-pull' strategy for stemborer management: a case study in exploiting biodiversity and chemical ecology, p. 255-164 In: Gurr, G. M., Wratten, S. & Altieri, M. A. (Eds.) *Ecological Engineering for Pest management: Advances in Habitat Manipulation for Arthropods*. CABI, Wallingford, UK, CABI Publishing.
- KHAN, Z. R.; AMPONGNYARKO, K.; CHILISWA, P.; HASSANALI, A.; KIMANI, S.; LWANDE, W.; OVERHOLT, W. A.; PICKETT, J. A.; SMART, L. E.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. 1997. Intercropping increases parasitism of pests. *Nature* 388 (6643): 631-632.
- KHAN, Z. R.; JAMES, D. G.; MIDEGA, C. A. O.; PICKETT, J. A. 2008a. Chemical ecology and conservation biological control. *Biological Control* 45 (2): 210-224.
- KHAN, Z. R.; MIDEGA, C. A. O.; AMUDAVI, D. M.; HASSANALI, A.; PICKETT, J. A. 2008b. On-farm evaluation of the 'push-pull' technology for the control of stemborers and striga weed on maize in western Kenya. *Field Crops Research* 106 (3): 224-233.
- KHAN, Z. R.; MIDEGA, C. A. O.; HASSANALI, A.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; WANJOYA, A. 2006a. Management of witchweed, *Striga hermonthica*, and stemborers in sorghum, *Sorghum bicolor*, through intercropping with greenleaf desmodium, *Desmodium intortum*. *International Journal of Pest Management* 52 (4): 297-302.
- KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A.; VAN DEN BERG, J.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. 2000. Exploiting chemical ecology and species diversity: stem borer and striga control for maize and sorghum in Africa. *Pest Management Science* 56 (11): 957-962.
- KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; HASSANALI, A.; MIDEGA, C. A. O. 2006b. Combined control of *Striga hermonthica* and stemborers by maize-*Desmodium* spp. intercrops. *Crop Protection* 25 (9): 989-995.
- KREBS, J. R.; WILSON, J. D.; BRADBURY, R. B.; SIRIWARDENA, G. M. 1999. The second silent spring? *Nature* 400 (6745): 611-612.
- KRUESS, A.; TSCHARNTKE, T. 1994. Habitat fragmentation, species loss, and biological control. *Science* 264 (5165): 1581-1584.
- KRUESS, A.; TSCHARNTKE, T. 2000. Species richness and parasitism in a fragmented landscape: experiments and field studies with insects on *Vicia sepium*. *Oecologia* 122: 129-137.
- LAL, R. B.; DE, R.; SINGH, R. K. 1978. Legume contribution to fertilizer economy in legume-cereal rotations. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 48 (7): 419-424.
- LALE, N. E. S.; SASTAWA, B. M. 2000. Evaluation of host plant resistance, sowing date modification and intercropping as methods for the control of *Mylabris* and *Coryna* species (Coleoptera: Meloidae) infesting pearl millet in the Nigerian Sudan savanna. *Journal of Arid Environments* 46 (3): 263-280.
- LAMONDIA, J. A.; ELMER, W. H.; MERVOSH, T. L.; COWLES, R. S. 2002. Integrated management of strawberry pests by rotation and intercropping. *Crop Protection* 21 (9): 837-846.
- LANDIS, D. A.; WRATTEN, S. D.; GURR, G. M. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology* 45: 175-201.
- LAPORTE, S. L.; MCKENZIE, C. L.; HUNTER, W. B. 2003. Toxicity and repellency of *Tephrosia candida* to larval and adult diapaes root weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 96 (3): 811-816.
- LAVANDERO, B.; WRATTEN, S. D.; DIDHAM, R. K.; GURR, G. 2006. Increasing floral diversity for selective enhancement of biological control agents: A double-edged sword? *Basic and Applied Ecology* 7 (3): 236-243.
- LEE, J. C.; HEIMPEL, G. E. 2005. Impact of flowering buckwheat on lepidopteran cabbage pests and their parasitoids at two spatial scales. *Biological Control* 34 (3): 290-301.
- MAGNUSSON, E.; CRANFIELD, J. A. L. 2005. Consumer demand for pesticide free food products in Canada: a probit analysis. *Canadian Journal of Agricultural Economics-Revue Canadienne D Agroeconomie* 53 (1): 67-81.
- MATSON, P. A.; PARTON, W. J.; POWER, A. G.; SWIFT, M. J. 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277 (5325): 504-509.
- MATTHIES, D. B.; SCHMID-HEMPEL, P. 1995. The importance of population processes for the maintenance of biological diversity. *GAIA* 4 (4): 199-209.
- MCINTYRE, B. D.; GOLD, C. S.; KASHAJA, I. N.; SSALI, H.; NIGHT, G.; BWAMIKI, D. P. 2001. Effects of legume intercrops

- on soil-borne pests, biomass, nutrients and soil water in banana. *Biology and Fertility of Soils* 34 (5): 342-348.
- MIDEGA, C. A. O.; KHAN, Z. R.; VAN DEN BERG, J.; OGOL, C.; DIPPENAAR-SCHOEMAN, A. S.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J. 2008. Response of ground-dwelling arthropods to a 'push-pull' habitat management system: spiders as an indicator group. *Journal of Applied Entomology* 132 (3): 248-254.
- MIDEGA, C. A. O.; KHAN, Z. R.; VAN DEN BERG, J.; OGOL, C.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J. 2006. Maize stemborer predator activity under 'push-pull' system and Bt-maize: A potential component in managing Bt resistance. *International Journal of Pest Management* 52 (1): 1-10.
- MORLEY, K.; FINCH, S.; COLLIER, R. H. 2005. Companion planting-behaviour of the cabbage root fly on host plants and non-host plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 117 (1): 15-25.
- NABIRYE, J.; NAMPALA, P.; OGENGA-LATIGO, M. W.; KYAMANYWA, S.; WILSON, H.; ODEKE, V.; ICEDUNA, C.; ADIPALA, E. 2003. Farmer-participatory evaluation of cowpea integrated pest management (IPM) technologies in Eastern Uganda. *Crop Protection* 22 (1): 31-38.
- NDEMAH, R.; SCHULTHESS, F.; KORIE, S.; BORGEMEISTER, C.; POEHLING, H. M.; CARDWELL, K. 2003. Factors affecting infestations of the stalk borer *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae) on maize in the forest zone of Cameroon with special reference to scelionid egg parasitoids. *Environmental Entomology* 32 (1): 51-60.
- NGEVE, J. M. 2003. The cassava root mealybug (*Stictococcus vayssierei* Richard) (Homoptera: Stictococcidae): a threat to cassava production and utilization in Cameroon. *International Journal of Pest Management* 49 (4): 327-333.
- OGOL, C.; SPENCE, J. R.; KEDDIE, A. 1999. Maize stem borer colonization, establishment and crop damage levels in a maize-leucaena agroforestry system in Kenya. *Agriculture Ecosystems & Environment* 76 (1): 1-15.
- OSTMAN, O.; EKBOM, B.; BENGTTSSON, J. 2003. Yield increase attributable to aphid predation by ground-living polyphagous natural enemies in spring barley in Sweden. *Ecological Economics* 45 (1): 149-158.
- PARAJULEE, M. N.; SLOSSER, J. E. 1999. Evaluation of potential relay strip crops for predator enhancement in Texas cotton. *International Journal of Pest Management* 45 (4): 275-286.
- PATT, J. M.; HAMILTON, G. C.; LASHOMB, J. H. 1997. Foraging success of parasitoid wasps on flowers: interplay of insect morphology, floral architecture and searching behavior. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 83 (1): 21-30.
- PERFECTO, I.; VANDERMEER, J. H.; BAUTISTA, G. L.; NUNEZ, G. I.; GREENBERG, R.; BICHER, P.; LANGRIDGE, S. 2004. Greater predation in shaded coffee farms: the role of resident neotropical birds. *Ecology* 85 (10): 2677-2681.
- PERRIN, R. M.; PHILLIPS, M. L. 1978. Some effects of mixed cropping on the population dynamics of insect pests. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24 (3): 585-593.
- PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. 1997. Developing sustainable pest control from chemical ecology. *Agriculture Ecosystems & Environment* 64 (2): 149-156.
- PITAN, O. O. R.; OLATUNDE, G. O. 2006. Effects of intercropping tomato (*Lycopersicon esculentum*) at different times with cowpea (*Vigna unguiculata*) or okra (*Abelmoschus esculentus*) on crop damage by major insect pests. *Journal of Agricultural Science* 144: 361-368.
- PONTIN, D. R.; WADE, M. R.; KEHRLI, P.; WRATTEN, S. D. 2006. Attractiveness of single and multiple species flower patches to beneficial insects in agroecosystems. *Annals of Applied Biology* 148 (1): 39-47.
- RAND, T. A.; TYLIANAKIS, J. M.; TSCHARNTKE, T. 2006. Spillover edge effects: the dispersal of agriculturally subsidized insect natural enemies into adjacent natural habitats. *Ecology Letters* 9 (5): 603-614.
- RAO, M. R.; MATHUVA, M. N. 2000. Legumes for improving maize yields and income in semi-arid Kenya. *Agriculture Ecosystems & Environment* 78 (2): 123-137.
- ROOT, R. B. 1973. Organization of a plant-arthropod associations in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleracea*). *Ecological Monographs* 43: 95-118.
- RUKAZAMBUGA, N.; GOLD, C. S.; GOWEN, S. R.; RAGAMA, P. 2002. The influence of crop management on banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae) populations and yield of highland cooking banana (cv. Atwalira) in Uganda. *Bulletin of Entomological Research* 92 (5): 413-421.
- RUSSELL, E. 1989. Enemies hypothesis: a review of the effect of vegetational diversity on predatory Insects and Parasitoids. *Annals of the Entomology Society of America* 18 (4): 590-599.
- SASTAWA, B. M.; LAWAN, M.; MAINA, Y. T. 2004. Management of insect pests of soybean: effects of sowing date and intercropping on damage and grain yield in the Nigerian Sudan savanna. *Crop Protection* 23 (2): 155-161.
- SCHADER, C.; ZALLER, J. G.; KOPKE, U. 2005. Cotton-basil intercropping: effects on pests, yields and economical parameters in an organic field in Fayoum, Egypt. *Biological Agriculture & Horticulture* 23 (1): 59-72.
- SCHULTHESS, F.; CHABI-OLAYE, A.; GOUNOU, S. 2004. Multi-trophic level interactions in a cassava-maize mixed cropping system in the humid tropics of West Africa. *Bulletin of Entomological Research* 94 (3): 261-272.
- SEKAMATTE, B. M.; OGENGA-LATIGO, M.; RUSSELL-SMITH, A. 2003. Effects of maize-legume intercrops on termite damage to maize, activity of predatory ants and maize yields in Uganda. *Crop Protection* 22 (1): 87-93.
- SHELTON, A. M.; BADENES-PEREZ, E. 2006. Concepts and applications of trap cropping in pest management. *Annual Review of Entomology* 51: 285-308.
- SHELTON, A. M.; NAULT, B. A. 2004. Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Protection* 23 (6): 497-503.
- SHOWLER, A. T.; GREENBERG, S. M. 2003. Effects of weeds on selected arthropod herbivore and natural enemy populations, and on cotton growth and yield. *Environmental Entomology* 32 (1): 39-50.
- SKELTON, L. E.; BARRETT, G. W. 2005. A comparison of conventional and alternative agroecosystems using alfalfa (*Medicago sativa*) and winter wheat (*Triticum aestivum*). *Renewable Agriculture and Food Systems* 20 (1): 38-47.
- SMITH, H. A.; KOENIG, R. L.; MCAUSLANE, H. J.; MCSORLEY, R. 2000. Effect of silver reflective mulch and a summer squash trap crop on densities of immature *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on organic bean. *Journal of Economic Entomology* 93 (3): 726-731.
- SMITH, H. A.; MCSORLEY, R. 2000. Potential of field corn as a barrier crop and eggplant as a trap crop for management of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on common bean in North Florida. *Florida Entomologist* 83 (2): 145-158.
- SMITH, H. A.; MCSORLEY, R.; IZAGUIRRE, J. A. S. 2001. Effect of intercropping common bean with poor hosts and nonhosts on numbers of immature whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) in the Salama Valley, Guatemala. *Environmental Entomology* 30 (1): 89-100.
- SONGA, J. M.; JIANG, N.; SCHULTHESS, F.; OMWEGA, C. 2007. The role of intercropping different cereal species in controlling lepidopteran stemborers on maize in Kenya. *Journal of Applied Entomology* 131 (1): 40-49.
- SPERBER, C. F.; NAKAYAMA, K.; VALVERDE, M. J.; NEVES, F. D. 2004. Tree species richness and density affect parasitoid

- diversity in cacao agroforestry. *Basic and Applied Ecology* 5 (3): 241-251.
- STAVER, C.; GUHARAY, F.; MONTERROSO, D.; MUSCHLER, R. G. 2001. Designing pest-suppressive multistrata perennial crop systems: shade-grown coffee in Central America. *Agroforestry Systems* 53 (2): 151-170.
- STRAUB, C. S.; FINKE, D. L.; SNYDER, W. E. 2008. Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? *Biological Control* 45 (2): 225-237.
- SUNDERLAND, K.; SAMU, F. 2000. Effects of agricultural diversification on the abundance, distribution, and pest control potential of spiders: a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 95 (1): 1-13.
- TAHVANAINEN, J. O.; ROOT, R. B. 1972. The influence of vegetational diversity on population ecology of a specialized herbivore, *Phyllotreta cruciferae* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Oecologia* 10 (4): 321-346.
- THOMPSON, G. D. 1998. Consumer demand for organic foods: what we know and what we need to know. *American Journal of Agricultural Economics* 80 (5): 1113-1118.
- TILMAN, D.; CASSMAN, K. G.; MATSON, P. A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418 (6898): 671-677.
- TSANUO, M. K.; HASSANALI, A.; HOOPER, A. M.; KHAN, Z.; KABERIA, F.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J. 2003. Isoflavanones from the allelopathic aqueous root exudate of *Desmodium uncinatum*. *Phytochemistry* 64 (1): 265-273.
- TYLIANAKIS, J. M.; DIDHAM, R. K.; WRATTEN, S. D. 2004. Improved fitness of aphid parasitoids receiving resource subsidies. *Ecology* 85 (3): 658-666.
- UVAH, III; COAKER, T. H. 1984. Effect of mixed cropping on some insect pests of carrots and onions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 36 (2): 159-167.
- VANDERMEER, J. 1989. *The ecology of intercropping*, Cambridge, UK, Cambridge University Press. 237 p.
- VANHUIS, A. 1991. Biological methods of bruchid control in the Tropics - a review. *Insect Science and its Application* 12 (1-3): 87-102.
- WÄCKERS, F. L. 2004. Assessing the suitability of flowering herbs as parasitoid food sources: flower attractiveness and nectar accessibility. *Biological Control* 29: 307-314.
- WALE, M.; SCHULTHESS, F.; KAIRU, E. W.; OMWEGA, C. O. 2007. Effect of cropping systems on cereal stemborers in the cool-wet and semi-arid ecozones of the Amhara region of Ethiopia. *Agricultural and Forest Entomology* 9 (2): 73-84.
- WILBY, A.; THOMAS, M. B. 2002a. Are the ecological concepts of assembly and function of biodiversity useful frameworks for understanding natural pest control? *Agricultural and Forest Entomology* 4 (4): 237-243.
- WILBY, A.; THOMAS, M. B. 2002b. Natural enemy diversity and pest control: patterns of pest emergence with agricultural intensification. *Ecology Letters* 5 (3): 353-360.

Recibido: 1-sep-2008 • Aceptado: 24-sep-2008

Sección Agrícola

Identificación de biotipos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) mediante marcadores mitocondriales y nucleares

Identification of *Spodoptera frugiperda* biotypes (Lepidoptera: Noctuidae) through using mitochondrial and nuclear markers

ANA MARÍA VÉLEZ-ARANGO¹, RAFAEL EDUARDO ARANGO I.², DIEGO VILLANUEVA M.³,
ELIZABETH AGUILERA G.⁴ y CLARA INÉS SALDAMANDO B.⁵

Resumen: *Spodoptera frugiperda* es un insecto considerado plaga primaria del cultivo de maíz y secundaria en arroz, algodón, sorgo y pastizales. Presenta dos biotipos (maíz y arroz) casi idénticos morfológicamente, pero difieren en su composición genética, resistencia hacia insecticidas y *Bacillus thuringiensis*, siendo el biotipo de maíz más resistente respecto al biotipo de arroz. Este trabajo es la primera identificación molecular en Colombia de estos biotipos a partir de larvas recolectadas en cultivos de maíz, arroz y algodón en el departamento del Tolima, con el uso de una PCR-RFLP a nivel del gen mitocondrial citocromo oxidasa I para identificar al biotipo de maíz, y una PCR de la región tandem FR del ADN nuclear para identificar biotipo de arroz. Los resultados diferenciaron tres poblaciones de *S. frugiperda*: a) biotipo de maíz, compuesto por individuos que generaron digestiones con la enzima *MspI* del gen COI, b) biotipo de arroz compuesto por individuos que generaron amplificaciones de peso moleculares mayores a 500 pb con el marcador FR, y finalmente c) un grupo de individuos clasificados como “híbridos” entre estos dos marcadores, producto del cruce entre hembras del biotipo de maíz y machos del biotipo de arroz y viceversa. Los individuos genotipificados como biotipo de maíz se recolectaron en cultivos de maíz y algodón exclusivamente y los individuos genotipificados como biotipo de arroz en cultivos de arroz principalmente y en bajas proporciones en cultivos de maíz y algodón.

Palabras clave: Región COI. PCR-RFLP's. Enzima de restricción *MspI*. Región FR. Híbridos.

Abstract: *Spodoptera frugiperda* is considered a primary pest in corn crops and a secondary pest in rice, cotton, sorghum and pastures. It exhibits two biotypes (corn and rice) that are almost identical morphologically, but differ in their genetic composition and resistance to insecticides and *Bacillus thuringiensis*, with the corn biotype more resistant than the rice biotype. This work is the first molecular identification in Colombia of these biotypes for larvae collected from corn, rice and cotton crops in the department of Tolima by using a PCR-RFLP of the mitochondrial gene cytochrome oxidase subunit I (COI) for the identification of corn biotype, and a PCR amplifying a FR tandem region of the nuclear DNA to identify the rice biotype. The results differentiated three populations of *S. frugiperda*: a) corn biotype, composed of individuals that generated digestion products with the enzyme *MspI* of the COI gene, b) rice biotype, composed of individuals that generated amplification products higher than 500 bp with the FR marker, and finally c) a group of individuals classified as “hybrids” between these markers, product of the cross between a corn biotype female and rice biotype male and vice versa. Individuals genotyped as the corn biotype were collected exclusively from corn and cotton crops and the individuals genotyped as the rice biotype were mainly collected from rice crops and in low proportions from corn and cotton crops.

Key words: COI region. PCR-RFLP's. *MspI* restriction enzyme. FR region. Hybrids.

Introducción

El gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), es un insecto tropical endémico del hemisferio occidental que se extiende desde Argentina hasta Norteamérica (López-Edwards *et al.* 1999; Pashley *et al.* 2004; Busato *et al.* 2004; Clark *et al.* 2007; Martinelli *et al.* 2007). Este insecto, es considerado como una de las plagas primarias de cultivos de maíz y secundaria en algodón, arroz y algunas hortalizas en Estados Unidos y Brasil (Pashley 1998; Busato *et al.* 2004). En 1914 apareció en Colombia asociada a cultivos de maíz en el departamento de Antioquia, posteriormente se dispersó a Caldas y Valle del Cauca, hasta establecerse en todas las áreas maiceras del país. La larva de esta polilla pue-

de atacar alrededor de 38 cultivos y malezas al alimentarse de sus tejidos foliares y cogollos (Bustillo y Posada 1983) y por esta razón es considerada una plaga primaria en el cultivo de maíz en la gran mayoría de las zonas productoras del país, al generar pérdidas económicas de hasta un 35% (Torres y Cotes 2005) y como una plaga secundaria en los cultivos de algodón, caña de azúcar, arroz, sorgo y pastos (García *et al.* 2002).

En el departamento de Tolima (Colombia) esta especie ha sido el insecto que más ha interferido en los programas de manejo integrado de plagas, particularmente en los cultivos de algodón, por ello es donde más se han concentrado los trabajos de control biológico de este insecto (Álvarez y Sánchez 1983). Recientemente, en el Tolima se analizó la susceptibilidad de *Heliothis virescens* (F., 1777), *Helicoverpa zea* (Boddie,

¹ Bióloga, Candidato M.Sc. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB. Unidad de Biotecnología Vegetal, Colombia. anamaria.velez@gmail.com.

² Director del Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB.

³ Investigador M.Sc. Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB.

⁴ Investigador M.Sc. Programa de Manejo Integrado de Plagas de Corpoica, Tibaitatá.

⁵ Profesor Asistente Ph. D. Facultad de Ciencias, Departamento de Biociencias, Universidad Nacional de Colombia, UNALMED, Calle 59A No. 63 - 20. Medellín, Colombia. Edificio 11-208. Fax 4309072. cisaldam@unal.edu.co. Autor para correspondencia.

1850), *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1843) y *S. frugiperda* al realizar estudios del efecto de la endotoxina *CryIAC* de cultivos transgénicos de algodón sobre estos lepidópteros (Zenner-De Polania *et al.* 2007). En esa investigación, se observó que la susceptibilidad de los tres primeros insectos es alta, mientras que la susceptibilidad de *S. frugiperda* era muy baja o casi nula (Zenner-De Polania *et al.* 2007) corroborando los resultados encontrados por Adamczyk *et al.* (1997), puesto que también demostraron que la endotoxina *CryIAC* no afectaba la supervivencia de *S. frugiperda*. Sin embargo, Adamczyk *et al.* (1997) identificaron los biotipos de *S. frugiperda* antes de llevar a cabo el análisis de susceptibilidad lo cual no se realizó en este último estudio en el Tolima.

En *S. frugiperda* se han identificado dos «biotipos» que son indistinguibles morfológicamente, pero son reconocidos como posibles nuevas especies (Dres y Mallet 2002) o razas de plantas hospederas de maíz y arroz (Pashley 1998), puesto se que encuentran con mayor frecuencia en ellos. Sin embargo, el biotipo de maíz, también se ha encontrado asociado a cultivos de sorgo y algodón, mientras que el biotipo de arroz a cultivos de arroz y pastizales (Pashley 1986; Pashley 1998; Nagoshi y Meagher 2003a, 2004; Pashley *et al.* 2004). Estos biotipos han sido identificados en varios países, entre ellos: Estados Unidos (Pashley 1986; Nagoshi y Meagher 2003a, b), 2004; Meagher y Gallo-Meagher 2003; Pashley *et al.* 2004; Nagoshi *et al.* 2007a, b), Puerto Rico, Guadalupe, Republica Dominicana, Jamaica, Costa Rica, México, Guyana Francesa, Ecuador (Pashley *et al.* 2004), Brasil (Nagoshi *et al.* 2007 b) y Argentina (Clark *et al.* 2007).

Estos biotipos han sido denominados especies verdaderas (Dres y Mallet 2002) debido a que en ellos se han observado formas de aislamiento reproductivo precigótico y postcigótico. El aislamiento precigótico es de tres tipos: 1) temporal: debido a que el biotipo de maíz tiende aparearse en los dos primeros tercios de la noche, mientras que el biotipo de arroz en el último tercio (Pashley *et al.* 1992), 2) comportamental parcial dado que rara vez las hembras del biotipo del maíz se aparean con los machos del biotipo del arroz, aunque el cruce recíproco si produce progenie (Pashley y Martin 1987; Pashley 1998) y 3) ecológico debido a que los biotipos se ubican principalmente en dos plantas hospederas: maíz y arroz, significando que las hembras podrían diferenciarse en su comportamiento de oviposición (Pashley *et al.* 2004). El aislamiento postcigótico entre los biotipos es parcial, dada la baja viabilidad de los híbridos de la F2 obtenidos a partir de cruces entre hembras del biotipo del maíz y machos del biotipo del arroz, mientras que los individuos pertenecientes al cruce recíproco producen híbridos fértiles y viables (Pashley y Martin 1987; Nagoshi y Meagher 2003a, b). Otra investigación en la que también se encontró aislamiento reproductivo en *S. frugiperda* fue realizada por López-Edwards *et al.* (1999) en México, en la que cruces de adultos entre poblaciones aisladas de cultivos de maíz, no produjeron progenie, cruces entre individuos del centro y el golfo de México con individuos de su costa Pacífica. En este último estudio no se genotipificaron las poblaciones de *S. frugiperda*, pero si se logró concluir que el aislamiento geográfico jugaba un papel importante en el aislamiento reproductivo del insecto. Finalmente, en otro trabajo en el que se evidencia aislamiento reproductivo en Florida y Louisiana, Pashley *et al.* (1992) utilizaron hembras vírgenes de cada biotipo para producir trampas de feromonas, y observaron que los machos de cada biotipo de *S. frugiperda* preferían aque-

llas trampas en las que se ubicaron hembras de su mismo biotipo, comprobándose un aislamiento comportamental en la especie.

Por otro lado, en estudios realizados en Estados Unidos, se ha encontrado que en condiciones de laboratorio las larvas del biotipo del maíz muestran una mayor resistencia a componentes de insecticidas como el carbaril, diazinon, cipermetrinas, metil paration y metiomil, además de cultivos de algodón transgénico al que se le ha introducido la endotoxina *CryIAC* del *Bacillus thuringensis*, mientras que en condiciones de campo las larvas del biotipo del arroz consumen más material vegetal que las larvas del biotipo del maíz (Adamczyk *et al.* 1997). Debido a que los biotipos de *S. frugiperda* son casi idénticos morfológicamente han sido necesarias las herramientas moleculares y bioquímicas para su diferenciación.

Los biotipos exhiben polimorfismos genéticos a nivel de cinco esterasas, siendo las enzimas B, C y D exclusivas en el biotipo de maíz y las enzimas E y F en el biotipo de arroz; los híbridos entre éstos presentan combinaciones de las esterasas de ambos biotipos, generándose individuos con esterasas B y F, C y E, entre otras (Pashley 1986; Pashley *et al.* 2004). A nivel del ADN mitocondrial en el gen de la citocromo oxidasa I (COI), la enzima de restricción *MspI* genera dos fragmentos (497 pb y 72 pb) únicamente en el biotipo del maíz y ninguna digestión en el biotipo de arroz (Levy *et al.* 2002; Meagher y Gallo-Meagher 2003). Estos biotipos también han sido identificados con AFLP's (McMichael y Pashley 1999; Pashley *et al.* 2004; Clark *et al.* 2007; Martinelli *et al.* 2007) y con una región en tandem del ADN nuclear denominada FR (for rice) que produce amplificaciones de alto peso molecular (mayores a 500 pb) en el biotipo de arroz (Lu *et al.* 1994; Nagoshi y Meagher 2003a, 2004). El uso de los marcadores COI y FR ha sido de suma importancia en *S. frugiperda* ya que no solamente han permitido identificar los biotipos de esta especie, sino que también han servido para el reconocimiento de híbridos entre éstos. Autores como Nagoshi y Meagher (2003a, b) y Nagoshi *et al.* (2007a) han encontrado híbridos que presentan digestión con la enzima de restricción *MspI* y amplificación por encima de las 500 pb de la región FR, e híbridos sin digestión con la enzima *MspI* y fragmentos menores a las 500 pb en la región FR. Los híbridos entre los dos biotipos de *S. frugiperda* han mostrado tener una menor especificidad hacia las plantas hospederas respecto a los de los biotipos de esta especie, lo cual demuestra la relevancia que tiene la identificación molecular los biotipos y sus híbridos, para mejorar del manejo de este insecto (Nagoshi *et al.* 2007a).

En Colombia, los estudios con *S. frugiperda* han sido más enfocados en su control químico y biológico (García *et al.* 2002; Torres y Cotes 2005) y por ello la existencia de sus biotipos no ha sido ampliamente estudiada. Sin embargo, en un trabajo realizado por Pinzón (1992) se mencionó la posible existencia de estos biotipos en un trabajo que se basó en el desarrollo del biocontrolador *Meteorus laphygmae* Viereck, 1913 (Hymenoptera: Braconidae) sobre *S. frugiperda* en cultivos de maíz de poblaciones de El Espinal y Valle de San Juan (Tolima). Pinzón (1992) encontró que las crías provenientes de *S. frugiperda* de El Espinal, tuvieron un mayor parasitismo de *M. laphygmae* comparado con las crías del Valle de San Juan, por esta razón la autora sugiere la existencia de biotipos de *S. frugiperda* en el Tolima. A pesar de que éste ha sido uno de los primeros trabajos en proponer la presencia de biotipos de este insecto en Colombia, hasta el momento no se han realizado otros estudios relacionados con la identificación de biotipos lo cual es

fundamental para su manejo integrado (Nagoshi y Meagher 2004); tal identificación es necesaria pues ambos biotipos podrían reflejar comportamientos diferenciales de resistencia hacia insecticidas y controladores biológicos, generando la necesidad de utilizar nuevas estrategias para su control. Además, su presencia, también es relevante desde una perspectiva ecológica y evolutiva debido a que si *S. frugiperda* se encuentra en un periodo de divergencia genética generada por una evolución asociada a sus plantas hospederas, este insecto podría ser utilizado como modelo para estudios de especiación ecológica (Dres y Mallet 2002; Pashley *et al.* 2004). Por estas razones el presente trabajo tuvo dos propósitos: a) identificar biotipos de *S. frugiperda* y sus respectivos híbridos con el uso de dos técnicas moleculares y b) reconocer las plantas huéspedes en las que se encontraron con mayor frecuencia cada uno de los biotipos y sus respectivos híbridos.

Materiales y Métodos

Recolecciones de campo. Los muestreos de *S. frugiperda* se realizaron en fincas con cultivos de rotación de algodón, maíz y arroz en el departamento del Tolima, Colombia. Estos muestreos se produjeron en tres microrregiones del departamento: norte, centro, y sur, que difieren en sus condiciones ecológicas. En el norte predominan los cultivos de café, maíz, algodón y sorgo, en el centro los cultivos de maíz, sorgo y algodón, y en el sur, cultivos de algodón, arroz y maíz, siendo esta última la zona más seca del departamento al limitar con el desierto de la Tatacoa. Estas recolecciones se llevaron a cabo durante el segundo semestre de 2006 y primer semestre de 2007 dada la rotación de los cultivos (en el primer semestre del año se producen maíz y arroz, mientras que en el segundo semestre se cultiva algodón principalmente). En cada microrregión se muestreó en cultivos de maíz y algodón, excepto en el norte donde se recolectó adicionalmente en arroz (Tabla 1).

Una vez se tomaron las muestras, las larvas se ubicaron en tubos de plástico de 2,5 ml (rotulados por finca y microrregión) con etanol al 70% y posteriormente se enviaron la Unidad de Biotecnología Vegetal UNALMED-CIB (Corporación para Investigaciones Biológicas) de Medellín, donde se almacenaron en seco en una nevera a -70°C, para su posterior genotipificación.

Caracterización molecular de *S. frugiperda* mediante PCR-RFLP y PCR. Se genotipificaron 157 individuos mediante una PCR-RFLP de la región COI del ADN mitocondrial y una PCR de la región nuclear FR, utilizando los cebadores indicados por

Nagoshi y Meagher (2003a). La extracción de ADN se realizó siguiendo el protocolo de Sambrook y Russell (2001) con algunas modificaciones. Para esto, se empleó la parte posterior del cuerpo de larvas de segundo a quinto instar, cada larva se maceró en nitrógeno líquido y se depositó en un tubo eppendorf de 1.5 µl al cual se le adicionaron 400 µl de buffer de extracción CTAB (2X) y 4 µl de β-mercaptoetanol, cada tubo fue mezclado por medio de un vórtex y se incubó por 30 minutos a 65°C. Posteriormente, a cada muestra se le adicionaron 400 µl de cloroformo-alcohol isoamílico en una proporción 24:1 y se centrifugó por 6 minutos a 13.000 rpm a 4°C. A continuación se tomó el sobrenadante en un nuevo tubo y se repitió el procedimiento con un volumen equivalente de cloroformo. El nuevo sobrenadante se transfirió a un tubo, se adicionó un volumen equivalente de isopropanol y se almacenó a -20°C por 2 horas. Después de este tiempo, las muestras se centrifugaron por 6 minutos, el sobrenadante se eliminó y el sedimento restante se lavó con 200 µl de etanol al 70% y se centrifugó por 5 minutos; este último procedimiento se repitió, el sedimento restante se secó al vacío y se resuspendió en 50 µl en buffer TE (1X) (TRIS HCL 100 mM y EDTA 10 mM, pH 8.0). Finalmente, se adicionó 1 µl de RNasa y se incubó a 37°C por 1 h. Se obtuvo una concentración aproximada de ADN de 50 ng.

El ADN genómico fue amplificado mediante PCR en 25 µl de mezcla de reacción que contenía 2,5 µl de buffer de Taq polimerasa (10X) (Fermentas, California U.S.A), con (NH₄)₂SO₄, 1,5 µl de MgCl₂ 25 mM (Fermentas), 0,5 µl de dNTPs (10 µM) (Invitrogen, California U.S.A), 1,0 ml de cebador forward JM76 (5' GAGCTGAATTAGG(G/A)ACTCCAGG 3'), 1,0 µl de cebador reverse JM77 (5' ATCACCTCC (A/T)CCTGCAGGATC 3'), 0,5 µl (5u/µl) de Taq ADN polimerasa (Fermentas), 17 µl de H₂O y 1,0 µl de ADN (50 ng).

Para la PCR se realizó un ciclo inicial de 94°C por 3 minutos, seguido de 30 ciclos a 94°C por 1 minuto, 62°C por 1 minuto y 72°C por 1 minuto, y un ciclo de extensión final de 72°C por 10 minutos. Posteriormente se realizó una digestión con la enzima de restricción *MspI*, para esto se adicionó en un nuevo tubo 300 ng de mezcla de PCR, 2 µl de Buffer 10X (Fermentas, California U.S.A) y 10 unidades de la enzima *MspI*, esto se completo a 30 µl con H₂O, y se incubó a 37°C por 2 h. Las muestras se analizaron en un gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio 0,1% y se visualizaron en un transiluminador UV.

Para la amplificación de la región FR en *S. frugiperda*, se realizaron reacciones de PCR que contenían 2,5 µl de buffer de Taq polimerasa (10X) (Fermentas, California U.S.A) con (NH₄)₂SO₄, 1,5 µl de MgCl₂ 25 µM (Fermentas), 0,5 µl de dNTPs (10iM) (Invitrogen), 1,0 µl de cebador FR-a, 1,0 µl de cebador FR-2, 0,5 µl (5u/µl) de Taq ADN polimerasa (Fermentas), 17 µl de H₂O y 1,0 µl de ADN (50 ng). Se realizó un ciclo inicial de 94°C por 3 minutos, seguido por 40 ciclos a 94°C por 1 minuto, 62°C por 1 minuto y 72°C por 1 minuto, seguido por un ciclo extra de 72°C por 10 minutos. Las muestras fueron analizadas en un gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio 0,1% y se visualizaron en un transiluminador UV.

Análisis Estadístico. Debido a que los datos de los biotipos de *S. frugiperda* y sus respectivos híbridos son categóricos, se realizaron tablas de contingencia (Sokal y Rohlf 1995) para determinar si existe una distribución independiente de los individuos genotipificados (biotipo de maíz, arroz e híbridos) respecto a los cultivos de maíz, arroz y algodón recolectados en las tres micro-regiones (centro, norte y sur) del departa-

Tabla 1. Microrregiones y cultivos en los que se realizaron colectas de *S. frugiperda* en el Tolima.

Microrregión	Cultivo	Larvas Genotipificadas
Norte	Maíz	31
	Algodón	16
	Arroz	32
Centro	Maíz	4
	Algodón	21
Sur	Maíz	45
	Algodón	8

mento del Tolima. Estas tablas se dividieron en tres tipos, una primera para el marcador COI, una segunda tabla con el marcador FR y una tercera con la combinación de los dos marcadores. Los análisis de datos se ejecutaron en el programa Genstat 5.0 (2003).

Resultados y Discusión

La PCR RFLP del gen mitocondrial COI produjo una amplificación de un fragmento de 569 pb y una digestión de 497 pb y 72 pb con la enzima de restricción *MspI* identificando individuos pertenecientes al biotipo de maíz exclusivamente en el Tolima. Sin embargo, la visualización del fragmento de 72 pb en geles de agarosa no siempre es posible debido a su pequeño tamaño (Fig. 1). Estos resultados, concuerdan con los trabajos realizados por Levy *et al.* (2002), Nagoshi y Meagher (2003a) al producir las mismas bandas electroforéticas, al presentar geles en los que se observa solamente el fragmento de 497 pb y otros donde se observan los dos fragmentos. Por otro lado, los cebadores FRa-FR2 de la región en tandem FR del ADN nuclear produjeron una escalera de bandas electroforéticas por encima de los 500 pb en muestras larvales que fueron identificadas como biotipo de arroz (Fig. 2). Este marcador también ha permitido identificar el biotipo de arroz por otros autores como Lu *et al.* (1994), Nagoshi y Meagher (2003a) y Nagoshi *et al.* (2007), dado que ellos también obtuvieron bandas electroforéticas de alto peso molecular (entre 1000 y 500 pares de bases) para el biotipo de arroz.

Estos marcadores, también comprobaron la presencia de híbridos entre estos biotipos en el Tolima, definiendo dos tipos de hibridación de *S. frugiperda*: 1) individuos que generaron productos de digestión con la enzima *MspI* y a su vez amplificaciones mayores a 500 pb con los cebadores de la región FR y 2) individuos que no presentaron digestión con la enzima *MspI* y productos de amplificación menores a 500 pb con los cebadores de la región FR. Estos dos tipos de hibridación también fueron evidenciados en los trabajos realizados por Nagoshi y Meagher (2003a, b) quienes realizaron cruces entre estos dos biotipos (hembras de maíz y machos de arroz y viceversa), obteniendo una progenie F1 y F2 que fue genotipificada con estos dos marcadores, por esto, los geles presentados por Nagoshi y Meagher (2003a, b) fueron la base de comparación de los resultados de los geles electroforéticos obtenidos en el presente estudio.

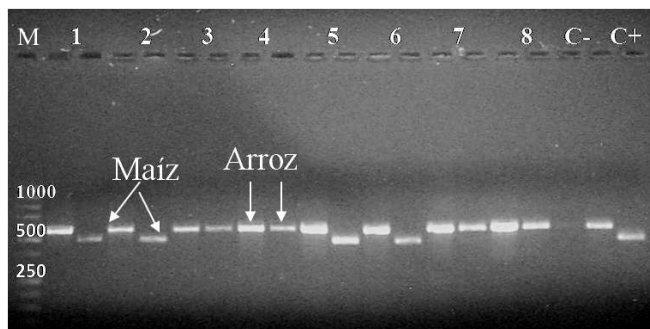


Figura 1. Amplificación de los productos de PCR-RFLP del gen mitocondrial COI (569 pb) y sus respectivas digestiones con la enzima de restricción *MspI* (497 pb). M: Marcador de Peso Molecular, línea: 1, 2, 5 y 6 = biotipo de maíz (presentan digestión), 3, 4, 7 y 8 = biotipo de arroz (no presentan digestión).

Es importante mencionar que una diferencia entre el trabajo de Nagoshi y Meagher (2003 b) y el presente, se basa en que en el primero se utilizaron dos cebadores forward (FRc y FRa) para la identificación de los dos biotipos, mientras que en el protocolo utilizado en este estudio solamente se implementaron los cebadores FRa-FR2. Estos dos últimos cebadores amplifican la misma región del ADN nuclear que los cebadores FRc-FR2 con 56 pares de bases mas (Nagoshi y Meagher (2003b), lo que implica que el uso de cualquiera de los dos cebadores forward FR puede ser utilizado para la identificación de biotipos de esta especie.

Se genotipificaron dos biotipos de *S. frugiperda* y sus híbridos de un total de 157 larvas. De éstas, 71 individuos fueron clasificados como biotipo de maíz, al presentar digestión con la enzima de restricción *MspI* y al amplificar fragmentos menores a las 500 pb con los cebadores FR. Por otra parte, 41 individuos fueron identificados como biotipo de arroz ya que no presentaron corte con la enzima *MspI* y mostraron una escalera de fragmentos de la región FR de alto peso molecular (mayores a 500 pb). Además, se observaron dos clases de híbridos: 23 individuos que tuvieron digestión con la enzima de restricción *MspI* de la región COI y amplificación de la región FR por encima de las 500 pb y 22 individuos que no presentaron digestión con la enzima de restricción *MspI* de la región COI y amplificación de fragmentos menores a las 500 pb en la región FR. Los híbridos identificados en este trabajo también fueron reconocidos por Nagoshi *et al.* (2007 a), donde reportan que los híbridos positivos para ambos marcadores pueden ser tanto machos como hembras, mientras que los híbridos negativos para los dos marcadores solo son machos.

Por otro lado, las tres tablas de contingencia muestran que existe una distribución diferencial de los biotipos de maíz y arroz respecto a la planta hospedera debido a que en cada una de ellas se rechazó la hipótesis nula teniendo en cuenta cada marcador molecular por separado y en conjunto (Tabla 2). Se puede observar que el biotipo de maíz se encuentra exclusivamente en los cultivos de maíz y algodón al analizar las muestras larvales con los marcadores COI y FR por separado y en conjunto, mientras que el biotipo de arroz se encuentra en mayor número en el cultivo de arroz y en menor cantidad en

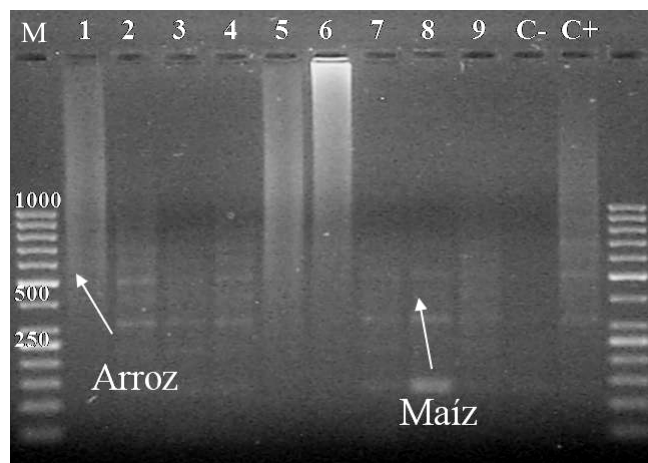


Figura 2. Amplificación de los productos de PCR de la región FR del ADN nuclear. M: marcador de peso molecular, líneas 1, 5 y 6 = biotipo de arroz (fragmentos por encima de 500 pb), 2, 3, 4, 7, 8 y 9 = biotipo de maíz (fragmentos menores a 500 pb).

Tabla 2. Tablas de contingencia para los marcadores moleculares COI, FR y los dos marcadores en conjunto para determinar distribución diferencial de los biotipos de *S. frugiperda* y sus híbridos en los cultivos de maíz, arroz y algodón.

Biotipo por marcador	Cultivo			Total	X ²	gl
	Maíz	Arroz	Algodón			
Marcador COI						
Arroz	20	32	9	61	63,55**	2
Maíz	60	0	36	96		
Marcador FRa						
Arroz	48	23	18	89	8,46*	2
Maíz	32	9	27	68		
Marcadores COI + FRa						
Arroz	16	23	2	41	58,43**	4
Maíz	41	0	30	71		
Híbrido	23	9	13	45		

* Significativo al 1%, ** Significativo al 0,5%.

los otros dos cultivos. Resultados similares fueron indicados por Pashley (1986, 1998) en Estados Unidos, donde observó que las larvas del biotipo de maíz se encontraron más frecuentemente alimentándose en plantas de maíz y algodón, mientras que las larvas de arroz, en plantas de arroz y pastizales. En un trabajo posterior, Pashley *et al.* (2004) obtuvo las mismas distribuciones de los biotipos a partir de recolecciones de adultos y larvas en cultivos de maíz, arroz y pastizales en Estados Unidos (Florida y Louisiana), Puerto Rico, República Dominicana, Jamaica, Guadalupe, México y Ecuador. Igualmente, Nagoshi y Meagher (2003a) observaron que machos adultos de *S. frugiperda* de la Florida (Estados Unidos) formaban dos grupos de individuos identificados con la enzima *MspI* en la región COI y la región FR; el primer grupo lo conformaba el biotipo de maíz y se recolectó únicamente en cultivos de maíz y un segundo grupo de individuos clasificado como biotipo de arroz, que se recolectó en pastizales y hábitat mixtos principalmente.

Los resultados de estos análisis son interesantes, al reflejar diferencias en el comportamiento de oviposición de las hembras híbridas respecto a las hembras pertenecientes a los biotipos puros, puesto que las primeras se equivocan al ovipositar en sus plantas hospederas, ya que heredan los genes de ambos biotipos parentales, por ello ubican sus posturas indiscriminadamente en cualquier cultivo; mientras que las hembras de cada biotipo son más específicas respecto a su hospedero, ya que el biotipo de maíz solo se encuentra asociado al maíz y algodón, y el biotipo de arroz principalmente al arroz (Pashley *et al.* 2004; Nagoshi *et al.* 2007a). Por otro lado, las diferencias en la distribución de los biotipos de *S. frugiperda* también podría explicarse por una tasa de supervivencia diferencial de las larvas de estos biotipos en cada uno de los cultivos (Pashley *et al.* 2004). Estas dos estrategias de la biología del insecto deberán ser tenidas en cuenta en futuras investigaciones para determinar si la asociación insecto hospedero evolucionó por preferencia a su planta hospedera o por resistencia diferencial de aleloquímicos de sus larvas a las sustancias tóxicas producidas por sus hospederos (Pashley *et al.* 1992, 2004).

Conclusiones

S. frugiperda ha sido uno de los insectos más ampliamente estudiados por diversos investigadores en el intento de generar alternativas de manejo integrado hacia éste con el uso de

controles químicos y biológicos. Sin embargo, estos métodos no han tenido en cuenta un conocimiento básico de la biología de esta polilla, debido a que se encuentra en un periodo de divergencia evolutiva, generando biotipos que se están especializando hacia dos plantas hospederas principales: el maíz y arroz. Estos biotipos representan especies incipientes que deben ser tratadas con cautela dado que, al menos en Estados Unidos, presentan un comportamiento diferencial de resistencia hacia insecticidas y *Bacillus thuringiensis*, lo cual debe conducir futuras investigaciones a la realización de estudios de comportamiento de resistencia de estos biotipos en Colombia, para así lograr un mejor manejo de este insecto en las regiones cuyo impacto es mayor.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín y a la Corporación de Investigaciones Biológicas (UNALMED-CIB), Unidad de Biotecnología Vegetal por el desarrollo de este trabajo. A CORTOLIMA por otorgar el permiso de captura y acceso a los recursos genéticos de *S. frugiperda* en el Tolima (resolución 843, agosto 2007) y a Jhon Alexander Agudelo por la recolección de las larvas de *S. frugiperda*. Este proyecto fue financiado por la Universidad Nacional de Colombia al investigador principal Clara Saldamando. Código Quipu 201010006109.

Literatura citada

- ADAMCZYK, J. R.; HOLLOWAY, J. J.; LEONARD, J. W.; GRAVES, J. B. 1997. Susceptibility of fall armyworm collected from different plant hosts to selected insecticides and transgenic *Bt* cotton. *Journal of Cotton Science* 1 (1): 21-28.
- ÁLVAREZ, J. A.; SÁNCHEZ, G. 1983. Variación en el número de instares de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Revista Colombiana de Entomología* 9 (1): 43-49.
- BUSATO, G. R.; GRUZTMACHER, A. D.; DE OLIVEIRA, A. C.; VIEIRA, E. A.; ZIMMER, P. A.; KOPP, M. M.; DE BANDEIRA, J.; MAGALAHES, T. 2004. Análise da estrutura e diversidade molecular de poblaciones de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) asociadas as culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. *Neotropical Entomology* 33: 709-716.
- BUSTILLO, A. E.; POSADA, F. J. 1983. Patogenicidad de un aislamiento de *Nomuraea rileyi* sobre larvas del cogollero del maíz

- Spodoptera frugiperda*. Revista Colombiana de Entomología 12 (1): 5-15.
- CLARK, P. L.; MOLINA-OCHOA, J.; MARTINELLI, S.; SKODA, S. R.; ISENHOUR, D. I.; LEE, D. J.; KRUMM, J., T.; FOSTER, J. E. 2007. Population variation of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in western hemisphere. Journal of Insect Science 7: 05.
- DRES, M.; MALLET, J. 2002. Host races in plant-feeding insects and their importance sympatric speciation. Philosophical Transactions of the Royal Society of Science 357: 471-492.
- GARCÍA, F.; MOSQUERA, M. T.; VARGAS, C.; ROJAS, L. A. 2002. Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) plaga del maíz y otros cultivos en Colombia. Revista Colombiana de Entomología 28 (1): 53-60.
- GENSTAT. 2003. GENSTAT 5.0 Release 4.23DE, Lawes Agricultural Trust, Rothamsted Experimental Station.
- LEVY, C. H.; GARCÍA-MARUNIAK, A.; MARUNIAK, J. 2002. Strain identification of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) insects and cell line: PCR-RFLP of cytochrome oxidase c subunit I gene. Florida Entomologist 85 (1): 186-190.
- LÓPEZ-EDWARDS, M.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, J. L.; PESCADOR-RUBIO, A.; MOLINA-OCHOA, J.; LEZMA-GUTIERREZ, R.; HAMM, J. J.; WISEMAN, B. R. 1999. Biological differences between five populations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) collected from corn in Mexico. Florida Entomologist 82 (2): 254-262.
- LU, Y. J.; KOCHERT, G. D.; ISENHOUR, D. J.; ADANG, M. J. 1994. Molecular characterization of a strain-specific repeated DNA sequence in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Insect Molecular Biology 3: 123-130.
- MARTINELLI, S.; CLARK, P. L.; ZUCCHI, M.I.; SILVAFILHO, M.C.; FOSTER, J. E. OMOTO, C. 2007. Genetic structure and molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected in maize and cotton field in Brazil. Bulletin of Entomological Research 97: 225-231.
- MCMICHAEL, M.; PASHLEY, D. P. 1999. Differences in amplified fragment-length polymorphism in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains. Annals of the Entomological Society of America 92 (2): 175-181.
- MEAGHER, R. L.; GALLO-MEAGHER M. 2003. Identifying host strains of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Florida using mitochondrial markers. Florida Entomologist 86 (4): 450-455.
- NAGOSHI, R. D.; MEAGHER, R. L. 2003a. Fall armyworm FR sequences map to sex chromosomes and their distribution in the world indicate limitations in interstrain mating. Insect Molecular Biology 12 (5): 453-456.
- NAGOSHI, R. D.; MEAGHER, R. L. 2003b. FR Tandem-Repeat Sequence in Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains. Annals of the Entomological Society of America 96 (3): 329-335.
- NAGOSHI, R. D.; MEAGHER, R. L. 2004. Behaviour and distribution of the two fall armyworm host strains in Florida. Florida Entomologist 87 (4): 440-448.
- NAGOSHI, R. D.; MEAGHER, R. L.; NUSSSLY, G.; HALL, D. G. 2007a. Effects of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) interstrain mating in wild populations. Environmental Entomology 35 (2): 561-568.
- NAGOSHI, R. D.; SILVIE, P.; MEAGHER, R. L.; LOPEZ, L.; MACHADO, V. 2007b. Identification and comparison of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains in Brazil, Texas, and Florida. Annals of the Entomological Society of America 100: 394-402.
- PASHLEY, D. P. 1986. Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) a sibling species complex? Annals of Entomological Society of America 79: 898-904.
- PASHLEY, D. P.; MARTIN, J. A. 1987. Reproductive incompatibility between host strains of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Annals of Entomological Society of America 80: 731-733.
- PASHLEY, D. P.; HAMMOND, A. M.; HARDY, T. N. 1992. Reproductive isolating mechanisms in fall armyworm host strains (Lepidoptera: Noctuidae). Annals of Entomological Society of America 85: 400-405.
- PASHLEY, D. P. 1998. Sex linkage and speciation in Lepidoptera. pp. 309-319. In Howard, D.; Berlocher, S. (eds). Endless forms: species and speciation. Oxford, NY.
- PASHLEY, D. P.; MCMICHAEL M.; SILVAIN J. F. 2004. Multilocus genetic analysis of host use, introgression and speciation in host strains of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Annals of Entomological Society of America 97 (5): 1034-1044.
- PINZÓN, G. 1992. Especies sibling de *Spodoptera frugiperda*. Departamento de desarrollo y registros CIBA-GEYGI COLOMBIANA. 38-41 p
- TORRES, L.; COTES, A. M. 2005. Efecto de la crioconservación sobre la viabilidad y actividad biocontroladora de *Nomuraea rileyi* contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Revista Colombiana de Entomología 31 (2): 133-138.
- SAMBROOK, J.; RUSELL, D. 2001. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 3ª. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SOKAL, R. R.; ROLHF, F. J. 1995. Biometry. W. H. Freeman and company, NY.
- ZENNER - DE POLANÍA, I.; MADONADO, H. A.; MEJIA CRUZ, R. A.; BAYONA, M. 2007. Susceptibilidad de algunas plagas (Lepidoptera, Noctuidae) del algodónero al gene *CryIac* del *Bacillus thuringiensis*, pp. 147. En: Resúmenes del XXXIV Congreso Colombiano de Entomología.

Recibido: 5-oct-2007 • Aceptado: 25-ago-2008

Comportamiento de híbridos de cacao (*Theobroma cacao*) al ataque de *Steirastoma breve* (Coleoptera: Cerambycidae)

Behavior of cacao hybrids (*Theobroma cacao*) to attack by *Steirastoma breve* (Coleoptera: Cerambycidae)

FRANKLIN MORILLO¹, PEDRO SÁNCHEZ², CIRILO GIRÓN², ÁNGEL VALERA²,
WILFREDO MUÑOZ² y JERÓNIMO GUERRA²

Resumen: Con el fin de determinar el comportamiento de plantas híbridas de cacao al ataque de *Steirastoma breve* en la fase larval, se realizó la evaluación de la intensidad de daño (ID), en un ensayo instalado en el Campo Experimental Padrón del estado Miranda, Venezuela. Se utilizaron 60 progenies híbridas, obtenidas por cruces de 27 parentales seleccionados entre criollos, trinitarios y forasteros. Los híbridos se sembraron en un diseño en bloques al azar con seis plantas y tres a diez repeticiones, según el material disponible. En la primera evaluación se registró el daño producido por larvas del insecto según presencia o ausencia de plantas híbridas afectadas. En la segunda evaluación se utilizó una escala nominal de uno a cinco, para medir la ID en 57 progenies híbridas. Se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0,001$; Prueba Kruskal-Wallis) en la ID entre los híbridos en la segunda evaluación. La comparación múltiple de los rangos promedios separó los híbridos en cinco grupos, con extremos de ID de uno (11 híbridos) y entre tres y cuatro (cinco híbridos que fueron los más susceptibles): el resto formaron grupos intermedios. A excepción de los materiales (PV-1 x IMC-11) x OC-61 y SJU-4 x (PV-1 x IMC-11), la mayoría de los híbridos que no presentaron daños, tienen tendencia al genotipo de origen amazónico. Los resultados indican un comportamiento diferencial de los híbridos evaluados al ataque del insecto.

Palabras clave: Resistencia. Intensidad de daño. Susceptibilidad. Trinitario.

Abstract: In order to determine the behavior of cocoa hybrids to the attack of *Steirastoma breve* in its larval phase, the evaluation of damage intensity (DI) was carried out in a trial set up at the Padrón field experimental station in Miranda state, Venezuela. Sixty hybrid progenies were used, obtained through crossings of 27 parentals selected from among “criollo”, “trinitario” and “forastero” types. The hybrids were planted in a randomized block design with six plants and three to ten replicates, depending on the availability of material. In the first evaluation the damage produced by larvae of the insect was recorded according to the presence or absence of affected hybrids. In the second evaluation a nominal scale from one to five was used to measure the DI in 57 hybrid progenies. Highly significant differences were observed ($P < 0.001$; Kruskal-Wallis test) in DI among hybrids in the second evaluation. Multiple comparisons of the average ranges separated the hybrids into five groups, with DI extremes from one (11 hybrids) and between three and four (five hybrids that were the most susceptible); the rest formed intermediate groups. With the exception of the materials (PV-1 x IMC-11) x OC-61 and SJU-4 x (PV-1 x IMC-11), most of the hybrids that did not present damages tended to have a genotype of Amazonian origin. The results indicate a differential behavior of the evaluated hybrids to insect attack.

Key words: Resistance. Damage intensity. Susceptibility. Trinitario.

Introducción

La “gota” del cacao, *Steirastoma breve* (Sulzer, 1776) (Coleoptera: Cerambycidae) (Fig. 1D) es una de las principales plagas del cultivo en algunos países productores de este rubro. Su presencia ha sido señalada en el neotrópico desde Argentina hasta Venezuela en América del Sur, y en las islas Trinidad y Tobago, Grenada, Martinica, Puerto Rico, Jamaica y otros países (Entwistle 1972; Sánchez y Capriles de Reyes 1979). Las larvas y los adultos de este insecto, producen graves daños en tronco y ramas. Al emerger la larva se alimenta de la corteza y capas del cambium vascular. A medida que avanza este proceso, construyen galerías irregulares en espiral que pueden ocasionar el anillado de tallos y ramas, lesión que causa la muerte del área apical afectada o toda la planta según sea la edad y ubicación del daño (Entwistle 1972).

Por otro lado, existe poca información de evaluaciones de daño de este insecto en materiales de cacao provenientes de selecciones de este cultivo. La mayor parte de la información está referida a la resistencia de los materiales genotípicos de

cacao a los principales agentes causales de enfermedades, como *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, *Ceratocystis fimbriata* Ellis y Halsted, *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler (Desrosiers *et al.* 1955; Delgado y Echandí 1965; Capriles de Reyes *et al.* 1966; Capriles de Reyes y Reyes 1968; Esquivel 1973; Fonseca y Albuquerque 1996). Con relación a los insectos, se han registrado algunos clones de cacao con cierto grado de resistencia a *Conopomorpha cramerella* (Snellen, 1904) (Lepidoptera: Gracillariidae), *Glenea aluensis* Gahan, 1897 (Coleoptera: Cerambycidae) y *S. breve*, en Malasia, Guinea y Trinidad y Tobago, respectivamente (Azhar *et al.* 1995; Azhar 2001; Efron y Epaina 2003; Maharaj *et al.* 2004).

En 1997 el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estación Experimental del Estado Miranda, se insertó en el Proyecto Internacional “Utilización y Conservación del Germoplasma de Cacao: Un enfoque Global” (Eskes 1999) el cual se afianza en tres criterios fundamentales: (1) selección de materiales nacionales de buena productividad y calidad (sobresalientes índices de mazorca y de almendra), (2) introducción de materiales foráneos y (3) evaluación de los

¹ Investigador. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estación Experimental del Estado Miranda (INIA-Miranda), Caucagua, Edo. Miranda. Zona Postal 1246. Venezuela. fmorillo@inia.gob.ve.

² Investigador. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Estación Experimental del Estado Miranda (INIA-Miranda), Caucagua, Edo. Miranda. Zona Postal 1246. Venezuela.

materiales seleccionados e introducidos y los cruces entre ellos. La evaluación se basa en los aspectos agronómicos, fenotípicos y fitosanitarios. En este último aspecto se estudia el efecto de las principales enfermedades e insectos plaga del cacao en el país. El presente trabajo, tiene por objeto evaluar el comportamiento de 60 familias híbridas de cacao, generadas a partir de cruces entre materiales nacionales e introducidos al ataque de *S. breve* en su fase larval.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en el Campo Experimental Padrón, adscrito al INIA-Miranda, ubicado en el sector Tapipa, Municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela, área cacaotera de bosque húmedo tropical según las zonas de vida de Holdridge (1978), con coordenadas geográficas 10°13'36"N, 66°18'30"W y una altitud de 20 msnm. El ensayo se instaló en el año 2000. Para ello se utilizó un diseño en bloques al azar, con 60 familias híbridas como tratamientos, generadas a partir del cruce de 27 clones parentales: 15 materiales nacionales y 12 introducidos, entre criollos, trinitarios y forasteros (Tabla 1), con unidad experimental de seis plantas por híbrido, de tres a diez repeticiones, según la disponibilidad de material de siembra, y una distancia de siembra de 3 x 3 m. Se usó como sombra

permanente el bucare anauco (*Erythrina glauca* Willd.) (Leguminosae) a una distancia de 21 x 21 m, y como sombrío temporal el topocho pelipita (*Musa* sp. Grupo ABB subgrupo Topocho) (Musaceae) sembrado a una distancia de 3 x 3 m.

La primera evaluación se realizó en el año 2002 mediante el uso presencia ó ausencia de plantas dañadas por larvas del insecto. La segunda evaluación se realizó en el 2003 para 57 híbridos y se empleó la siguiente escala de intensidad de daño (ID):

1 = Planta aparentemente sana.

2 = Ligeramente dañada (primeros síntomas de daño larval con presencia de sustancia gelatinosa).

3 = Moderadamente dañada (presencia de larvas y perforaciones o galerías en la mitad del perímetro alrededor del tallo o parte afectada) (Fig. 1A).

4 = Altamente dañada (presencia de larvas y perforaciones o galerías en casi todo el perímetro alrededor del tallo o parte afectada) (Fig. 1B).

5 = Extremadamente dañada (parte afectada totalmente anillada, región apical de la parte afectada muerta) (Fig. 1C).

Todas las evaluaciones se realizaron entre los meses de junio y julio. Los análisis estadísticos se realizaron mediante la prueba binomial y la prueba de Kruskal-Wallis (Siegel y Castellan 2003), equivalente a un ANAVA en diseños comple-



Figura 1. Tipos de daño ocasionado por *S. breve*. (A, B, C) fase de larva e intensidad de daño nivel tres, cuatro y cinco, según escala propuesta en plantas de cacao. (D) insectos adultos de *S. breve*.

Tabla 1. Clones parentales de cacao utilizados en los cruces para la obtención de las progenies híbridas.

Comunes como Padres y Madres	Solo como Madre	Solo como Padres
CUMBO-177*	(OC-61 x PA-159)*	(IMC-67 x SC-10)*
(SCA-6 x SC-10)*	SC-9*	Playa Alta-1*
IMC-67	EEM-003*	Porcelana Verde*
(OC-77 x EET-400)*	Playa Alta-3*	Parinari-121
EEM-001*	EET-400	EET-332
La Concepción-164*	SUJ- 4*	EET-250
OC-61*	SUJ-7*	SC-10*
ICS-6	Pound-12	(PV-1 x SC-6)*
(PV-1 x IMC-11)*	–	Playa Alta-1 x SC-10*
SUJ-3*	–	–

* Son materiales nacionales; algunos son derivados de cruces entre clones realizados y evaluados hace varios años en Venezuela.

tamente aleatorizados pero cuando existe desigualdad en el número de repeticiones por tratamiento.

Resultados y Discusión

En total, 42 progenies híbridas presentaron daños de larvas de *S. breve*, mientras que 18 de ellas (30% de los híbridos) no presentaron daños, siendo estas diferencias significativas ($P < 0,0015$; prueba Binomial) entre presencia o ausencia de daño en las plantas híbridas de cacao. El mayor número de híbridos atacados mantuvo un rango de 0,1 a 14,9% (34 híbridos), los materiales más afectados oscilaron entre 15 y 29,9% (ocho híbridos; Fig. 2). Los híbridos más afectados fueron el SJU-3 x EEM-001, SJU-4 x OC-61, SJU-4 x EEM-001, EEM-001 x OC-61 y EEM-001 x ICS-6.

Se detectaron diferencias significativas entre los híbridos en la intensidad de daño ($H=113,6$; $P < 0,001$; Tabla 2). La comparación múltiple separa claramente cinco grandes grupos: extremos A y C con valores de mediana de 1 y $3 \leq x \leq 4$, respectivamente y tres grupos intermedios no diferenciados, con valores de mediana entre uno y tres, inclusive. Solo 11 materiales genéticos presentaron valores de tres a cuatro en intensidad de daño y cinco de ellos representa al grupo C, que son los híbridos más atractivos para el insecto estudiado (Fig. 3; Tabla 3).

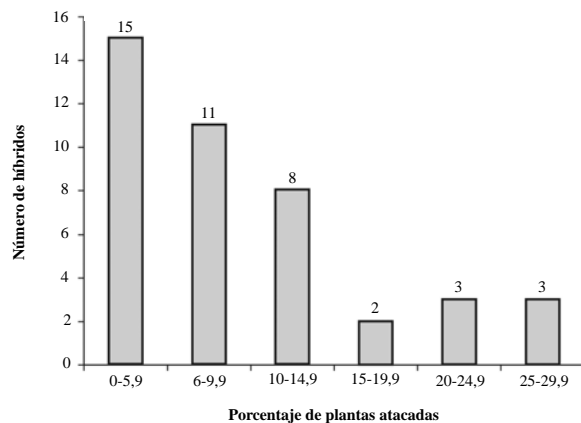


Figura 2. Porcentaje de plantas atacadas en la primera evaluación. Año 2002.

Al discernir el comportamiento de las progenies híbridas se observa una alta variabilidad que puede ser debida a la complejidad de los cruces (Tabla 3). Los materiales más susceptibles de hospedar larvas del insecto fueron los híbridos SJU-3 x EEM-001, SJU-4 x OC-61, SJU-7 x EET-332, (PV-1 x IMC-11) x EEM-001, (PV-1 x IMC-11) x OC-61 (todos con un componente de cacao tipo criollo en calidad de madre) con una ID de 3 (Tabla 3).

Sin embargo, de 11 progenies híbridas que no presentaron daños, seis provienen del cruce de cacao criollo puro con materiales conocidos como trinitarios o forasteros: SJU-3 x ICS-6, ICS-6 x SJU-3, SJU-4 x (PV-1 x IMC-11), SJU-3 x (OC-77 x EET-400), EET-400 x PORCELANA VERDE, La Concepción-164 x SJU-3. Los otros cinco materiales están relacionados con el cacao de origen amazónico. Al parecer la posible resistencia o tolerancia al insecto es independiente del origen del tipo de cacao parental que participa en los cruces.

Se ha registrado que la presencia de polifenoles y otras sustancias como el ácido clorogénico, actúan como el principal mecanismo de resistencia en plantas de cacao para ciertas enfermedades fúngicas (*C. fimbriata* y *C. pernicioso*), y que la concentración aumenta a medida que aumenta la resistencia de los diferentes clones a tales enfermedades (Capriles de Reyes *et al.* 1966; Capriles de Reyes y Reyes 1968). Efron y Epaina (2003) encontraron una respuesta diferencial de materiales genéticos de cacao al ataque del cerambícido *G. aluensis*, en clones provenientes de cruces entre plantas de origen Trinitario, por ejemplo, clones derivados del cruce de los clones K-20 y

Tabla 2. Comparación múltiple en la intensidad de daño de *S. breve* en híbridos de cacao.

Número de híbridos	Intensidad de daño (Mediana)	Comparación múltiple ^a (significancia)
11	1	A
8	1	AB
26	$1 \leq x < 2,5$	ABC
7	$2,5 < x < 3,5$	BC
5	$3 \leq x < 4$	C

^a Filas con la misma letra no presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$).

Tabla 3. Intensidad de daño (ID) causada por *S. breve* en las progenies híbridas de cruces entre 27 materiales genéticos de cacao.

Híbrido	ID ^a	CM ^b	Híbrido	ID ^a	CM ^b
(SCA-6 x SC-10) x EET-250	1,0	AB	(OC-61 x PA-159) x (SCA-6 x SC-10)	1,5	ABC
(OC-61 x PA-159) x (IMC-67 x SC-10)	1,0	ABC	SC-9 x (IMC-67 x SC-10)	1,5	ABC
(OC-77 x EET-400) x ICS-6	1,0	A	Cumbo-177 x (IMC-67 x SC-10)	1,5	ABC
Playa Alta-3 x (Playa Alta-1 x SC-10)	1,0	A	IMC-67 x SC-10	2,0	ABC
OC-61 x ICS-6	1,0	AB	EEM-001 x OC-77 x EET-400)	2,0	ABC
Cumbo-177 x (Playa Alta-1 x SC-10)	1,0	A	La Concepción-164 x (Playa Alta-1 x SC-10)	2,0	ABC
EEM-003 x Cumbo-177	1,0	A	EEM-003 x EEM-001	2,0	ABC
SC-9 x (Playa Alta-1 x SC-10)	1,0	ABC	OC-61 x (OC-77 x EET-400)	2,0	ABC
EEM-003 x OC-61	1,0	ABC	SJU-4 x EEM-001	2,0	ABC
La Concepción-164 x (PV-1 x IMC-11)	1,0	ABC	(OC-77 x EET-400) x SJU-3	2,0	ABC
SC-9 x (PV-1 x IMC-11)	1,0	A	EEM-001 x (PV-1 x IMC-11)	2,0	ABC
(PV-1 x IMC-11) x ICS-6	1,0	A	Pound-12 x Porcelana Verde	2,0	ABC
SJU-3 x (OC-77 x EET-400)	1,0	ABC	SJU-7 x Parinari-121	2,0	ABC
EEM-003 x (PV-1 x IMC-11)	1,0	ABC	SJU-3 x (PV-1 x IMC-11)	2,5	ABC
Cumbo-177 x (PV-1 x IMC-11)	1,0	ABC	(PV-1 x IMC-11) x SJU-3	2,5	ABC
La Concepción-164 x SJU-3	1,0	ABC	OC-61 x EEM-001	2,5	BC
(OC-77 x EET-400) x OC-61	1,0	ABC	(PV-1 x IMC-11) x EEM-001	3,0	C
Cumbo-177 x (OC-77 x EET-400)	1,0	A	SJU-3 x EEM-001	3,0	C
EEM-001 x EET-250	1,0	ABC	SJU-3 x OC-61	3,0	BC
EEM-003 x IMC-67	1,0	AB	SC-9 x SJU-3	3,0	BC
ICS-6 x EEM-001	1,0	AB	La Concepción-164 x (IMC-67 x SC-10)	3,0	BC
IMC-67 x OC-61	1,0	ABC	EEM-001 x ICS-6	3,0	BC
EEM-001 x Playa Alta-1	1,0	AB	EEM-001 x OC-61	3,0	BC
EEM-003 x La Concepción-164	1,0	A	EEM-003 x (SCA-6 x SC-10)	3,5	BC
Playa Alta-3 x (PV-1 x IMC-11)	1,0	AB	(PV-1 x IMC-11) x OC-61	3,5	C
SJU-4 x (PV-1 x IMC-11)	1,0	A	SJU-4 x OC-61	3,5	C
EEM-003 x (PV-1 x SCA-6)	1,0	A	SJU-7 x EET-332	4,0	C
ICS-6 x SJU-3	1,0	AB	Playa Alta-1 x (IMC-67 x SC-10)	NI	-
SJU-3 x ICS-6	1,0	AB	EEM-003 x EET-250	NI	-
EET-400 x Porcelana Verde	1,0	A	EEM-003 x Porcelana Verde	NI	-

^a Valores de intensidad de daño (ID) referidos a la mediana en cada familia híbrida.

^b CM: Comparación múltiple. Letras distintas indican diferencias significativas. (P < 0,05). NI: No Incluido en la evaluación.

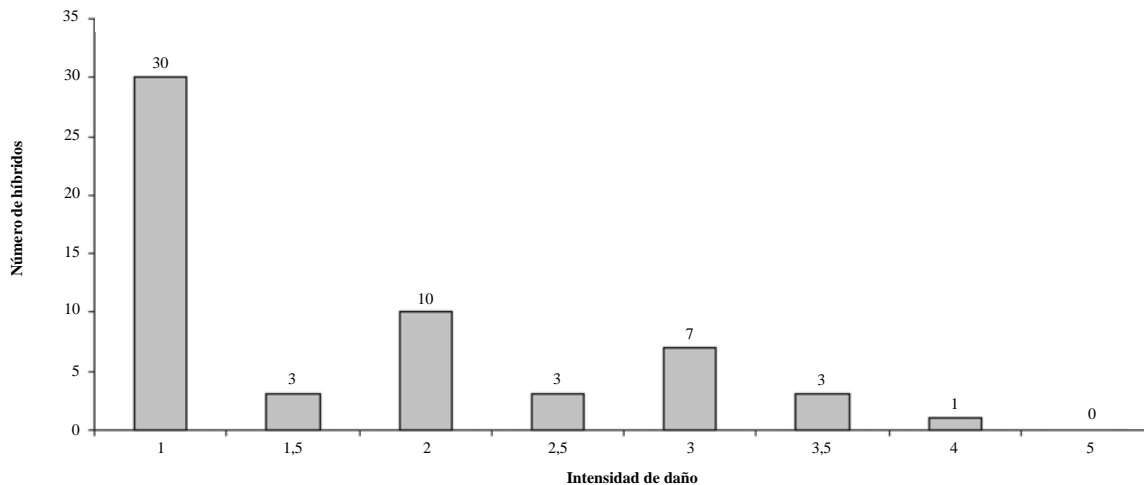


Figura 3. Frecuencias de la intensidad de daño de *S. breve* en híbridos de cacao. Valores relativos a la mediana. Año 2003.

KA2-101, muestran el más bajo promedio de daño (6,0) mientras que el más alto promedio de daño (31,8) fue obtenido en clones provenientes del cruce entre los Trinitarios KT-140 x KA5-201. Similares resultados reportan en Trinidad y Tobago con el insecto *S. breve* (Maharaj *et al.* 2004), donde ciertos clones locales como TSH-1102, 1188 y 1364 son los más susceptibles, mientras que los clones TSH-730, 1077, 1313, 1344, 1350 y 1362 son resistentes. Es probable que el mecanismo de resistencia o tolerancia de las progenies de cacao en el presente estudio se encuentre bajo control genético, asociado a sustancias o metabolitos producto de la defensa química de las plantas. Es necesario profundizar los estudios y evaluar las sustancias químicas y derivados presentes en las familias híbridas del bioensayo, según los parentales involucrados en los cruces, de tal manera que se pueda dilucidar porqué unos híbridos expresan comportamiento de resistencia y otros parecerían ser más susceptibles al insecto, aún con parentales de un mismo origen o tipo genético.

Los resultados indican que existe un comportamiento diferencial de los híbridos que al parecer es independiente del origen genético de los padres. El carácter criollo, trinitario o forastero en determinados cruces, aumenta considerablemente la preferencia de *S. breve* por hospederos que favorecen la oviposición, el desarrollo y el crecimiento de la fase larval del insecto.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su más sincero agradecimiento a las instituciones CFC/ICCO/IPGRI (ahora BIOVERSITY) por el financiamiento de la presente investigación a través del Proyecto "Cocoa germoplasm utilization and conservation: a global approach". También desean agradecer a Bertus Eskes (CIRAD), Ventura González (INIA) por el minucioso trabajo de revisión del manuscrito y Carlos Marín (INIA) por la revisión de los análisis estadísticos.

Literatura citada

AZHAR, I. 2001. Measuring ovipositional preference of the cocoa pod borer, *Conopomorpha cramerella* (Lepidoptera: Gracillariidae) to various cocoa clones, pp. 57-59. En: Proceedings. Incoped 3rd International Seminar 16-17 October 2000. Kota Kinabalu Sabah, Malaysia.

- AZHAR, I.; LONG, G. E.; MUSA, M. J. 1995. Qualitative and multivariate analyses of clonal cocoa resistance to cocoa pod borer (Lepidoptera: Gracillariidae). *Planter* 71 (832): 307-321.
- CAPRILES DE REYES, L.; SHULTZ, E.; MUÑOZ, A. 1966. El contenido de ácido clorogénico en diferentes variedades de cacao y su relación con la resistencia contra el hongo *Ceratocystis fimbriata*. *Agronomía Tropical* 16 (4): 273-284.
- CAPRILES DE REYES, L.; REYES H. 1968. Contenido de polifenoles en dos variedades de *Theobroma cacao* L., y su relación con la resistencia a *Ceratocystis fimbriata*. *Agronomía Tropical* 18 (3): 339-355.
- DELGADO, J. C.; ECHANDI, E. 1965. Evaluación de la resistencia de especies y clones de cacao al mal de machete provocado por *Ceratocystis fimbriata*. *Turrialba* 15: 286-89.
- DESROSIERS, R.; BOLANOS, W. C.; VARGAS, J. 1955. Evaluación de clones de cacao en relación con su resistencia a la escoba de bruja (*Marasmius perniciosus* Stahel). *Turrialba* 5: 78-82.
- EFRON, Y.; EPAINA, P. 2003. Differential responses of Trinitario cacao clones to attack by the trunk longicorn, *Glenea aluensis*. *Ingenic Newsletter* 8: 18-22.
- ENTWISTLE, P. 1972. *Pest of cocoa*. Longman, London. 779 p.
- ESKES, A. B. 1999. *Advanced Draft. Working Procedures and Recording Sheets for the CFC/ICCO/IPGRI Project*. CFC/ICCO/IPGRI Cocoa Project. 279 p.
- ESQUIVEL, O. 1973. *Estudios sobre la reacción de resistencia de algunos cultivares de cacao (Theobroma cacao L.) a la pudrición de frutos causada por Phytophthora palmivora (Butl.) Butl.* MSc. Thesis, IICA, Turrialba, Costa Rica. 83 p.
- FONSECA, S. E. A.; ALBUQUERQUE, P. S. B. de. 1996. Avaliação de clones de cacau na Amazonia Brasileira em relação a incidência de vassoura-de bruxa, pp. 28-32. In: *Proceedings of the 12th International Cocoa Research Conference, Salvador, Brazil, 1996*. Cocoa Producers' Alliance.
- HOLDRIDGE, L. 1978. *Ecología basada en zonas de vida*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Costa Rica. 216 p.
- MAHARAJ, K.; CUMBERBATCH, A.; RAMNATH, D. 2004. Final report (1998-2003). MALMR, Trinidad and Tobago, pp. 1-29. En: IPGRI (eds). *CFC/ICCO/IPGRI Project on cocoa germoplasm utilization and conservation: a global approach*. Final Individual Institute Reports April 1998- September 2003. Volume I. America and the Caribbean. 279 p.
- SÁNCHEZ, P.; CAPRILES DE REYES, L. 1979. *Insectos asociados al cultivo del cacao en Venezuela*. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Maracay, Venezuela. *Boletín Técnico* 11. 56 p.
- SIEGEL, S.; CASTELLAN, N. J. 2003. *Estadística no paramétrica, aplicada a las ciencias de la conducta*. Editorial Trillas. 3^{ra} reimpresión. México. 437 p.

Recibido: 30-ago-2008 • Aceptado: 12-sep-2008

Herbivoría de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) sobre tres sustratos vegetales

Herbivory of *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) on three plant substrates

JHONATTAN RODRÍGUEZ G.¹, ZORAIDA CALLED.² y JAMES MONTOYA-LERMA³

Resumen: Un estudio reciente sugiere una significativa reducción de la herbivoría de la hormiga arriera, *Atta cephalotes*, en plantaciones de arboloco (*Montanoa quadrangularis* (Asteraceae)) asociadas y abonadas con follaje verde de botón de oro (*Tithonia diversifolia* (Asteraceae)). Estas observaciones plantean un efecto disuasivo de esta planta sobre el forrajeo de las hormigas. Con el fin de poner a prueba dicha hipótesis, bajo condiciones de laboratorio, a siete colonias experimentales de *A. cephalotes* se les ofrecieron tres dietas vegetales con opción de selección (i.e.: follaje de mango *Mangifera indica* (Anacardiaceae), camarón *Pachystachys lutea* (Anacardiaceae) y botón de oro (Asteraceae) durante tres periodos de 21 días. Se estimó el consumo midiendo y pesando el follaje antes de ser depositado en cada colonia. En el primer ensayo, se observó una preferencia significativa ($P < 0,05$) por el mango, mientras que el consumo de *T. diversifolia* fue irregular después del primer día de experimentación y presentó el más bajo porcentaje. En los dos siguientes ensayos no se encontraron diferencias entre los consumos porcentuales de las dietas ($P > 0,05$), aunque el follaje de mango fue el primero en ser consumido por las hormigas. Los resultados permiten concluir que bajo condiciones de laboratorio *A. cephalotes* presenta mayor preferencia por el follaje de mango pero que, cuando la disponibilidad de este recurso es mínima, forrajea en forma oportunista sobre otros recursos como *T. diversifolia*, así éstos no sean de su preferencia. Este estudio provee más elementos que evidencian que esta planta es poco atractiva para la hormiga arriera.

Palabras clave: *Tithonia diversifolia*. Preferencia de forrajeo. Oportunismo. *Mangifera indica*.

Abstract: A recent study suggests a significant reduction of herbivory by the leaf cutting ant, *Atta cephalotes*, in plantations of the pioneer tree (*Montanoa quadrangularis* (Asteraceae)) when associated and fertilized with green foliage of the Mexican sunflower (*Tithonia diversifolia* (Asteraceae)). These observations suggest a dissuasive effect of this plant on foraging by the ants. In order to test this hypothesis, under laboratory conditions seven experimental colonies of *A. cephalotes* were offered three plant diets to choose among (i.e.: foliage of mango, *Mangifera indica* (Anacardiaceae), yellow candle *Pachystachys lutea* (Nees) (Anacardiaceae) and *T. diversifolia* (Asteraceae) during three periods of 21 days. Consumption was estimated by measuring and weighing the foliage before and after being deposited into each colony. In the first assay, there was a significant ($P < 0.05$) preference for mango while the consumption of *T. diversifolia* was irregular after the first day of experimentation and had the lowest percentage. In the two following studies no significant differences ($P > 0.5$) were observed in the percent consumption of the diets, although mango foliage was the first to be consumed by the ants. The results allow us to conclude that under the experimental conditions, *A. cephalotes* has a greater preference for mango foliage, but when the availability of this resource is minimal, they forage in an opportunistic way on other resources such as *T. diversifolia*, even if these are not preferred. The study provides more evidence that this plant is not attractive to leaf-cutting ants.

Key words: *Tithonia diversifolia*. Foraging preference. Opportunism. *Mangifera indica*.

Introducción

Con el nombre genérico de hormigas cortadoras de hojas, se denominan las especies de los géneros *Acromyrmex* y *Atta* (Formicidae: Attini), consideradas como los herbívoros más comunes y polípagos del Neotrópico (Della Lucia 2003; Hölldobler y Wilson 1990; Howard 1987) y percibidas como una de las plagas más limitantes para la producción agrícola y forestal en Suramérica (Lapointe *et al.* 1990; Fernández y Jaffé 1995; López y Orduz 2004).

En Colombia, de un total de once especies de hormigas cortadoras de hojas, cuatro corresponden al género *Atta*, i.e.: *A. cephalotes* (Linnaeus, 1758), *A. colombica* (Guérin-Méneville, 1844), *A. laevigata* (F. Smith, 1858) y *A. sexdens* (Linnaeus, 1758) (Mackay y Mackay 1986), siendo la primera especie, denominada vulgarmente como hormiga arriera, la más abundante en el país. En áreas agrícolas, forestales y urbanas esta hormiga influye en diferentes aspectos de la ecología

de las plantas, pudiendo alterar desde la cantidad de luz disponible (Barone y Coley 2002) hasta el reciclaje de nutrientes (Farji-Brener 1992; Barone y Coley 2002) y, eventualmente, alcanzar el nivel de plaga ocasionando pérdidas económicas no cuantificadas (Gómez 2001). De manera similar, en Venezuela, *Atta* spp. y *Acromyrmex* spp. son serios limitantes al establecimiento y desarrollo de plantaciones comerciales de *Pinus caribaea* Morelet. Se ha establecido que en poblaciones mayores a los 30 nidos de *Atta* por hectárea, en plantaciones de menos de 10 años de edad, el volumen de producción de madera puede reducirse en más del 50 % (Fernández y Jaffé 1995).

Atta y *Acromyrmex* poseen el hábito de cortar y transportar diversos fragmentos vegetales a sus nidos subterráneos para el cultivo del hongo *Leucoagaricus* sp. (Valmir *et al.* 2004), con el cual han establecido una relación simbiótica caracterizada por una completa dependencia mutua (Currie *et al.* 1999; Forti *et al.* 2000). Este hongo es utilizado para alimentación

¹ Biólogo, B.Sc. Departamento de Biología, Universidad del Valle, A. A. 25360 Cali-Colombia. dedosnocallados@gmail.com

² Bióloga, M.Sc. Fundación CIPAV, A. A. 20591 Cali- Colombia. zoraida@cipav.org.co.

³ Biólogo, Ph.D. Grupo de Investigaciones Entomológicas, Departamento de Biología, Universidad del Valle, A. A. 25360 Cali-Colombia. jamesmon@univalle.edu.co. Autor para correspondencia.

directa de sus colonias, conformadas por varias castas (Posada-Flórez 1997). Debido a que el hongo simbiote es la única fuente de alimento de las larvas de hormigas cortadoras, éstas deben cultivarlo con hojas que posean características que permitan su adecuado crecimiento, por lo que escogen follaje rico en agua, nitrógeno y fósforo pero bajo en fibra (Berish 1986; Barone y Coley 2002) y manganeso ya que este elemento interfiere con la actividad metabólica del hongo simbiote (Berish 1986).

Se conoce que las plantas poseen ciertas defensas contra el ataque de los herbívoros. Estas pueden ser físicas (presencia de tricomas, dureza de las hojas); fisiológicas (calidad nutritiva variable para cada hoja, expansión foliar rápida, verdecer tardío) o químicas, las cuales pueden ser constituidas o inducidas (mediante presión de herbivoría) pero que en todo caso pueden resultar tóxicas para los insectos o hacer a las plantas menos digeribles para al herbívoro a través de la producción de metabolitos secundarios (Barone y Coley 2002) tipo terpenoides (Viegas 2003), derivados fenólicos, taninos, cumarinas, alcaloides y flavonoides. Muchas especies de Asteraceae, entre ellas el botón de oro (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray, 1881), producen flavonoides (La Duke 1982) y lactonas sesquiterpénicas (De Simoni 2004) (metabolitos secundarios incoloros, amargos y relativamente estables) sustancias con efecto alelopático sobre otras plantas (Taiwo y Makinde 2005).

Recientemente, Giraldo (2005) encontró que árboles de arboloco (*Montanoa quadrangularis* Sch. Bip. 1864) plantados entre pastos exóticos eran significativamente más propensas o susceptibles al ataque de hormiga arriera que aquellas intercaladas y abonadas con botón de oro. Este fenómeno fue explicado en términos de la posibilidad de rechazo de las hormigas al botón de oro como planta para el forrajeo, ya sea por las características químicas de la planta que la hacen poco apetecible o porque las hojas de la planta causen un efecto antimicótico. Con el ánimo de dar respuesta a esta inquietud, se compararon las preferencias alimenticias de la hormiga arriera *A. cephalotes*, mediante la cuantificación del forrajeo sobre tres dietas vegetales, siendo una de ellas el botón de oro; a su vez, se estimaron los cambios en el tiempo de los patrones de consumo, de la hormiga, sobre recursos vegetales no óptimos para sus colonias. Como hipótesis de trabajo se planteó que la presencia del botón de oro como recurso alimenticio influye sobre el grado de herbivoría de la hormiga arriera.

Materiales y Métodos

Sitio de estudio. Todos los ensayos se desarrollaron entre octubre de 2005 y abril de 2006 en la Estación Experimental del Departamento de Biología de la Universidad del Valle, situada en Cali (3°27'26"N, 76°31'42"W), a 1.070 msnm, con temperatura y humedad relativa promedios de 24,3°C y 75%, respectivamente.

Colonias. Siete núcleos (reinas de hormiga arriera con nidos incipientes) se obtuvieron en inmediaciones de la Plaza de Toros de Cali y se transportaron a la Estación Experimental, donde se adecuaron para construir colonias independientes, cada una constituida por una caja plástica rectangular y transparente, en la cual se estableció la cámara de cultivo y cuatro cajas de menor tamaño, transparentes, conectadas mediante mangueras de polivinilo a cada lado. Una vez las hormigas "escogieron" una de estas cajas menores como basurero, las

tres restantes se emplearon posteriormente como puntos de forrajeo en los ensayos de preferencia. Cada caja central se cubrió con cartón con el fin de brindar oscuridad al cultivo del hongo, simulando las condiciones naturales (Fig. 1) y el conjunto se dispuso sobre dos mesas rectangulares.

Ensayos de preferencia. Los nidos se numeraron de uno a siete y se colocaron en las mesas en orden numérico con orientación norte-sur. Por un lapso de cuatro meses, a intervalos de 21 días, se les ofreció a las colonias la posibilidad de escoger entre raciones vegetales de hojas de mango (*Mangifera indica* Linnaeus), camarón (*Pachystachys lutea* Nees) y botón de oro (*Tithonia diversifolia*). Estas raciones se depositaron en las cajas de forrajeo asignadas.

El alimento se obtuvo en las inmediaciones de la Estación Experimental del Departamento de Biología de la Universidad del Valle, sin tratamientos químicos ni abonos. Las hojas cortadas manualmente se lavaron, secaron, midieron y pesaron antes de ser ofrecidas a las colonias. Después de 24 horas, el material se midió para estimar el área foliar forrajada. A su vez, se realizaron observaciones de comportamiento de las hormigas frente a las dietas ofrecidas y el crecimiento del hongo simbiote dentro de la cámara de cultivo. Para este objetivo, las cámaras centrales, donde se encontraba el cultivo del hongo se pusieron sobre papel milimetrado para estimar sus dimensiones antes y al finalizar los ensayos. La altura, ancho y largo de los extremos del hongo, se midieron con un calibrador pie de rey.

Después de depositar las raciones de las tres plantas en el interior de las cajas se realizaron durante una hora diaria observaciones de la conducta de las hormigas frente a la dieta, teniendo en cuenta cuál planta era forrajada primero y si las hojas eran aprovechadas en su totalidad o si algunos fragmentos eran desechados. Para evitar potenciales sesgos relacionados con el sitio, los nidos se rotaron, en el sentido de las manecillas del reloj, un cuarto de giro y se trasladaron, pasando el último del lado derecho a ser el primero en lado izquierdo, cada tres días. Antes del inicio de los ensayos y, por cuatro meses, las colonias se alimentaron con lo que se denominó una dieta neutra (avena, miel y agua), con el fin de no inducir preferencias de los nidos por alguna de las dietas en ensayo.

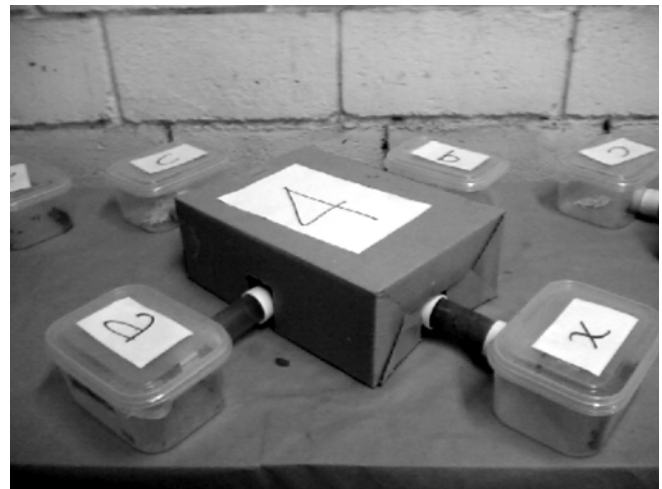


Figura 1. Nido artificial de hormiga arriera *A. cephalotes* preparado para un ensayo. Las cajas satélites (áreas de forrajeo a, b y c, y el basurero x) se conectan al núcleo formado por la caja central (4).

Al finalizar cada ensayo, 21 días, se retomó la dieta neutra por espacio de 25 días. Los datos se compararon con la tasa de herbivoría sobre botón de oro teniendo en cuenta el material desechado por cada colonia.

Análisis estadístico. Las hojas se pesaron en una balanza electrónica. El área foliar forrajada se estimó con ayuda de unas plantillas, similares a las descritas por Giraldo (2005), elaboradas con papel milimetrado, acetatos y marcador de tinta indeleble. Sobre el acetato (previamente cuadrículado) se calcularon tres hojas de cada planta, de diferentes tamaños, representativas del material suministrado a las colonias. El área de las hojas se estimó contando la cantidad de cuadros incluidos dentro del calcado en el acetato, equivalentes a 1cm^2 . Debido a la irregularidad que presentan las hojas de botón de oro, éstas no se midieron con plantillas sino que se calcularon individualmente y midieron sobre papel milimetrado. Se calcularon los porcentajes de herbivoría parcial y total y los promedios para cada una de las dietas y se compararon mediante una ANOVA de medidas repetidas y pruebas de PostANOVA de Tukey HSD, usando el programa STATISCA 6 (StatSoft 2001).

Resultados

Ensayos. Aunque no cuantificado, se observó durante los ensayos que las hormigas iniciaron tareas de reconocimiento y limpieza independiente del tipo de dieta ofrecida. En contraste, las actividades de corte y transporte de fragmentos al interior de la cámara de cultivo se realizaron aparentemente siguiendo un orden de prioridad: primero el follaje de mango, seguido por el de camarón y, en última instancia, el de botón de oro. En el ensayo dos, en todos los nidos se observó que las tareas de limpieza, reconocimiento y corte de las hojas, se realizaron más rápido que en el Ensayo 1. En éste, las obreras forrajeras iniciaron el corte del follaje de mango y camarón simultáneamente, mientras que el sobre el follaje de botón de oro se inició poco después. En este mismo, los porcentajes de herbivoría total sobre mango y camarón fueron altos, contrastando con aquellos registrados sobre el botón de oro (Fig. 2). Hubo marcada preferencia de las hormigas por el follaje de mango ($F_{40,1080} = 3.3366$, $P < 0,000001$) siendo su comportamiento de forrajeo continuo y su tasa herbivoría por encima

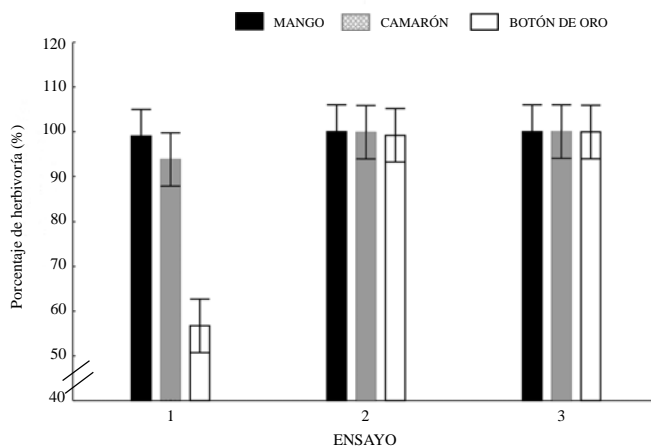


Figura 2. Porcentaje de herbivoría de *A. cephalotes* en tres dietas vegetales ($F_{2,54} = 19,501$, $P < 0,000001$). Las barras muestran un intervalo de confianza del 95%.

del 90%. Un patrón similar pero con una tasa de herbivoría ligeramente inferior se obtuvo con el camarón. En contraste, el comportamiento de forrajeo exhibido para la dieta del botón de oro fue bastante irregular, con altibajos a lo largo de los días y tendencia a la disminución en la tasa de herbivoría; solo al final del ensayo se observó un aumento en el forrajeo sobre esta planta (Fig. 3).

Al estudiar las colonias, por separado y por ensayo, se observa como *A. cephalotes* presenta cambios temporales en sus preferencias forrajeras. En el primer día del ensayo uno, con excepción de la colonia número 1, forrajearon más del 80% de la hoja de botón de oro, pero su consumo no se mantuvo y, por el contrario, se presentó un comportamiento irregular a lo largo de los siguientes días (Fig. 4A), alcanzando valores de cero. Caso contrario sucedió con las hojas de mango, cuyo porcentaje de consumo no fue inferior al 70% y después del sexto día de experimentación se mantuvo en el 100%. Los porcentajes de consumo para el camarón durante este ensayo fueron similares a aquellos del mango. Su consumo fue continuo y no inferior al 85% en promedio.

En contraste a los resultados del ensayo uno, el consumo promedio de botón de oro se aproximó al 100%, en el ensayo dos. Sólo el nido tres presentó un valor promedio ligeramente inferior, de 94,4%. Cabe anotar que, por cuatro días, sin explicación aparente, las obreras del nido tres no forrajearon en botón de oro, dejando hasta el 54% del tejido foliar intacto (Figura 4B). Finalmente, en el ensayo tres, el consumo de botón de oro no presentó diferencia con respecto al promedio en todos los nidos. Durante este periodo el porcentaje de consumo de botón de oro, mango y camarón fue del 100% en todas las colonias, a excepción de la cinco. Al quinto y sexto día de iniciado el ensayo, las obreras de esta colonia forrajearon, respectivamente, el 96 y 94% de las hojas de botón de oro (Fig. 4C). No se presentaron diferencias significativas entre las colonias ($F = 0,785$, g.l. = 120, $P = 0,95$), comportándose como repeticiones dentro de los ensayos. Aparentemente, el rango de tamaño de las colonias no influyó sobre la herbivoría de las dietas ofrecidas. Sin embargo, los efectos de los ensayos ($F = 3,370$, g.l. = 378, $P = 0,0001$) y las dietas vegetales ($F = 2,446$, g.l. = 290, $P = 0,0001$) sobre el porcentaje de herbivoría fueron altamente significativos.

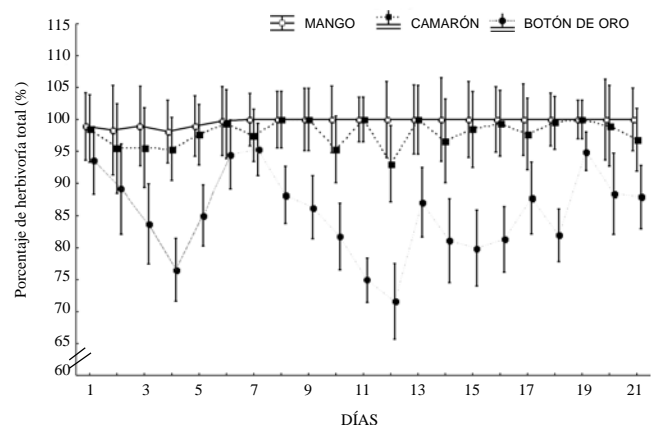


Figura 3. Variación diaria en el consumo promedio de tres dietas vegetales a lo largo de los tres ensayos. Las barras indican un intervalo de confianza del 95%.

Los ensayos dos y tres no presentaron diferencias significativas entre ellos ($P = 0,99$), pero sí con respecto al ensayo uno ($P = 0,0001$). Las dietas causaron un efecto en la experimentación, siendo el botón de oro la dieta responsable de estas diferencias ($P < 0,001$), esta situación posiblemente como consecuencia de los bajos porcentajes de herbivoría sobre el botón de oro durante el primer ensayo.

Hongo simbiote. En todas las colonias el hongo simbiote presentó crecimiento, principalmente en altura, durante el primer ensayo del experimento. En las colonias donde existían varios fragmentos de hongo simbiote, las hormigas los unieron, construyendo así un cultivo grande donde ubicaron a la reina. Es interesante anotar que el alto porcentaje de crecimiento del hongo simbiote para esta fase coincidió con una baja tasa de herbivoría o baja preferencia sobre el botón de oro (Tabla 1) o en algunos casos (colonia seis y siete) un alto consumo de esta planta condujo a una relativa disminución en el crecimiento del hongo.

En el ensayo uno se observó a las hormigas obreras de todas las colonias transportar fragmentos, aún verdes, de botón de oro a la cámara de desechos sin detenerse en la cámara de cultivo del hongo simbiote, lo cual sugiere que este material no es el más apropiado como sustrato para el cultivo del hongo. Dicho comportamiento no se observó en ninguno de los ensayos siguientes. Cabe anotar que en varias ocasiones, después de 24 horas de haber sido colocada la ración de follaje correspondiente, se observaron fragmentos de hojas de camarón y botón de oro dentro de la cámara central de las colonias, pero no fragmentos de hojas de mango.

La colonia dos presentó un porcentaje elevado de herbivoría sobre botón de oro, muy similar a las colonias de mayor tamaño. A lo largo del primer ensayo las hormigas de esta colonia depositaron cortes de follaje de botón de oro en la caja de desechos. También en la cámara de cultivo se observó que los fragmentos de botón de oro fueron acumulados en una de las esquinas de la caja y sin ser aprovechados para el cultivo como ocurrió con los cortes de mango y camarón. Estas observaciones indican que las hormigas forrajearon el botón de oro, mas no utilizaron la totalidad del material recolectado, como sucedió regularmente con el mango.

Las colonias seis y siete presentaron los más bajos porcentajes de crecimiento, coincidentes con altas tasas de consumo de botón de oro (Tabla 1). En este caso no se observaron con frecuencia cortes de hojas de esta planta al interior de la cámara de cultivo, como tampoco en la cámara de desechos de los nidos, lo que permite deducir que estas colonias utilizaron en mayor proporción el follaje de botón de oro para cultivar el hongo simbiote. Éste, presentó un crecimiento leve durante los ensayos dos y tres, en todas las colonias y no comparable con el alcanzado en el Ensayo 1. Aún así, al finalizar este estudio se observó que el hongo abarcaba gran parte de las cámaras de las colonias, formando un solo bloque.

Discusión

En términos generales, nuestros resultados dan soporte a observaciones e hipótesis previas. En primera instancia sobre los grados de preferencia y selección del recurso por parte de las hormigas cortadoras de hojas y, en segundo lugar, a la capacidad intrínseca de esta especie para responder ante presiones selectivas. Ambos aspectos ameritan ser analizados a la luz de investigaciones previas.

La marcada preferencia de la forrajeras por las hojas de mango reitera lo expresado por Cherrett (1972) y Howard (1987, 1988) y comprobado por Knapp *et al.* (1990), Franzel y Farji-Brener (2000), Leal y Oliveira (2000), que estas hormigas exhiben un marcado patrón de preferencia por algunas plantas y tejidos vegetales, el cual es independiente de la abundancia y distancia con respecto del nido de éstas (Rockwood 1976). Éste está condicionado, en gran medida, por el estado fisiológico (dureza) de la planta (Cherrett y Seaforth 1970; Howard 1988; Barone y Coley 2002). No obstante, dado que el consumo de botón de oro a lo largo del estudio fue menor que el de las otras dos dietas ($P < 0,0001$, Prueba de Tukey) y que a su vez, se presentó una disminución en el desarrollo del hongo simbiote, hay indicios que la preferencia también está mediada por otros factores como por ejemplo los metabolitos secundarios en el follaje de esta planta (La Duke 1982; De Simoni 2004; Taiwo y Makinde 2005) los cuales, muy probablemente, influyeron sobre las decisiones de forrajeo de *A. cephalotes*. En un estudio de campo, Giraldo (2005) observó que colonias de esta hormiga no cosechaban botón de oro, a pesar de ser éste un recurso abundante en su área de forrajeo, y que presentaron preferencia por el follaje de arboloco (*M. quadrangularis*) siempre y cuando los árboles no hubieran sido fertilizados con biomasa de botón de oro.

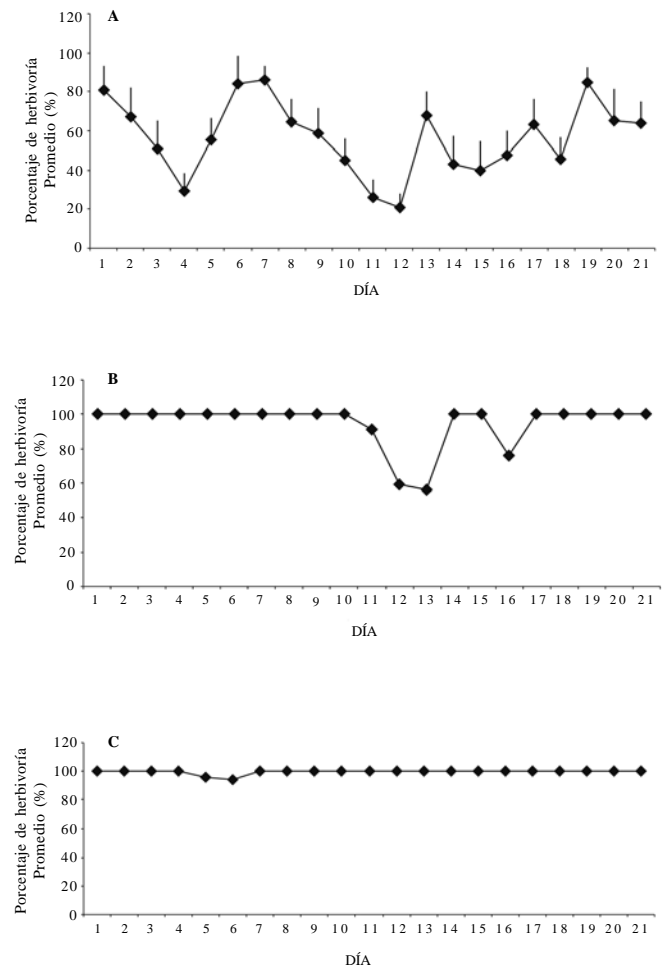


Figura 4. Variación diaria en el consumo promedio (%) de botón de oro durante el ensayo uno (A), en el nido tres durante el ensayo dos (B) y en el nido cinco durante el ensayo tres (C).

Tabla 1. Incremento aproximado del volumen ocupado por el hongo simbionte dentro de la cámara de cultivo con respecto a su fase inicial.

	Nido 1	Nido 2	Nido 3	Nido 4	Nido 5	Nido 6	Nido 7
Ensayo 1	2,37	2,55	2,68	2,19	2,22	2,02	2
Ensayo 2	1,76	1,36	1,17	1,03	1,4	1,14	1,18
Ensayo 3	1,24	1,40	1,08	1,04	1,3	1,21	1,01

Franzel y Farji-Brener (2000) sugieren que el aprovechamiento de las plantas por parte de las hormigas al momento de forrajear se debe a una jerarquización de las especies en función de su abundancia relativa, o a que las hormigas presentan preferencias, forrajeando más sobre especies que consideran de mayor calidad, como ha sido sugerido en otros estudios (Berish 1986; Howard 1987, 1988). Los resultados de este estudio indican que la hormiga *A. cephalotes* presenta una combinación de estrategias, forrajeando de manera preferencial sobre el mango pero aprovechando el follaje de botón en reacción a una baja oferta de la especie preferida.

Observaciones realizadas por Knapp *et al.* (1990) de colonias experimentales de *Acromyrmex octospinosus* (Reich), donde partes de algunas plantas ofrecidas como recurso forrajero sólo fueron cortadas, pero no introducidas al nido, apoyan la afirmación de que las hormigas pueden diferenciar sustancias químicas al palpar las hojas o lamer los bordes de los cortes (Forti *et al.* 2000) y que distinguen sustancias tóxicas que impiden que éstos sean acarreados al interior del nido (Escobar *et al.* 2002). Esto sucede después de que las colonias han detectado que este material está causando daño al interior del nido (Escobar *et al.* 2002).

Aunque la literatura en el tema es profusa es posible destacar los resultados obtenidos por Serna y Correa (2003) con extractos hexánicos y diclorometano de hojas de tomate, *Lycopersicon esculentum* (Mill., 1768) (Solanaceae) las cuales presentaron alta actividad fagoinhibidora en concentraciones relativamente bajas (33 y 44 ppm) al impregnar hojas de *Acalipha wilkesiana* (Muell.-Arg.) (Euphorbiaceae), utilizadas como dieta en colonias experimentales de *A. cephalotes*. En el caso de especies de la familia Asteraceae, que incluye al botón de oro, existen varias que presentan lactonas sesquiterpénicas, sustancias biológicamente activas con efectos cardiotónicos, neurotóxicos y citotóxicos sobre células de diferentes vertebrados (Popich *et al.* 2005) e invertebrados. Por ejemplo, las lactonas sesquiterpénicas de *Cyrtocymura cincta* (Griseb.) H. Robinson 1987 en una concentración de 600 ppm ocasionaron una mortalidad de 100% sobre larvas de *Spodoptera latifascia* (Walker 1856). Con una concentración de 300 ppm se registró una prolongación del tiempo de desarrollo de los estados larvales, disminución hasta 40% de la oviposición y una pérdida completa de viabilidad de los huevos (Popich *et al.* 2005). El glaucolideo-A es una lactona sesquiterpénica presente en plantas del género *Vernonia* que inhibe el apetito de las larvas de lepidópteros (Viegas 2003).

Otros triterpenoides presentes en *Junellia aspera* (Gillies & Hook) 1940 (Verbenaceae) resultan altamente tóxicos para el gorgojo *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797), mientras que el ácido maslínico incrementa la duración de su estadio pupal (Pungitore *et al.* 2005). Los sesquiterpenos aislados de partes aéreas de *Tessaria absinthioides* (Hook. & Arn.) DC. 1836 (Asteraceae) pueden afectar el sistema endocrino de *T.*

castaneum, al causar alteraciones en los estadios larvales, un incremento en la duración del estadio pupal, alteraciones morfológicas y muerte por inanición después de largos periodos de exposición (García *et al.* 2003).

Un aspecto importante de resaltar fue el consumo irregular de botón de oro y su aumento en el segundo y tercer ensayos sin el evidente desarrollo del hongo simbionte. Según Levin (1976), los organismos generalistas, como las hormigas arrieras, pueden aumentar su tolerancia a productos secundarios como consecuencia de haber sido forzados a consumirlos cuando la vegetación es pobre en especies. Por lo tanto, es posible que ésta sea la respuesta a un proceso de inducción y asimilación metabólica a la planta por las colonias, iniciado en el primer ensayo. A este nivel cabe agregar que en las hormigas cortadoras de hojas, los mecanismos de detoxificación parecen estar ubicados en el hongo simbionte, a través de un sistema enzimático inducible, capaz de inactivar compuestos extraños provenientes de las plantas usadas como forraje (Levin 1976). Por su parte, Cedeño-León (1984) afirma que la interacción entre la hormiga y el hongo depende mucho de la habilidad de la primera para seleccionar materiales vegetales que no sobrepasen la capacidad de detoxificación del hongo.

El desechar los cortes de botón de oro, durante el Ensayo 1, revela la no preferencia de las hormigas por el follaje ofrecido, coincidiendo con lo observado por Knapp *et al.* (1990) donde hormigas *A. octospinosus* realizaron las tareas de reconocimiento y limpieza del material vegetal ofrecido, mas no lo cortaron y en los pocos casos en que lo hicieron, los fragmentos fueron transportados al basurero. Asumiendo que *T. diversifolia* produce metabolitos secundarios, esta actividad puede darse también como respuesta a un posible efecto antimicótico, generado por las lactonas sesquiterpenoides presentes en esta planta (De Simoni 2004; Taiwo y Makinde 2005; Obafemi *et al.* 2006) o al sabor amargo de algunos compuestos presentes en las hojas de esta planta (De Simoni 2004) el cual es percibido por las hormigas al momento de hacer el corte de las hojas y tener contacto con los jugos celulares.

Durante los Ensayos 2 y 3 las colonias no depositaron material vegetal en la cámara de desechos como tampoco se encontraron vestigios de éste cortado y sin utilizar al interior de la cámara de cultivo, transcurridas 24 horas. Estas observaciones concuerdan con lo descrito por Della Lucia (1993), y sugieren que el crecimiento de la población de las colonias, aumenta la capacidad de forrajeo y procesamiento de los fragmentos vegetales para el cultivo del hongo simbionte.

Las diferencias en el porcentaje de crecimiento del hongo simbionte, sugieren la presencia de compuestos en las hojas de *T. diversifolia* con posibles efectos antimicrobial y antimicótico sobre el hongo pero sin directa toxicidad para las hormigas como sí fue registrado por Hebling *et al.* (2000), quienes observaron, bajo condiciones de laboratorio, que el hongo simbionte de *A. sexdens* L. decreció en aquellas colo-

nias que cosecharon como único recurso forrajero hojas de *Ipomoea batatas* (L.) (Convolvulaceae), elevando la tasa de mortalidad en obreras. Ribeiro *et al.* (1998), observaron la inhibición en el crecimiento del hongo simbionte *Leucoagaricus gonglyophorus* (Moeller) en más del 40%, con extractos de hojas de *Sessamum indicum* (L.) (Pedaliaceae). Lapointe *et al.* (1996) registraron que el peso seco del hongo simbionte de *A. landolti* se reduce hasta en un 80% en cultivares de *Brachiaria* spp. resistentes a la hormiga, en comparación con el peso del hongo de aquellas colonias de la sabana. Más recientemente, Valderrama *et al.* (2007) registran que colonias alimentadas con *T. diversifolia* presentaron una reducción del 100% en el tamaño del hongo al día 45 del experimento y una mortalidad en hormigas del 83,3%, mientras que aquellas alimentadas con *Canavalia ensiformis* (L.) alcanzaron una máxima reducción en el volumen del hongo (95,3%) a los 57 días y 66,6% de mortalidad.

El hallazgo realizado por Obafemi *et al.* (2006) de que los extractos de hojas de *T. diversifolia* inhiben el crecimiento de más de 10 bacterias (gram positivas y gram negativas) y del hongo *Candida albicans* (Robin), agregado a las observaciones de Currie *et al.* (2006) quienes encontraron que hormigas Attini hospedan bacterias del género *Pseudonocardia* sp. en lugares específicos del exoesqueleto y que debido a su capacidad de producir antibióticos, posiblemente, están relacionadas con el control de *Escovopsis* sp. permite pensar que *T. diversifolia* puede actuar de manera negativa sobre el desarrollo de estas bacterias, lo cual favorecería el crecimiento de *Escovopsis* sp. y por ende una baja tasa de crecimiento del hongo simbionte.

Aunque nuestros resultados no permiten confirmar que los metabolitos secundarios presentes en el botón de oro tengan un efecto netamente antimicótico si marcan una tendencia en esa dirección sin que se descarte que su consumo afecte la fisiología de las hormigas. Por otro lado es importante tener en mente que nuestro estudio el empleo de los otros dos recursos vegetales puede contribuir a neutralizar el impacto de los metabolitos secundarios del botón de oro en la colonia, por lo cual a futuro se plantea una investigación dirigida a estudiar los efectos de extractos de *T. diversifolia* sobre las colonias de hormigas arrieras, separando su impacto sobre las hormigas, el hongo simbionte, o sobre ambos.

Agradecimientos

A Carolina Giraldo por su valiosa colaboración durante la investigación. A CIPAV por la financiación del proyecto. Al personal a cargo de la microestación de Biología en la Universidad del Valle. A todas las personas que de una u otra forma colaboraron para la realización de esta investigación y en especial a los revisores anónimos que al efectuar una revisión crítica del documento lo enriquecieron con sus comentarios y sugerencias.

Literatura citada

- BARONE, J. A.; COLEY, P. D. 2002. Herbivorismo y las defensas de las plantas. 465-492. En Guariguata, M. R.; Kattan, G.H. (eds). 2002. Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales. 1ª. Edición, Ediciones LUR. Cartago, Costa Rica. 692 p.
- BERISH, C. W. 1986. Leaf-cutting ants (*Atta cephalotes*) select nitrogen-rich forage. *American Midland Naturalist* 115: 268-276.
- CEDEÑO-LEON, A. 1984. Los bachacos: aspectos de su ecología. Fondo editorial: Acta Científica Venezolana. 73 p.
- CHERRETT, J. M. 1972. Some factors involved in the selection of vegetable substrate by *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera, Formicidae) in the tropical rain forest. *Journal Animal Ecology* 41: 647-660.
- CHERRETT, J. M.; SEAFORTH, C. E. 1970. Phytochemical arrestants for the leaf-cutting ants, *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octopinosus* (Reich) with some notes on the ants' response. *Bulletin of Entomological Research* 59: 615-625.
- CURRIE, C.; SCOTT, J.; SUMMERBELLS, R.; MALLOCH, D. 1999. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. *Nature* 398: 701-704.
- CURRIE, C.; POULSEN, M.; MENDENHALL, J.; BOOMSMA, J.; BILLEN, J. 2006. Coevolved crypts and exocrine glands support mutualistic bacteria in Fungus-growing ants. *Science* 311: 81-83.
- DE SIMONI, P. C. 2004. Efeito da variação sazonal na produção de compostos ativos em *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray, utilizando ensaio com microorganismos. Tesis de postgrado. Escuela Superior de Agricultura. Universidad de Sao Paulo, Sao Paulo-Brasil. 46 p.
- DELLA LUCÍA, T. M. C. (ed.). 1993. As formigas cortadeiras. Folha de Viscosa. Viscosa. Brasil. 262 p.
- DELLA LUCÍA, T. M. C. 2003. Hormigas de importancia económica en la región Neotropical, pp. 337-349. En: Fernández, F. (ed.). Introducción a las Hormigas de la Región Neotropical. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá. Colombia. 398 p.
- ESCOBAR, R.; GARCÍA, F.; RENTERÍA, N. Y.; NEITA, J. C. 2002. Manejo y control de hormiga arriera (*Atta* spp y *Acromyrmex* spp) en sistemas de producción de importancia económica en el departamento del Chocó. Quibdó. Cartilla No. 2.22 p.
- FARJI-BRENER, A. 1992. Modificaciones al suelo realizadas por hormigas cortadoras de hojas (Formicidae, Attini): una revisión de efectos sobre la vegetación. *Asociación Argentina de Ecología. Ecología Austral* 2: 87-94.
- FERNÁNDEZ, J. V.; JAFFE, K. 1995. Dano economico causado por populacoes de formigas *Atta laevigata* (F. Smith) em plantacoes de *Pinus caribaea* Mor. E elementos para o manejo da praga. *Annais da Sociedade Entomológica do Brasil* 24: 287-289. Colombia. 171 p.
- FORTI, L. C.; PROTTI, A. P.; RAMOS, V. M. 2000. Biología e comportamiento de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera, Formicidae): implicações no seu controle. *Série Técnica IPEF* 13: 103-114.
- FRANZEL, C.; FARJI-BRENER, A. G. 2000. ¿Oportunistas o selectivas? Plasticidad en la dieta de la hormiga cortadora de hojas *Acromyrmex lobicornis* en el noreste de la Patagonia. *Ecología Austral* 10: 159-168.
- GARCÍA, M.; SOSA, M. E.; DONADEL, O. J.; GIORDANO, O. S.; TONN, C. E. 2003. Allelochemical effects of eudesmane and eremophilane sesquiterpenes on *Tribolium castaneum* larvae. *Journal of Chemical Ecology* 29: 175-187.
- GIRALDO, C. 2005. Efecto del botón de oro *Tithonia diversifolia* sobre la herbivoría de hormiga arriera *Atta cephalotes* en una plantación de arboloco *Montanoa quadrangularis*. Tesis de pregrado. Cali, Colombia, Universidad de Antioquia, CIPAV, Universidad del Valle, Facultad de Ciencias. 82 p.
- GÓMEZ, A. L. E. 2001. Anotaciones para el manejo ambiental de ciertos ecosistemas: "Recopilación de cursos, conferencias y artículos sobre ecología, etología y medio ambiente, utilizados en enseñanza formal y no formal desde 1991" Segunda edición. Medellín. Colombia. 171 p. <<http://www.biblioteca->

- virtualantioquia.udea.edu.co/pdf/51/51_1190384414.pdf>. Fecha último acceso: [10 diciembre 2006].
- HEBLING, M. J. A.; BUENO, O. C.; MAROTI P, S.; PAGNOCCA, F. C.; DA SILVA, O. A. 2000. Effects of leaves of *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hym., Formicidae). *Journal of Applied Entomology* 124: 249-252.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. 1990. *The ants*. Harvard University Press, Cambridge. EE.UU.
- HOWARD, J. J. 1987. Leaf cutting ant diet selection: the role of nutrients, water, and secondary chemistry. *Ecology* 68: 503-515.
- HOWARD, J. J. 1988. Leaf-cutting and diet selection: Relative influence of leaf chemistry and physical features. *Ecology* 69: 250-260.
- KNAPP, J. J.; HOWSE, P. E.; KERMARREC, A. 1990. Factors controlling foraging patterns in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich), pp. 382-409. En: Vander Meer R.K.; Jaffe, K.; Cedeño A. (eds.). *Applied Mirmecology: A world perspective*. Westview Press Boulder, San Francisco, Oxford.
- LA DUKE, J. C. 1982. Flavonoid chemistry and systematics of *Thitonia* (Compositae). *American Journal of Botany* 69: 784-792.
- LEAL, I. R.; OLIVEIRA, P. S. 2000. Foraging ecology of attine ants in a neotropical savanna: seasonal use of fungal substrate in the cerrado vegetation of Brazil. *Insectes Sociaux* 47: 376-382.
- LAPOINTE, S. L.; GARCIA, C. A.; SERRANO, M. S. 1990. Control of *Acromyrmex landolti* in the improved pastures of Colombian Savanna, pp. 511-518. En: Vander Meer R.K.; Jaffe, K.; Cedeño A. (eds.). *Westview Press Boulder, San Francisco, Oxford*.
- LAPOINTE, S. L.; SERRANO, M. S.; CORRALES, I. I. 1996. Resistance to leafcutter Ants (Hymenoptera: Formicidae) and inhibition of their fungal symbiont by tropical forage grasses. *Journal of Economic Entomology* 89: 757-765.
- LEVIN, D. 1976. The chemical defences of plant pathogens and herbivores. *Annual Review of Ecology and Systematics* 7: 121-159.
- LÓPEZ, E.; ORDUZ, S. 2004. *Metharizium anisoplae* y *Trichoderma viride* controlan colonias de *Atta cephalotes* en campo mejor que un insecticida químico. *Revista Colombiana de Biotecnología* 4: 71-78.
- MACKAY, W.; MACKAY, E. 1986. Las hormigas de Colombia: arrieras del género *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Colombiana de Entomología* 12: 23-30.
- OBAFEMI, C. A.; SULAIMON, T. O.; AKINPELU D, A.; OLUGBADE, T. A. 2006. Antimicrobial activity of extracts and germicranolide-type sesquiterpene lactona from *Tithonia diversifolia* leaf extract. *African Journal of Biotechnology* 5: 1254-1258.
- POPICH, S.; ALVARES VALDES, D.; BARDON, A. 2005. Toxicidad de terpenoides de *Cyrtocymura cincta* (Asteraceae) sobre el ciclo de vida de *Spodoptera latifascia* (Lepidoptera: Noctuidae). *Boletín de sanidad vegetal "Plagas"*. Ministerio de Agricultura y Alimentación de España. 31: 179-186.
- POSADA-FLÓREZ, J. 1997. Infección natural de *Metharizium anisoplae* sobre la hormiga arriera. *Cenicafé* 48: 204-208.
- PUNGITORE, C. R.; GARCÍA, M.; GIANELLO, J. C.; TONN, C. E.; SOSA, M. E. 2005. Lethal and sublethal effects or tripernes from *Junellia aspera* (Verbenaceae) on the grain storage insect *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Revista Sociedad Entomológica Argentina* 64: 45-51.
- RIBEIRO, S. B.; PAGNOCCA, F. C.; VICTOR, S. R.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J.; BACCI, JR M.; SILVA, O. A.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. 1998. Activity of Sesame leaf extracts against the symbiotic fungus os *Atta sexdens* L. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 27: 421-426.
- ROCKWOOD, L. L. 1976. Plant selection and foraging patterns in two species of leaf-cutting ants (*Atta*). *Ecology* 57: 48-61.
- SERNA, F. J.; CORREA, J. A. 2003. Extractos de hojas de tomate *Lycopersicon esculentum* como fagoi inhibidores de *Atta cephalotes*. *Agronomía Colombiana* 21: 142-153.
- STATSOFT . 2001 STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.
- TAIWO, L. B.; MAKINDE, J. O. 2005. Influence of water extract of Mexican sunflower (*Tithonia diversifolia*) on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *African Journal of Biotechnology* 4: 355-360.
- VALDERRAMA, E. I.; HERRERA, J.; GIRALDO, C.; MONTOYALERMA, J. 2007. Efecto de *Canavalia ensiformis* y *Tithonia diversifolia* sobre colonias artificiales de hormigas cortadora de hojas *Atta cephalotes*. Resúmenes VI Coloquio de Insectos Sociales IUSSI-Sección Bolivariana. Higuero, Edo. Miranda, Venezuela. Septiembre 25-27, pp. 39-40.
- VALMIR, S. V.; DILLON, B. R. J.; DILLON, B. V. M.; REYNOLDS, B. S. E.; SAMUEL, R. I., 2004. Ocurrance of the antibiotic producing bacterium *Burkholderia* sp. in colonies of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Microbiology Letters* 239: 319-323.
- VIEGAS, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternative para o controle químico de insetos. *Química Nova* 26: 390-400.

Recibido: 24-ene-2008 • Aceptado: 16-oct-2008

Estrategia MIP para el control de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) en melón y tomate

IPM strategy for the control of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) on melon and tomato

CARLOS ESPINEL C.¹, MARÍA DENIS LOZANO², LAURA VILLAMIZAR R.³,
ERIKA GRIJALBA B.⁴ y ALBA MARINACOTES P.⁵

Resumen: *Bemisia tabaci* es una plaga de importancia económica en cultivos de melón y tomate. El centro de investigaciones Corpoica desarrolló productos para su control con resultados promisorios en laboratorio, surgiendo la necesidad de evaluarlos en campo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar un esquema de manejo integrado de plagas (MIP) en melón y tomate en El Espinal (Tolima) utilizando un preformulado con base en *Paecilomyces fumosoroseus* comparado con un bioplaguicida con base en *Lecanicillium lecanii*. Otros componentes de manejo del insecto se integraron, como trampas amarillas y manejo de patógenos como solarización del suelo y la aplicación de *Trichoderma koningii*. Las parcelas MIP (con los bioplaguicidas) se compararon con un tratamiento tradicional agricultor. Se determinaron la presencia de adultos y estados inmaduros semanalmente y la producción total en la cosecha. En el melón se realizaron seis aplicaciones de los productos biológicos y en tomate diez. La producción de melón en la parcela aplicada con *L. lecanii* fue de 29,4 t/ha, mientras que en el tratamiento *P. fumosoroseus* y agricultor, fue de 27,3 t/ha y 25 t/ha, respectivamente. La mayor producción en tomate cherry se obtuvo con el tratamiento con *P. fumosoroseus* (14,7 t/ha), seguida por la parcela aplicada con *L. lecanii* (13,8 t/ha) y por el tratamiento agricultor (13,6 t/ha). Se sugiere que los productos biológicos con base en los entomopatógenos evaluados, introducidos dentro de un esquema de manejo integrado del cultivo, son promisorios para el manejo de *B. tabaci*.

Palabras clave: Mosca blanca. Bioplaguicida. Entomopatógenos.

Abstract: *Bemisia tabaci* is an economically important pest in melon and tomato crops. The Corpoica research center developed biopesticides for its control with promising results under laboratory conditions, leading to a need to evaluate them under field conditions. The objective of the present work was to evaluate a strategy of integrated pest management (IPM) on melon and tomato crops in El Espinal (Tolima) using a preformulation based on *Paecilomyces fumosoroseus* and a biopesticide based on *Lecanicillium lecanii*. Other components of insect management were integrated, such as yellow traps and pathogen management like soil solarization and the application of *Trichoderma koningii*. IPM plots (with biopesticides) were compared with a traditional farmer treatment. The presence of adults and immature stages were determined weekly and the total yield at harvest. Six applications of the biological products were carried out in melon and ten in tomato. Melon production in plots treated with *L. lecanii* was 29.4 t/ha, while in the plots treated with *P. fumosoroseus* and farmer treatment it was 27.3 t/ha and 25 t/ha, respectively. The highest production obtained in cherry tomato was in the treatment with *P. fumosoroseus* (14.7 t/ha), followed by *L. lecanii* treated plots (13.8 t/ha) and the farmer treatment (13.6 t/ha). These results suggest that the biological products based on the evaluated entomopathogens, introduced into a strategy of integrated crop management, are promising for *B. tabaci* control.

Key words: Whitefly. Biopesticide. Entomopathogens.

Introducción

Las moscas blancas son consideradas la principal plaga a nivel mundial (Rodríguez y Cardona 2001). Dentro de éstas, *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) es una de las más limitantes considerando el gran número de hospedantes que ataca, los daños directos e indirectos que ocasiona, su amplia distribución geográfica y la ineficiencia que han mostrado los insecticidas químicos para su control (Rodríguez y Cardona 2001).

Los daños ocasionados por el insecto se pueden dar por la succión de savia y por la inyección de toxinas a través de la saliva, ocasionando el debilitamiento de la planta y la formación de manchas cloróticas (Infoagro 2004). 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, proporciona el medio adecuado para el establecimiento del hongo *Capnodium* sp., que disminuye la fotosíntesis y la respiración de la planta y en consecuencia deteriora la calidad de la cosecha y genera mayores gastos de producción (Infoagro 2004). Así mismo, *B. tabaci* es transmisora de virus patógenos en diversos cultivos, tales como el virus del encrespamiento amarillo de la hoja del tomate (TYLCV), el virus del mosaico dorado del tomate (TGMV), el virus moteado del tomate (ToMoV) y del virus del mosaico dorado del frijón (BGMV) (Infoagro 2004). En algunos cultivos como el tomate, la presencia de un solo adulto de mosca blanca por planta es suficiente para causar 100% de infección por geminivirus (Faria y Wraight 2001).

Actualmente se ha demostrado que *B. tabaci* es resistente a varios de los insecticidas usados para su control (Cardona et al. 2001), lo cual tiene serias implicaciones económicas y

¹ Investigador. M. Sc. Entomología. Corpoica. A.A 240142 Parque Central Bavaria Las Palmas, Bogotá. cespinel@corpoica.org.co. Autor para correspondencia.

² Investigadora. M. Sc. Microbiología. Corpoica. C.I Nataima. Km. 9 vía Espinal-Chicoral (Tolima). mlozano@corpoica.org.co.

³ Investigadora. M. Sc. Microbiología. Corpoica. A.A 240142 Parque Central Bavaria Las Palmas, Bogotá. lvillamizar@corpoica.org.co.

⁴ Investigadora. Química Farmacéutica. Corpoica. A.A 240142 Parque Central Bavaria Las Palmas, Bogotá. egrijalba@corpoica.org.co.

⁵ Investigadora. Ph. D. Fitopatología. Corpoica. A.A 240142 Parque Central Bavaria Las Palmas, Bogotá. acotes@corpoica.org.co.

ambientales, debido a que los agricultores usan mayores dosis de plaguicidas de síntesis, elevando los costos de producción y generando mayor contaminación al ambiente. Los problemas asociados con moscas blancas han alcanzado magnitud mundial en los últimos años, por lo que los esfuerzos en investigación básica y aplicada se han enfocado al desarrollo de métodos alternativos de control (Quintero *et al.* 2001). Es así como el control biológico basado en el conocimiento básico y aplicado sobre los tres principales grupos de enemigos naturales: parasitoides, depredadores y hongos entomopatógenos, se presenta como una de las alternativas más promisorias dentro de los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) (López-Ávila 1994; López-Ávila *et al.* 2001). En ese sentido, el Laboratorio de Control Biológico de Corpoica desarrolló un bioplaguicida con base en un aislamiento nativo de *L. lecanii* que produjo resultados promisorios para el control de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) en cultivos de habichuela y tomate bajo invernadero (Jiménez 2002; Garzón 2004).

Con el fin de contar con un insecticida microbiano como alternativa para el control de *B. tabaci*, se realizó una colección de microorganismos en cuatro departamentos de Colombia y se seleccionó un aislamiento del hongo *P. fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith por ocasionar el 91% de mortalidad bajo condiciones controladas (Espinel *et al.* 2004; Espinel *et al.* 2006a). Con este microorganismo se desarrolló un preformulado que presentó resultados promisorios en el control de esta mosca blanca bajo condiciones de laboratorio. Como una etapa posterior de desarrollo de este bioplaguicida, surge la necesidad de evaluar su eficacia bajo condiciones de campo dentro de una estrategia MIP. Por tal razón, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el preformulado con base en *P. fumosoroseus* y el bioplaguicida con base en *L. lecanii* (Zimmerman) Gams & Zare dentro de un esquema de manejo integrado de *B. tabaci* en cultivos de melón y tomate.

Materiales y Métodos

Evaluación sobre el cultivo de melón

Con el propósito de evaluar la eficacia del preformulado con base en *P. fumosoroseus* y del insecticida microbiano con base en *L. lecanii* dentro de un esquema MIP, se llevó a cabo un ensayo en un cultivo de melón de la variedad Cantaloup, en el municipio de El Espinal (Departamento del Tolima), finca Canaima, ubicada a 414 msnm (4°12'01"N, 5°00'03"W). La finca seleccionada se caracteriza por la siembra predominantemente de melón a nivel industrial y de pimentón y de papaya en menor proporción.

En noviembre de 2005 se sembró una parcela de 800 m², en la cual se contaba con ocho surcos de 90 m de largo x 1 m de ancho; a esta parcela se le denominó MIP, debido a que se realizaron una serie de prácticas biológicas y culturales para el manejo integrado del cultivo y de *B. tabaci*. Para el control de patógenos, se realizó una solarización del suelo cubriéndolo por 15 días con un plástico negro y manteniéndolo a capacidad de campo, y se llevó a cabo la aplicación al suelo de un bioplaguicida con base en *Trichoderma koningii* Oudem desarrollado por el Laboratorio de Control Biológico; esta aplicación se realizó a la concentración de 1x 10⁶ conidios/ml recomendada en el momento del trasplante, luego cada semana durante un mes y posteriormente cada 15 días hasta el final del cultivo.

Para registrar la presencia de *B. tabaci* se incluyeron trampas amarillas de 12 x 16 cm con pegante, ubicadas en el perímetro de la parcela, a una altura de 40 cm del suelo. En el interior de la parcela se ubicaron diez trampas en un trazado en "W" las cuales también permitieron hacer el seguimiento de la presencia de adultos. Asimismo, para el control de los adultos del insecto se ubicaron trampas plásticas amarillas de 1,20 cm de largo por 80 cm de ancho, cada 200 m². Con el fin de comparar las estrategias de control biológico, el lote se subdividió en cuatro surcos a los que se les aplicó el bioplaguicida con base en *L. lecanii* y en los cuatro restantes se aplicó el preformulado con base en *P. fumosoroseus* teniendo como criterio la presencia de adultos de *B. tabaci* en el cultivo. Los dos productos consistieron en un polvo mojable para aplicación con una bomba de espalda marca Guarany Super 3 (0404-11 SP), la concentración aplicada de cada producto fue de 10⁷ conidios/ml. Se realizaron seis aplicaciones de los productos biológicos, durante los primeros 40 días del cultivo (5, 12, 19, 26, 33 y 40 días después de la siembra dds.) y ocho aplicaciones de insecticidas químicos en el tratamiento agricultor.

Paralelamente se contó con una parcela de igual dimensión a la anterior, denominada tratamiento agricultor, la cual se encontraba distanciada de la parcela MIP por 10 surcos. A esta parcela se le realizó solarización y aplicación del producto con base en *Trichoderma koningii* en semillero y se continuó con el manejo tradicional del cultivo según el esquema de producción industrial ejecutado por la empresa Grajales S.A. Con el fin de determinar la población de mosca blanca, también se contó con las trampas amarillas en el perímetro y cinco trampas en el interior de la parcela, distribuidas como se explicó anteriormente.

Se determinó la población de los estados inmaduros de mosca blanca, mediante muestreos semanales en dos plantas aleatorias a cada una de las trampas del interior de las parcelas MIP y Agricultor. De cada planta se tomaron dos hojas del tercio final del tallo y en el laboratorio se realizó el conteo mediante un estereoscopio del número total de huevos y ninfas en un área de 4 cm². La fluctuación semanal de la abundancia adultos de mosca blanca se determinó mediante la ubicación de una malla o cuadrícula móvil, contando y promediando el número de individuos presentes en cinco cuadros, cada uno con un área de 10 cm² (Fig. 1). La eficacia de los tratamientos se determinó comparando la producción total (t/ha) al momento de la cosecha. Se recogieron los frutos de todas las plantas y se calcularon los rendimientos cuantificando los costos de producción mediante el índice beneficio-costo, entendido como el ingreso bruto sobre los costos de producción (Calvo 1996).

Evaluación sobre el cultivo de tomate

El esquema MIP basado en la aplicación del preformulado con base en *P. fumosoroseus* y el insecticida microbiano con base en *L. lecanii* se evaluó en un cultivo de tomate Cherry variedad Nahomy, ubicado en el municipio de El Espinal (Departamento del Tolima), finca El Higuierón, ubicada a 411 msnm (04°12'6"N, 75°01'11"W). El cultivo se desarrolló con la tecnología empleada por el agricultor, comprendiendo tomate bajo cubierta plástica, siembra individual de las plantas en bolsas con sustrato de cascarilla de arroz quemada y nutriente y un sistema de riego por goteo.

La evaluación se realizó en un área de 816 m², la cual se dividió en dos parcelas que contenían ocho surcos de 45 m de

largo cada una, para un total de 16 surcos. Una parcela de ocho surcos se denominó MIP, debido a que en ella se realizaron una serie de prácticas biológicas y culturales para el manejo integrado del cultivo y de la plaga blanco (*B. tabaci*). Los otros ocho surcos se denominaron parcela agricultor, puesto que su manejo se hizo siguiendo las prácticas convencionales del agricultor. En el tratamiento MIP, se aplicó un bioplaguicida con base en *T. koningii* desarrollado por el laboratorio de control biológico para el control de fitopatógenos del suelo y foliares. Con este bioplaguicida se realizaron dos aplicaciones en semillero; la primera se hizo dos días antes de la siembra y la segunda a los 15 días después de la siembra. Posteriormente, se aplicó al suelo al momento del trasplante y luego cada semana durante un mes y a partir de allí se realizaron aplicaciones foliares cada 15 días hasta el final del cultivo.

Como en el caso del cultivo de melón, se incluyeron trampas amarillas de 12 x 16 cm con pegante, ubicadas cada 5 m en el perímetro de la parcela. En el interior del cultivo se ubicaron diez trampas en "W", con el fin registrar la presencia de adultos de mosca blanca. Otra estrategia de manejo consistió, en la eliminación de "hojas bajas" en las plantas con el propósito de reducir la presión de población de instares ninfales finales de *B. tabaci*. Para el control microbiológico, el lote de ocho surcos se dividió en cuatro surcos a los que se les aplicó el bioplaguicida con base en *L. lecanii* y a los cuatro surcos restantes se les aplicó el preformulado con base en *P. fumosoroseus*, teniendo como criterio la presencia de adultos de *B. tabaci* en el cultivo. La determinación de la presencia de adultos y de estados inmaduros, se realizó de la misma forma que en el cultivo de melón, tomando los foliolos del último tercio de la planta.

En el tratamiento MIP, se realizaron diez aplicaciones de los productos con base en *P. fumosoroseus* y *L. lecanii* a partir del quinto día después de trasplante y hasta el día 82. En el tratamiento agricultor, también se realizaron diez aplicaciones en el mismo período de tiempo, usando principalmente el agroquímico Actara® (i.a. Tiametoxan). La eficacia de los tratamientos se determinó de igual forma que para el cultivo de melón, comparando la producción total (t/ha) al momento de la cosecha y cuantificando los costos de producción mediante el

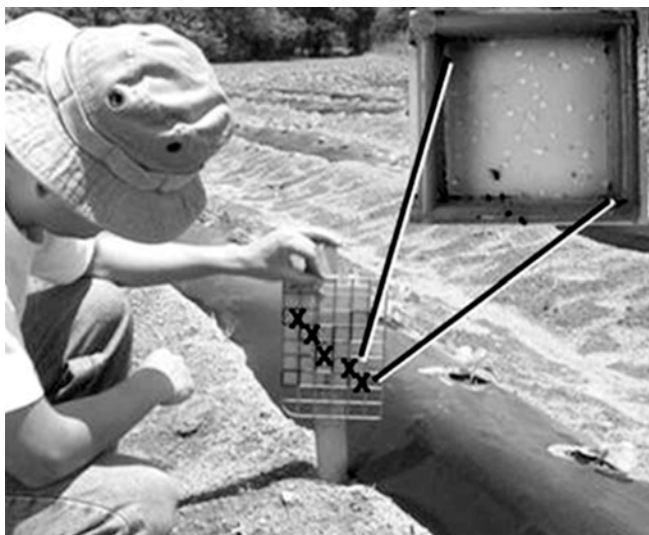


Figura 1. Conteo de adultos de *B. tabaci* mediante la cuadrícula móvil en el cultivo de melón.

índice beneficio-coste, entendido como el ingreso bruto sobre los costos de producción (Calvo 1996).

Resultados y Discusión

Evaluación sobre el cultivo de melón

La temperatura promedio durante el ensayo fue de 32°C, con mínimas de 23°C y máximas de 41°C.

Las aplicaciones se hicieron cada semana debido a que durante este tiempo hubo adultos de *B. tabaci*, aunque se mantuvo por debajo de los seis individuos por 10 cm². Esta población se incrementó durante las dos semanas de la cosecha (47 y 54 dds), estando entre ocho individuos por 10 cm² en el tratamiento con el hongo *P. fumosoroseus*, 10 individuos por 10 cm² en el tratamiento con el hongo *L. lecanii* y en 13 individuos por 10 cm² en el tratamiento Agricultor (Fig. 2). Aunque autores como Palumbo *et al.* (1994), citados por Ellesworth y Martínez-Carillo (2001), establecieron un umbral de acción para melón de tres adultos por hoja, los mayores trabajos de umbrales se han realizado en el cultivo de algodón. Tal es el caso de Yee *et al.* (1996), quienes mencionan que entre 10 y 20 adultos por hoja ejercen una reducción en los procesos fotosintéticos de las plantas. Por tal razón, se decidió tomar como modelo este umbral para el cultivo en estudio, teniendo en cuenta que el daño producido por este insecto puede ser muy severo induciendo desórdenes fisiológicos como el plasteo de las cucurbitáceas (Costa *et al.* 1993). Por otro lado, según Orozco-Santos *et al.* (2000) en un trabajo de control de *B. tabaci* en cultivos de melón con siete aplicaciones de un bioplaguicida con base en *B. bassiana*, tomaron como referencia para hacer las aplicaciones más de tres ninfas por hoja, debido al daño severo que este estado de desarrollo puede ocasionar. Por tal motivo, se decidió aplicar semanalmente los productos biológicos debido a que la población de huevos y ninfas en las hojas tuvo un máximo de seis individuos por 4 cm².

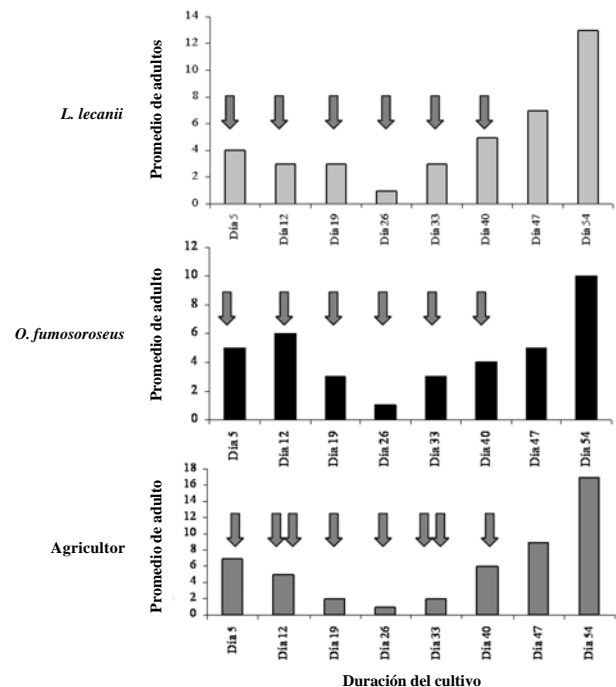


Figura 2. Presencia de adultos de *B. tabaci* en trampas amarillas en el cultivo de melón. Las flechas indican aplicaciones de los bioplaguicidas.

La mayor producción (29,4 t/ha, con una rentabilidad de \$10'504.514 pesos) se observó en la parcela en que se aplicó el bioplaguicida con base en *L. lecanii*; seguida por el tratamiento con *P. fumosoroseus* (27,3 t/ha y una rentabilidad de \$ 8'959.114 pesos) y por último el tratamiento Agricultor (25 t/ha y una rentabilidad de \$ 7'342.854 pesos). El índice beneficio/costo fue superior en las parcelas con tratamiento MIP, siendo para el tratamiento con *L. lecanii* de 1,9 y con *P. fumosoroseus* de 1,7, a su vez, el tratamiento agricultor presentó un índice B/C de 1,6 (Tabla 1). Los resultados con el bioplaguicida con base en *L. lecanii* dentro de la estrategia MIP, lo presentan como una alternativa promisoría para el manejo de cultivos en donde se encuentran las dos especies de mosca blanca con mayor importancia económica, y teniendo en cuenta que su principio activo es un aislamiento proveniente de *T. vaporariorum*, especie que se controló eficientemente en cultivos de habichuela y tomate en trabajos previos (Jiménez 2002; Garzón 2004).

Asimismo, los resultados del presente trabajo permiten sugerir que el hongo entomopatógeno *P. fumosoroseus* es un agente promisorio para el manejo de *B. tabaci*, debido a su gran versatilidad y a su capacidad infectiva (Vidal *et al.* 1998; Wraight *et al.* 1998; Faria y Wraight 2001), y el preformulado desarrollado se convierte en otra alternativa para el manejo de esta plaga dentro de esquemas MIP.

Evaluación sobre el cultivo de tomate

La temperatura promedio durante el ensayo fue de 28°C, con mínimas de 23°C y máximas de 35°C. Como en el caso del cultivo de melón, se tuvieron que realizar las aplicaciones de los bioplaguicidas cada semana debido a la abundancia de adultos de *B. tabaci*. La población de adultos estuvo en un rango entre cuatro a 30 individuos por 10 cm² hasta los 82 días después del trasplante, entre el día 90 y 93 hubo un incremento presentándose entre 20 y 70 individuos por 10 cm² y en el día 111 empezó a disminuir hasta niveles por debajo de 30 individuos por 10 cm² (Fig. 3). La alta presión de adultos de mosca blanca y el incremento hacia el día 90, pudo deberse a que aproximadamente a 150 m del lote del ensayo, se encontraba un lote de melón de 50 días de sembrado dos hectáreas aproximadamente el cual había sido abandonado debido al alto grado de infestación y daño producido por *B. tabaci*. Este lote se constituyó en un foco de infestación, considerando la gran habilidad que tiene la mosca blanca para desplazarse y su capacidad de dispersión con o sin ayuda de los vientos. Se ha encontrado que *B. tabaci* puede tener la capacidad de moverse en el campo hasta una distancia de 5,5 km, e incluso posee muchas características en las que se le puede considerar como migratoria (Byrne 1999).

A pesar de la mayor presencia de adultos, durante todo el período del cultivo la población de los estados inmaduros (huevos y ninfas) fue baja, con una máxima de cuatro individuos por 4 cm². Sin embargo, dado el daño potencial y directo que puede ejercer un individuo, se mantuvo la precaución de realizar las aplicaciones semanales. La baja presencia de ninfas, pudo deberse a que los bioplaguicidas ejercieron algún control (no cuantificado) sobre los estados de desarrollo iniciales. Según Espinel *et al.* (2006b), en un estudio realizado en laboratorio, el aislamiento de *P. fumosoroseus* puede infectar incluso el estado de huevo de *B. tabaci*, causando un 44,3% de mortalidad. En el mismo trabajo, los estados de desarrollo iniciales (instar 1 y 2) fueron los más susceptibles a este microorganismo, con 65 y 95% de mortalidad. Este caso fue similar al que se presenta con el bioplaguicida con base en *L. lecanii*, aunque éste último tiene una acción menor sobre el estado de huevo, produciendo tan sólo el 10% (Espinel *et al.* 2006b).

Aunque no se cuantificó la infección producida por los bioplaguicidas, en algunas evaluaciones se infirió la infección de ninfas por *P. fumosoroseus*, debido a que se observó su momificación y coloración anaranjada (Shannon 1996). En el caso del manejo de poblaciones de insectos con las características de las moscas blancas es muy importante tener en cuenta la influencia que tiene el microclima, principalmente la humedad bajo las superficies de las hojas en ambientes cubiertos o en invernaderos. Este es un factor que puede influir en el éxito

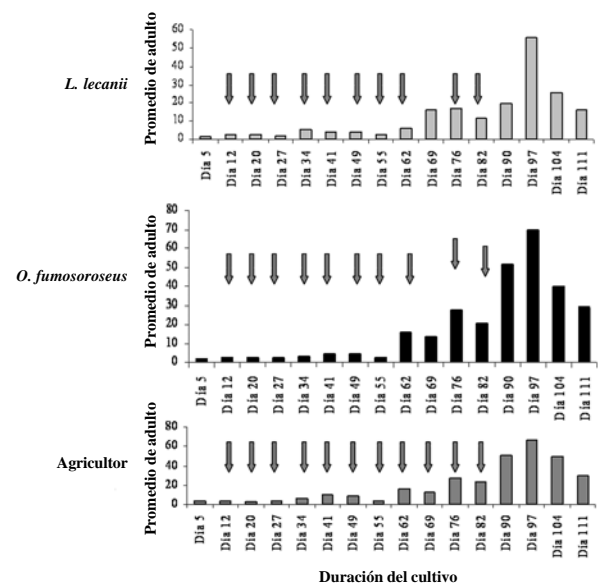


Figura 3. Presencia de adultos de *B. tabaci* en trampas amarillas en el cultivo de tomate cherry. Las flechas indican las aplicaciones de los bioplaguicidas.

Tabla 1. Parámetros económicos por tratamiento por hectárea del cultivo de melón.

Tratamiento	Producción (t/ha)	Costo de producción	Ingreso bruto	Rentabilidad	I B/C*
<i>Lecanicillium lecanii</i>	29,4	\$11'597.786	\$22'138.786	\$10'540.414	1,9
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	27,3	\$11'597.786	\$20'556.900	\$ 8'959.114	1,7
Agricultor	25	\$11'482.146	\$18'825.000	\$7'342.854	1,6

* I B/C = Índice beneficio/costo.

de una estrategia de manejo con insecticidas microbianos, debido a que las ninfas de mosca blanca se encuentran en el mismo nicho de los microorganismos. Boulard *et al.* (2002), estimaron el microclima de la superficie del envés de las hojas de tomate bajo invernadero mediante termografía y sus implicaciones en el control de las moscas blancas. Encontrando un aumento de la humedad durante el día, cuando la tasa de transpiración del cultivo es máxima, lo que podría favorecer la acción de los microorganismos entomopatógenos.

De otro lado, se pudo observar una alta población de huevos y diferentes instares ninfales de *B. tabaci* en las hojas de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) o “viernes santo”, una herbácea presente en el cultivo. Este aspecto podría indicar una preferencia de la mosca blanca por esta planta y surge la inquietud de su uso como hospedera alterna de la plaga o como cultivo trampa, dentro de las prácticas de manejo recomendadas por autores como Hilje y Cubillo (1996) e Hilje (2002). Esta planta además tiene un valor agregado, ya que cuenta con un uso medicinal utilizándose para combatir la hepatitis B y se dice que ayuda en la eliminación de cálculos renales (Rain-Tree Nutrition 1996).

La mayor producción de tomate cherry, se obtuvo en la parcela en la que se aplicó el bioplaguicida con base en *P. fumosoroseus* con 14,7 t/ha y una rentabilidad de \$17'226.304 pesos; seguida por *L. lecanii* con una producción de 13,8 t/ha y una rentabilidad de \$16'326.304 pesos, y por último el tratamiento Agricultor con 13,6 t/ha y una rentabilidad de \$14'278.687 pesos. De igual forma, el índice beneficio-costo fue superior en las parcelas con tratamiento MIP, el cual, para el tratamiento con *P. fumosoroseus* y con *L. lecanii* fue de 3,7 y 3,5 respectivamente, mientras que con el tratamiento agricultor se obtuvo un índice B/C de 2,8 (Tabla 2).

En general existen muchas experiencias de esquemas de manejo integrado de las moscas blancas sobre diferentes cultivos en el mundo. Naranjo (2001), menciona que en estrategias MIP implementadas en los Estados Unidos dentro del control biológico, se han usado principalmente los parasitoides, seguido por los depredadores y por último, los hongos entomopatógenos. Además, resalta que en estudios en cultivos de algodón en Arizona, la integración de enemigos naturales con insecticidas químicos selectivos, además del uso del control biológico de conservación, resultó en una estrategia promisorio para el manejo de *B. tabaci*.

Dentro de las experiencias de manejo de las moscas blancas en campo basado en el uso de bioplaguicidas se encuentran resultados variables. Según Faria y Wraight (2001), la eficacia de los bioplaguicidas bajo condiciones de campo no es tan buena como en invernaderos, esto explica el bajo número de productos aplicados en estos agroecosistemas. Esto se pue-

de deber a las condiciones ambientales limitantes para los microorganismos y a que los cultivos son vulnerables a cambios de la vegetación que la rodea o de campos cosechados. Wraight *et al.* (2000), aplicaron *P. fumosoroseus* y *B. bassiana* contra ninfas de mosca blanca en melón y pepino, encontrando niveles de control entre el 86 y 98% realizando entre tres a cinco aplicaciones con intervalos de cuatro a siete días. Jiménez (2002) evaluó el bioplaguicida desarrollado por Corpoica con base en *L. lecanii* sobre *T. vaporariorum* en un cultivo de habichuela. En este ensayo, se aplicaron diferentes dosis del producto biológico según escalas de daño, comparándolas con un tratamiento agricultor. Dentro del esquema MIP se hizo una aplicación de un insecticida químico granulado y trampas amarillas. En la parcela MIP del cultivo de habichuela la eficacia del insecticida microbiano fue del 77%, la producción fue de 11,6 t/ha y los ingresos netos para el agricultor fueron de \$7'466.675 pesos, en comparación con la parcela manejo agricultor en la que no hubo control, el rendimiento fue de 7,7 t/ha y los ingresos netos fueron de \$2'803.200 pesos.

Por otra parte Garzón (2004), evaluó un esquema MIP en un cultivo de tomate versus una parcela con manejo dado por el agricultor. Dentro de este esquema, incluyó el uso del bioplaguicida con base en *L. lecanii* sobre *T. vaporariorum*, aplicaciones de insecticidas químicos y trampas amarillas para la vigilancia de la población de la mosca blanca. En el tratamiento con el esquema MIP se presentó un 68,1% de infección en ninfas y una producción de 67,2 t/ha, y una utilidad neta de \$12'382.018, mientras que en la parcela manejo agricultor la producción fue de 64,4 t/ha y la rentabilidad de \$10'008.514 pesos.

En los dos cultivos, se evidenció un aumento en pequeña medida de la producción y rentabilidad respecto al tratamiento agricultor. Según Cardona (1995), el sistema MIP no está hecho para aumentar rendimientos, sino para mantener los niveles de producción tradicionalmente obtenidos por los agricultores de la zona, porque de no ser así, las posibilidades de su adopción son mínimas.

Teniendo en cuenta lo anterior, se puede concluir que el uso del preformulado con base en *P. fumosoroseus* y del bioplaguicida con base en *L. lecanii* dentro de un esquema MIP, proporcionó una mayor eficacia y rentabilidad en los cultivos de melón y tomate, y se constituyó en una estrategia promisorio y viable bajo las condiciones evaluadas, surgiendo la necesidad de evaluarlo en otras zonas agroecológicas del país. Además, se observó que el bioplaguicida con base en *L. lecanii* desarrollado para el control de *T. vaporariorum*, también puede ser eficaz para el manejo de *B. tabaci*.

Tabla 2. Parámetros económicos por tratamiento por hectárea del cultivo de tomate cherry.

Tratamiento	Producción (t/ha)	Costo de producción	Ingreso bruto	Rentabilidad	I B/C*
<i>Lecanicillium lecanii</i>	22,7	\$6'373.696	\$22'700.000	\$16'326.304	3,5
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	23,6	\$6'373.696	\$23'600.000	\$ 17'226.304	3,7
Agricultor	21,9	\$7'621.313	\$21'900.000	\$14'278.687	2,8

I B/C = Índice beneficio/costo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Fontagro por la financiación del presente trabajo.

Literatura citada

- BOULARD, T.; MERMIER, M.; FARGUES, J.; SMITS, N.; ROUGIER, M.; ROY, J. 2002. Tomato leaf boundary layer climate: implications for microbiological whitefly control in greenhouses. *Agricultural and Forest Meteorology* 110: 159-176.
- BYRNE, D. 1999. Migration and dispersal by the sweet potato whitefly *Bemisia tabaci*. *Agricultural and Forest Meteorology* 97 (4): 309-316.
- CALVO, G. 1996. Análisis de datos económicos, pp. 104-111. En: Hilje, L. (ed.). Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. CATIE: Unidad de Fitoprotección. Turrialba, Costa Rica. 133 p.
- CARDONA, C. 1995. Manejo de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) en frijol en la zona Andina: aspectos técnicos, actitudes del agricultor y transferencia de la tecnología. CEIBA 36 (1): 53-56.
- CARDONA, C.; RENDÓN, F.; GARCÍA, J.; LÓPEZ-ÁVILA, A.; BUENO, J. M.; RAMÍREZ, J. 2001. Resistencia a insecticidas en *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (1-2): 33-38.
- COSTA, H.; ULLMAN, D.; JOHNSON, M.; TABASHNIK, B. 1993. Squash silverleaf symptoms induced by immature, but not adult, *Bemisia tabaci*. *Phytopathology* 83: 763-766.
- ELLESWORTH, P.; MARTÍNEZ-CARRILLO, J. 2001. IPM for *Bemisia tabaci*: a case study from North America. *Crop Protection* 20: 853-869.
- 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), p. 99. En: Resúmenes del XXXI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá.
- ESPINEL, C.; TORRES, L.; GONZÁLEZ, V.; COTES, A. 2006a. Selección de hongos entomopatógenos para el control de *Bemisia tabaci*. *Revista de Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*. En prensa.
- ESPINEL, C.; TORRES, L.; COTES, A. 2006b. Efecto de preformulados con base en hongos entomopatógenos sobre estados de desarrollo de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) y determinación de su eficacia aplicados en forma combinada, pp. 56. En: Resúmenes del XXXIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Manizales.
- FARIA, M.; WRAIGHT, S. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop protection* 20: 767-778.
- GARZÓN, I. 2004. Evaluación de un insecticida microbiano con base en *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, Bogotá. 48 p.
- HILJE, L. 2002. Coberturas vivas para el manejo de la mosca blanca N° 5. En: Pérez, L. (ed.). Colección Folletos de Agricultura Ecológica para Productores. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 12 p.
- HILJE, L.; CUBILLO, D. 1996. Prácticas Agrícolas, pp. 51-59. En: Hilje, L. (ed.). Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. CATIE: Unidad de Fitoprotección. Turrialba, Costa Rica. 133 p.
- INFOAGRO. 2004. Métodos de control de la mosca blanca *Bemisia tabaci*. <<http://www.infoagro.com/abonos/moscablanca.html>>.
- Fecha última revisión: 15 octubre 2006. Fecha último acceso: 1 diciembre 2006.
- JIMÉNEZ, L. 2002. Evaluación de técnicas de aplicación de un bioplaguicida con base en *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, Bogotá. 83 p.
- LÓPEZ-ÁVILA, A. 1994. Avance y perspectivas del control biológico de las moscas blancas, pp. 42-53. En: Memorias del seminario Manejo Integrado de Mosca Blanca y Técnicas de Aplicación de Pesticidas. Socolen. Comité Regional de Cundinamarca. Bogotá. Colombia. 75 p.
- LÓPEZ-ÁVILA, A.; CARDONA, C.; GARCÍA, J.; RENDÓN, F.; HERNÁNDEZ, P. 2001. Reconocimiento e identificación de enemigos naturales de las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (2-3): 137-141.
- NARANJO, S. 2001. Conservation and evaluation of natural enemies in IPM systems for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection* 20: 835-852.
- OROZCO-SANTOS, M.; FARIAS-LARIOS, J.; LÓPEZ-PÉREZ, J.; RAMÍREZ-VÁZQUEZ, N. 2000. Uso de *Beauveria bassiana* para el control de *Bemisia argentifolli* en melón. *Revista Manejo Integrado de Plagas* 56: 45-51.
- 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.
- RAIN-TREE NUTRITION, Inc. 1996. Data base file for: Chanca piedra. <<http://www.rain-tree.com/chanca.html>> Fecha última revisión: 15 octubre 2006. Fecha último acceso: 1 diciembre 2006.
- RODRÍGUEZ, I.; CARDONA, C. 2001. Problemática de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestrales en el Valle de Cauca. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (1-2): 21-26
- SHANNON, P. 1996. Hongos entomopatógenos, pp. 60-68. En: Hilje, L. (ed.). Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. CATIE: Unidad de Fitoprotección. Turrialba, Costa Rica. 133 p.
- VIDAL, C.; OSBORNE, L.; LACEY, L.; FARGUES, J. 1998. Effect of host plant on the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for controlling the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolli* (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouses. *Biological Control* 12: 191-199.
- 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.
- WRAIGHT, S.; CARRUTHERS, R.; JARONSKI, S.; BRADLEY, C.; GARZA, C.; GALAINI-WRAIGHT, S. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly *Bemisia argentifolli*. *Biological Control* 17: 203-217.
- YEE, W.; TOSCANO, N.; CHU, CH.; HENNEBERRY, T.; NICHOLS, R. 1996. *Bemisia argentifolli* (Homoptera: Aleyrodidae) action thresholds and cotton photosynthesis. *Environmental Entomology* 25 (6): 1267-1273.

Distribución espacial de las ninfas de *Jacobiasca lybica* (Hemiptera: Cicadellidae) en un viñedo en Andalucía, España

Spatial distribution of the nymphs of *Jacobiasca lybica* (Hemiptera: Cicadellidae) in a vineyard in Andalusia, Spain

JOSÉ FRANCISCO RAMÍREZ-DÁVILA¹ y ELVIA PORCAYO-CAMARGO²

Resumen: Se determinó la distribución espacial de las ninfas del mosquito verde *Jacobiasca lybica* a lo largo de un año en una parcela de regadío, en Cádiz, España. Los resultados demostraron que las poblaciones de ninfas dentro de la zona de estudio presentaron una distribución agregada, formándose varios centros de agregación, hecho corroborado por los mapas elaborados mediante el Krigeado. La infestación no fue uniforme y se logró detectar una estabilidad espacio-temporal de las poblaciones de ninfas. Se logró determinar además que, es posible mediante las técnicas de Agricultura de Precisión reducir los costos económicos y ambientales.

Palabras clave: Mosquito verde. Geoestadística. Estabilidad espacial y temporal. Costo económico. Costo ambiental.

Abstract: The spatial distribution of nymphs of the green mosquito *Jacobiasca lybica* was determined over one year in an irrigated plot in Cadiz, Spain. The results showed that populations of nymphs within the study area had an aggregated distribution, forming several centers of aggregation, a fact corroborated by maps produced through Kriging. The infestation was not uniform and it was possible to detect a spatial-temporal stability in nymphal populations. It was also determined that it is possible through the techniques of precision agriculture to reduce economic and environmental costs.

Key words: Green mosquito. Geostatistics. Spatial and temporal stability. Economic cost. Environmental cost.

Introducción

En Jerez (España) se ha elaborado vino desde hace siglos con variedades de uvas blancas, y la que se conoce hoy como Palomino fino, es la que los lugareños denominaron Listán común, siendo la cepa predominante en la región (García de Luján *et al.* 1990). Esta variedad de uva es fundamental para la elaboración de los vinos de la zona y se adapta de forma excelente a la poda jerezana y a los suelos de albariza, siendo en estos pagos donde se obtienen los mostos de mayor calidad además, la variedad es básica para la elaboración de los vinos de Jerez (Fernández de Bobadilla 1956).

Se conoce como “mosquito verde” a un grupo de insectos chupadores, cicadélidos, que afectan a la viña y a un gran número de plantas silvestres y cultivadas. Las especies encontradas son varias (Freitas y Amaro 2001; Mazzoni *et al.* 2001). En España las dos especies de mosquito verde más comunes sobre el viñedo son *Jacobiasca lybica* (Bergenin y Zanon, 1922) y *Empoasca vitis* (Göthe, 1875) (Hemiptera, Cicadellidae). Estas especies se diferencian entre sí en la forma en que se encuentran las estructuras del tubo anal y los ápices de los apéndices del pigóforo (Ocete *et al.* 1999). En Jerez el insecto más abundante es *J. lybica* llegando a desfoliar totalmente las cepas, impidiendo la normal maduración del racimo y agostamiento de los sarmientos (Toledo 1992).

Toledo (1992) indica que si el ataque del mosquito verde se produce en las primeras fases de desarrollo de los brotes, afectan a las hojas terminales, donde aparecen decoloraciones y desecaciones marginales más o menos pronunciadas. Estas desecaciones están limitadas con las zonas verdes con ribetes de color amarillo en las variedades de vid blancas y rojo en las variedades de vid tintas. También se observan crispaciones

del borde de la hoja con un arrollamiento sobre el envés. Sobre brotes aparecen entrenudos cortos y brotes anticipados.

Si el ataque tiene lugar en una fase más avanzada –finales de julio-agosto-septiembre– entonces los síntomas se localizan sobre las hojas ya formadas. Sobre variedades tintas se observan manchas angulosas de color rojo a partir del borde hacia el interior de la hoja, delimitadas por los nervios, formando un mosaico. Sobre variedades blancas se observan decoloraciones y amarillamientos, acompañados o no de una desecación marginal de color rojizo (Toledo 1992).

El adecuado control de insectos plaga es uno de los aspectos más importantes en el manejo de cualquier cultivo, tanto desde el punto de vista económico como ecológico (Mazza *et al.* 1996; Hall *et al.* 1997; Castella *et al.* 1999). Un correcto control va estrechamente ligado al conocimiento de la distribución espacial del insecto. Los métodos comúnmente utilizados en la estadística “clásica” para el estudio de las distribuciones espaciales de los insectos se basan en el uso de las distribuciones estadísticas e índices de dispersión, y por consiguiente no tienen en cuenta la exacta localización espacial de la muestra. Ello produce ciertos efectos indeseables como fallar al diferenciar patrones espaciales diferentes, y sus descripciones de los patrones espaciales son altamente dependientes del tamaño de las unidades de muestreo y de la relación entre la media y la varianza (Sawyer 1989; Hurlbert 1990) y no tienen en consideración toda la información espacial el interés en el uso de distintas ramas de la estadística espacial. Una de las ramas frecuentemente disponible. A causa de estos problemas y la disponibilidad de paquete estadísticos apropiados, se ha incrementado el uso de la Geoestadística que tiene la ventaja de caracterizar la distribución espacial en un espectro de escalas y direcciones múltiples, además de ser independientes de la relación entre la media y la varianza.

¹ Profesor Investigador de la Facultad de Ciencias Agrícolas, UAEM. Centro Universitario El Cerrillo Piedras Blancas Km. 15 Carr. Toluca - Ixtlahuaca Entronque al Cerrillo. C.P. 50200 Toluca, Méx. Tel. (01 729) 296 55 31 Ext: 139. jframirez@uaemex.mx.

² Pasante de la Facultad de Geografía UAEM. Cerro de Coatepec s/n Ciudad Universitaria, C.P. 50000, Toluca, México. elvia_pcmargo@yahoo.com.

Los métodos geoestadísticos proporcionan una medida más directa de la dependencia espacial, debido a que tienen en cuenta la naturaleza bidimensional de la distribución de los organismos a través de su exacta localización espacial, además, permiten elaborar mapas de gran utilidad (Isaaks y Srivastava 1988; Oliver y Webster 1991; Rossi *et al.* 1992; Speight, *et al.* 1998; Sciarretta *et al.* 2001; Blom y Fleischer 2001). Por otra parte, una de las metas de la Agricultura de Precisión es dirigir las medidas de control sobre las zonas específicas de infestación de un insecto plaga. Con el uso de la Geoestadística es posible establecer mapas de la distribución espacial de insectos y el porcentaje de infestación de los mismos sobre un área de estudio, con lo cual es posible conseguir ahorros económicos y ambientales al poder dirigir las aplicaciones de insecticidas hacia las zonas específicas de infestación de un insecto plaga. El objetivo central de este trabajo entonces fue establecer y modelar mediante el método geoestadístico la distribución espacial de las ninfas del mosquito verde *Jacobiasca lybica* en un viñedo de regadío en Jerez, España.

Materiales y Métodos

Para el estudio se estableció una parcela experimental (de regadío), en el Centro de Investigación y Formación Agraria "Rancho de la Merced", localizado en el Marco de Jerez, Cádiz (España), situada entre 36°31'15" - 36°54'60"N y 5°27'15"-6°23'90"W, durante el año 2006. Los muestreos se realizaron durante la fase de mayor actividad del insecto que corresponde al periodo comprendido entre los meses de Junio y Octubre.

La parcela constaba de 1925 cepas de la variedad Palomino fino, separadas entre sí por aproximadamente 1 m, con una extensión de 3,700 m² cada una. En la parcela se estableció una malla rectangular (Oliver y Webster 1990) de 35 x 55 cepas. La hilera de 35 cepas fue considerada como líneas para muestrear, a partir de esto, el muestreo se realizó cada dos líneas, partiendo de la primera línea, es decir, en total se muestrearon 18 líneas y 17 quedaron sin muestrear. De cada línea muestreada se tomaron siete cepas para cada muestreo, con un intervalo de nueve cepas entre sí, por lo tanto, en cada parcela se muestrearon 126 cepas. Los muestreos fueron realizados durante cinco fechas que abarcaron la etapa más importante del ciclo biológico de la especie, tal y como lo menciona Toledo (1992). Cabe señalar, que los muestreos se realizaron mensualmente y que fueron muestreadas en cada fecha las mismas cepas.

En cada muestreo se contó el número de ninfas del mosquito verde hallados en 10 hojas por cepa tomadas al azar abarcando la parte superior, media e inferior de cada cepa y se estableció un promedio de ninfas por cepa, según la metodología establecida por López (1997). Las cepas muestreadas en las cinco fechas se señalaron con antelación en la base con pintura fluorescente color blanco y con una etiqueta que identificaba su posición indicando la línea y columna correspondiente. Las cepas muestreadas en la parcela fueron georreferenciadas con un DGPS para tener una ubicación espacial precisa de las mismas.

Se realizó una exploración estadística de los datos originales de las poblaciones de ninfas del mosquito verde. Se realizó una transformación logarítmica de los datos [$\log_{10}(n+1)$] para normalizarlos. En cada fecha de estudio se calculó un semivariograma experimental a partir de los valores registrados de número de ninfas de mosquito por planta se calculó con la

siguiente expresión (Journel y Huijbregts 1978; Isaaks y Srivastava 1989):

$$\gamma^*(\mathbf{h}) = \frac{1}{2N(\mathbf{h})} \sum_{i=1}^{N(\mathbf{h})} [z(\mathbf{x}_i + \mathbf{h}) - z(\mathbf{x}_i)]^2$$

donde: $\gamma^*(\mathbf{h})$ es el valor experimental del semivariograma para el intervalo de distancia \mathbf{h} ; $N(\mathbf{h})$ es el número de pares de puntos muestrales separados por el intervalo de distancia \mathbf{h} ; $z(\mathbf{x}_i)$ es el valor de la variable de interés en el punto muestral \mathbf{x}_i y $z(\mathbf{x}_i + \mathbf{h})$ es valor de la variable de interés en el punto muestra $\mathbf{x}_i + \mathbf{h}$. Cualquier función matemática puede usarse para modelar un semivariograma siempre que reúna las condiciones de ser positiva y definida (Armstrong y Jabin 1981). En la práctica, se escoge como modelo una de las funciones para las que se sabe que dichas condiciones se cumplen (Isaaks y Srivastava 1989). Un procedimiento habitual es la selección visual de una función que parezca ajustarse a los valores experimentales del semivariograma y realizar posteriormente una validación (Englund y Sparkas 1988). En este trabajo, eligió un modelo esférico que se define la siguiente expresión (Isaaks y Srivastava 1989):

$$\gamma(\mathbf{h}) = C_0 + C [1,5 (h/a) - 0,5(h/a)^3] \text{ si}$$

$$\gamma(\mathbf{h}) = C_0 + C$$

donde: C_0 es el efecto pepita; $C_0 + C$ es la meseta y a representa el alcance.

La validación de los diferentes modelos esféricos ajustados a los semivariogramas experimentales de cada una de las cinco fechas estudiados se realizó con el procedimiento denominado validación cruzada (Isaaks y Srivastava 1989). Con este procedimiento, se elimina un valor muestral y se emplea el método de interpolación geoestadístico denominado krigado, junto con el modelo de semivariograma a validar, para estimar el valor de la variable de interés en dicho punto muestral a partir de los restantes valores muestrales. Este proceso se efectúa sucesivamente en todos los puntos muestrales y las diferencias entre los valores experimentales y los estimados se resumen mediante los denominados estadísticos de validación cruzada (Isaaks y Srivastava 1989; Hevesi *et al.* 1992). Los parámetros del modelo a validar (C_0 , C y a) se van modificando en un procedimiento de prueba y error hasta la obtención de estadísticos de validación cruzada adecuados. Estos estadísticos son los siguientes:

- a) Media de los errores de estimación (MEE)

$$MEE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n [z^*(\mathbf{x}_i) - z(\mathbf{x}_i)]$$

donde: $z^*(\mathbf{x}_i)$ es el valor estimado de la variable de interés en el punto \mathbf{x}_i ; $z(\mathbf{x}_i)$ es el valor medio de la variable de interés en el punto \mathbf{x}_i y n es el número de puntos muestrales realizados en la interpolación. El MEE no debe ser significativamente distinto de 0 (test t), en cuyo caso, indicaría que el modelo de semivariograma permite el cálculo de estimativos no sesgados.

- b) Error cuadrático medio (ECM)

$$ECM = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n [z^*(x_i) - z(x_i)]^2$$

Un modelo de semivariograma se considera adecuado si, como regla práctica ECM es menor que la varianza de los errores muestrales (Hevesi *et al.* 1992).

c) Error cuadrático medio adimensional (ECMA)

$$ECMA = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{[z^*(x_i) - z(x_i)]^2}{\sigma_k}$$

donde: σ_k es la desviación estándar del error esperado en la estimación con el Krigado.

La validez del modelo se satisface si ECMA está comprendido entre los valores $1 \pm 2 (2/N)^{0.5}$.

Resulta de gran importancia determinar que tan fuerte es la relación entre los datos obtenidos en los muestreos lo anterior es posible conocerlo al calcular el nivel de dependencia espacial. Este valor se obtiene al dividir el efecto pepita entre la meseta y el resultado es expresado en porcentaje. El nivel de dependencia espacial se considera alto si el resultado es menor de 25%, se considera que el nivel de dependencia espacial es moderado si se encuentra entre 26 y 75% y se considera que el nivel de dependencia es bajo si es mayor del 76% (Cambardella *et al.* 1994).

Una vez que se validaron los modelos de los correspondientes semivariogramas se utilizó el Krigado, éste es el método de interpolación geoestadístico que permite que la estimación no tenga sesgo de valores asociados a puntos que no fueron muestreados. En este estudio se empleó el método del Krigado Ordinario para obtener las estimaciones respectivas. Las estimaciones de las poblaciones de ninfas del mosquito verde en la parcela experimental se realizaron utilizando el programa WinGslib 2002. Cuando se obtuvieron las estimaciones correspondientes con el método del Krigado para cada muestreo, se realizaron los mapas que indicaron el comportamiento espacial de las poblaciones de ninfas del mosquito verde en el Marco de Jerez. Las estimaciones se representaron en forma de mapa mediante la utilización del programa Surfer 9.0.

Resultaba interesante determinar si existía una estabilidad espacio-temporal a corto plazo (dentro de un año), de las poblaciones de ninfas de *J. lybica*. Para tal efecto se compararon las estimaciones obtenidas con el método del Krigado. Las comparaciones se realizaron utilizando una modificación de la prueba estadística no paramétrica de Cramér- von Mises realizada por Syrjala (1996) tal y como lo aconsejan Liebhold

et al. (1993). Cabe indicar que las comparaciones fueron realizadas con resultados de fechas próximas entre sí tal y como lo indican Rossi *et al.* (1992).

Agricultura de Precisión (AP): estimación de la superficie infestada y evaluación económica y ambiental.

Se estableció la superficie infestada de los mapas elaborados, utilizando el programa Surfer 9.0. Una vez obtenido el porcentaje de superficie infestada en cada uno de los mapas se calculó el costo de una aplicación normal de insecticida, tal como la realizan los agricultores en la zona, y el costo de una aplicación dirigida (sólo áreas infestadas). La diferencia entre ambos valores nos indicó el ahorro económico obtenido con la metodología de precisión. Igualmente, procedimos a realizar el cálculo correspondiente al ahorro en la cantidad de producto utilizado bajo ambas estrategias de control. De esta manera se tendría una idea de la disminución del impacto nocivo hacia el ambiente, ya que al reducir la cantidad de insecticida en el manejo de las poblaciones de ninfas del mosquito verde, se reduce asimismo, el impacto ambiental.

Resultados

De acuerdo con los resultados de la validación cruzada (Tabla 1), se halló que en todos los casos el modelo que produjo el mejor ajuste a los datos fue el modelo esférico con efecto pepita (nugget effect) que denota una estructura espacial agregada de las ninfas (Tabla 2). En la Tabla 2 se distingue que en el caso del efecto pepita sus valores se hallaron entre 0,05 encontrado en el segundo y tercer muestreo y 0,03 hallado en el cuarto y quinto muestreo. El valor del efecto pepita fue menor del 63% del valor de la meseta en todos los semivariogramas realizados. De esto se deduce que al menos el 37% de la variación total se debió a la dependencia espacial en la escala de muestreo.

En cuanto a la meseta los valores se encontraron entre 0,12 del cuarto muestreo y 0,06 del quinto muestreo. Los valores del alcance fluctuaron entre 53,20 m del cuarto muestreo y 29,18 m del primer muestreo (Tabla 2). El nivel de dependencia espacial entre los datos en todos los casos fue moderada. En la Fig. 1 se aprecian los modelos de Semivariogramas ajustados, establecidos para cada uno de los datos de la parcela experimental.

Mapas de densidad. La distribución de las poblaciones de ninfas del mosquito verde se encuentra agrupada en la Fig. 2. Se aprecia una gran cantidad de centros de agregación en todos los mapas, asimismo, las densidades medias de ninfas en cada muestreo fueron elevadas, lo anterior puede suponer una relación entre ambos aspectos. Los focos de agregación se distribuyeron por toda la parcela de estudio. Los focos de agre-

Tabla 1. Estadísticos de la validación cruzada.

Fecha	Tamaño muestra	Media muestral	Varianza muestral	MEE	Varianza de los errores	ECM	ECMA
27-06-06	126	0,25	0,07	0,11 ^{ns}	0,05	0,06	1,12
25-07-06	126	0,51	0,10	0,13 ^{ns}	0,08	0,09	1,10
30-08-06	126	0,57	0,09	0,10 ^{ns}	0,07	0,08	1,13
27-09-06	126	0,58	0,12	0,11 ^{ns}	0,11	0,12	1,00
28-10-06	126	0,24	0,06	0,10 ^{ns}	0,03	0,05	1,08

$1 \pm 2 (2/N)^{0.5} = 1 \pm 0,45$, ns: diferencia no significativa al 5%.

Tabla 2. Parámetros de los modelos ajustados a los semivariogramas del número de ninfas de mosquito verde.

Fecha	Modelo	Pepita	Meseta	Alcance	Pepita Meseta (%)	Nivel de dependencia espacial
27-06	Esférico	0,047	0,075	29,185	62,66	Moderada
25-07	Esférico	0,050	0,089	43,453	56,17	Moderada
30-08	Esférico	0,055	0,090	37,368	61,11	Moderada
27-09	Esférico	0,034	0,122	53,20	27,86	Moderada
28-10	Esférico	0,034	0,065	39,90	52,30	Moderada

gación más importantes debido a su mayor densidad se localizaron principalmente en el área central-izquierda de los mapas respectivos. También en este caso la invasión de la parcela parece provenir del costado izquierdo, es decir, de cepas vecinas localizadas en ese flanco.

Superficie infestada. El área sin infestar se encontró entre 84% y 52,8% del área total muestreada, con un valor medio de 31,52%. Se logró detectar que al aumentar la densidad de las ninfas disminuyó el porcentaje de superficie sin infestar, con una pequeña excepción en el muestreo del 27 de septiembre, donde a pesar de registrarse la mayor densidad de ninfas, el área libre de infestación aumentó ligeramente con respecto a

la del muestreo anterior. En el último muestreo esta superficie libre de infestación aumentó de forma significativa al reducirse notoriamente la densidad de ninfas. Todo esto indica que el mosquito verde de forma natural no invade el 100% del área que infesta, es decir, la infestación no es uniforme sobre el área afectada.

Estabilidad espacial y temporal a corto plazo. En la Tabla 3 se pueden ver los resultados de la comparación de los mapas de ninfas de *J. lybica* entre las diferentes fechas de muestreo, utilizando la prueba estadística bivariable de Cramér-von Mises, modificada por Syrjala (1996). Se observa diferencia significativa entre las comparaciones de los muestreos del 27

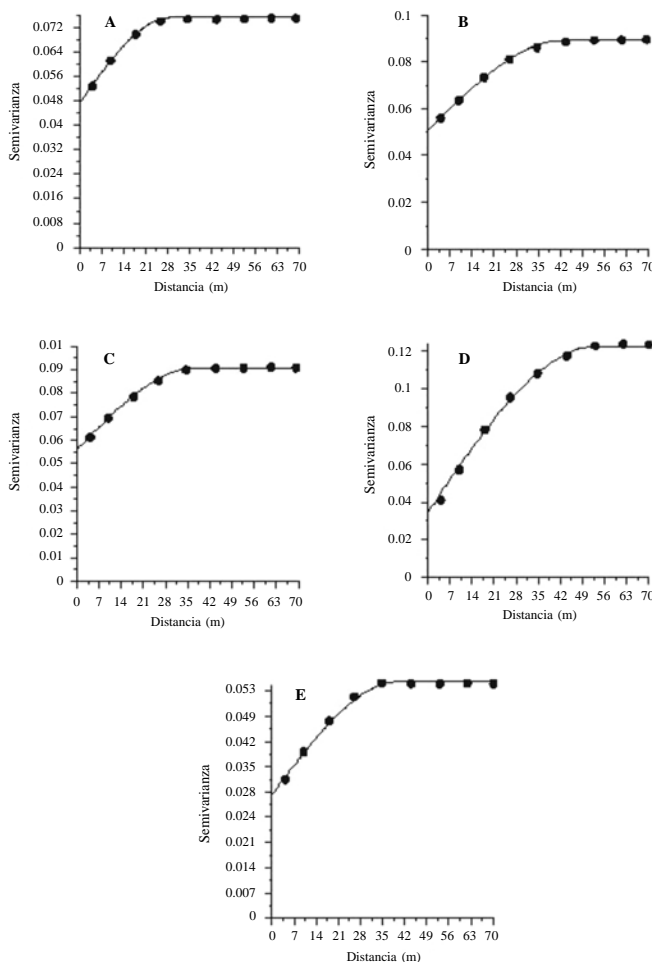


Figura 1. Semivariogramas de las ninfas de *J. lybica* en las cinco fechas de muestreo de la Parcela con Riego del año 2006. **A** = 27-06, **B** = 25-07, **C** = 30-08, **D** = 27-09 y **E** = 28-10.

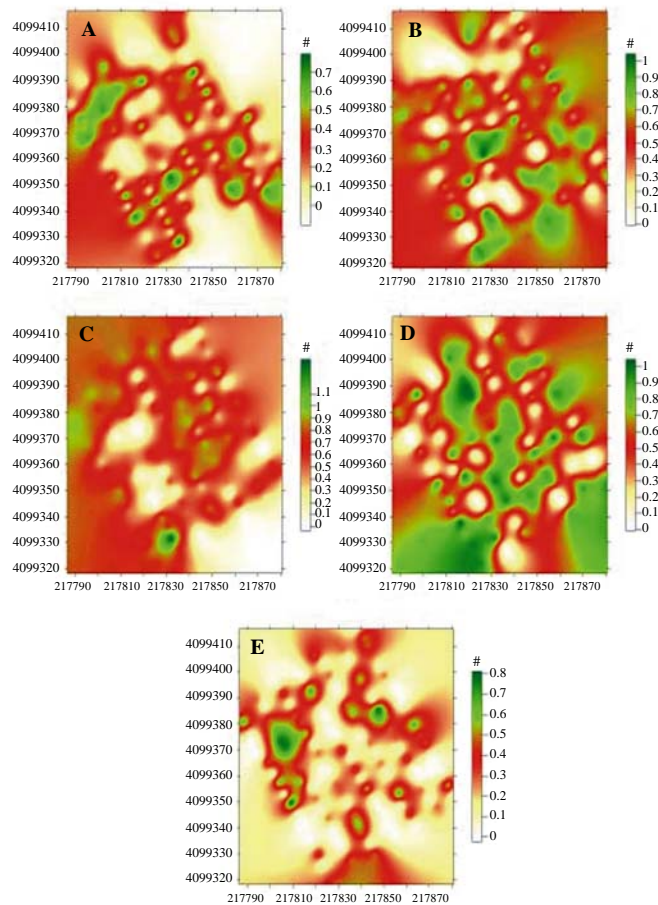


Figura 2. Mapas de densidad de las ninfas de *J. lybica* en las cinco fechas de muestreo de la Parcela con Riego del año 2006. **A** = 27-06, **B** = 25-07, **C** = 30-08, **D** = 27-09 y **E** = 28-10 (# = número de ninfas con datos transformados).

Tabla 3. Comparación de mapas (Krigeados) con la prueba bivariable de Crámer-von Mises (ψ).

Fechas comparadas	ψ	Valor de P
27-06 vs. 25-07	1,88	0,02*
25-07 vs. 30-08	0,53	0,38
30-08 vs. 07-09	0,57	0,72
27-09 vs. 28-10	1,71	0,01

* Valor significativo al 0.05%.

de junio y el 25 de julio ($\psi = 1,88$ y $P = 0,02$) y los muestreos del 27 de septiembre y 28 de octubre ($\psi = 1,71$ y $P = 0,01$). En las restantes comparaciones entre fechas no se detectó diferencia alguna. Las densidades más altas se presentaron en los tres muestreos centrales, situación que permitió detectar una distribución semejante de las ninfas en dichos muestreos.

Evaluación económica y ambiental. En la Tabla 4 se observan los resultados de la superficie infestada y no infestada por parte del mosquito verde. Como se observa en la mencionada tabla, la infestación del insecto plaga nunca cubrió el 100% del área de estudio.

El malatión en polvo al 4% es el insecticida utilizado de forma primordial para el control de las poblaciones del mosquito verde en una dosis de 12 kilos por hectárea, considerando que el kilo tiene un valor de 0,51 céntimos de Euro, una aplicación sobre una hectárea entera tendría un costo de 6,12 Euros. En términos reales el ahorro económico no es muy importante. Este intervalo para las ninfas se encontraría entre 3,05 y 0,97 Euros/ha, con un ahorro promedio de 1,91 Euros/ha (Tabla 5). El ahorro ambiental, sin embargo, resulta muy interesante, ya que se evitaría utilizar una cantidad importante de insecticida al dirigir las medidas sobre zonas específicas. En las ninfas dicho ahorro se hallaría entre 6,05 y 1,95 kilos/ha con 3,80 kilos/ha de ahorro medio. Como se aprecia el ahorro económico es mayor cuando las poblaciones del insecto son más bajas y por lo tanto se han dispersado menos por la parcela experimental.

Discusión

Dentro del área de la estadística espacial es cada vez más común el uso de la Geoestadística como una herramienta de modelación de multitud de fenómenos biológicos (Rossi *et al.* 1992). Uno de los campos más beneficiados es la protección de cultivos donde el conocimiento de la distribución espacial

Tabla 4. Porcentaje de superficie infestada y no infestada.

Fecha	% Infestado	% No infestado
27-06-2006	49,6	50,4
25-07-2006	77,4	22,6
30-08-2006	84	16
27-09-2006	78,6	21,4
28-10-2006	52,8	47,2

de vital importancia para el manejo de plagas, enfermedades y malas hierbas (Liebhold *et al.* 1993).

En este estudio, el nivel de dependencia espacial indica una distribución agregada de las poblaciones de ninfas. El hecho de que las densidades medias de las ninfas fueran altas en todos los muestreos permitió encontrar un tipo de agregación similar en todos los casos. La validación de los semivariogramas correspondientes corrobora la distribución en agregados de las poblaciones de ninfas de este insecto plaga. Cabe señalar, que Brenner *et al.* (1998) encontraron que los valores del efecto pepita en los semivariogramas que elaboraron para las ninfas de *Blattella asahinai*, comprendían entre el 30 y el 63% del valor de la meseta. Dichos valores son similares a los encontrados en los semivariogramas de las ninfas de *J. lybica*.

Además, la validación de los semivariogramas, nos permite tener certeza de que el método de muestreo y la escala de muestreo utilizado en el estudio eran apropiados. En el análisis geoestadístico demuestra ser una herramienta apropiada para el estudio de la distribución espacial de insectos plaga. Los resultados de este trabajo son parecidos a los reportados por Schotzko y O'Keeffe (1989) Liebhold *et al.* (1991) Sciarretta *et al.* (2001) y Blom y Fleischer (2001). Se registró que las densidades medias de ninfas entre las fechas en las cuales no había diferencia significativa eran parecidas y relativamente altas, lo que ocasionó que la distribución de las ninfas fuera similar en estos casos. Solamente a densidades altas se detecta una estructura espacial estable en el tiempo. Dicha estabilidad es de gran importancia para conocer con anticipación probables zonas con infestaciones importantes del insecto.

Por otra parte, en los mapas se apreció claramente que al aumentar la densidad, aumentó de forma general la superficie infestada, lo que resulta lógico al incrementarse la dispersión de las ninfas. Al disminuir la densidad de ninfas en el último muestreo hay un descenso importante de la superficie infestada. La mayor infestación del insecto plaga se localizó en el

Tabla 5. Evaluación económica y ambiental.

Fecha	Costo en AP (€/ha)	Ahorro (€/ha)	Cantidad de insecticida aplicado en AP (K/ha)	Ahorro en insecticida (K/ha)
27-06	3,00	3,05	5,95	6,05
25-07	4,68	1,38	9,27	2,73
30-08	5,08	0,97	10,05	1,95
27-09	4,76	1,30	9,41	2,59
28-10	3,19	2,86	6,32	5,68

área central izquierda en la mayoría de los mapas esto se debió a que las cepas en mejor estado fisiológico se encontraban en esta parte de la parcela, por lo cual, las ninfas se vieron más atraídas hacia dicha zona. Fleischer *et al.* (1999) indican que de forma general la relación existente entre la densidad media de los insectos y la cantidad de centros de agregación se puede apreciar en los mapas de densidad elaborados mediante la técnica del krigado. Entre los trabajos realizados con estadíos preimaginales de insectos en los cuales la relación mencionada haya sido registrada se pueden citar los realizados por Schotzko y O'Keeffe (1989) en un estudio con *Lygus hesperus* (Knight 1917); Liebhold *et al.* (1991) con la polilla gitana; Gribko *et al.* (1995) con la polilla gitana; Weisz *et al.* (1996) con el escarabajo colorado de la papa y Speight *et al.* (1998) con la cochinilla castaña.

Como demuestran los resultados, el mosquito verde no invade el 100% del área que infesta, es decir, la infestación no es uniforme. Un comportamiento similar en otros insectos plaga ha sido reportado por Gribko *et al.* (1995) Magro *et al.* (1999) y Schotzko y Quisenberry (1999). Lo hallado en este estudio abre las puertas a una aplicación dirigida de las medidas de control sobre las áreas que realmente están infestadas con el insecto plaga, lo cual hace factible obtener ahorros económicos y ambientales. Con respecto a lo anterior, considerando en conjunto los resultados de la evaluación económica y ambiental creemos que la reducción de la aplicación de importantes cantidades de insecticidas justifica el uso de las técnicas de la Agricultura de Precisión para controlar las poblaciones de ninfas del mosquito verde en viñedo.

El aumento constante de las densidades conforme pasaron los muestreos parece ser clave en la determinación de la estabilidad espacial y temporal a corto plazo de las poblaciones de ninfas de *J. libyca* según lo apreciado en los mapas elaborados. Al existir una densidad baja en el primer muestreo y al disminuir la densidad en el último muestreo y realizar la comparación respectiva de los mapas, se hace presente una diferencia significativa. Lo anterior señala que las ninfas del insecto presentan estabilidad a densidades altas. Tal estabilidad es de gran relevancia para poder dirigir medidas de control hacia puntos concretos de infestaciones altas.

Conclusiones

En términos de que fue posible establecer el tipo de distribución espacial y los mapas de densidad de las ninfas del mosquito verde, podemos concluir que la aplicación de la Agricultura de Precisión en el manejo de las poblaciones de este insecto plaga es factible; ya que al poder modelar la estructura espacial del insecto y determinar su exacta distribución en los mapas elaborados, es posible dirigir las medidas de control hacia zonas específicas de infestación, lo cual beneficiaría al productor al reducir sus gastos de producción y el impacto nocivo sobre el ambiente. Lo anterior resulta de mayor interés al extrapolar la posibilidad de la aplicación de la Agricultura de Precisión en toda la zona vitícola del Marco de Jerez, España, ya que la reducción en la aplicación de insecticidas innecesarios redundaría en un ahorro económico de cantidades importantes considerando la extensión en hectáreas cultivadas con vid. Asimismo, el ambiente de todo el Marco de Jerez vería reducidos los impactos residuales que los insecticidas provocan.

Literatura citada

- ARMSTRONG, M.; JABIN, R. 1981. Variogram models must be positive-definite. *Mathematical Geology* 13(5): 455-459.
- BLOM, E.; FLEISCHER, S. 2001. Dynamics in the spatial structure of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology* 30 (2): 350-364.
- BRENNER, R.; FOCKS, D.; ARBOGAST, R.; WEAVER, D.; SHUMAN, D. 1998. Practical use of spatial analysis in precision targeting for integrated pest management. *American Entomologist* 79-101.
- CAMBARDELLA, C.; MOORMAN, T.; NOVAK, J.; PARKIN, T.; KARLEN, D.; TURCO, R.; KONOPKA, A. 1994. Field scale variability of soil properties in central Iowa soils. *Soil Science Society of America Journal* 58: 1501-1511.
- CASTELLA, J.; JOURDAIN, D.; TREBUIL, G.; NAPOMPETH, B. 1999. A systems approach to understanding obstacles to effective implementation of IPM in Thailand: Key issues for the cotton industry. *Agriculture Ecosystems and Environment* 72 (1): 17-34.
- ENGLUND, E.; SPARKS, A. 1988. GEO-EAS (Geostatistical Environmental Assessment Software) User's Guide. U.S. Environmental protection agency document EPA/600/4-88/033. Environmental Monitoring Systems Laboratory, Las Vegas, NV, USA.
- FERNÁNDEZ DE BOBADILLA, G. 1956. Viníferas jerezanas y de Andalucía Occidental. I.N.I.A. Madrid. 141 p.
- FLEISCHER, J.; BLOM, E.; WEISZ, R. 1999. Sampling in precision IPM: When the objective is a map. *The American Phytopathological Society* 89 (11): 115-118.
- FREITAS, J.; AMARO, P. 2001. "Explosion" de Cicadelle verte dans la région du Douro au Portugal en juillet/aout 1998. *Integrated Control in Viticulture IOBC wprs Bulletin* 24 (7): 217-219.
- GARCÍA DE LUJAN, A.; PUERTAS, B.; LARA, M. 1990. Variedades de la Vid en Andalucía. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Sevilla. 253 p.
- GRIBKO, L.; LIEBHOLD, A.; HOHN, M. 1995. Model to predict gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) defoliation using kriging and logistic regression. *Environmental Entomology* 24(3): 529-537.
- HALL, D.; CHILDERS, C.; EGER, E.; ALLEN, J. 1997. Citrus rust mite (Acari: Eriophidae) counts on fruit and the negative binomial distribution. *Florida Entomologist* 80 (1): 1-10.
- HEVESI, J.; ISTOK, J.; FLINT, A. 1992. Precipitation estimation in mountainous terrain using multivariate geostatistics. Part. I. Structural analysis. *Journal of Applied Meteorology* 31 (7): 661-676.
- HULBERT, S. 1990. Spatial distribution of the montane unicorn. *Oikos* 58: 257-271.
- ISAAKS, E.; SRIVASTAVA, M. 1988. Spatial continuity measures for probabilistic and deterministic geostatistics. *Mathematical Geology* 20 (4): 313-341.
- ISAAKS, E.; SRIVASTAVA, M. 1989. An introduction to applied geostatistics. Oxford university press, Nueva York. 561 p.
- JOURNAL, A.; HUIJBREGTS, C. J. 1978. Mining geostatistics. Academic Press, London, United Kingdom. 600 p.
- LIEBHOLD, A.; XU ZHANG HOHN, M.; ELKINTON, J.; TICEHURST, M.; BENZON, G.; CAMPBELL, R. 1991. Geostatistical analysis of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) egg mass populations. *Environmental Entomology* 20 (5): 1407-1417.
- LIEBHOLD, M.; ROSSI, E.; KEMP, P. 1993. Geostatistics and Geographic Information Systems in applied Insect Ecology. *Annual Review of Entomology* 38: 303-327.

- LÓPEZ, M. A. 1997. Incidencia de *Kaloterms flavicollis* (Fabr.) (Isoptera: Kalotermitidae) En el Marco de Jerez/ Ensayos de técnicas blandas de control sobre plagas del viñedo. Tesis Doctoral University of Sevilla. 477 p.
- MAGRO, A.; ARAÚJO, J.; HEMPTINNE, L. 1999. Coccinellids (Coleoptera: Coccinellidae) in citrus groves in Portugal: listing and analysis of geographical distribution. Boletín de Sanidad Vegetal - Plagas 25: 335-345.
- MAZZA, S.; CONTRERAS, G.; VIDELA, M.; POLAK, J.; SCHROEDER TANNURE, C. 1996. Técnicas de muestreo para la evaluación de infestación por pulgones (*Aphis gossypii*) en algodón (*Gossypium hirsutum*). Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas SGCYT-UNNE Actas 3 (5): 1-4.
- MAZZONI, V.; COSCI, A.; LUCCHI SANTINI, L. 2001. Occurrence of leaf hoppers (Auchenorrhyncha, Cicadellidae) in three vineyards of the pisa district. Integrated Control in Viticulture IOBC wprs Bulletin 24 (7): 267-271.
- OCETE, R.; LÓPEZ, A.; QUARTAU, J.; PÉREZ, A. 1999. La problemática actual de los Mosquitos Verdes (Homoptera, Cicadellidae) en diversas zonas vitícolas españolas. Viticultura/ Enología profesional 63: 16-20.
- OLIVER, M.; WEBSTER, R. 1990. Statistical methods in soil and land resource survey. Oxford University Press, Oxford. 232p.
- OLIVER, M.; WEBSTER, R. 1991. How geostatistics can help you. Soil use and Management 7 (4): 206-217.
- ROSSI, R.; MULLA, J.; JOURNAL, G.; FRANZ, H. 1992. Geostatistical tools for modeling and interpreting ecological spatial dependence. Ecological Monographs 62 (2): 277-314.
- SAWYER, J. 1989. Inconstancy of Taylor's b: simulated sampling with different quadrat sizes and spatial distributions. Researches on Population Ecology 31: 11-24.
- SCHOTZKO, D.; O'KEEFE, L. 1989. Geostatistical description of the spatial distribution of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae) in Lentils. Journal of Economic Entomology 82 (5): 1277-1288.
- SCHOTZKO, D.; QUISENBERRY, S. 1999. Pea leaf (Coleoptera: Curculionidae) Spatial Distribution in Peas. Environmental Entomology. 28(3): 476-484.
- SCIARRETTA, A.; TREMATERRA, P.; BAUMGÄRTNER. 2001. Geostatistical analysis of *Cydia funebrana* (Lepidoptera: Tortricidae) pheromone trap catches at two spatial scales. American Entomologist 47 (3): 174-184.
- SPEIGHT, M.; HAILS, R.; GILBERT, M.; FOGGO, A. 1998. Horse chestnut scale *Pulvinaria regalis* (Homoptera: Coccidae) and urban host tree environment. Ecology 79 (5): 1503-1513.
- SYRJALA, E. 1996. A statistical test for a difference between the spatial distributions of two population. Ecology 77 (1): 75-80.
- TOLEDO, J. 1992. Mosquitos verdes. Los parásitos de la vid. Estrategias de protección razonada. MAPA-Ediciones Mundi-Prensa. España. Pp. 67-70.
- WEISZ, R.; FLEISCHER, J.; SMILOWITZ, Z. 1996. Site specific integrated pest management for high value crops: Impact on potato pest management. Journal of Economic Entomology 89: 501-509.

Recibido: 4-jul-2008 • Aceptado: 24-oct-2008

Efecto de un bioplaguicida sobre la actividad depredadora de *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae)

Effect of a biopesticide on the predatory activity of *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae)

RICARDO PÉREZ¹, JAVIER GARCÍA-GONZÁLEZ² y ALBA MARINA COTES³

Resumen: Uno de los aspectos a considerar en el desarrollo de un bioplaguicida, es la determinación de su compatibilidad con otros agentes de control dentro de una estrategia de manejo integrado de plagas. Se determinó el efecto de un bioplaguicida con base en el hongo *Lecanicillium lecanii*, desarrollado para el control de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum*, sobre la actividad depredadora de *Delphastus pusillus*. En un primer experimento, se determinó el consumo del depredador sobre ninfas previamente tratadas con el bioplaguicida a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas después de aplicado el producto. En un segundo experimento, se determinó la preferencia de consumo del depredador por presas sanas o infectadas con *L. lecanii*. El consumo de ninfas disminuyó en relación con el aumento en el tiempo de infección de las presas. El mayor consumo se observó en el testigo (ninfas sanas) con un 64,1%, mientras que con presas infectadas a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas el consumo fue de 39,6, 10,3, 11,4, 19,6 y 4,3% respectivamente. El depredador mostró preferencia por las presas sanas con un consumo del 41,0%, frente a un 2,3% de consumo sobre las presas infectadas. Los resultados sugieren que aunque el bioplaguicida puede tener un efecto indirecto sobre el depredador, la combinación de los dos agentes de control biológico puede ser compatible.

Palabras clave: Compatibilidad. Entomopatógeno. *Lecanicillium lecanii*. *Trialeurodes vaporariorum*.

Abstract: One of the aspects to consider in the development of a biopesticide is the determination of its compatibility with other control agents within an integrated pest management strategy. The effect of a biopesticide based on the fungus *Lecanicillium lecanii*, developed for the control of the whitefly *Trialeurodes vaporariorum*, on the predatory activity of *Delphastus pusillus* was determined. In a first experiment, the consumption of nymphs by the predator previously treated with the biopesticide was determined at 0, 24, 48, 72 and 96 hours after application of the product. In a second experiment, the consumption preference by the predator for prey that were healthy or infected with *L. lecanii* was determined. The consumption of nymphs decreased with the increase in time after prey infection. The greatest consumption was observed in the control treatment (healthy prey) with 64.1%, while with infected prey at 0, 24, 48, 72 and 96 hours the consumption was 39.6, 10.3, 11.4, 19.6 and 4.3% respectively. The predator showed a preference for healthy prey with a consumption of 41%, in comparison to 2.3% consumption of infected prey. The results suggest that although the biopesticide can have an indirect effect on the predator, the combination of the two biological control agents could be compatible.

Key words: Compatibility. Entomopathogen. *Lecanicillium lecanii*. *Trialeurodes vaporariorum*.

Introducción

La mosca blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) (Hemiptera: Aleyrodidae), es considerada uno de los insectos plaga más limitantes para la producción agrícola en diferentes regiones del mundo. En Colombia, *T. vaporariorum* es la especie predominante en el trópico alto y en los valles interandinos atacando principalmente cultivos de fríjol, habichuela, tomate y papa (Buitrago 1992; Quintero *et al.* 2001); Oscilando las pérdidas entre un 25 y un 100%, dependiendo de factores de tipo biológico, ambiental y de manejo específico de la plaga (García-González 2003). Frente a esta situación, el control químico es sin lugar a dudas la prin-

cipal, y en ocasiones la única herramienta para la regulación de la plaga (Cardona 1999). Sin embargo, la creciente ineficacia de los plaguicidas empleados para su control ha llevado a los agricultores a la aplicación desmedida de los mismos, incrementando los problemas de resistencia, la contaminación del ambiente y los efectos nocivos sobre la salud humana (Rodríguez y Cardona 2001).

En la búsqueda de alternativas sostenibles para el manejo de las moscas blancas, López-Ávila *et al.* (2001) realizaron el reconocimiento e identificación de enemigos naturales de las especies de mosca blanca de mayor incidencia en las regiones productivas de Colombia y Ecuador. Para *T. vaporariorum*, se reconocieron once especies de enemigos naturales potencia-

¹ Biólogo. Laboratorio de Ecología y Comportamiento de Insectos. Grupo de Manejo Fitosanitario. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica). Centro de Investigación "Tibaitatá", Km 14 vía Mosquera (Cundinamarca). mperez@corpoica.org.co. Autor para correspondencia.

² M. Sc. Ciencias Agrarias. Área de Prevención y Riesgo de Plagas. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) Edificio Cavipetrol, Carrera 13 No. 37-37 Piso 10, Bogotá, D.C. javier.garcia@ica.gov.co.

³ Ph. D. Investigador principal. Laboratorio de Control biológico. C.I., Tibaitatá. Corpoica. acotes@corpoica.org.co.

les, los cuales incluyeron al hongo entomopatógeno *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* (Zimmerman) (Zare y Gams, 2001) y al insecto depredador *Delphastus pusillus* (Le Conte, 1852) (Coleoptera: Coccinellidae).

Estudios posteriores realizados en el programa de manejo integrado de plagas de Corpoica, permitieron el desarrollo de un bioplaguicida con base en el hongo *L. lecanii* para el control de *T. vaporariorum*. Dicho producto ha demostrado su eficacia en campo, alcanzando niveles superiores al 70% en el control de la plaga (Jiménez 2002). Así mismo, se han adelantado estudios con el depredador *D. pusillus* con miras a su utilización dentro de una estrategia de manejo integrado. Este depredador puede alcanzar niveles de consumo sobre el estado de huevo y ninfa de la mosca blanca del 86% y del 25% respectivamente, en un período de 24 horas (García-González 2003).

En algunos casos el empleo de un único agente de control biológico no puede proveer una regulación suficiente o satisfactoria sobre la mosca blanca y por lo tanto, métodos de control adicionales se hacen necesarios (Roselyne 2005; Liu y Stansly 1999). Es así como el control biológico, mediante la utilización combinada de *D. pusillus* con hongos entomopatógenos de las especies *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown y Smith, 1957 y *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912, han demostrado mejorar los niveles de control sobre las poblaciones de la mosca blanca (Wraight *et al.* 1998; Osborne y Landa 1992). Con este panorama, es posible pensar en un programa para el control de la mosca blanca donde se involucre el bioplaguicida y el depredador. No obstante, existe muy poca información relacionada con la compatibilidad entre *L. lecanii* y *D. pusillus*. De este modo, el desarrollo de una estrategia de manejo efectiva, en la cual los dos agentes de control sean integrados, requiere en primera instancia, de un profundo conocimiento de sus interacciones. En esta investigación se evaluaron dos aspectos de la interacción entre el entomopatógeno y el depredador: (1) el efecto de la exposición indirecta del bioplaguicida sobre la capacidad de consumo de *D. pusillus* y (2) la habilidad del depredador para discriminar entre ninfas sanas y ninfas infectadas con *L. lecanii*.

Materiales y Métodos

El trabajo se llevó a cabo en el centro de investigación "Tibaitatá" de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria –Corpoica-, localizado en el municipio de Mosquera (Cundinamarca). El mantenimiento de las colonias de los insectos *T. vaporariorum* y de *D. pusillus* así como la fase experimental, se realizaron en los laboratorios e invernaderos del Programa de Manejo Integrado de Plagas de dicho centro.

Colonias de Insectos. En condiciones de invernadero se mantuvo una colonia de *T. vaporariorum* sobre plantas de fríjol (*Phaseolus vulgaris* L., 1753) variedad ICA-Pijao sembradas en materas. En estas plantas se obtuvieron los diferentes estados de la mosca blanca, los cuales sirvieron de alimento al insecto depredador en el proceso de cría y en los experimentos propuestos.

La colonia de *D. pusillus* se inició con adultos recolectados en cultivos de algodón (*Gossypium hirsutum* L., 1763) del municipio de Espinal (Tolima). Estos adultos se ubicaron por parejas en cajas de Petri que contenían papel absorbente humedecido y trozos de hojas de fríjol infestadas con estados

inmaduros de la mosca blanca. Las hojas se renovaron periódicamente con el fin de retirar las posibles posturas así como para proporcionarle alimento fresco a las parejas de adultos. Una vez emergidas las larvas del depredador, se separaron y ubicaron en nuevas cajas de Petri hasta que alcanzaron el estado adulto. Con los adultos se continuó el ciclo de vida del depredador. La cría de *D. pusillus* se mantuvo a $21 \pm 4^\circ\text{C}$, 50-70% HR y un fotoperíodo de 14:10 h (luz: oscuridad).

Bioplaguicida. La producción del bioplaguicida se realizó en el laboratorio de control biológico de Corpoica según metodología estandarizada por Villamizar y Cotes (2006). El bioplaguicida consiste en un polvo mojable diseñado para reconstituirse en la emulsión resultante de la mezcla de una base autoemulsificable y agua. Dentro del polvo se encuentran los conidios del hongo entomopatógeno, que se aplica para el control de *T. vaporariorum* a una dosis de 1×10^7 conidios/ml. Por su parte, la base autoemulsificable contiene una mezcla de aceite vegetal (80%), tensioactivos (10%) y un agente emulgente (10%), todos ellos inocuos y comúnmente empleados en la industria cosmética y de alimentos. Para garantizar la estabilidad de la emulsión, la base autoemulsificable y el agua se combinan en relación 1:200 (v/v) respectivamente. En su composición el bioplaguicida también incluye un protector solar que absorbe la luz UV y adherentes que le proporcionan protección en el momento de su aplicación en campo. Las ninfas infectadas se obtuvieron con ayuda de un microaspersor aplicando el bioplaguicida directamente sobre las plantas de fríjol infestadas a razón de $0,9 \pm 0,1$ ml de producto por foliolo.

Bioensayos

Efecto del bioplaguicida en la capacidad de consumo de adultos de *D. pusillus*. En cajas de Petri de 6 cm de diámetro se dispuso una capa de agar-agua al 5% y sobre ésta un disco foliar de 2,8 cm de diámetro infestado con ninfas en segundo instar de mosca blanca. Las ninfas se asperjaron con el bioplaguicida para luego suministrarlas al depredador a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas de infección. Previo a la introducción de *D. pusillus*, los adultos se sometieron a un período de ayuno por 24 h, con el fin de estimular el consumo de las presas. Posteriormente, los adultos se introdujeron en las arenas experimentales sobre las ninfas infectadas. Estos tratamientos se compararon con un testigo, que consistió en la liberación del depredador sobre presas asperjadas con agua destilada. El experimento se organizó bajo un diseño completamente aleatorio, con seis tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento.

Transcurridas 24 horas de contacto depredador-presa, los adultos se retiraron y las presas se observaron al estereoscopio para registrar la población total de mosca blanca y la población consumida por el depredador. Las ninfas consumidas por el depredador se diferencian fácilmente de las ninfas vivas por la apariencia blanda y tonalidad transparente (García-González y López-Ávila 1998).

Preferencia de consumo de *D. pusillus* por presas sanas o infectadas con *L. lecanii*. En una misma arena experimental se ubicaron individualmente adultos del depredador con ninfas de mosca blanca en segundo instar dispuestas en dos discos foliares, cada uno de 1,5 cm de diámetro e infestado con 60 ± 5 ninfas. Previo a la introducción de *D. pusillus*, los adultos se sometieron a un período de ayuno por 24 horas, tiempo

después del cual se les suministraron las poblaciones de mosca blanca. Se utilizó un diseño completamente aleatorio con tres tratamientos consistentes en: dos condiciones de no elección (i) los dos discos foliares con ninfas sanas, (ii) los dos discos foliares con ninfas infectadas (96 h de infección), y una condición de elección (iii) un disco foliar con ninfas sanas y el otro con ninfas infectadas (96 h de infección) (Fig. 1). Cada tratamiento se repitió cinco veces. A las 24 horas de suministradas las presas, el depredador se retiró de la arena experimental y se procedió a la observación del material bajo el estereoscopio, donde se registró el número de presas consumidas por *D. pusillus* en cada uno de los discos foliares.

Análisis de la información. En la prueba del efecto del bioplaguicida sobre la capacidad de consumo de *D. pusillus*, los datos se sometieron a un análisis de varianza y a la prueba de comparación de medias de Tukey. En la prueba de preferencia, los datos correspondientes a los porcentajes de consumo se transformaron con arcoseno para posteriormente analizarlos por medio de un diseño jerárquico (anidado). Los promedios obtenidos se compararon con una prueba *t* de una cola con base en las medias ajustadas por mínimos cuadrados. Todos los análisis estadísticos se realizaron empleando el Software SAS versión 8 (SAS Institute 1999).

Resultados

Efecto del bioplaguicida en la capacidad de consumo de adultos de *D. pusillus*. Hubo diferencias altamente significativas entre tratamientos (ANOVA, $F = 20,26$; g.l. = 5, 24; $P < 0,0001$). La prueba de comparación de medias de Tukey determinó diferencias entre el control y los tratamientos donde se aplicó el bioplaguicida. Así mismo, se encontraron diferencias entre el tratamiento donde el depredador se introdujo inmediatamente después de la aplicación del bioplaguicida (0 horas) con los tratamientos donde el depredador se liberó a las 24, 48 y 96 horas después de la aplicación del entomopatógeno. No se encontraron diferencias en el consumo, para los tratamientos donde el depredador se liberó a las 0 y 72 h de la aplicación del bioplaguicida (Fig. 2). En general, se observó reducción en el consumo por parte del depredador con el incremento en el tiempo de infección de las presas. Los mayores consumos se registraron en el control con un 64,1%, mientras que con presas infectadas a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas el consumo correspondió a 39,6%, 10,3%, 11,4%, 19,6% y 4,3%, respectivamente.

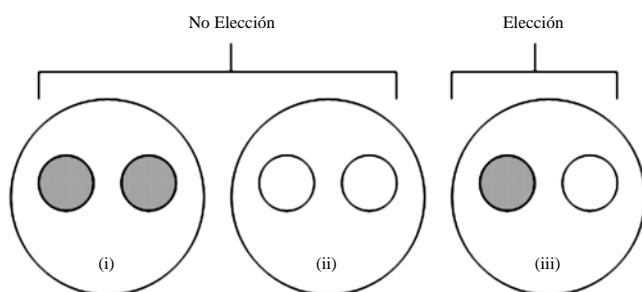


Figura 1. Representación esquemática del experimento para determinar la preferencia de consumo del depredador por presas sanas o presas infectadas con *L. lecanii*. Presas sanas = círculos grises, Presas infectadas = círculos blancos.

Preferencia de consumo de *D. pusillus* por presas sanas o infectadas con *L. lecanii*. Hubo diferencias altamente significativas entre el consumo de ninfas sanas con respecto al consumo de ninfas infectadas (ANOVA, $F = 35,02$; g.l. = 1, 8; $P < 0,0001$). Cuando el depredador se ubicó en la misma arena experimental con ninfas sanas y ninfas infectadas (elección), el consumo de presas sanas fue del 41,0% frente a un consumo del 2,3% en la condición de presas infectadas (Fig. 3). Por otra parte, la prueba *t* no evidenció diferencias significativas en el consumo de presas sanas entre el tratamiento donde se ubicaron únicamente ninfas sanas con respecto al tratamiento donde se ubicaron ninfas sanas y ninfas infectadas ($P = 0,3676$). Esta misma prueba, no detectó diferencias significativas en el consumo de ninfas infectadas entre la condición de elección y no elección ($P = 0,7332$) (Fig. 3). Estos resultados sugieren que el depredador presenta preferencia por el consumo de ninfas sanas en ambientes con posibilidad de escogencia entre ninfas sanas o infectadas. Adicionalmente, un ambiente que combina presas sanas con presas infectadas, no altera el consumo potencial de presas sanas por parte de *D. pusillus*.

Discusión y Conclusiones

Los resultados sugieren que la aplicación del bioplaguicida afecta la capacidad de consumo de presas por *D. pusillus* dependiendo del tiempo de infección por parte del entomopatógeno. Lo anterior concuerda con estudios realizados por Sewify y El Arnaouty (1998) y Wang *et al.* (2005), quienes observaron que la aplicación de *L. lecanii* o sus metabolitos afectaron el consumo de presas de los insectos depredadores *Chysoperla carnea* Stephens, 1836 (Neuroptera: Chysopidae) y *Delphastus catalinae* (Horn, 1895) (Coleoptera: Coccinellidae).

Las diferencias en el consumo de presas entre el control y los tratamientos donde se aplicó el bioplaguicida pueden deberse a efectos de corto y mediano plazo desencadenados por el entomopatógeno durante su proceso de infección de las ninfas de *T. vaporariorum*. En el corto plazo (cero horas de aplicación), la disminución del consumo de presas por *D. pusillus* puede atribuirse a un efecto de repelencia del depredador por las presas tratadas con el bioplaguicida. Dicho efecto se debe entender como una alteración fisiológica en el insecto que se da como resultado del contacto directo con el plaguicida o

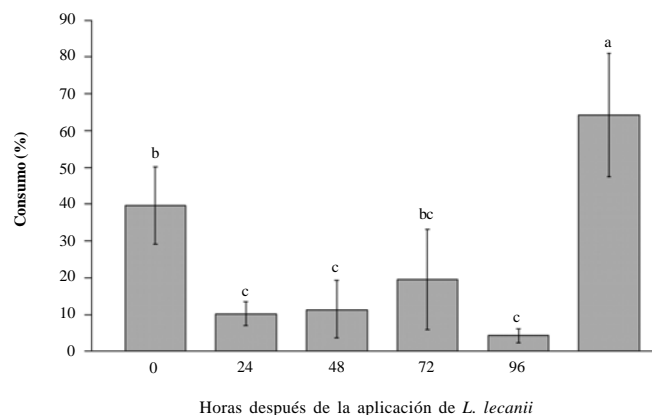


Figura 2. Porcentaje de consumo (media \pm desviación estándar) de adultos de *D. pusillus*, sobre presas tratadas con el bioplaguicida con base en *L. lecanii*. Barras con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

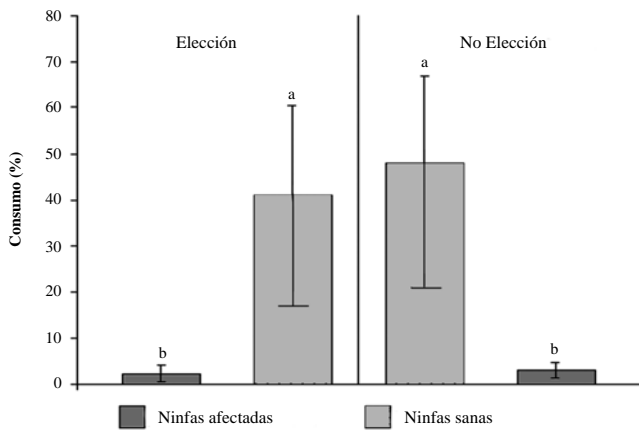


Figura 3. Porcentaje de consumo (media \pm desviación estándar) de adultos de *D. pusillus*, sobre presas sanas e infectadas con *L. lecanii* en condiciones de elección y no elección. Barras con la misma letra no son estadísticamente diferentes (según la prueba *t* de una cola).

con volátiles derivados del mismo y en donde está implicada una evaluación sensorial del insecto entomófago sobre el alimento tratado (Avé 1995). Este tipo de efectos sobre el comportamiento de los insectos ha sido registrado para algunas formulaciones de bioplaguicidas con base en *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 y para los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, 1883 (Avé 1995; Staples y Milner 2000; Meyling y Pell 2006).

En el mediano plazo, la disminución en el consumo de presas podría deberse a una combinación del efecto de repelencia y a la pérdida del reconocimiento que hace el depredador sobre sus presas, debido a las alteraciones físicas y fisiológicas que ejercen los entomopatógenos sobre sus hospederos. En el caso de las presas infectadas con *L. lecanii* existen varias razones que podrían explicar la ausencia de reconocimiento de las presas por *D. pusillus*.

Primero, las ninfas infectadas con *L. lecanii* son visualmente diferentes de aquellas no infectadas por lo que larvas y adultos de coccinélidos podrían percibir estas diferencias (Said *et al.* 1985 citado por Roy *et al.* 2003). Segundo, para algunos coccinélidos el fluido interno de las presas es la señal final para su reconocimiento (Nakamuta 1984 citado por Roy *et al.* 1998). Si la presa es aceptada por el depredador, éste inserta su par de mandíbulas para proceder a consumir el contenido interno de la misma. García-González (1996) observó que las ninfas de mosca blanca infectadas con *L. lecanii* pierden gradualmente su contenido interno; por consiguiente, esta señal de reconocimiento estaría ausente en las presas infectadas.

Tercero, *D. pusillus* depende de la digestión extraoral y es factible que tal digestión sea menos efectiva sobre ninfas infectadas. Tanto larvas como adultos del depredador regurgitan el contenido líquido que van consumiendo dentro de la ninfa para posteriormente seguir consumiendo las sustancias de la misma (García-González y López-Ávila 1998). En este proceso las enzimas digestivas del depredador son introducidas al interior de la presa y el material resultante es succionado. La colonización interna de las ninfas por las hifas del hongo entomopatógeno podrían alterar la actividad de las enzimas digestivas que el depredador libera sobre sus presas, lo que trae como consecuencia un aumento en el tiempo de manipulación de las presas. En este mismo sentido, los estudios de

Pell *et al.* (1997) y Roy *et al.* (1998, 2003) argumentan que áfidos infectados con el entomopatógeno *Pandora neoaphidis* (Remaudière y Hennebert) Humber, 1989, pueden interferir en la digestión extraoral de adultos y larvas del coccinélido depredador *Coccinella septempunctata* L., 1758.

Finalmente, la experiencia previa de un depredador (aprendizaje) también puede influir en su comportamiento de búsqueda, lo mismo que en el tipo y proporción de presas que consume (Begon *et al.* 1996 citado por Obrycki *et al.* 1997). De este modo, los individuos que se alimentan continuamente de una especie particular de presa, podrían acondicionarse a este tipo de presa (Ettifouri y Ferran 1993; Bell *et al.* 2004). Los adultos de *D. pusillus* empleados durante la prueba, se alimentaron sólo con presas sanas antes de la realización del experimento; así ellos podrían haberse acondicionado a este tipo de presa. De otro lado, al analizar el comportamiento de preferencia de consumo de *D. pusillus*, se observó que en ambientes donde el depredador tuvo la oportunidad de escoger entre ninfas sanas o infectadas, hubo un mayor número de presas sanas consumidas. El depredador posiblemente detecta las modificaciones que aparecen en las ninfas infectadas, que le permitirían discriminarlas de las ninfas sanas y en consecuencia rechazarlas como presas. Este resultado es relevante si se tiene en cuenta dos aspectos concernientes a la plaga: 1) La mosca blanca tiene poblaciones con generaciones continuas de tal forma que todos los estados de desarrollo pueden estar presentes simultáneamente en el campo; 2) Los estados de desarrollo de *T. vaporariorum* presentan distinto grado de susceptibilidad a la infección por *L. lecanii* (García-González 1996). De acuerdo con lo anterior, las aplicaciones del bioplaguicida en condiciones de campo no infectarían a todos los individuos de la plaga. Si el depredador tiene la habilidad de discriminar entre ninfas sanas e infectadas, es posible que cause una mortalidad adicional y complementaria a la ocasionada por el bioplaguicida. Comportamientos de selección de presas similares al encontrado para *D. pusillus* han sido descritos para otros coccinélidos. Por ejemplo, Roy *et al.* (2003) observaron que las larvas del depredador *C. septempunctata* no consumieron áfidos infectados con el entomopatógeno *P. neoaphidis*, cuando se les brindó la posibilidad de libre elección entre áfidos sanos e infectados.

En síntesis, los resultados sugieren que la aplicación del bioplaguicida puede tener un efecto indirecto sobre el depredador *D. pusillus*. No obstante, estas interacciones parecen no tener grandes implicaciones para sistemas de producción en condiciones de invernadero o a campo abierto, lo cual puede ser explicado por varias razones. *D. pusillus* se alimenta principalmente del estado de huevo de la mosca blanca, mientras que el bioplaguicida afecta en mayor medida los estados ninfales de la plaga (Fransen 1990; Hoelmer *et al.* 1993; Liu y Stansly 1999; García-González 2003). De esta forma, es posible encontrar un efecto biocontrolador combinado entre los dos agentes si se manejan tiempos adecuados para la liberación del depredador y para la aplicación del bioplaguicida. Adicionalmente, la habilidad del depredador para discriminar entre presas sanas o infectadas podría permitir la distribución de los coccinélidos en áreas no tratadas del cultivo, donde lograría encontrar mayor cantidad de presas sanas. Finalmente, las moscas blancas típicamente infestan cultivos de rápido crecimiento y prefieren las hojas jóvenes para ovipositar (Lenteren y Noldus 1990). La rápida aparición de nuevo follaje y de presas no tratadas puede facilitar la utilización del bioplaguicida junto con *D. pusillus*, en un programa para el control de la

mosca blanca donde se involucren estos dos agentes biológicos.

Agradecimientos

A la Sociedad Colombiana de Entomología (SOCOLEN) por el apoyo otorgado al primer autor como ganador de la "Beca de incentivo a la investigación entomológica en las universidades colombianas", versión 2005. Este trabajo hace parte de los resultados del proyecto "Incorporación de un Bioplaguicida en el manejo integrado de la mosca blanca" financiado por COLCIENCIAS. Los autores del trabajo agradecen a esta entidad el apoyo financiero. A Carlos Espinel, investigador de Corpoica, por su valioso apoyo científico.

Literatura citada

- AVÉ, D. A. 1995. Stimulation of feeding: Insect control agents, pp. 345-363. En: Chapman, R. F.; De Boer, G. (eds.). *Regulatory Mechanism in Insect Feeding*. Chapman & Hall, Inc. New York. U.S.A. 398 p.
- BELL, H. A.; DOWN, R. E.; KIRKBRIDE-SMITH, A. E.; EDWARDS, J. P. 2004. Effect of microsporidian infection in *Lacanobia oleracea* (Lep., Noctuidae) on prey selection and consumption by the spined soldier bug *Podisus maculiventris* (Het., Pentatomidae). *Journal of Applied Entomology* 128 (8): 548-553.
- BUITRAGO, N. 1992. Niveles de resistencia a insecticidas en *Trialeurodes vaporariorum* plaga del fríjol común. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, 99 p.
- CARDONA, C. 1999. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestrales en Colombia y Ecuador: Visión general del problema, pp. 1-13. En: *Memorias seminario moscas blancas y thrips. Un agresivo complejo de plagas agrícolas de fin de milenio. XXVI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología*. Santa Fe de Bogotá. Colombia. 64 p.
- ETTIFOURI, M.; FERRAN, A. 1993. Influence of larval rearing diet on the intensive searching behaviour of *Harmonia axyridis* larvae. *Entomophaga* 38(1): 51-59.
- FRANSEN, J. 1990. Natural enemies of whiteflies: Fungi, pp. 187-211. En: Gerling, D.(ed.). *Whiteflies: Their Bionomics, pest status and management*. Intercept, Ltd., Andover, U.K. 348 p.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, J. 1996. Evaluación de seis cepas nativas de *Verticillium lecanii* (Zimm), Viegas (Deuteromycetes: Moniliales) en el control de la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía. Bogotá. 126 p.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, J. 2003. Estudio de los componentes de depredación para el sistema *Delphastus pusillus* (Le Conte) (Coleoptera: Coccinellidae) y su presa la mosca blanca de los invernaderos *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae). Tesis de grado en M. Sc. en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 108 p.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, J.; LÓPEZ-ÁVILA, A. 1998. Biología y hábitos alimenticios de *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae) depredador de moscas blancas. *Revista Colombiana de Entomología*. Bogotá 24 (3-4): 95-102.
- HOELMER, K.A.; OSBORNE, L.; YOKOMI, R. 1993. Reproduction and feeding behavior of *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae), a predator of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 86 (2): 322-329.
- JIMÉNEZ, L.G. 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 fríjol. Tesis ingeniería agronómica. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 73 p.
- LENTEREN, J.C.; NOLDUS, P.J.J. 1990. Whitefly-plant relationships: Behavioural and ecological aspects, pp. 47-88. En: Gerling, D. (ed.). *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. Intercept, Ltd., Andover, Hants., UK. 348 p.
- LIU, T. X.; STANSLY, P. A. 1999. Searching and feeding behaviour of *Nephaspis oculatus* and *Delphastus catalinae* (Coleoptera: Coccinellidae), predators of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *Environmental Entomology* 28 (5): 901-906.
- LÓPEZ-ÁVILA, A.; CARDONA, C.; GARCÍA, J.; RENDÓN, F.; HERNÁNDEZ, P. 2001. Reconocimiento e identificación de enemigos naturales de moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia y Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (3-4): 137-141.
- MEYLING, N.; PELL, J.K. 2006. Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecological Entomology* 31: 162-171.
- OBRYCKI, J.J.; TAUBER, M.J.; TAUBER, C.A.; RUBERSON J.R. 1997. Prey specialization in insect predators. <<http://ipmworld.umn.edu/chapters/obrycki.htm>>. Fecha última revisión: 1 octubre 1997. Fecha último acceso: [11 noviembre 2005].
- OSBORNE, L.S.; LANDA, Z. 1992. Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomologist* 75 (4): 456-471.
- PELL, J.K.; PLUKE, R.; CLARK, S.J.; KENWARD, M.G.; ALDERSON, P.G. 1997. Interaction between two aphid natural enemies, the entomopathogenic fungus *Pandora neoaphidis* Remaudiere & Hennebert (Zygomycetes: Entomophthorales) and the predatory beetle *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 69: 261-268.
- 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.
- RODRÍGUEZ, I.; CARDONA, C. 2001. Problemática de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestrales en el valle del cauca. *Revista Colombiana de Entomología* 27 (1-2): 21-26.
- ROSELYNE, L. 2005. Intra-guild interactions of the greenhouse whitefly natural enemies, predator *Dicyphus hesperus*, pathogen *Beauveria bassiana* and parasitoid *Encarsia formosa*. Maîtrise en biologie végétale (M.Sc.). Faculté des sciences DE L'agriculture et DE L'alimentation. Université Laval. Québec. Canada. 99 p.
- ROY, H. R.; PELL, J. K.; CLARK, S. J.; ALDERSON, P. G. 1998. Implications of predator foraging on aphid pathogen dynamics. *Journal of Invertebrate Pathology* 71: 236-247.
- ROY, H. E.; ALDERSON, P. G.; PELL, J. K. 2003. Effects of spatial heterogeneity on the role of *Coccinella septempunctata* as an intra-guild predator of the aphid pathogen *Pandora neoaphidis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 82: 85-95.
- SAS INSTITUTE. 1999. SAS Language. Reference. Version 8. Sas Institute. Cary NC.
- SEWIFY, G. H.; EL ARNAOUTY, S. A. 1998. The effect of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas on mature larvae of *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera, Chrysopidae) in the laboratory. *Acta Zoologica Fennica* 209: 233-237.
- STAPLES, J. A.; MILNER, R. J. 2000. A laboratory evaluation of the repellency of *Metarhizium anisopliae* conidia to *Coptotermes lacteus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* 36: 133-148.
- VILLAMIZAR, L. F.; COTES, A. M. 2006. Desarrollo de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* para el control de

- la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum*, pp. 12-13. En: Díaz, A. (ed.). Resumen de investigaciones en el control biológico de las moscas blancas. Publicación Corpoica-Colciencias. Produmedios. Bogotá D.C. Colombia. 20 p.
- WANG, L.; HUANG, J.; YOU, M.; GUAN, X.; LIU, B. 2005. Effects of toxins from two strains of *Verticillium lecanii* (Hyphomycetes) on bioattributes of a predatory ladybeetle, *Delphastus catalinae* (Col., Coccinellidae). *Journal of Applied Entomology* 129 (1): 32-38.
- WRAIGHT, S. P.; CARRUTHERS, R. I.; BRADLEY, C. A.; JARONSKY, S. T.; LACEY, L. A.; WOOD, P.; GALAINI-WRAIGHT, S. 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silver whitefly *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology* 71: 217-226.

Recibido: 18-jun-2006 • Aceptado: 24-sep-2008

Effectiveness of the standard evaluation method for hydraulic nozzles employed in stored grain protection trials

Eficiencia de la evaluación estándar de boquillas hidráulicas utilizadas en experimentos de protección de granos almacenados

JAVIER A. VÁSQUEZ-CASTRO¹, GILBERTO C. DE BAPTISTA²,
CASIMIRO D. GADANHA Jr.³ and LUIZ R. P. TREVIZAN⁴

Abstract: In stored grains, smaller depositions and great variation with respect to theoretical insecticide doses are frequently found. The objective of this work was to study the effectiveness of the standard method (ISO 5682/1-1996) employed to evaluate hydraulic nozzles used in stored corn and wheat grain protection experiments. The transversal volumetric distribution and droplet spectrum of a model TJ-60 8002EVS nozzle were determined in order to calibrate a spraying system for an application rate of 5 L/t and to obtain theoretical concentrations of 10 and 0.5 mg/kg of fenitrothion and esfenvalerate, respectively. After treatment, the corn and wheat grains were processed and deposition was analyzed by gas chromatography. The type of grain did not have any influence on insecticide deposition and was dependent upon insecticide only. The insecticide deposits on the grains only reached 42.1 and 38.2% of the intended theoretical values for fenitrothion and esfenvalerate concentrations, respectively. These results demonstrate the ineffectiveness of the standard evaluation method for hydraulic nozzles employed in stored grain protection experiments.

Key words: Application technology. Volumetric distribution. Insecticide deposition. Chromatography.

Resumen: En los granos almacenados, depósitos inferiores y gran variación en relación a las dosis teóricas de insecticidas aplicadas son frecuentemente encontrados. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la eficiencia del método estándar (ISO 5682/1-1996) utilizado para la evaluación de boquillas de pulverización usadas en experimentos de protección de granos de maíz y trigo. La distribución volumétrica transversal y el espectro de gotas del modelo TJ-60 8002EVS se determinaron con la finalidad de calibrar un sistema de pulverización para aplicar un volumen de aplicación de 5 L/t y obtener una concentración teórica de 10 y 0,5 mg/kg de fenitrotion y esfenvalerato, respectivamente. Después del tratamiento, los granos de maíz y trigo fueron procesados y los depósitos de los insecticidas analizados mediante técnica de cromatografía gaseosa. El tipo de grano no tuvo influencia en el depósito de los insecticidas y dependió apenas del insecticida. Los depósitos en los granos solamente alcanzaron valores de 42,1 y 38,2% de la concentración teórica pretendida de fenitrotion y esfenvalerato, respectivamente. Estos resultados demuestran la ineficiencia del método estándar para la evaluación de boquillas hidráulicas empleadas en experimentos de protección de granos almacenados.

Palabras clave: Tecnología de aplicación. Distribución volumétrica. Depósito de insecticida. Cromatografía.

Introduction

In a storage facility, grains are usually treated on a conveyor belt, where hydraulic nozzles are mounted for this purpose. Under these conditions, smaller depositions and great variations with regard to theoretical insecticide doses are frequently found (Vardell *et al.* 1973; Rowlands 1975; Desmarchelier *et al.* 1987; Redlinger *et al.* 1988; White and Sinha 1990; Acda *et al.* 1994). In order to improve the quality of sprays generated by hydraulic nozzles, a number of systems have been developed under laboratory conditions, but with little success when it comes to solving the above-mentioned problems. Great variation in insecticide deposition on the mass of grains may favor the occurrence of two important biological phenomena. The first is associated with subtoxic amounts of the insecticide, which may stimulate population growth of the pest (hormoligosis) (Kuenen 1958; Luckey 1968; Morse 1998), while the second is associated with high amounts of the chemical compound (resistance), which may favor the survival of highly resistant

individuals whose biological performance in the absence of the insecticide may be just identical to the susceptible strain, resulting in practical complications in the management of this phenomenon (Oliveira *et al.* 2005). In Brazil, failure in the chemical control of *Sitophilus oryzae* (L., 1763), *Sitophilus zeamais* Motsch., 1855 (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* (Fabr., 1792) (Coleoptera: Bostrichidae), *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens, 1831) (Coleoptera: Cucujidae), and *Oryzaephilus surinamensis* (L., 1758) (Coleoptera: Silvanidae) has been reported (Lorini and Beckel 2002). It is possible that an inadequate technology of application may have favored a loss of effectiveness of insecticides used for stored grain protection.

In a spraying system, the nozzle is the most important component, since it is responsible for the flow, generation, and distribution of droplets that will carry the insecticide to the target to be controlled. Knowing the transversal volumetric distribution of the nozzle is highly important in a spray analysis

¹ Prof. Dr. Departamento de Entomología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Universidad s/n, apartado 456, Lima100, Peru. jaque@lamolina.edu.pe.

² Prof. Dr. Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, SP 13418-900, Brazil. gcbaptis@esalq.usp.br.

³ Prof. Dr. Departamento de Engenharia Rural, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, SP 13418-900, Brazil. cdgadanh@esalq.usp.br.

⁴ Postdoctorando. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, SP 13418-900, Brazil. lrrptrevi@esalq.usp.br.

and has been the object of study of several researchers (Roth *et al.* 1985; Debouche *et al.* 2000; Cunha and Teixeira 2001; Womac and Bui 2002). In the evaluation of volumetric distribution of spray nozzles, the International Organization for Standardization has defined clean water as the standard spraying liquid (ISO 5682/1-1996). On the other hand; the physical characteristics of the sprayed liquid can affect the volumetric distribution pattern of the nozzle (Krueger and Reichard 1985), thus compromising field experiments. The objective of this work was to study the effectiveness of the evaluation method employed for hydraulic nozzles used in experiments on the protection of stored grains, as described in the ISO 5682/1-1996 (E) standard.

Material and Methods

Application technology. A twin jet model TJ-60 8002EVS hydraulic nozzle (Spraying Systems Co.) was used for the study. A channeled table (patterner) was used to carry out the spray nozzle transversal volumetric distribution analysis experiments, standardized according to standard ISO 5682/1-1996 (E). The testing table (3.5 m long, 3.0 m wide) has channels spaced at 0.025 m, positioned at a 5% slope. In front of the table, a set of graduated cylinders (250 mL) collects the liquid from each channel. Clean water was used to evaluate the nozzle. The following parameters were evaluated: actual flow and transversal volumetric distribution, at a pressure of 200 kPa and a nozzle height of 0.5 m. The weighting method was used to obtain actual flow, and the volume collected during one minute in a plastic container was weighted in a precision balance. In order to determine transversal volumetric distribution and effective swath width, the nozzle was mounted on the boom and positioned at a 90° angle in relation to the assay table. The collection time was set until one of the graduated cylinders reached a volume of 230 mL. This collection time was used for the three replications.

After the effective swath width was determined, we studied the droplets spectrum. A mobile application system was built containing the nozzle, a manometer, a CO₂ tank, and a tank for the liquid to be applied. Three water-sensitive papers (0.076 m long, 0.026 m wide) were distributed on the extreme and central portions of the previously-defined effective swath width. The same height and working pressure adopted for the assay table were used, at a moving speed of 5 km h⁻¹. After spraying, the water-sensitive papers were collected and analyzed using a computerized image analysis system (Chaim *et al.* 2002), Gotas, version 1.0 (Embrapa Meio Ambiente, São Paulo, Brazil).

Corn and wheat cultivars Sol-da-Manhã and BRS 208 were used, respectively, both developed by Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA - Brazilian Agricultural Research Corporation). In order to determine the mass of grains per unit area, the corn and wheat were spread as a fine layer onto a plastic tarp, covering a 1 m² area, and were then weighed. Mean values of 5.0 and 4.0 kg m⁻² were thus obtained for corn and wheat, respectively. A plastic tarp was placed between the rails and the grains were spread out on the tarp. The swath width where the grains were spread was established based on the transversal volumetric distribution of the nozzle, study performed previously. In order to verify the intended application rate, three glass slides (0.1 m length, 0.05 m width) were placed on the grains for later deposition quantification by means of gas chromatography. Fenitrothion and

esfenvalerate were applied so as to produce theoretical concentrations of 10 and 0.5 mg/kg, respectively, on both types of grain. The commercial product Sumigranplus® (500 g of the a.i. fenitrothion + 25 g of the a.i. esfenvalerate/liter) was used.

During application, the mobile system was moved along the material to be treated; the operational specifications of the nozzle were the same as these in the laboratory tests. The moving speed of the cart was calculated for an application volume of 5 L/t. This spray volume facilitates the treatment and it does not increase the moisture of stored corn and wheat grains in laboratory conditions (Vásquez-Castro *et al.* 2006). Under these conditions, the insecticidal emulsion contained 0.4% of the commercial product. Three replications were made, generating six experimental plots, and two insecticides were analyzed, totaling twelve subplots. The same procedure was adopted for the control treatment, but in this case the spray consisted of water only. The temperature and relative humidity during spray were 26°C and 71%, respectively. The physical properties of the mix were determined after spraying. Surface tension was determined by the burette method, according to the NBR 13241 standard for surface tension determination in agrochemicals (Associação Brasileira de Normas Técnicas 1994). Viscosity was determined with a Brookfield, model LVDV-III Ultra viscometer at 26°C.

Deposition Analysis

Grain. Half an hour after the spray, grains was collected and processed with dry ice. To achieve this, a model TRF70 forage chopper was used. The dry ice was mixed with the grain at a 1:1 ratio prior to grinding, in order to maintain a temperature value that would minimize insecticide degradation during the operation. The analytical method was adapted from Ohlin Ohlin (1998). Homogenized samples (10 g) were placed in Schott bottles (100 mL) for residue extraction. Ethyl acetate (50 mL) and sodium sulfate (10 g) were added and later homogenized in a stirring table for 1 hour at 360 cycles min⁻¹. After this operation, the extracts were centrifuged for 5 min at 2,600 rpm for better separation of the liquid phase from suspension materials. Aliquots of the supernatant (10 mL) were transferred to 12-mL test tubes, corresponding to 2 g of the original sample, and were then added of dodecane (50 µL). The extracts were evaporated in a Turbo-Vap evaporator, in a water bath (30°C) aided by moving air previously dried through a blue silica gel desiccant filter. The insecticide residues were then resuspended in a cyclohexane+ethyl acetate mixture (1+1 by volume) (5 mL), homogenized in a vortex mixer/ultrasound and filtered through a Millipore, FG, 0.2 µm pore membrane filter mounted on a plastic hypodermic syringe (5 mL).

The extracts were cleaned by gel permeation chromatography (GPC) and eluted with a cyclohexane+ethyl acetate mixture (1+1 by volume). After this operation, the extracts were evaporated in a Turbo-Vap evaporator previously added of dodecane (50 µL) and were later resuspended in the cyclohexane+ethyl acetate mixture (1+1 by volume) (20.0 and 1.95 mL) for the fenitrothion and esfenvalerate residues, respectively.

The samples were analyzed by gas chromatography, with a Thermo Electron Corporation, model Finnigan Trace gas chromatograph, equipped with an electron capture detector (ECD, Ni⁶³) and a Restek Corp. RTX-5MS chromatography capillary column (30 m-long, 0.25 mm diameter, and 0.25 µm film thickness), with injections made in the splitless mode. The

chromatograph was operated under the following conditions: column temperature = 100°C (initial); then at 280°C (25°C/min ramp), remaining at this temperature for 10 min; injector temperature = 230°C; detector temperature = 320°C; purge time = 1 min; gas flow (mL/min): H₂ (skidding) = 1.2; N₂ (make up) = 45; and purge flow = 65. Under these conditions, retention time was 6 min and 20 sec for fenitrothion and 10 min and 25 sec for esfenvalerate, approximately. Residue amounts were calculated using the ChromQuest version 4.0 software, by comparing the chromatographic peak heights for the samples against the chromatographic peak heights for the corresponding analytical standards. The analytical method used for corn and wheat grains was validated by means of matrix fortification at the levels of 0.05; 0.5; and 10.0 mg/kg for fenitrothion, and 0.05; 0.1; and 1.0 mg/kg for esfenvalerate, with three replications for each level (nine fortified samples for each matrix). Recoveries between 70-120% were considered acceptable.

Glass slide. Three glass slides were placed into flasks (600 mL). Ethyl acetate (500 mL) was added and the insecticides were later extracted by ultrasound for 15 min. Aliquots (2 mL) were transferred to test tubes (12 mL) and were then added of dodecane (50 µL). The extracts were evaporated in a Turbo-Vap evaporator, in a water bath (30°C) aided by moving air previously dried through a blue silica gel desiccant filter. Later, the insecticide residues were resuspended with the cyclohexane+ethyl acetate mixture (1+1 by volume) (2 mL) and homogenized in a vortex mixer/ultrasound, and then diluted at an extract (1 mL) + cyclohexane+ethyl acetate mixture rate of 1+1 by volume (9 mL). The insecticide depositions on the glass slides were analyzed by gas chromatography, in the same manner as for depositions on the grains.

Statistical analysis. The data were submitted to analysis of variance, using a mathematical model for a completely randomized design in a split-plot arrangement, and the F test was used to evaluate the significance of factors grain type, insecticide, and interactions in the models (Steel and Torrie 1960, Pimentel-Gomes 1987).

Results and Discussion

Application technology. The actual flow of the nozzle with water was 0.66 L/min, 1.5% higher than the nominal flow of 0.65 L/min, according to the information provided by the manufacturer. The variation between actual and nominal flow was within the acceptable limit, since according to the World Health Organization (WHO 1976), the acceptable flow variation limit of a spraying nozzle is $\pm 4\%$ in relation to the nominal flow indicated by the manufacturer. At our working conditions, a total swath width of 0.875 m was obtained, with a coefficient of variation (c.v.) of 41% (Fig. 1). The c.v. was higher than the 7% limit established by the international standard (European Committee for Standardization 1997). Although the flow was in accordance with the international standard, the transversal volumetric distribution showed great variation (Fig. 2), probably due to the presence of irregularities on the tip orifice of the spray. The problem presented above will cause irregular insecticide deposition and consequently the grains will receive under - or overdoses depending on their placement within the total deposition swath, thus compromising insecticide effectiveness and residue studies.

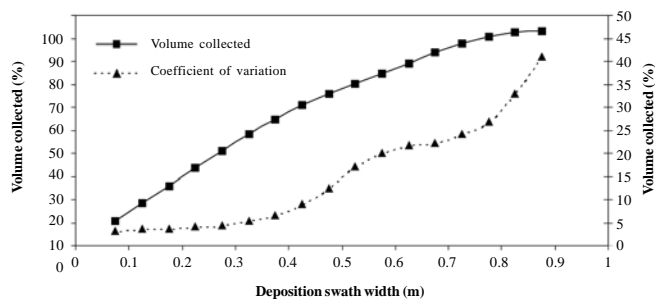


Figure 1. Transversal volumetric distribution of a TJ-60 8002EVS nozzle using clean water during spray.

In order to obtain an insecticidal mix distribution as uniform as possible, and considering that in Brazil a c.v. of up to 10% is acceptable, we calculated effective swath width and c.v. values of 0.425 m and 9%, respectively. Under these conditions, 65% of the sprayed water volume was collected within the effective swath width (Fig. 1). Therefore, the spraying equipment was calibrated to apply a total volume of 7.6 L/t, since 35% of this volume would remain outside the treatment area. Consequently, the grains would receive an effective application volume of 5 L/t as intended. The nozzle flow in the spraying equipment at a pressure of 200 kPa was 0.66 L min⁻¹; this value was very similar to the flow obtained with water in the laboratory test. In this situation, the cart moving speeds were 2.4 and 3.1 km/h for the corn and wheat sprays, respectively. The droplets spectrum for the nozzle under evaluation, working at pressure, height, and moving speed values of 200 kPa, 0.5 m, and 5 km/h, respectively, is presented in Table 1.

Because of the difficulty in determining the droplets spectrum, researchers and nozzle manufacturers frequently refer to the mean volumetric diameter to characterize sprays (Bouse 1994). According to the brochure of the manufacturer, the TJ-60 8002EVS nozzle produces fine droplets at all recommended working pressures; however, in the present study we obtained droplets of sizes between medium and large. The droplet size categories used in this experiment were the same as in the international ASAE (X-572) and BCPC standards. The differences in droplet diameter and consequently in droplet size category were possibly caused by the measurement technique used, since the international standards specify a laser system to evaluate the droplets spectrum. In this work, we

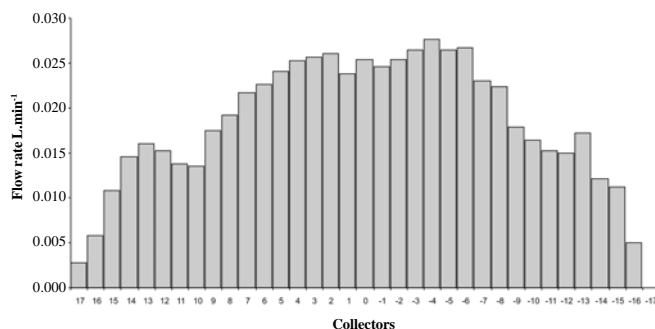


Figure 2. Transversal volumetric distribution pattern of a TJ-60 8002EVS nozzle using clean water during spray.

Table 1. Droplet analysis of TJ-60 8002EVS nozzle using clean water during spray.

Parameters	Position of water-sensitive paper on effective swath width		
	Left	Center	Right
Volume (L ha ⁻¹)	154 ± 17.9	87 ± 13.9	128 ± 18.6
Density (n ⁰ cm ⁻²)	126 ± 12.5	122 ± 5.6	123 ± 12.7
Uniformity	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.0	1.8 ± 0.1
VMD (µm)	378 ± 14.6	320 ± 14.8	363 ± 15.5
NMD (µm)	214 ± 10.6	179 ± 8.5	201 ± 3.0
Coverage (%)	30 ± 2.8	19 ± 2.6	25 ± 3.3

VMD: Volumetric mean diameter. NMD: Numeric mean diameter.

used water-sensitive paper to obtain droplet stains to make diameter measurements at a later time using specific software. Several methods can be used to measure droplets spectrum. In this respect, computing methods have been used quite often (Wolf *et al.* 2000; Wolf 2003, 2005). On the other hand, all computing methods used for droplet measurement take into consideration a spreading factor; in the case of the software used in our study, it was validated (Chaim *et al.* 2002). At the center of the effective swath width, the droplets were smaller when compared with the droplets at the extreme points of the swath. During the droplet formation process, the hydraulic energy of the liquid is transformed into droplet kinetic energy (Amberg and Buttler 1969). One explanation for the results is that larger droplets have greater mass and therefore acquire higher kinetic energy. Consequently, large droplets have a greater capacity to overcome air resistance to horizontal movement, and may travel longer distances when compared with smaller droplets. In the same way, the volume and coverage values at the center of the effective swath width were lower than at the edge. This was probably due to the vortex effect generated by the cart moving at a speed of 5 km h⁻¹; very small droplets would then be dispersed outside the treatment area by the wind turbulence.

Deposition analysis. The insecticide recovery percentages in the fortified corn and wheat grains were acceptable (70-120%), thus validating the analytical method. None of the two insecticides were recovered from the control indicating that the grains were free from contamination by those compounds. The analysis of variance only detected a significant effect ($P < 0.05$) for insecticide (Table 2). This result demonstrates that

neither grain type nor the interaction between grain type and insecticide has an influence on pesticide deposition. Consequently, deposition only depended on insecticide. The fenitrothion deposits were significantly higher than expected than those for esfenvalerate, both on grains and on glass slides (Fig. 3). In spite of the fact that the physico-chemical properties of these insecticides would determine greater esfenvalerate stability, more fenitrothion was recovered. The greater recovery of fenitrothion was due to the higher sensitivity of the chromatograph detector to this molecule. On the other hand, the depositions of both insecticides were always higher on the glass slides when compared with depositions on the grains. Probably, some spray droplets reached the plastic tarp through the empty spaces between the grains, resulting in lower depositions than those intended. Nevertheless, the analytical procedure for grains is much more complex than for the glass slides, and some degree of insecticide loss occurred in the agronomic matrix.

Deposition values on the glass slides of only 59 and 55% of the intended fenitrothion and esfenvalerate dosages were obtained, respectively. Despite our detailed study on the application method, insecticide depositions were lower than planned, and approximately 40% of the insecticidal spray did not reach the area that should have been treated. Surface tension and viscosity in the insecticidal mix reached values of 35.47 mN/m and 1.82 mPa.s, respectively. The mix surface tension value corresponded to 49% of the water surface tension value (71.97 mN/m). Conversely, mix viscosity was 82% higher than water viscosity (1.0 mPa.s). Clean water was used during spray in the hydraulic nozzle evaluation, as prescribed by the international standard, and the results obtained in this test were useful to calibrate the application system.

Table 2. F test probability descriptive levels for the analysis of variance of insecticide deposition on corn and wheat grains and on corresponding glass slides.

Cause of variation	Degrees of freedom	Insecticide deposition	
		Grain	Glass slides
		Pr > F	
Grain type	1	0.9730	0.3283
Insecticide	1	0.0025	0.0041
Grain type × Insecticide	1	0.5979	0.2580
Mean (%)	-	40.17	57.14
Coefficient of Variation (%)	-	2.51	2.26

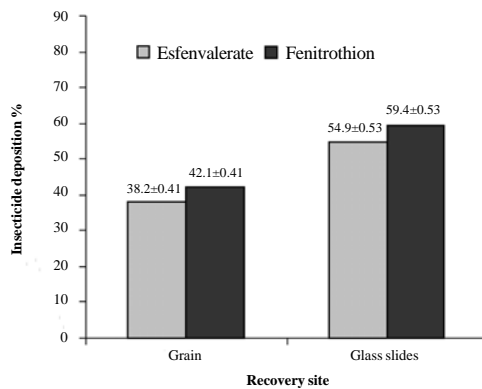


Figure 3. Mean \pm SEM insecticide deposition on glass slides and grain, by active ingredient.

The extrapolation of the data generated with the application of water for the application of insecticidal mix was the major reason for obtaining deposition values lower than expected, because the physical characteristics of the mix might have changed the volumetric distribution pattern of the nozzle. In this regard, differences in the volumetric distribution pattern of flat-fan nozzles have been observed when different types of mixes were used, including water, particularly at low pressure values (Butler Ellis and Tuck 1999). The influence of the spraying mix physical properties on the volumetric distribution pattern and droplet spectrum generated by agricultural nozzles is not yet completely understood, especially in stored grain protection studies, in which low spraying volumes are used and mixes are highly concentrated. The results herein reported demonstrate that using the standard evaluation method for hydraulic nozzles (ISO 5682/1-1996) employed in insecticide effectiveness and residue experiments on stored grains is not viable. Therefore, it is recommended that the insecticidal mix be used to evaluate the volumetric distribution pattern and droplets spectrum of hydraulic nozzles, with later calibration of the spraying system using this information.

Acknowledgements

The authors thank Carlos Eduardo Longatti for logistic support, and Arlei Coldebella, Ph.D., for the statistical analysis.

Cited literature

- ACDA, M. A.; SAYABOC, P. B.; GIBE, A. G.; GRAGASIN, C. B. 1994. Trials of grain protectants on stored maize under Philippine conditions, pp. 729-733. In: Highley E.; Wright, E. J.; Banks, H. J.; Champ, B. R. (eds.). Proc. 6th Int. Working Conference of Stored Products Protection, Canberra, Australia. CAB International, Wallingford, UK.
- AMBERG, A. A.; BUTTLER, B. J. 1969. High speed photography as tool for spray droplet analysis. ASAE Paper No. 69-140. St. Joseph, Mich. ASAE.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. 1994. Agrotóxico - Determinação da tensão superficial - Método de ensaio. NBR 13241. Rio de Janeiro, 2 p.
- BOUSE, L. F. 1994. Effect of nozzle type and operation on spray droplet size. Transactions of the ASAE 37: 1389-1400.
- BUTLER ELLIS, M. C.; TUCK, C. R. 1999. How adjuvants influence spray formation with different hydraulic nozzles. Crop Protection 18: 101-109.

- CHAIM, A.; PESSOA, M. C. P. Y.; NETO, J. C.; HERMES, L. C. 2002. Comparison of microscopic method and computational program for pesticide deposition evaluation of spraying. Pesquisa Agropecuária Brasileira 37: 493-496.
- CUNHA, J. P. A. R.; TEIXEIRA, M. M. 2001. Características técnicas de bicos de pulverização hidráulicos de jato plano. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental 5: 344-348.
- DEBOUCHE, C.; HUYGHEBAERT, B.; MOSTADE, O. 2000. Simulated and measured coefficients of variation for the spray distribution under a static spray boom. Journal Agricultural Engineering Research 76: 381-388.
- DESMARCHELIER, J.; BENGSTON, M.; DAVIES, R.; ELDER, B.; HART, R.; HENNING, R.; MURRAY, W.; RIDLEY, E.; RIPP, E.; SIERAKOWSKI, C.; STICKA, R.; SNELSON, J.; WALLBANK, B.; WILSON, A. 1987. Assessment of the grain protectants chlorpyrifos-methyl plus bioresmethrin, fenitrothion plus (1R)-phenothrin, methacryfos and pirimiphos-methyl plus carbaryl under practical conditions in Australia. Pesticide Science 20: 271-288.
- EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. 1997. Agricultural and forestry machinery - Sprayers and liquid fertilizer distributors - Environmental protection - Part2: Low crop sprayers - prEN 12761 - 2: 1997. Bruxelles, CEN. 17 p.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. 1996. Equipment for crop protection - Spraying equipment - Part 1: Test methods of sprayer nozzles, ISO 5682/1-1996 (E), pp. 1-18, Switzerland.
- KRUEGER, H.R.; REICHARD, D.L. 1985. The effect of formulation and pressure on spray distribution across the swath with hydraulic nozzles. ASTM special technical publication 875.
- KUENEN, D.J. 1958. Influence of sublethal doses of DDT upon the multiplication rate of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae). Entomologia Experimentalis et Applicata 1: 147-152.
- LORINI, I.; BECKEL, H. S. 2002. Mecanismo de resistência das pragas em grãos armazenados. p. 555-568. In Lorini, I.; Miike, L.H.; Scussel, V.M. (eds.) Armazenagem de grãos. Instituto Bio Genézis. Campinas. Brazil. 983 p.
- LUCKEY, T. D. 1968. Insecticide hormoligosis. Journal of Economic Entomology 61: 7-12.
- MORSE, J. G. 1998. Agricultural implications of pesticide-induced hormesis of insects and mites. Human & Experimental Toxicology 17: 266-269.
- OHLIN, B. 1998. A capillary gas chromatography multi-residue method for the determination of pesticides in cereals and cereal products. In: National Food Administration. Pesticide analytical methods in Sweden. Uppsala. pt. 1., pp. 75-86.
- OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, R. N. C.; CORRÊA, A. S.; DAMASCENO, B. L.; SANTOS, C. T. 2005. Pyrethroid resistance vs susceptibility in *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae): Is there a winner? Neotropical Entomology 34: 981-990.
- PIMENTEL-GOMES, F. 1987. Curso de Estatística Experimental. Livraria Nobel, São Paulo. 466 p.
- REDLINGER, L. M.; ZETTLER, L.; DAVIS, R.; SIMONAITIS, R. A. 1988. Evaluation of pirimiphos-methyl as a protectant for export grain. Journal of Economic Entomology 81: 718-721.
- ROTH, L. O.; WHITNEY, R. W.; KUHLMAN, D. K. 1985. Application uniformity and some non-symmetrical distribution patterns of agricultural chemicals. Transactions of the ASAE 28: 47-50.
- ROWLANDS, D. G. 1975. The metabolism of contact insecticides in stored grains. III. 1970-1974. Residue Review 38: 113-155.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J.H. 1960. Principles and procedures of statistics - with special reference to the biological sciences. McGraw-Hill, New York, 481 p.

- VARDELL, H. H.; GILLENWATER, H. B.; WHITEN, M. E.; CAGLE, A.; EASON, G.; CAIL, R. S. 1973. Dichlorvos degradation on stored wheat and resulting milling fractions. *Journal of Economic Entomology* 66: 761-763.
- VÁSQUEZ-CASTRO, J. A.; DE BAPTISTA, G. C.; GADANHA J. R., C. D.; TREVIZAN, L. R. P. 2006. Effect of spray volume on the moisture of stored corn and wheat grains, pp. 1131-1135. In: Lorini, I.; Bacaltchuk, B.; Beckel, H.; Deckers, D.; Sundfeld, E.; dos Santos, J. P.; Biagi, J. D.; Celaro, J. C.; Faroni, L.R.D'A.; Bortolini, L. de O. F.; Sartori, M. R.; Elias, M. C.; Guedes, R.N.C.; da Fonseca, R. G.; Scussel, V. M. (eds.). *Proc. 9th Int. Working Conference of Stored Products Protection*, Campinas, Brazil, ed. ABRAPOS, Sao Paulo, Brazil.
- WHITE, N. D. G.; SINHA, R. N. 1990. Effect of chlorpyrifos-methyl on oat ecosystems in farm granaries. *Journal of Economic Entomology* 83: 1128-1134.
- WOLF, R. E. 2003. Assessing the ability of Dropletscan to analyze spray droplet from a ground operated sprayer. *Applied Engineering in Agriculture* 19: 525-530.
- WOLF, R. E. 2005. Comparing downwind spray droplet deposits of four flat fan nozzle types measured in a wind tunnel and analyzed using Dropletscan software. *Applied Engineering in Agriculture* 21: 173-177.
- WOLF, R. E.; WILLIAMS, W. L.; GARDISSER, D. R.; WHITNEY, R. W. 2000. Using "DropletScan" to analyze spray quality. *ASAE Paper No MCOO-105*. St. Joseph, Mich.: ASAE. 6 p.
- WOMAC, A. R.; BUI, Q. D. 2002. Design and test of a variable-flow fan nozzle. *Transactions of the ASAE* 45: 287-295.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1976. *Material de lucha contra los vectores*. Genève, WHO, 186 p.

Recibido: 24-ago-2007 • Aceptado: 9-ago-2008

Sección Médica

Evaluación de Temephos 50% CE sobre poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en Trujillo, Venezuela

Evaluation of Temephos 50% CE on populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Trujillo, Venezuela

LESLIE ÁLVAREZ GONZÁLEZ¹, MILAGROS OVIEDO ARAÚJO² y ARELIS BRICEÑO AZUAJE³

Resumen: El estado Trujillo de la región andina de Venezuela es considerado de alta casuística por dengue, además de coexistir con otras enfermedades metaxénicas como leishmaniasis, malaria y enfermedad de Chagas. El programa nacional de control de dengue contempla el uso de temephos como principal larvicida por lo que el objetivo de este estudio, fue determinar las concentraciones letales 50 y 95 para temephos 50% CE en poblaciones de *Aedes aegypti* procedentes de diferentes focos de alta endemicidad por dengue en el estado Trujillo. Se seleccionaron cuatro poblaciones (TE, HTO, PTO y MT) recolectadas a lo largo de un transecto en dirección noreste-sureste de la ciudad de Trujillo y evaluadas siguiendo la metodología de la OMS. Los valores de las CL_{50} para las cuatro poblaciones oscilaron entre 0,0031 ppm y 0,0317 ppm y para las CL_{95} entre 0,0170 ppm y 0,0567 ppm. Las poblaciones HTO, PTO y TR se comportaron de manera similar observándose en ellas valores hasta diez veces por encima de los encontrados con la población de referencia. La distribución espacial de estas tres poblaciones y la influencia del relieve de la ciudad, facilita el intercambio genético entre ellas, lo que sugiere realizar monitoreos continuos.

Palabras clave: Control dengue. Larvicida. Bioensayos con plagas. Concentraciones letales.

Abstract: Trujillo state, located in the Andean region of Venezuela, is considered to have a high incidence for dengue, besides coexisting with other tropical diseases such as leishmaniasis, malaria, and Chagas disease. The national program of dengue control includes the use of Temephos as the main larvicide, therefore the purpose of this study was to determine the lethal concentrations 50 and 95 to 50% temephos CE in *Aedes aegypti* populations from different centers of high dengue endemicity in Trujillo state. Four populations were selected (TE, HTO, PTO and MT), collected along a transect in the northeast-southeast direction of the city of Trujillo and evaluated following the WHO methodology. The LC_{50} values for the four populations ranged between 0.0031 and 0.0317 ppm, and the LC_{95} values between 0.0170 and 0.0567 ppm. The HTO, PTO and TR populations were similar, showing values up to ten times higher than those found in the reference population. The spatial distribution of these three populations and the topography of the city facilitate genetic exchange among them, which suggests performing continuous monitoring.

Key words: Dengue control. Larvicide. Pest bioassays. Lethal concentrations.

Introducción

La Organización Panamericana de la Salud (2005) refiere una amplia distribución de dengue y dengue hemorrágico en las Américas ya que en 27 países han sido reportados casos y en 14 de ellos circulan dos o tres serotipos simultáneamente, siendo Venezuela el segundo país de mayor notificación. Según cifras oficiales 77.269 casos de dengue fueron reportados hasta la semana epidemiológica No. 50 del año 2007, de los cuales 6.154 fueron hemorrágicos observándose un incremento de 93,9% con respecto a los casos registrados para la fecha durante el año 2006, cuando se reportaron 39.860 casos. Las entidades federales con el mayor número de casos reportados fueron: Zulia (18.405), Miranda (5.584), Guárico (4.938), Anzoátegui (4.419), Mérida (3.979), Lara (3.945), Aragua (3.673), Distrito Capital (3.509), Apure (2.851), Trujillo (2.806) y Carabobo (2.790) (MPPS 2007).

Los programas de control de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) a nivel nacional se han basado en el control larval con temephos y el control de adultos con malatión, detectándose en 1995 en los estados Aragua (región centro-norte del país) y

Falcón (noroccidente) poblaciones resistentes a ambos insecticidas (Mazzarri y Georghiou 1995). En poblaciones del estado Aragua, Pérez y Fernández (2001) señalan además resistencia a los piretroides de nueva generación: lambdacialotrina, cyflutrina y deltametrina.

En los valles altos interandinos del estado Trujillo, a pesar de la casuística relevante de la enfermedad, pocos estudios han sido realizados sobre la biología y comportamiento de este vector frente a los insecticidas en uso. Recientemente, Álvarez *et al.* (2006) en un estudio sobre la respuesta de *A. aegypti* al temephos, encuentran un FR_{50} de 6,3 X para una población de la ciudad capital sugiriendo según criterios de la OMS (1981) resistencia al larvicida. Los valores de la pendiente de la recta de regresión dosis-respuesta indicaron una homogeneidad de la población frente al tóxico. Estos hallazgos sugieren la necesidad de monitorear otras poblaciones de esta especie en la ciudad capital. El objetivo de este estudio, fue determinar las concentraciones letales 50 y 95 para temephos 50% CE en poblaciones de *A. aegypti* procedentes de diferentes focos de alta endemicidad por dengue en el estado Trujillo, región andina de Venezuela.

¹ M. Sc. en Protozoología. Investigador. Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba". Núcleo Universitario "Rafael Rangel". Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. Teléfono (58) 2722362177. hleslieag@hotmail.com, lesliejj@ula.ve. Autor para correspondencia.

² Dra. en Ciencias Entomológicas. Investigador. Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba". Núcleo Universitario "Rafael Rangel". Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. Teléfono (58) 2722362177. longipalpis@cantv.net.

³ Licenciada en Educación Integral - Biología. Técnico en Entomología. Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba". Núcleo Universitario "Rafael Rangel" Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. arelis_briceño@hotmail.com.

Materiales y Métodos

Área de estudio. De la ciudad capital del estado Trujillo ($9^{\circ}25'00''$ N, $70^{\circ}25'00''$ W), región de los andes de Venezuela, se seleccionaron cuatro sectores a lo largo de un transecto desde los 475 msnm hasta 1.014 msnm en dirección noreste-sureste (Fig. 1). Estos sectores, según la Dirección Regional de Epidemiología y Estadística Vital del Estado Trujillo, son los de mayor casuística.

Para el trabajo se utilizaron cinco cepas de *A. aegypti*: 1. ROCKEFELLER, cepa de referencia susceptible donada por el Centro de Control de Enfermedades (CDC) de San Juan de Puerto Rico, 2. MUSABAST (MT), sector urbano al sureste de la ciudad de Trujillo a una altitud de 1.014 msnm a $9^{\circ}21'46''$ N, $70^{\circ}26'24''$ W, con zona de vida de bosque seco premontano, temperatura promedio de $19,4^{\circ}\text{C}$ según Holdridge (1967), perteneciente a la demarcación político-territorial parroquia Chiquinquirá con 14 casos de dengue, para una tasa de $14,83 \times 10.000$ habitantes, para la semana epidemiológica No. 43 del año 2007, 3. PARAMITO (PTO), sector urbano adyacente al centro de la ciudad de Trujillo, a una altitud de 771 msnm a $9^{\circ}22'29''$ N, $70^{\circ}26'04''$ W, con $19,4^{\circ}\text{C}$ de temperatura media anual en un bosque seco premontano, parroquia Cristóbal Mendoza con 44 casos y una tasa de $28,76 \times 10.000$ habitantes, 4. HATICOS (HT), sector urbano al noreste de la ciudad de Trujillo a una altitud de 601 msnm a $9^{\circ}23'32''$ N, $70^{\circ}25'46''$ W, con zona de vida bosque húmedo premontano, temperatura promedio de $21,5^{\circ}\text{C}$, parroquia Cristóbal Mendoza, 5. TRES ESQUINAS (TE), urbanización al noreste de la ciudad capital con una altitud de 472 msnm a $9^{\circ}25'48''$ N, $70^{\circ}26'51''$ W y

temperatura media de $21,5^{\circ}\text{C}$, en un bosque húmedo premontano, parroquia Tres Esquinas, en la cual se han registrado 12 casos de dengue clásico y 1 de dengue hemorrágico, con una tasa de $28,11 \times 10.000$ habitantes.

Las cepas fueron obtenidas a partir de estadios inmaduros recolectados en depósitos y envases de almacenamiento de agua de consumo de los diferentes sectores de Trujillo capital y la cepa Paramito en floreros del cementerio principal. Las colonias fueron establecidas y mantenidas en el insectario del Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba" del Núcleo "Rafael Rangel" de la Universidad de los Andes, Venezuela, bajo condiciones controladas de temperatura $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 65 % de humedad relativa. Los bioensayos fueron realizados una vez obtenida la F2. El insecticida temephos 500-E, 50% CE, fue suministrado por la Dra. Darjaniva Molina del Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldón", Maracay-Venezuela.

Bioensayos. Los bioensayos se llevaron a cabo siguiendo la metodología sugerida por la Organización Mundial de la Salud (WHO 1981). Se realizaron cinco réplicas de cinco concentraciones de temephos, que causarían entre 2 y 98% de mortalidad; utilizando para cada una de ellas 20 larvas de IV estadio temprano ajustando a un volumen final de 1 ml con acetona. Este bioensayo se repitió en tres ocasiones para monitorear un total de 1.500 larvas por cada cepa. Paralelamente en cada bioensayo un grupo control fue llevado tratándolo solo con acetona, la cual no causa mortalidad en las larvas. Las mortalidades registradas luego de 24 horas fueron



Figura 1. Ubicación geográfica de las cuatro localidades en la ciudad de Trujillo-Venezuela.

Tabla 1. Concentraciones letales 50 y 95 en larvas de *Aedes aegypti* de cuatro localidades de la ciudad de Trujillo-Venezuela frente al larvicida temephos.

Cepas	CL ₅₀ (ppm) IC	CL ₉₅ (ppm) IC	b (+/- DS)
Rockfeller	0,0050 0,0048- 0,0052	0,0092 0,0087-0,0099	6,17 (0,37)
Haticos (HT)	0,0224 0,0203 - 0,0244	0,0567 0,0459- 0,0824	4,08 (0,61)
Tres Esquinas (TR)	0,0229 0,0214 - 0,0245	0,0524 0,0445- 0,0663	4,59 (0,51)
Musabast (MT)	0,0031 0,0027- 0,0035	0,0170 0,0143- 0,0239	2,49 (0,22)
Paramito (PTO)	0,0317 0,0309- 0,0326	0,0517 0,0473- 0,0588	7,71 (0,74)

DS: Desviación estándar, IC: Intervalos de confianza P = 0,05, b: pendiente.

analizados con el programa probit-log (Raymond 1985) para calcular las concentraciones letales 50 (CL₅₀) y 95 (CL₉₅).

Resultados

Las concentraciones letales 50 para las cuatro poblaciones de *A. aegypti* oscilaron entre 0,0031 ppm y 0,0317 ppm lo que sugiere una respuesta diferente al larvicida en las mismas, observándose el valor más alto en la cepa procedente de la localidad PTO (0,0317 ppm). Los valores de las concentraciones letales 95 oscilaron entre 0,0170 ppm y 0,0567 ppm (Tabla 1).

Al evaluar las pendientes de las rectas de regresión dosis-mortalidad podemos observar una respuesta homogénea al insecticida en la cepa PTO (7,71), a diferencia de las cepas HTO, MT y TE cuyas pendientes fueron menores, mostrando un comportamiento heterogéneo frente al larvicida. El efecto tóxico del temephos 50% sobre la cepa MT fue mayor que el ejercido sobre las demás cepas, incluyendo la cepa de referencia, a juzgar por los valores de las concentraciones letales 50 y 95.

Discusión

Los valores de las concentraciones 50 y 95 para las cepas HTO, PTO y TR nos indican que estas poblaciones deberían ser continuamente monitoreadas ya que la continua presión de selección con este larvicida pudiera generar resistencia por ser el único químico empleado por los entes gubernamentales para el control larval de *A. aegypti*. A esto pudiéramos agregar la distribución espacial de las poblaciones y la influencia de las características orográficas de tipo relieve de la ciudad que facilitarían el intercambio genético entre las mismas.

Entre las poblaciones PTO y HT existe una distancia de 2.800 m, sin barrera natural desde el punto de vista relieve y entre estas dos poblaciones y la población TR aunque hay una barrera natural "Montaña Tucutu", la dirección de los vientos norte-sur favorecería el intercambio genético entre ellas. En contraste, en la población MT la mortalidad frente al temephos fue mayor; la cual se encuentra naturalmente separada de las otras poblaciones por tres barreras orográficas como los son las montañas: "San Isidro", "Santa María" y "La Guaira", además del centro de la ciudad; aunado a éstas la influencia de los

vientos que se desplazan en dirección contraria podría estar limitando el flujo génico entre esta población y las otras tres poblaciones.

El alto valor de la concentración letal cincuenta encontrado en la población de *A. aegypti* de la localidad del Paramito pudiera explicar la alta casuística para dengue en los habitantes de este sector (44 casos, para una tasa 28,76 por 10.000 habitantes) en comparación con la casuística reportada en Musabast (tasa de 14,83 por 10.000 habitantes) y cuyo valor para este parámetro fue aproximadamente 10 veces menor.

Siendo el fenómeno de la resistencia de *A. aegypti* al temephos un hecho reportado en varios países de América y en varias entidades federales dentro de un mismo país (Mazzari y Georghiou 1995; Bisset *et al.* 2001; Campos y Andrade 2001) se sugiere el monitoreo de las poblaciones con otros controladores larvales, Pyriproxifen y BTI entre otros, que pudieran servir como medidas alternativas para el control de *A. aegypti* y de esta manera retardar la aparición de resistencia en otras poblaciones que aun conservan susceptibilidad al temephos.

Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de los Andes, Venezuela Proyecto Código C-339-03-03-C. Al igual que agradecen al Comité de Árbitros de la Revista Colombiana de Entomología por la evaluación y crítica del manuscrito.

Literatura citada

- ÁLVAREZ, L.; BRICEÑO, A.; OVIEDO, M. 2006. Resistencia al Temephos en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del occidente de Venezuela. Revista Colombiana de Entomología 32 (2): 172- 175.
- BISSET, J.; RODRIGUEZ, M.; MOLINA, D., DIAZ, C.; SOCA, A. 2001. Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. Revista Cubana de Medicina Tropical 53 (1): 37-47.
- CAMPOS, J.; ANDRADE, C. 2001. Larval susceptibility to chemical insecticides of two *Aedes aegypti* populations. Revista Saúde Pública 35 (3): 232-236.

- HOLDRIDGE, L. R. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center. San José. C.R. 200 p.
- MAZZARRI, M.B.; GEORGHIU, G.P. 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. *Journal of the American Mosquito Control Association* 11 (3): 315-322.
- MINISTERIO DEL PODER POPULAR PARA LA SALUD. 2007. Boletín Epidemiológico No. 50. <<http://www.mspas.gob.ve>>. Fecha último acceso: [30 Junio 2008].
- PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. 2005. Number of reported cases of dengue and dengue hemorrhagic fever (DHF), Region of the Americas (by country and subregion). Washington, D.C.: PAHO; <<http://www.paho.org/spanish/ad/ppc/cd/dengue.htm>>. Fecha último acceso: [27 diciembre 2007].
- PÉREZ, E. E.; FERNÁNDEZ, M. D. 2001. Resistance of *Aedes aegypti* to pyretroides in municipalities of Aragua state, Venezuela. En Clark, G.; Quiroz, M. H. Mosquito control and biology in Latin America an eleventh symposium. *Journal of the American Mosquito Control Association* 17 (3): 166-180.
- RAYMOND, M. 1985. Presentation d' un programme d'analyse log-probit pour microordinateur cahiers Orstrom série Entomologie médicale et Parasitologie 23 (2): 117-121.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Unpublished document. WHO/VBC. 81.807. 6 p.

Recibido: 6-mar-2008 • Aceptado: 24-ago-2008

Ácaros (Arachnida: Acari) asociados con moscas Calliphoridae (Diptera: Oestroidea) en tres localidades de Panamá

Mites (Arachnida: Acari) associated with Calliphoridae flies (Diptera: Oestroidea) at three localities in Panama

ROBERTO MIRANDA¹ y SERGIO BERMÚDEZ²

Resumen: Se informa el hallazgo de 54 ácaros adheridos a 23 ejemplares de moscas Calliphoridae, en tres sitios boscosos de Panamá. Los ácaros correspondieron a adultos de las especies *Ancistrocheles bregetovae* y *Macrocheles* spp. (Macrochelidae), larvas de *Leptus* spp. (Erythraeidae) y deutoninfas de *Myianoetus* sp. (Histiotomatidae). Se reporta por primera vez la asociación parasítica entre especies de *Leptus* spp. con moscas Calliphoridae, y del mismo modo se amplía el conocimiento sobre los hospederos de *A. bregetovae*.

Palabras clave: Foresis. Parásitos.

Abstract: The discovery of 54 mites adhered to 23 individuals of Calliphoridae flies, in three wooded sites in Panama, is reported. The mites corresponded to adults of the species *Ancistrocheles bregetovae* and *Macrocheles* spp. (Macrochelidae), larvae of *Leptus* spp. (Erythraeidae) and deutonymphs of *Myianoetus* sp. (Histiotomatidae). The first report is made of the association between parasitic *Leptus* spp. with Calliphoridae flies, and in the same way information is broadened on the hosts of *A. bregetovae*.

Key words: Phoresis. Parasites.

Introducción

El parasitismo y la foresis son las principales asociaciones entre ácaros y moscas, existiendo complejas variaciones según la especie y la etapa de desarrollo de los ácaros (Hunter y Rosario 1988). En ciertos casos, las larvas de algunas especies son parásitas de otros artrópodos y al alcanzar las etapas de ninfa y adulta, se comportan como depredadores de vida libre (parásito proteleano), evitando así la competencia por los mismos recursos (Askew 1971). Por regla general, los estadios depredadores se alimentan de formas inmaduras (huevos y larvas de primer estadio), mientras que los parásitos atacan a moscas adultas.

Por su parte, la foresis es la asociación entre individuos donde uno utiliza a otro como medio de dispersión para alcanzar y colonizar nuevos sitios de alimentación o de reproducción, siendo el tipo de asociación más común entre ácaros y otros artrópodos, reconociéndose como forético al individuo transportado y como acarreador al que sirve de transporte (Evans y Proctor 1999). El estado forético no requiere alimento, así la fijación no involucra nutrirse de su hospedero (Hunter y Rosario 1988; Evans y Proctor 1999).

Debido a la importancia de ciertas familias de moscas en la salud humana y animal, se han implementado algunas investigaciones que permitan determinar la influencia de estos ácaros sobre las poblaciones de moscas, especialmente en aquellas que habitan en granjas avícolas y ganaderas (Rodríguez y Prado 2004). De esta manera, se ha sugerido el uso de especies como *Macrocheles muscadomesticae* (Scopoli, 1772), como parte de los programas de manejo integrado y control biológico de huevos y larvas de moscas sinantrópicas en establos y gallineras de algunos países del mundo (Ho 1990).

A pesar de lo anterior, es poca la información disponible sobre estas interrelaciones en condiciones naturales, especial-

mente en moscas Calliphoridae de los bosques Neotropicales. En Panamá, observaciones preliminares de Bermúdez y Quintero (2002), señalan el hallazgo de ácaros de los géneros *Glyptholaspis* sp. (Macrochelidae) y *Leptus* spp. (Erythraeidae), adheridos a individuos de *Phaenicia eximia* (Wiedemann, 1819) y *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) recolectados sobre osamentas de cerdos, siendo este el único registro en este país. Con el fin de aumentar el conocimiento sobre estos tipos de relaciones, se presentan casos de asociaciones entre moscas Calliphoridae y ácaros en tres regiones poco perturbadas de Panamá.

Materiales y Métodos

Las recolecciones se hicieron con trampas McPhail cebadas con vísceras de pescado en los siguientes sitios: Alto de Piedra, Santa Fe, provincia de Veraguas (08°30'06"N, 81°01'55"W), Donoso, provincia de Colón (08°52'19"N, 80°36'02"W) y Reserva Forestal La Tronosa, Tonosí, provincia de Los Santos (07°21'10"N, 80°28'09"W). Las moscas capturadas se colocaron en viales de vidrio con alcohol al 80% y fueron transportadas a la Sección de Entomología Médica del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panamá.

Cada ácaro encontrado fue fotografiado "in situ" para posteriormente ser extraído, aclarado con lactofenol y luego montado en placas de microscopía utilizando medio Hoyer. La identificación de éstos se realizó siguiendo las claves de Krantz (1962) y Haitlinger (2000). Las placas de los ácaros reposan en el Laboratorio de Artrópodos Venenosos del Museo de Invertebrados "G.B. Fairchild" de la Universidad de Panamá. Las moscas se identificaron con la clave de Melo (2003) y se mantienen en la Colección Zoológica "Dr. Eustorgio Méndez" del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panamá.

¹ Entomología Médica, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panamá. mirandarjc@gmail.com.

² Colección Zoológica "Dr. Eustorgio Méndez", Entomología Médica, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panamá. sbermudez@gorgas.gob.pa.

Resultados y Discusión

En total se recolectaron 4444 individuos de Calliphoridae representados en siete géneros y 13 especies. De estos, 23 mantenían ácaros adheridos al cuerpo, lo que corresponde a un 0.51% de prevalencia (Bush *et al.* 1997) de ácaros sobre las moscas recolectadas en los tres sitios (Tabla 1). Las moscas fueron principalmente especies nativas de América a excepción de *Chrysomya megacephala*, *C. rufifacies* y *C. chloropyga*, las cuales son especies exóticas.

Los ácaros adheridos a las moscas pertenecen a las familias Macrochelidae (Mesostigmata), Erythraeidae (Prostigmata) e Histiostomatidae (antes Anotoeidae) (Astigmata); hallándose 30 individuos de Histiostomatidae, 13 de Macrochelidae y 12 de Erythraeidae. El número de ácaros encontrados por especies de moscas en las tres localidades se detallan en la Tabla 1.

Los Histiostomatidae recolectados fueron deutoninfas de *Myianoetus* sp., y aún cuando éstos representaron la mayor cantidad de ácaros recuperados, todos los ejemplares se localizaron alrededor del medio tergito y del subscutellum de un solo ejemplar de *Hemilucilia semidiaphana* (Rondani, 1850) (Fig. 1A). Las deutoninfas de Histiostomatidae (Fig. 1B) son comunes sobre insectos y otros artrópodos, sin embargo la historia natural de la mayoría de las especies es poco conocida, y muchos de los géneros hasta ahora descritos se basan solo en las deutoninfas hipopiales sin que se conozcan los adultos (Krantz 1978; McDaniel 1979). Sychevskaya (1963) encontró cientos de individuos de *Myianoetus* spp. sobre algunas especies de moscas, principalmente Muscidae y en *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (Calliphoridae) que frecuentan basureros. McDaniel (1979), reporta a deutoninfas de *Myianoetus muscarum* (Linnaeus, 1758) sobre individuos de *Calliphora terraenovae* Macquart, 1851 en los estados de California hasta Washington, Estados Unidos.

De Macrochelidae se encontraron las especies *Ancistrocheles bregetovae* Krantz, 1962 y dos especies no identificadas de *Macrocheles* adheridos en cinco especies de

Calliphoridae. Los individuos de *Macrocheles* spp. (Fig. 1C) se hallaron especialmente entre las coxas y patas, mientras que los de *A. bregetovae*, se localizaron sobre la proboscis o alrededor de la cavidad bucal (Figs. 1D-2A) sujetándose fuertemente con sus quelíceros.

Krantz (1962), describió *A. bregetovae* a partir de hembras recolectadas sobre *C. macellaria* en Arizona, Estados Unidos. El otro registro de esta especie, también es de Krantz (1998) cuando enmienda la descripción del género, asociada a un Calliphoridae de la región Neotropical. No obstante, en el presente estudio se asocia también con *Hemilucilia semidiaphana*, *Paralucilia adespota* y *P. pseudolyrcea*. Con esto, es interesante destacar que esta especie solo se ha reportado en especies de Calliphoridae Chrysominae de América, lo cual puede significar que su distribución se restringe a este continente. Esto fue cierto para las recolectas hechas en Santa Fe y Donoso, estando ausente en La Tronosa. No se encontró este ácaro asociado con ninguna *Chrysomyia*, aun cuando fueron las especies más abundantes recolectadas durante este estudio.

Aún cuando la familia Macrochelidae posee una ecología muy variada, se han reportado al menos tres géneros relacionados con moscas: *Ancistrocheles*, *Macrocheles* y *Glyptolaspis*. De éstos, las especies del género *Macrocheles* se han encontrado en una amplia variedad de hospederos, incluyendo mamíferos e insectos, destacándose su asociación con Coleoptera coprófagos y Diptera, habiendo al menos unas 15 especies relacionadas con estos últimos (Hyatt y Emberson 1988; Hunter y Rosario 1988; Hartini y Takaku 2006).

Es posible que *M. muscadomesticae* sea la especie más conocida de Macrochelidae debido a su importancia como depredador de huevos y larvas de moscas, variedad de hospederos y amplia distribución. En granjas avícolas de Malasia, Ho (1990) reportó a esta especie sujeta al 2% de *Ophyra chalcogaster* (Wiedmann, 1824), el 1,2% de *Musca domestica* L., el 0,4% de *M. sorbens* (Wiedmann, 1830) y el 0,3% de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), y que se fijaban principalmen-

Tabla 1. Número de ácaros encontrados por especie de Calliphoridae capturadas en tres localidades de Panamá.

Especies de moscas	Santa Fe		Donoso		La Tronosa	
	No. de moscas		No. de moscas		No. de Moscas	
	No. Total	Especie	No. Total	Especie	No. Total	Especie
Calliphorinae						
<i>Lucilia eximia</i>	12	0	48	0	1	0
Chrysomyinae						
<i>Chloropocta idioidea</i>	4	0	6	0	0	0
<i>Chrysomya chloropyga</i>	0	0	187	0	0	0
<i>C. rufifacies</i>	0	0	1571	1	75	0
<i>C. megacephala</i>	0	0	1701	2	0	0
<i>Cochliomyia macellaria</i>	0	0	339	4	2	0
					113	0
<i>Hemilucilia segmentaria</i>	3	0	49	0	0	0
<i>H. semidiaphana</i>	50	5				
		<i>A. bregetovae</i> , 1 ind.				
		<i>Macrocheles</i> sp. 1, 2 ind.				
		<i>Leptus</i> sp. 1, 1 ind.				
		<i>Myianoetus</i> sp. 30 ind.	111	0	1	0
<i>Paralucilia adespota</i>	40	4				
		<i>A. bregetovae</i> , 4 ind.				
		<i>Leptus</i> sp. 2, 1 ind.	40	1	2	0
<i>P. pseudolyrcea</i>	0	0	18	1	0	0
					0	0
		<i>A. bregetovae</i> , 1 ind.				
		<i>A. bregetovae</i> , 1 ind.				
Mesembrinellinae						
<i>Mesembrinella bicolor</i>	0	0	2	0	26	1
						<i>Leptus</i> sp. 3, 2 ind.
<i>M. cerca flavicrura</i>	0	0	0	0	17	2
						<i>Macrocheles</i> sp. 2, 2 ind.
<i>M. umbrosa</i>	10	0	6	0	12	2
						<i>Leptus</i> sp. 4, 2 ind.
Total	119	9	4078	9	247	5

te en la región ventral del abdomen. En nuestras recolectas solo aparecen cuatro individuos pertenecientes al género *Macrocheles*.

De la familia Erythraeidae se encontraron larvas de cuatro morfoespecies de *Leptus*, todas fijadas al tórax (Figs. 2B- D) de sus hospederos. El ciclo de vida de la mayoría de los *Leptus* incluye fases larvianas parasíticas sobre insectos y arácnidos, mientras que las ninfas y los adultos son de vida libre (Southcott 1992; Haitlinger 2000; Mcaloon y Durden 2000). Para el Neotrópico y Neártico se han reportado alrededor de 36 especies de *Leptus*, sin embargo ninguno asociado a Calliphoridae Neotropicales (Southcott 1992; Haitlinger 2000). Entre el material recolectado se logró identificar cuatro morfoespecies de *Leptus* asociadas a siete especies de Calliphoridae. Solo *Leptus* sp. 2 (Fig. 2E) presentó asociación con más de una especie de mosca (Tabla 1). Es probable que las fases postlarva de estas especies de *Leptus* se alimenten de estadios inmaduros de sus acarreadores.

Conclusiones

Estos datos permiten relacionar al menos tres familias de ácaros con moscas Calliphoridae en sitios boscosos o poco perturbados de Panamá. Debido a la presencia de una misma especie o género de ácaro en diferentes especies de moscas (a excepción de *Myianoetus* sp.), es posible que exista una mayor especificidad de estos ácaros hacia un determinado hábitat, que hacia una especie definida, es decir que son hábitat-específicos, en este caso, influenciados por el tipo de sustrato; lo que es entendible si se considera la diversidad de moscas que son atraídas a este tipo de material. Por tal motivo, la mayor cantidad de ácaros sobre una especie de mosca, puede deberse más a la dominancia de esta mosca en una zona. Sin embargo, los escasos registros asocian a *A. bregetovae* con especies de moscas Calliphoridae de la subfamilia Chrysomyinae nativas de América, lo que nos indica una posible coevolución entre este ácaro y estas moscas.

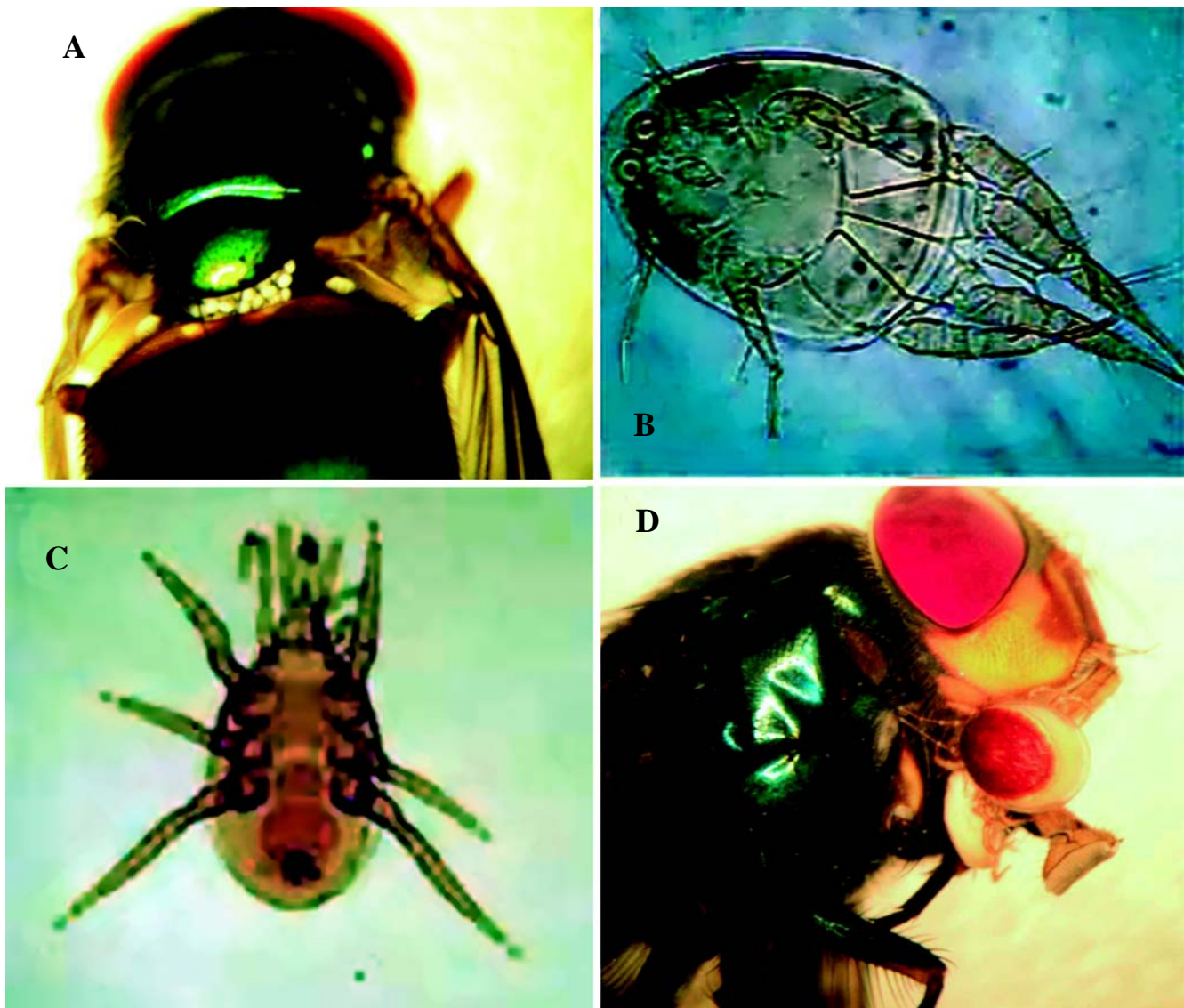


Figura 1. A. Deutoninfas de *Myianoetus* sp. en el subscutellum de *Hemilucilia semidiaphana*. B. Deutoninfa de *Myianoetus* sp. extraída de *H. semidiaphana*. C. Hembra de *Macrocheles* sp. 1, extraída de *H. semidiaphana*. D. Dos hembras de *Ancistrocheles bregetovae* en proboscis de hembra de *Paralucilia adespoti*.

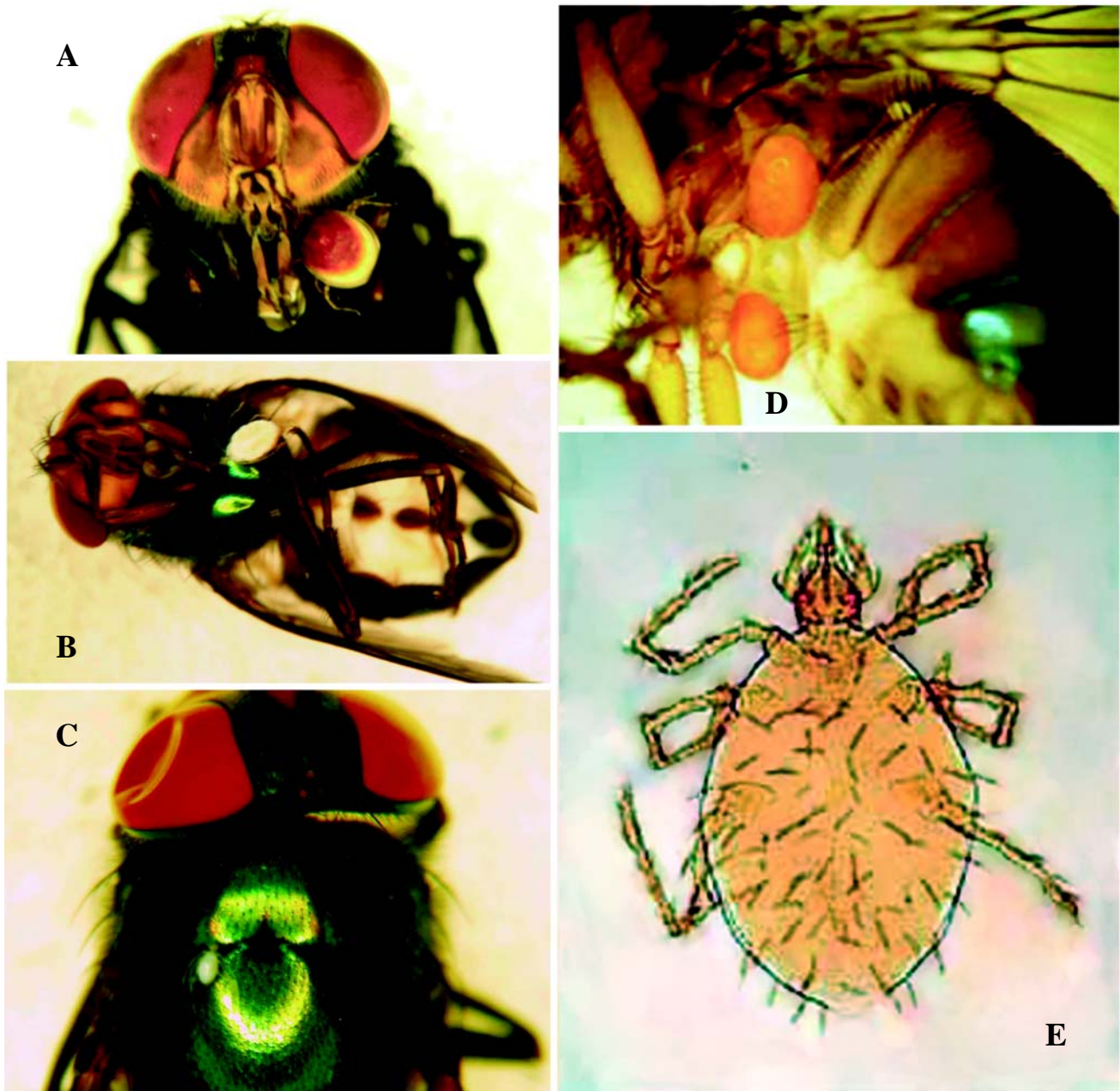


Figura 2. A. Hembra de *Ancistrocheles bregetovae* en hembra de *Paralucilia adesgota*. B. Larva de *Leptus* sp. extraída de *H. semidiaphana*. C. Larva de *Leptus* sp. 2 en la sutura transversa de *Chrysomyia megacephala*. D. Larvas de *Leptus* sp. en *Mesembrinella bicolor*. E. Larva de *Leptus* sp. extraída de la sutura transversa de *C. megacephala*.

Agradecimientos

Queremos agradecer al Proyecto PROBIO-JICA por el financiamiento de las giras de campo a la Reserva Forestal La Tronosa, Provincia de Los Santos. A Lance Durden por facilitar material bibliográfico y a Héctor Barrios por la traducción al español del artículo de Syschevskaya (1963).

Literatura citada

ASKEW, R. R. 1971. Parasitic Insects. Heinemann Educational Books Ltd, London. 316 p.

- BERMÚDEZ, S.; QUINTERO, G. 2002. Determinación de la entomofauna asociada a carcasas de cerdo doméstico (*Sus scrofa*) en el puerto de Vacamonte. Tesis de Biología, Universidad de Panamá. 78 p.
- BUSH, A. O., LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. 1997. Parasitology meets Ecology on its own terms: Margolis *et al.* Revisited. *The Journal of Parasitology* 83 (4): 575-583.
- EVANS, D. W.; PROCTOR, H. 1999. Mites. Ecology, evolution and behavior. Everbest Print. Hong Kong. 321 p.
- HAITLINGER, R. 2000. Four new species of *Leptus* Latreille, 1796 (Acari: Prostigmata: Erythraeidae) from Central America. *Systematic and Applied Acarology* 5: 131-142.

- HARTINI, S.; TAKAKU, G. 2006. Mites of the genus *Macrocheles* (Acari: Gamasida: Macrochelidae) associated with dung beetles in Papua, Indonesia. *Journal of the Acarological Society of Japan* 15 (1): 29-46.
- HO, T. 1990. Phoretic association between *Macrocheles muscadomesticae* (Acari: Macrochelidae) and flies inhabiting poultry manure in Peninsular Malaysia. *Experimental and Applied Acarology* 10: 61-68.
- HUNTER, P. E.; ROSARIO, R. M. 1988. Associations of Mesostigmata with other arthropods. *Annual Review of Entomology* 33: 393-417.
- HYATT, K; EMBERSON, R. 1988. A review of the Macrochelidae (Acari: Mesostigmata) of the British Isles. *Bulletin of British Museum (Natural History), Zoology* 54 (2): 63-125.
- KRANTZ, G. W. 1962. A review of the genera of the family Macrochelidae Vitzthum, 1930 (Acarina: Mesostigmata). *Acarologia* 4 (2): 143-173.
- KRANTZ, G. W. 1978. *A Manual of Acarology*. Oregon State Book Stores, Inc., Corvallis, Oregon. 509 p.
- KRANTZ, G. W. 1998. Observations on five rarely collected genera of Macrochelidae (Acari: Mesostigmata) associated with insects. *Acarologia* 39 (2): 95-109.
- McALOON, F. M.; DURDEN, L. A. 2000. Attachment sites and frequency distribution of erythraeid mites, *Leptus indianensis* (Acari: Prostigmata), ectoparasitic on harvestmen *Leiobunum formosum* (Opiliones). *Experimental and Applied Acarology* 24: 561-567.
- MCDANIEL, B. 1979. *How to know the mites and ticks*. C. Brown Comp. Publ. 335 p.
- MELO, R. 2003. Chave para a identificação das formas adultas das espécies da família Calliphoridae (Diptera, Brachycera, Cyclorhapha) encontradas no Brasil. *Entomologia y Vectores* 10 (2): 255-268.
- RODRIGUEIRO, T; PRADO, A. 2004. *Macrocheles muscadomesticae* (Acari, Macrochelidae) and a species of *Uroseius* (Acari, Polyaspididae) phoretic on *Musca domestica* (Diptera, Muscidae): effects on dispersal and colonization of poultry manure. *Iheringia, Serie Zoologia* 94 (2): 181-185.
- SOUTHCOTT, R. V. 1992. Revision of the larvae of *Leptus* Latreille (Acarina: Erythraeidae) of Europe and North America, with descriptions of post-larval instars. *Zoological Journal of the Linnean Society* 105: 1-153.
- SYCHEVSKAYA, V. 1963. Mites found in synantropic flies in Uzbekistán. *Med. Parazit. I. Parazitarn. Bolezni.* 33: 557-560. (En ruso, con resumen en inglés).

Recibido: 28-jul-2007 • Aceptado: 23-ene-2008

Nota científica

Seasonal abundance of *Chrysomya megacephala* and *C. albiceps* (Diptera: Calliphoridae) in urban areas

Abundancia estacional de *Chrysomya megacephala* y *C. Albiceps* (Diptera: Calliphoridae) en área urbana

EVALDO M. PIRES¹, VINÍCIUS M. CARRARO² and JOSÉ C. ZANUNCIO³

Abstract: A faunistic analysis of sinantropic calliphorids, *Chrysomya megacephala* and *C. albiceps*, was carried out in the urban area of Volta Redonda city, Rio de Janeiro, Brazil from October 2000 to September 2001. Two traps baited with fresh sardine were used. A total of 4,101 specimens of the genus *Chrysomya* were collected. The highest abundance of adults occurred between December 2000 and January 2001. *Chrysomya megacephala* was the most abundant species (57.71%) reaching its highest number in December 2000, followed by *C. albiceps* (41.94%) with a population peak in January 2001. *Chrysomya putoria* was also present in some traps but only 14 individuals were collected. Correlations between the presence of these species and the weather variables indicated that the presence of *C. megacephala* was influenced by rainfall and temperature, while *C. albiceps* was only affected by rainfall.

Key words: Sinantropic calliphorids. Population peak. Weather influence.

Resumen: Un análisis faunístico de las especies de califóridos sinantrópicos, *Chrysomya megacephala* y *C. albiceps* se realizó en el área urbana de la ciudad de Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brasil desde octubre de 2000 hasta septiembre de 2001. Se utilizaron dos trampas cebadas con sardina fresca. Un total de 4.101 individuos del género *Chrysomya* fueron recolectados. La mayor abundancia de los adultos se registró entre diciembre de 2000 y enero de 2001. *Chrysomya megacephala* fue la especie más abundante (57,71%) alcanzando el valor más alto en diciembre 2000 seguida por *C. albiceps* (41,94%) con un pico poblacional en enero de 2001. *Chrysomya putoria* también estuvo presente en algunas trampas pero solamente 14 individuos fueron recolectados. Correlaciones entre la presencia de las especies y las variables climáticas indicaron que la presencia de *C. megacephala* está influida por la precipitación y la temperatura, mientras que *C. albiceps* está solamente afectada por la precipitación.

Palabras clave: Califóridos sinantrópicos. Pico poblacional. Influencia climática.

The larvae of caliptrade Diptera feed on live tissues, decaying organic matter, and feces being the vertebrate carcasses the main diet for Calliphoridae larvae (Fuller 1934; Hanski 1987). The adult attraction to decaying matter is related to the place for laying eggs and the source of carbohydrates and proteins necessary for sexual maturation and energy supply (Mendes and Linhares 1993). The objective of this manuscript was to describe the abundance changes of adults of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1974) and *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) under the influence of climatic conditions in Volta Redonda city, State of Rio de Janeiro, Brazil.

Specimens of *C. megacephala* and *C. albiceps* were sampled from the urban area of Volta Redonda city, State of Rio de Janeiro, Brazil. Two traps with 100 g of fresh squeezed sardine meat each were used. The bait traps were placed at two meters from the ground and fifty meters from each other; traps were moistened with distilled water every 24 hours and replaced every 72 hours. Adult flies were collected twice a week for a total of 96 samples. The weather variables rainfall, temperature, and relative humidity were recorded from the weather station situated in Volta Redonda city and these data were used to test their relationship with the abundance of both *C. megacephala* and *C. albiceps*. The influence of the weather parameters as rainfall, temperature and relative humidity on the abundance

of *C. megacephala* and *C. albiceps* was tested using Pearson's correlation analysis (SAEG 9.1, Fundação Arthur Bernardes 2007). A total of 4.101 individuals belonging to the genus *Chrysomya* were collected throughout the sampling period. The most abundant species was *C. megacephala* (57.71%) followed by *C. albiceps* (41.94%) and *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1830) (0.35%). *Chrysomya megacephala* and *C. albiceps* showed the largest abundance between October 2000 and February 2001 representing approximately 90% of the total individuals. This period involved the end of spring and almost the whole summer. During the whole collection period, *C. megacephala* presented a positive correlation with the rainfall ($r = 0.59$, $P = 0.02$) and temperature ($r = 0.54$, $P = 0.03$), while *C. albiceps* was related to rainfall only ($r = 0.55$, $P = 0.03$) (Table 1). The relative humidity was not related to abundance of the species, being practically constant during the collecting period. *Chrysomya megacephala* presented a population peak in December 2000 while *C. albiceps* presented its population peak in January 2001; however, its abundance remains constant between October 2000 and February 2001. *Chrysomya putoria* had few individuals collected, which did not allow an appropriated analysis of this species. The low number of Calliphoridae sampled compared to these reported by Carraro and Milward-de-Azevedo (1999), Gomes *et al.* (1998) and

¹ M. Sc. Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. Viçosa. 36570-000. evaldo.pires@gmail.com

² D. Sc. Centro Universitário Geraldo Di Biase, Volta Redonda, RJ, Brasil.

³ Ph. D. Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. Viçosa. 36570-000.

Table 1. Abundance correlations between the individuals of *Chrysomya megacephala* and *C. albiceps* and weather parameters.

Weather parameters	<i>C. megacephala</i>		<i>C. albiceps</i>	
	r	p	r	p
Rainfall (mm)	0.59*	0.02	0.55*	0.03
Temperature (°C)	0.54*	0.03	0.39	0.10
Relative humidity (%)	-0.08	0.40	-0.10	0.37

* Significant at $P < 0.05$

Rodrigues-Guimarães *et al.* (2001) may be due to the sampling site which was an urban area. Volta Redonda is an important industrial area where geographical and environmental alterations have occurred due to the implantation of industries from the beginning of 1940s and also due to the systematic combat of vector agents of epidemics by the County Department of Sanitary Surveillance. The selective collection of garbage may have influenced the population. However, other studies are necessary to improve the knowledge on population fluctuation of *C. megacephala* and *C. albiceps* in tropical urban areas.

Acknowledgements

We thank the Neuvira Aparecida Rocha, Mansoeto Sabino de Moraes e Danielle Rigotte Silva for technical assistance.

Cited literature

CARRARO, V. M.; MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. 1999. Quantitative description of calliphorid dipterans captured on the Campus of the Federal Rural University of Rio de Janeiro using sardine bait. *Revista Brasileira de Zoociências* 1 (1): 77-89.

FULLER, M. E. 1934. The insect inhabitants of carrion: a study in animal ecology. *Bulletin Council of Science and Industry Research in Australia* 82 (1):1-62.

FUNDAÇÃO, Arthur Bernardes. 2007. Sistema para análises estatísticas e genéticas (SAEG). Versão 9.1. Universidade Federal de Viçosa - UFV. Brasil.

GOMES, A.; KOLLER, W. W.; HONER, M. R.; SILVA, R. L. 1998. Flutuação populacional da mosca *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) capturada em armadilhas orientadas pelo vento (W.O.T.), no Município de Campo Grande, MS. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 7 (1): 41-45.

HANSKI, I. 1987. Carrion fly community dynamics: patchiness, seasonality and coexistence. *Ecological Entomology* 12 (3): 257-266.

MENDES, I.; LINHARES, A. X. 1993. Selective attractiveness and stages of ovarian development in several synanthropic blowfly species (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia* 37 (1): 157-166.

RODRIGUES-GUIMARÃES, R.; GUIMARÃES, R. R.; PILE, E. A. M.; NORBERG, A. N.; QUEIROZ, M. M. C. 2001. Ocorrência de dípteros califorídeos (Diptera: Calliphoridae) no Campus 1 da Universidade Iguazu - UNIG Nova Iguazu, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Entomologia y Vetores* 8 (2): 245-260.

Recibido: 7-may-2008 • Aceptado: 3-ago-2008

Nota científica

Modificación de un protocolo estándar de extracción de ADN para flebotominos pequeños (Phlebotominae: *Lutzomyia*)

Modification of a standard protocol for DNA extraction from smaller sandflies (Phlebotominae: *Lutzomyia*)

GABRIEL GOLCZER^{1,2} y JAZZMÍN ARRIVILLAGA^{1,3}

Resumen: Se evaluó el rendimiento de un protocolo de acetato de potasio con modificaciones menores para la extracción del ADN genómico. Los resultados evidencian que empleando el protocolo modificado se obtuvo un ADN de mayor rendimiento (0,61, concentración de 37,34 ng/μL) respecto al protocolo original. La amplificación del ADN vía PCR para regiones mitocondriales evidencia su calidad alta ADN para estudios poblacionales a nivel molecular, en el menor tiempo y costo, sin el uso de reactivos altamente tóxicos.

Palabras clave: PCR. Extracción de ADN. Flebotómíneos.

Abstract: We evaluated the yield of a potassium acetate protocol with minor modifications for the extraction of genomic DNA. The results showed that using the modified protocol gave a higher DNA yield (0.61, and concentration 37.34 ng/μL) was obtained with respect to the original protocol. The amplification of DNA by PCR for mitochondrial regions demonstrated the high quality of this DNA for molecular population studies, in less time and cost, without the use of highly toxic reagents.

Key words: PCR. DNA extraction. Sandflies.

Introducción

En la extracción de ADN de muestras de flebotómíneos se han utilizado métodos basados en el uso de sales como acetato de potasio, en su forma convencional combinado con el detergente SDS, sodio lauril-sulfato (Ready *et al.* 1991; Parvizi y Amirkhani 2008), o en su forma modificada combinada con proteinasa K (Hodgkinson *et al.* 2003; Torgerson *et al.* 2003), el uso de la proteínaasa K combinada con el método cloroformo-fenol (Michalsky *et al.* 2002; Kato *et al.* 2005); paquetes comerciales de extracción de ADN, DNeasy tissue kit de Qiagen (Beati *et al.* 2004), y el uso de la resina Chelex-100 (Cabrera *et al.* 2003; Jorquera *et al.* 2005).

Sin embargo, la talla corporal de los flebotómíneos, que representa la disponibilidad de tejido por muestra, *a priori* es una limitante, y en especial en estudios de variabilidad y genética poblacional espacio-temporal, en donde la cantidad de ADN aislado por muestra identificada es importante, en contraste con la cantidad extraída desde otros grupos de insectos, en especial vectores de importancia médica como mosquitos ó triatóminos (Nordase *et al.* 2004; De Armas *et al.* 2005). La extracción de ADN de flebotómíneos individuales resulta en bajo rendimiento, efectividad, y en algunas ocasiones con baja pureza cuando se hacen extracciones extensivas, lo que requiere el uso de protocolos que mejoren el rendimiento de ADN, como el empleo de paquetes comerciales.

Para los países latinoamericanos los estudios de genética molecular a nivel poblacional, implican una inversión muy alta, por los costos de importación de paquetes comerciales de extracción y purificación de ADN y reactivos (sobre todo los reactivos tóxicos que necesitan fletes de importación especial) lo que limita su uso, y obliga a considerar los protocolos tradi-

cionales. Por otro lado, los protocolos necesitan cumplir hoy en día con las normativas de seguridad laboral y ambiental por lo que apuntar al uso de reactivos no tóxicos y no contaminantes es ideal. En este sentido, el protocolo basado en precipitación con sales en su forma convencional es idóneo y ha sido empleado en estudios poblacionales, con distintas modificaciones desde los protocolos originales de Ish-Horowitz *et al.* (1982), Bender *et al.* (1983) y Collins *et al.* (1987) para la extracción de ADN de especies del Viejo Mundo, *Phlebotomus* spp. y *Sergentomyia* spp. (Ready *et al.* 1991; Esseghir *et al.* 1997; Aransay *et al.* 1999; Parvizi y Amirkhani 2008), como en especies del nuevo mundo *Lutzomyia longipalpis* (Lutz y Neiva 1912), *L. pseudolongipalpis* Arrivillaga y Feliciangeli, 2001, *L. intermedia* (Lutz y Neiva, 1912), *L. withmani* (Antunes y Coutinho, 1939) (Esseghir *et al.* 1997, Arrivillaga *et al.* 2003; Souza *et al.* 2007) con un alto rendimiento desde muestras preservadas en etanol 70% y secas.

Sin embargo, utilizando el método de sales, desde muestras de flebotómíneos con talla pequeña como, *Lutzomyia youngi* (Feliciangeli y Murillo 1987), *L. evansi* (Nuñez-Tovar, 1934), *L. nunez tovari* (Ortiz, 1954), *L. spinicrassa* Morales, Osorno de Osorno y Hoyos, 1970, *L. trinidadensis* (Newstead, 1922), *L. cayenensis* (Floch and Abonnenc, 1941), se logra la extracción de ADN (Testa *et al.* 2002; Vivero *et al.* 2007), pero la efectividad en las extracciones extensivas es del 10% (muestras preservadas en etanol) y 20% (muestras frescas), con rendimientos menores a 0,1, lo cual limita los estudios poblacionales. En la presente nota se señala una modificación del protocolo de Arrivillaga *et al.* (2003) en varios pasos con la finalidad de proporcionar un método ajustado a muestras de flebotómíneos de pequeña talla corporal para estudios poblacionales.

¹ Universidad Simón Bolívar, Departamento de Estudios Ambientales, Laboratorio de genética de poblaciones, Valle de Sartenejas, Caracas, Venezuela.

² Lic. en Biología. Postgrado en Ciencias Biológicas. goczer@usb.ve.

³ Dr. en Entomología. jarrivillaga@usb.ve.

Materiales y Métodos

Muestras biológicas. Se utilizaron en el estudio dos grupos de flebotomíneos para un total de 162 ejemplares de *Lutzomyia youngi*, recolectados en la localidad tipo, Las Calderas (09°22'N, 70°26'W), Estado de Trujillo, Venezuela. Los adultos fueron pesados individualmente (peso promedio de hembras 80,92 µg y en machos de 50,65 µg) y medida la longitud del ala derecha (promedio en hembras de 2,1 mm y en machos de 1,7 mm) para correlacionar la cantidad de tejido (peso o tamaño) en relación a la cantidad de ADN y al grado de pureza (relación de DO 260/280). Luego se realizó la disección de los ejemplares (hembras = montaje de cabezas y genitalia, machos = montaje de genitalia), las piezas fueron montadas en medio Berlese, para su fijación e identificación, utilizando la clave Young y Duncan (1994).

Extracción de ADN. Un total de 34 ejemplares fueron usados para la extracción individual de ADN siguiendo el protocolo de Arrivillaga *et al.* 2003. Mientras, el resto de los ejemplares (n = 128) fueron homogenizados siguiendo como base este mismo protocolo con tres modificaciones menores que mejoraron el rendimiento y pureza del ADN (Tabla 1). Los ejemplares fueron homogeneizados con un triturador manual marca Kontex en 50 µL de tampón de lisis (NaCl 0,1 M; sacarosa 0,2 M; EDTA 50 mM; tris-HCl 100 mM pH 8,25; SDS 0,05 %); incubando a una temperatura de 65°C por 120 min. La precipitación de proteínas se realizó con 14 µL de acetato de potasio 8 M, durante 60 min sobre hielo, seguido de una centrifugación a 14.000 rpm durante 15 min. El ADN se incubó a temperatura ambiente por 10 min, con 100 µL de etanol absoluto, se centrifugó a 14.000 rpm por 15 min. Se descartó el sobrenadante, se agregó 100 µL de etanol al 70%, y se incubó a -20°C por 24 horas. Posteriormente, se centrifugó la mezcla a 14.000 rpm durante 15 min y el precipitado se lavó dos veces con etanol (100 %) por 10 min. Después de secar a temperatura ambiente, el ADN se resuspendió en 20 µL agua grado molecular y luego se conservó a -20°C.

PCR de regiones mitocondriales y comparación. El ADN extraído por ambos protocolos se amplificó en un volumen final de 25 µL de reacción con 4 µL de muestra de ADN, utilizando los cebadores para tres regiones mitocondriales (COI, ND5 y 12S) empleados por Arrivillaga *et al.* 2003. La detección del producto de PCR se visualizó en geles de agarosa al 1,2% en TBE 0,5X con bromuro de etidio 0,5 g/mL. Utilizando el programa Microsoft Excel 2007 se realizaron regresiones lineales con los valores de la concentración de ADN en relación a

las variables de peso del tejido muestra, grado de pureza (DO: 260/280) y longitudes del ala derecha.

Resultados y Discusión

La extracción de ADN con el protocolo de sales de potasio combinado con soluciones tapones, tales como TSE (Tris-SDS-EDTA) y etanol combina procesos químicos, físicos y mecánicos resumidos en tres pasos: lisis celular, eliminación de proteínas y precipitación y limpieza de ADN. Este método es económico, no maneja compuestos de alta toxicidad o contaminantes del ambiente y se obtienen en promedio cantidades significativas de ADN con alta pureza (Tabla 1). Las modificaciones propuestas al protocolo de Arrivillaga *et al.* (2003) aunque son menores, garantizan una mayor efectividad (79% de positividad) en relación al número de muestras para la extracción de ADN, con un rendimiento 1.000X más efectivo.

En contraste, el método de Arrivillaga *et al.* (2003) ha sido empleado en flebotomíneos de mayor talla corporal (*Lutzomyia longipalpis*) con fines de estudios poblacionales. Sin embargo, no existe reporte de valores de rendimiento y concentración de ADN para realizar comparaciones directas, a pesar que los autores señalan que el procesamiento es efectivo en aproximadamente 3.000 ejemplares, mediante la obtención de productos de PCR de buena calidad para su secuenciación.

En general, los trabajos a nivel molecular en flebotomíneos, y que emplean el método de sales para extracción de ADN, con fines taxonómicos o filogenia molecular (Ready *et al.* 1991, Esseghir *et al.* 1997, Aransay *et al.* 1999, Arrivillaga *et al.* 2003), no señalan las concentraciones o el grado de pureza del ADN extraído, por lo que no es posible realizar comparaciones. Sin embargo, Vivero *et al.* (2007), señala un protocolo modificado de Collins *et al.* (1987) para la extracción de ADN genómico, desde 512 individuos pertenecientes a siete especies de flebotomíneos neotropicales. Estos autores señalan el uso del 40% v/v de la muestra de ADN resuspendida para la amplificación exitosa de regiones mitocondriales vía PCR (Fig. 1).

En comparación con el protocolo de Vivero *et al.* (2007), el protocolo propuesto en el presente trabajo tiene ciertas diferencias metodológicas de gran importancia, las cuales se resumen a continuación: mayor tiempo de incubación en buffer de lisis (30 min. vs. 120 min.), mayor tiempo de precipitación en acetato de potasio (30 min. vs. 60 min.), mayor tiempo y velocidad de centrifugación para la sedimentación final del ADN (12 rpm/20 min. vs. 14 rpm/15 min.). En nuestro caso, las modificaciones resultan en un aumento del rendimiento de extracción de ADN, y solo se usa el 20% v/v de la muestra resuspendida

Tabla 1. Valores de las medias de concentración, grado de pureza y rendimiento para los dos protocolos empleados en la extracción de ADN genómico de *Lutzomyia youngi*. Los valores en paréntesis representa la desviación estándar.

Método de extracción	Paso	Duración/ Volumen	Peso (mg)	Concentración de ADN (µg/µL)	Pureza DO 260/280	Rendimiento
Arrivillaga 2002	Incubación en Baño	30 min.	0,07084	0,0000377	1,8467	0,0005
	Incubación en AcK	30 min.				
	Centrifugación final	10 min.				
Modificación	Incubación en Baño	120 min.	0,060753	0,03734	2,1567	0,612
	Incubación en acetato de potasio	60 min.				
	Centrifugación final	15 min.				

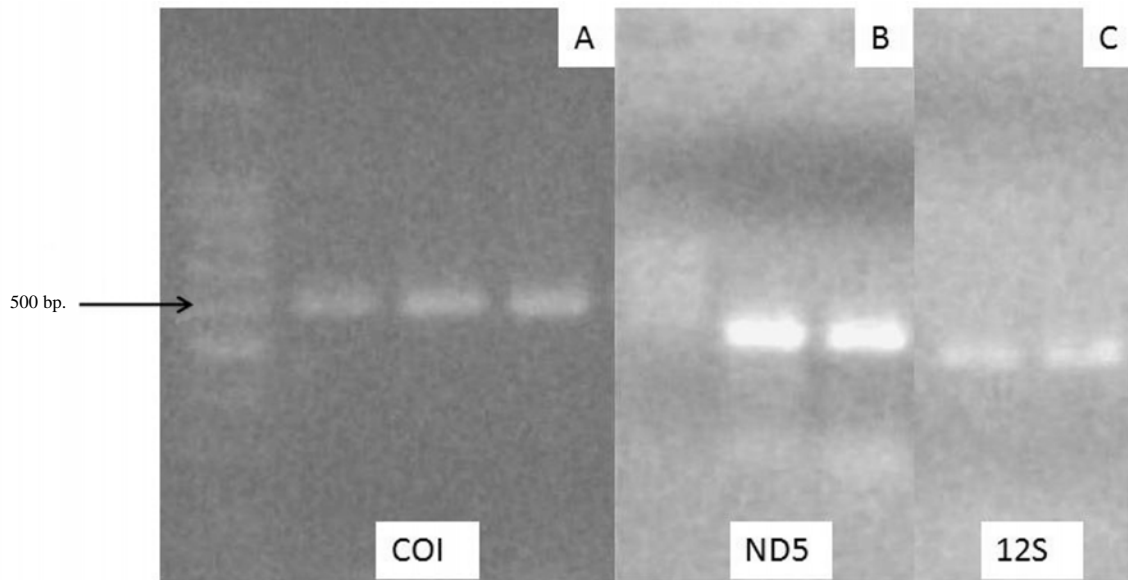


Figura 1. Corridos electroforéticos en gel de agarosa al 1,2% de productos de amplificación de PCR para tres regiones mitocondriales. **A.** Citocromo oxidasa I (COI, 530 pb). **B.** NADH-5 (ND5, 450pb). **C.** 12S ribosomal (12S, 420 pb). La banda de 500 bp es señalada para el marcador de peso molecular de 100 bp utilizado en la electroforesis.

de ADN para la amplificación de regiones mitocondriales, aumentándose la efectividad de nuestro método en un 50% en comparación al utilizado por Viveros *et al.* (2007) en flebotomíneos.

Nuestros resultados son comparables a los obtenidos por Michalsky *et al.* (2002), y Kato *et al.* (2005) quienes utilizan el protocolo de cloroformo fenol combinado con proteinasa K, en relación a que la alta calidad del ADN se demuestra con el uso de menor cantidad de volumen de ADN extraído para fines de amplificación vía PCR. En contraste, las concentraciones de ADN promedio reportadas por estos autores son menores a las señaladas por nosotros (5-10 ng/uL vs 37,34 ng/uL), pero los autores no reportan el grado de pureza.

La extracción de ADN con el presente protocolo, no evidencia una correlación lineal (valores de $R < 0,02$) entre cantidad de tejido o tamaño en relación a la cantidad o pureza de ADN extraído desde ejemplares individuales de *L. youngi*. Estos resultados son comparables a los obtenidos para otros grupos de insectos como aedinos (De Armas *et al.* 2005), por lo que estas variables de talla corporal no afectan los resultados. En general, la efectividad y ventaja en la extracción del ADN obtenido utilizando el protocolo de sales con modificaciones, son comparables a los señalados por Nodarse *et al.* (2004) y De Armas *et al.* (2005) para insectos vectores de mayor peso corporal como los triatóminos o aedinos.

La modificación del protocolo de Arrivillaga *et al.* (2003) con base en sales (efecto salting out) es una alternativa efectiva para tener suficientes muestras de ADN de flebotomíneos con alto rendimiento para estudios genéticos poblacionales con especies de pequeña talla corporal.

Agradecimientos

Al Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología, Fonacit por el financiamiento del Proyecto-S1 No. 20010000921 otorgado a Jazzmin Arrivillaga. Igualmente, se extiende el agradecimiento a la Coordinación de Lic. en Biología, Decanato de Estudios

Profesionales por el financiamiento otorgado a Gabriel Golczer para el desarrollo del presente trabajo.

Literatura citada

- ARANSAY, A. M.; SCOULICA, E.; CHANIOTIS, B.; TSELENTIS, Y. 1999. Typing of sandflies from Greece and Cyprus by DNA polymorphism of 18S rRNA gene. *Insect Molecular Biology* 8: 179-184.
- DE ARMAS, Y.; RODRÍGUEZ, M. M.; María M.; BISSET, J.A. 2005. Modificación de un método de extracción de ADN genómico de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología* 31: 203-6.
- ARRIVILLAGA, J.; MUTEPI, J. P.; PIÑANGO, H.; NORRIS, D.; ALEXANDER, B.; FELICIANGELI, M. D.; LANZARO, G. 2003. The taxonomic status of genetically divergent populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) based on the distribution of mitochondrial and isozyme Variation. *Journal of Medical Entomology* 40: 615-627.
- BEATI, L.; CÁCERES, A. G.; LEE, J. A.; MUNSTERMANN, L. E. 2004. Systematic relationships among *Lutzomyia* sand flies (Diptera: Psychodidae) of Perú and Colombia based on the analysis of 12S and 28S ribosomal DNA sequences. *Journal of Parasitology* 34: 225-34.
- BENDER, W.; SPIERER, P.; HOGNESS, D. S. 1983. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from the ace and rosy loci and the Bithorax complex in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Molecular Biology* 168: 17-33.
- CABRERA, O. L.; MUNSTERMANN, L. E.; CÁRDENAS, R.; FERRO, C. 2003. PCR as a tool in confirming the experimental transmission of *Leishmania chagasi* to hamsters by *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Biomedica* 23: 239-244
- COLLINS, F. H.; MÉNDEZ, M. A.; RASMUSSEN, M. O.; MEHAFFEY, P. C.; BESANSKY, N. J.; FINNERTY, V. 1987. A ribosomal RNA gene probe differentiates member species of the *Anopheles gambiae* complex. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 37: 37-41.
- ESSEGHIR, S.; READY, P. D.; KILLICK-KENDRICK, R.; BEN-ISMAIL, R. 1997. Mitochondrial haplotypes and phylogeography

- of *Phlebotomus* vectors of *Leishmania major*. *Insect Molecular Biology* 6: 211-25.
- HODGKINSON, V. H.; BIRUNGI, J.; QUINTANA, M., DIETZE, R.; MUNSTERMANN, L. E. 2003. Mitochondrial cytochrome *b* variation in populations of the visceral leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* across eastern Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 69: 386-92.
- ISH-HOROWIZ, D. 1982. Personal communication in: rate of turnover of structural variants in the rDNA gene family of *Drosophila melanogaster*. *Nature* 295: 564-568.
- JORQUERA, A.; GONZÁLEZ, R.; MARCHÁN-MARCANO, E.; OVIEDO, M.; MATOS, M. 2005. Multiplex-PCR for detection of natural *Leishmania* infection in *Lutzomyia* spp. captured in an endemic region for cutaneous leishmaniasis in state of Sucre, Venezuela. *Memories Instituto Oswaldo Cruz* 100: 43-46.
- KATO, H.; UEZATO, H.; KATAKURA, K.; CALVOPIN, M.; MARCO, J. D.; BARROSO, P. A.; GÓMEZ, E. A.; MIMORI, T.; KORENAGA, M. T.; IWATA, H.; NONAKA, S.; YOSHIIHISA, A. 2005. Detection and identification of *Leishmania* species within species naturally infected sandflies in the andean areas of Ecuador by polymerase chain reaction. *American Journal Tropical. Medical and Hygiene* 72: 87-93.
- MICHALSKY, E. K.; CONSUELO, L.; FORTES-DIAS, P.; PIMENTA, F. P.; NAGILA, F. C.; SECUNDINO, E. S. DIAS. 2002. Assessment of PCR in the detection of *Leishmania* spp. in experimental infected individual phlebotominae sandflies (Diptera: Psychodidae): *Revista Instituto de Medical Tropical Sao Paulo* 44: 255-259.
- NODARSE, J. F.; RODRÍGUEZ, J.; FUENTES, O.; CASTEX, M.; FERNÁNDEZ-CALIENES, A. 2004. Comparación entre 5 métodos para la extracción de ADN de triatomíneos, su utilización en la técnica de ADN polimórfico amplificado al azar. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 56: 208-213.
- PARVISI, P.; AMIRKHAMI, A. 2008. Mitochondrial DNA characterization of *Sergentomyia sintoni* populations and fiding mammalian leishmania infections in this sandflies using ITS-rDNA. *Iranian Journal of Veterinary* 9: 10-18.
- READY, P. D.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; SOUZA, A. A. 1991. DNA probe for distinguishing *Psychodopygus wellcomi* from *Psychodopygus complexus* (Diptera: Psychodidae). *Memories Instituto Oswaldo Cruz* 86: 41-49.
- SOUZA, L.; FALQUETO, A.; BIRAL DOS SANTOS, C.; GRIMALDI, G.; CUPOLILLO, E. 2007. Genetic structure of *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* populations from to ecologic regions in Brazil where transmission of *Leishmania (Vianni) brasiliensis* reflects distinct eco-epidemiologic features. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 76: 559-565.
- TESTA, J. M.; MONTOYA-LERMA, J.; CADENA, H.; OVIEDO, M.; READY, P. D. 2002. Molecular identification of vectors of *Leishmania* in Colombia: Mitochondrial introgression in the *Lutzomyia townsendi* series. *Acta Tropica* 84: 205-18.
- TORGERSON, D. G.; LAMPO, M.; VELÁZQUEZ, Y.; WOO, P. T. 2003. Genetic relationships among some species groups within the genus *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 69: 484-93.
- VIVERO, R. J.; CONTRERAS-GUTIÉRREZ, BEJARANO, M. A. E.; ELÍAS, E. 2007. Analysis of the primary and secondary structure of the mitochondrial serine transfer RNA in seven species of *Lutzomyia*. *Biomedica* 27: 429-438.
- 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). Associated Publishers American Entomological Institute. Gainesville, Florida. 881 p.

Recibido: 10-abr-2008 • Aceptado: 16-oct-2008

Sección Básica

José Celestino Mutis, the ants, and *Pheidole mutisi* sp. nov.José Celestino Mutis, las hormigas y *Pheidole mutisi* n. sp.FERNANDO FERNÁNDEZ¹ and EDUARDO O. WILSON²

Abstract: A new ant species, *Pheidole mutisi* (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae), is described in honor of José Celestino Mutis, the Neogranadian “Wiseman” who conducted the first studies on ants in the New World, although his writings on the subject remained unknown for many years. Here we offer some general comments about Mutis’ myrmecological studies. This publication commemorates the 200th anniversary of Mutis’ death. The new species is characterized by its smooth, shiny body without standing pilosity (major) and long propodeal spines (major and minor).

Key words: Formicidae. New Species. Myrmicinae. Colombia.

Resumen: Se describe una nueva especie de hormiga, *Pheidole mutisi* (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae), en honor del sabio naturalista José Celestino Mutis, quien realizó las primeras observaciones sobre hormigas en el Nuevo Mundo, aunque sus escritos permanecieron desconocidos por mucho tiempo. Se ofrecen algunos comentarios generales sobre las observaciones mirmecológicas de Mutis. Con esta publicación se conmemoran los 200 años de la muerte de Mutis. La nueva especie se separa por su cuerpo liso y brillante, sin pilosidad conspicua (soldado), así como las largas espinas propodeales (soldado y obrera).

Palabras clave: Formicidae. Nueva Especie. Myrmicinae. Colombia.

Introduction

“In his first letter to me, my dear gentlemen Linnaeus, whom I respect as a mentor, asked if I would work on a memoir on the ants of America...”
(Mutis, letter to von Pajkull).

November 11, 2008 marks the 200th anniversary of the death of naturalist José Celestino Mutis, leader of the Botanical Expedition in New Granada and pioneer of natural sciences in America. To commemorate this occasion we present a brief profile of Mutis as a pioneer in the study of ants, and describe a new species of ant in his honor.

Mutis, the first years

When the archbishop Messia de la Cerda brought José Celestino Mutis into his retinue in 1760 and asked if he would accompany him to the New World as his personal physician, he never imagined that this same man would achieve anything beyond looking after his basic medical care. Mutis did faithfully serve his employer as a physician in the territory of New Granada (now Colombia, Venezuela and Ecuador), but it was his passion for nature, the new nature of a New World, that inspired him to embark for the Americas without thinking twice. So accomplished was he in his scholarly pursuits that he soon became known as “Mutis the Wiseman.”

In addition to being a physician and a priest, Mutis was a naturalist with broad interests in astronomy, mathematics, meteorology, mineralogy, botany and zoology, especially entomology. With a great passion for the observation and study of nature, Mutis was in his element: the exuberant and little-explored lands of the tropics. The epic days of Discovery and

of The Conquest had already passed and the Americas had become great fiefdoms for the European powers, ripe for exploitation.

With few exceptions (like the expeditions to Peru and Chile), there had not been any interest in scientific exploration of the *Nuevo Reino*. Any interest in a particular region or its resources (minerals or timber) obeyed the desire of the crown to obtain money or resources for purely practical ends. Mutis found himself in New Granada in a world that was culturally backward, intellectually weak and conservative, “in the dark” as would later be said by Francisco José de Caldas.

Mutis arrived with a desire to speak of new ideas, perceived to be dangerous, such as the ideas of Copernicus (who attracted the ire of the Inquisition) and wanting to understand “the curiosities of Nature.” He had to wait almost 20 years until finally, in 1783, the extraordinary scientific adventure that would be called “The Botanical Expedition” would begin. Under his guidance, native peoples worked alongside those with formal training to study on a grand scale (in space and time) the flora, fauna, and minerals of the *Nuevo Reino*.

While Mutis was waiting patiently for the Spanish crown to authorize the expedition and send resources, he spent several years in the mines of El Sapo, in the north of Tolima, in central Colombia, “administering” the mines, although this was really an excuse to dedicate himself to the observation of nature and its creatures (Hernández de Alba 1983a, b).

In reading Mutis’ memoirs and other writings, and the works of Mutis scholars, we see the image of a man profoundly interested in the fauna of this new territory, especially its insects. Hernández de Alba (1983c:265) unapologetically referred to him as “Mutis the entomologist,” and based on reading Mutis’ *Journal of Observations*, we venture to say that the Wiseman himself would have been flattered to have been called “Mutis

¹ Biólogo, Ph. D. Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia. Apartado 7495. Bogotá D.C. Colombia. ffernandezca@unal.edu.co.

² Biólogo, Ph. D. Museum of Comparative Zoology. Harvard University. Cambridge, MA, USA. eowilson@oeb.edu.

the myrmecologist,” or “Mutis the ant scholar.” In one of his letters he writes, “[I] am determined [to continue] our correspondence about the insects; they have drawn all of my affection, without detracting from my interest in the other branches of natural history (Hernández de Alba 1983c).

Mutis the myrmecologist

Mutis spent six years, from 1777 forward, in the Cerro El Sapo (Toad Mountain), as foreman of the mines of the same name. Approximately 420 species of plants and more than 80 animals have been recorded from this locality (Echeverry, without date). An additional 24 “groups” (species, forms) of ants were documented from this locality, as recounted in *History of the Ants*, prompting Mutis to exclaim that this mountain should have been called “Ant Mountain” (Hernández de Alba 1983c). In subsequent years, the Botanical Expedition would radiate from this locality, covering a broad area between Tolima and Cundinamarca. From those explorations came many observations that enriched our concepts of variation within insects and other groups of arthropods.

In a letter to the Baron von Pujkall, Mutis writes excitedly that his exploration of the world of the ants began at the request of the naturalist Carl Linnaeus. In fact, in his first letter to Mutis, Linnaeus asked his colleague on the other side of the world to prepare a memoir (synopsis) of the American ants. Linnaeus was as eager to receive specimens and notes about ants of New Granada, as he was to receive plant specimens! It seems that Mutis took the request to heart and his enthusiasm is evident in his *Journal of Observations*, in which he reports on as many as twenty ant species (Hernández de Alba 1983a).

Unfortunately Mutis’ original “memoir” on ants was lost. Nevertheless, a second memoir remained behind (Hernández de Alba 1983c:265-268), as did his *Journal of Observations*, in which Mutis compiled a series of observations and meditations that comprise the first written treatment of American ants (Hernández de Alba 1983a, b). The Wiseman observed, collected, compared, made microscopic examinations, interviewed native people and returned continually to the field, making quantitative and qualitative notes. Some of his observations were original, new and unique; others were new to him, although already known in the Old World. As such, Mutis at times lamented his isolation and limited access to books (although his ca. 200 books at El Sapo were a luxury).

Mutis was the first to establish, for example, the nomadic character of the legionary ants (*Eciton*), referring to insects that “had no fixed home” and noting how their hordes destroyed everything they encountered. He also wrote about subterranean legionnaires, lustrous ants that do not sting, but bite, and that we now call *Labidus*. He was particularly intrigued by the habits of the leaf-cutter ants and marveled at their complex nests; through observation and comparative study, he worked out the nature of their caste system, including the queen, the males, the soldiers and the workers. Early on, Mutis warned about the danger these ants present to mankind, by causing major crop damage.

Reading his scientific writings (Hernández de Alba 1983c) and his *Journal*, we estimate that about twenty ant species, perhaps more, were examined by The Wiseman (Table 1). In weighing Mutis’ contribution to myrmecology, we have to take into account several handicaps: the scarcity of time he was able to devote to the ants, given his many other tasks and

responsibilities and, above all, the diminutive size of the ants, which makes description a great challenge. In interpreting his notes, we should also remember that, for many of his ants, Mutis had to resort to native names or apply names of his own, since the science of classification was just emerging in Europe with the publication of Carl Linnaeus’ *Systema Naturae*. Mutis only had access to the 12th edition of the *Systema Naturae*, published in 1766. The correspondence between Mutis and the Swedish naturalist was fruitful for both parties, although unfortunately Mutis’ ants never got into Linnaeus’ hands.

Mutis recognized that the ants were more common in the lowlands than the highlands and also concluded that the American ants were new, being distinct from those of Europe. On several occasions, he also elaborated species descriptions. For example in one of the entries in his *Journal* he devoted almost two long pages describing in minute detail the “ant of death.” In spite of the limitations of his optical equipment, he documented details of the antennae, eyes, mesosoma and abdomen, with such clarity and precision that today we can determine that what he had in his hand was a *Cephalotes* ant: “these are innocuous and can remain still even when disturbed, seeming as though they are dead”. Not even Linnaeus himself wrote such thorough descriptions, nor did many of the myrmecologists working at the end of the 19th and start of the 20th centuries, men who generally devoted just a few vague and imprecise lines to describe a new species. Had Mutis had access to literature and formal training from his mentor, as well as more time, he surely would have been a good taxonomist, and the premier taxonomist working with ants.

Upon his death in 1808, and the demise of the Botanical Expedition shortly after, a part of Mutis’ specimens, illustrations and notes would be sent to Spain, but unfortunately another part was lost on the way. With the passing of the years, the magic of his writings remained hidden from the lights of History, Culture and Science.

Although Linnaeus named a new plant genus in honor of “the wiseman”, *Mutisia*, we venture to think that Mutis would have been pleased to have his name associated with a new species of ant, the insects that inspired him with so much passion. And not just any ant, but a species belonging to one of the two most diverse ant genera (perhaps the most diverse), *Pheidole*, some of whose species will have passed right across his desk as he worked, taking notes well into the night, by the light of a single candle.

Methods

Measurements and indices follow the proposal of Longino (2008) in the *Pheidole* Working Group and the definitions below are taken from such page. Measurements were made using an Optical Instruments stereomicroscope at 80X magnifications and a white light lamp. All measurements are in mm.

Measurements: *HL* Head length: Maximum length, in full face view, from the apex of the clypeus to middle of vertex; *HLA* Anterior head length: Perpendicular distance, in full face view, between two horizontal lines, one tangent to anterior most projection of clypeus, one tangent to lower most margin of compound eye; *HW* Head width: Maximum width in full face view (excluding eyes); *SL* Scape length (excluding basal condyle), in straight line distance; *EL* Eye Length: Maximum length of compounded eye; *ML* Mesosoma length: In lateral

Table 1. List of common names used by Mutis in his *Diarios* edited by Hernández de Alba (1983a, b). In front of each name the probable taxonomic equivalent and some notes are offered.

Common name in spanish (English in brackets)	Genus or species	Notes
Hormigas de agua (Water ants)	<i>Monomorium</i> or <i>Pheidole</i> , other small Dolichoderinae	Small, opportunists, some invading houses, and some with “tar” odor
Hormigas ajiseritas (Little spice ants)	<i>Monomorium</i>	Small, with some “spicy flavor when accidentally eaten”
Hormiga arrancapedazos (Bite pieces ants)		Without any clue; Mutis postpone their description “for other day”
Hormiga arriera (Arriera ants)	<i>Atta</i>	One of the common ant mentioned by Mutis, who also called these as <i>culonas</i> and describe their use as human food
Hormiga bizcochuelera o maravilla (Little cake or marvellous ants)		As in water ants
Hormiga cazadora (Hunter ant)	Ponerinae, perhaps <i>Pachycondyla</i>	
Hormiga cazadora leonada (Leonine hunter ant)	<i>Eciton</i>	Mandibles conspicuous, nomadic habits, highly predators than sporadically invade human houses, where are welcomed
Hormiga cazadora negra (Brown ant)	<i>Eciton</i>	As above
Hormiga colorada (Brown ant)		A single mention as <i>mulatas</i> enemies
Hormiga culona (Big ass ant)	<i>Atta cephalotes</i> or <i>A. sexdens</i>	Human food source
Hormiga cucuncha (Cucuncha ant)	Formicinae	The workers (<i>espadones</i>) transport males and Mutis describe this behavior as “danza de las cucunchas” (Cucunchas dance)
Hormiga flechera (Arrow ant)		Strong and painful sting
Hormiga Guate (Guate ant)	<i>Labidus praedator</i>	Smooth and shining, subterranean and predator
Hormiga melcocha o descolorida (Pale ant)		Mutis mention the big headed males and the females in this ant
Hormiga melórica o solitaria (Meloric or solitary ant)		Big headed soldier (<i>cabezón</i>), name provided by the Muti’s gardener
Hormiga de muerto (Dead ant)	<i>Cephalotes</i>	Mutis describes carefully one <i>Cephalotes</i> species
Hormiga mulata (Mulate ant)		A variety of <i>Arriera</i> ?
Hormiga musaela (Banana ant)	Perhaps <i>Crematogaster</i>	Small and inoffensive ant, nesting in the banana’s tree bráctees
Hormiga pataloa (Lon legged ant)	<i>Eciton</i>	Called also hunter ants. Mutis write about the lack of “fixed home” and transport of immatures by workers
Hormiga rascona (Scratchy ant)		Supposedly enemies of leaf cutting ants
Hormiga de Roso (Roso’s ant)		Lover of <i>Palo de Cruz</i> flower nectar
Hormiga solitaria (Solitary ant)		Other name for the <i>melorica</i> ants
Hormiga tambocha (Tambocha ant)	<i>Eciton</i>	Blind, see <i>pataloas</i>
Hormiga de tierra (Ground ant)	<i>Pheidole</i>	Small, dark, dimorphic, nuisance in houses
Hormiga tigre cabeza (Big headed tiger ant)	<i>Azteca</i> ?	Mutis describe the nest in tree branches, including the queen, with structures similar to sponges or bee hives. This is a puzzling observation, because no known ant made nest with panels “Bigger and more valiant than their foes the <i>pataloas</i> ”
Hormiga tigre (Tiger ant)		
Hormiga tijereta (Scissor ant)		A nest is mentioned, including males
Hormiga vagabunda (Tramp ant)	<i>Eciton</i>	See <i>pataloa</i>
Hormiga de la vara santa (Vara Santa ant)	<i>Pseudomyrmex triplarinus</i>	Slender and stinging ants

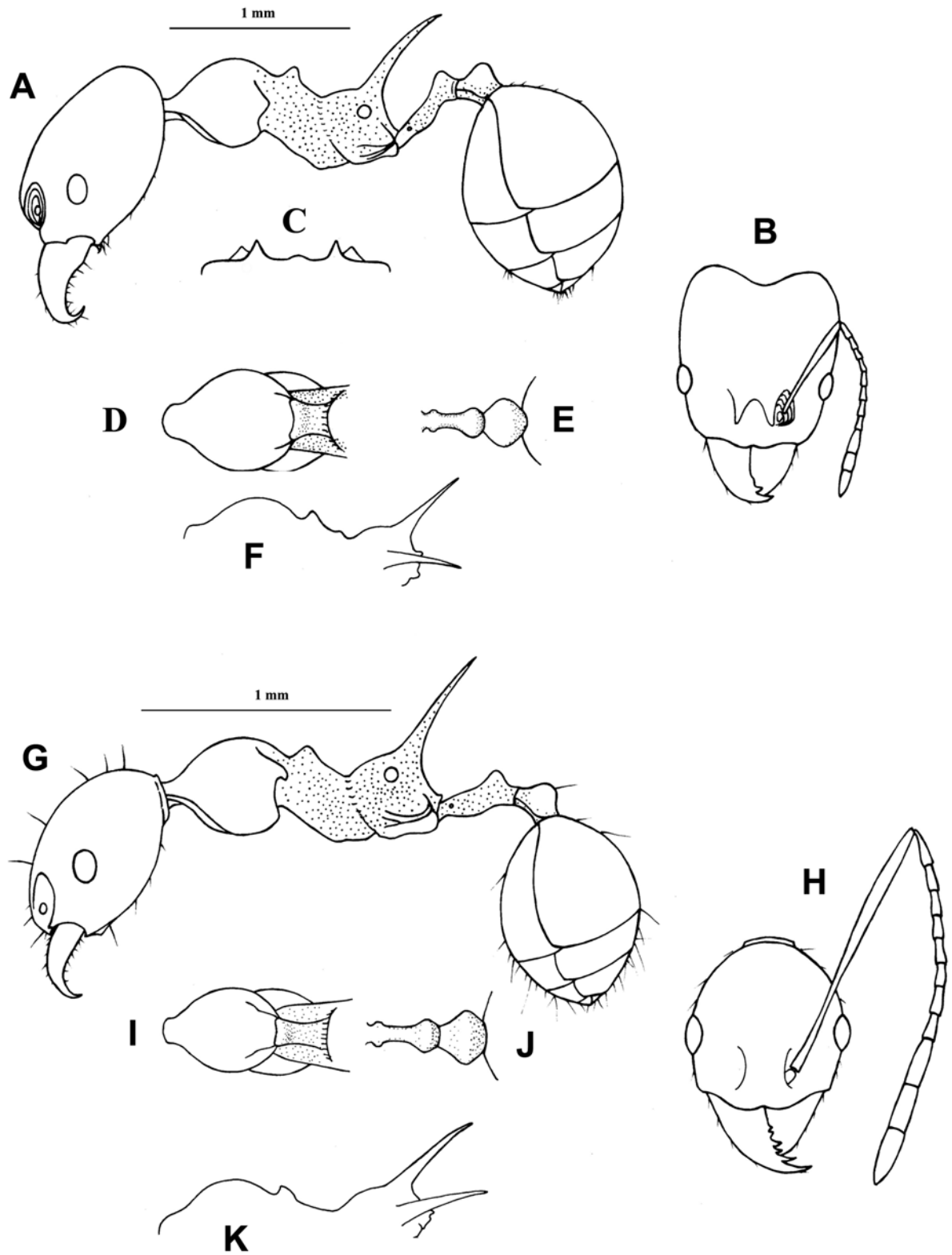


Figure 1. *Pheidole mutisi* new species. **A-F.** Holotype Soldier. **A.** Body in lateral view. **B.** Head in full face view. **C.** Hypostomal bridge. **D.** Promesonotum in dorsal view. **E.** Petiole and postpetiole in dorsal view. **F.** Mesosoma outline in dorsal oblique view. **G-K.** Paratype worker. **G.** Body in lateral view. **H.** Head in full face view. **I.** Promesonotum in dorsal view. **J.** Petiole and postpetiole in dorsal view. **K.** Mesosoma outline in dorsal oblique view. Scale, 1 mm.

view, length of mesosoma, diagonally from posteroventral corner of mesosoma to farthest point on anterior face of pronotum, excluding the neck; *PSL* Propodeal spine length: Distance from inflection point between dorsal face of propodeum and base of spine to tip of spine; *PMG* Depth of promesonotal groove: A line tangent to dorsalmost convexities of pronotum and mesonotum, measuring perpendicular distance from this line to bottom of promesonotal groove; *SPL* Propodeal spiracle width: Includes cuticular ring; *PTW* Petiole width (dorsal view); *PPW* Postpetiole width (dorsal view); *IHT* Distance between inner hypostomal teeth (major workers only); *OHT* Distance between outer hypostomal teeth (major workers only).

Indices: *CI* Cephalic index : $HW / HL \times 100$. *SI* Scape index: $SL / HL \times 100$. *PSLI* Propodeal spine index: $PSL / HL \times 100$. *PMGI* Promesonotal groove index: $PMG / HL \times 100$. *SPLI* Propodeal spiracle index: $SPL / HL \times 100$. *PPI* Postpetiole index: $PPW / PTW \times 100$. *HTI* Hypostomal tooth index: $IHT / OHT \times 100$. The description follows the format of Wilson (2003). The pictures were taken in the Ant Room, of the Museum of Comparative Zoology, Harvard University using the Automontage (Syncroscopy inc) processing software.

Depositories

ICN. Insect Collection, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de COLOMBIA, Bogotá D.C., Colombia. MCZ. Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Cambridge, USA.

Pheidole mutisi new species (Figs. 1, 2).

Type (Major). COLOMBIA, Nariño. Altaquer. Barbacoas. El Barro. Nambí Natural Reserve, 1°18'N 78°05'W, 1200 m., 1-march-2006, S. Cabrera leg. No. 32 (Deposited in ICN); Paratypes (One major, two minors), same data (Deposited in ICN, MCZ).

Etymology. Named after José Celestino Mutis, the distinguished XVIII naturalist, named "The Wiseman", a Neogranadinian who realized the first study of habits in tropical ants in the Americas.

Diagnosis. A medium size member of the *P. diligens* group, distinguished by the following traits.

Major. Light brown, medium sized, head slightly longer than broad, sides slightly convex, vertex deeply convex in the middle,

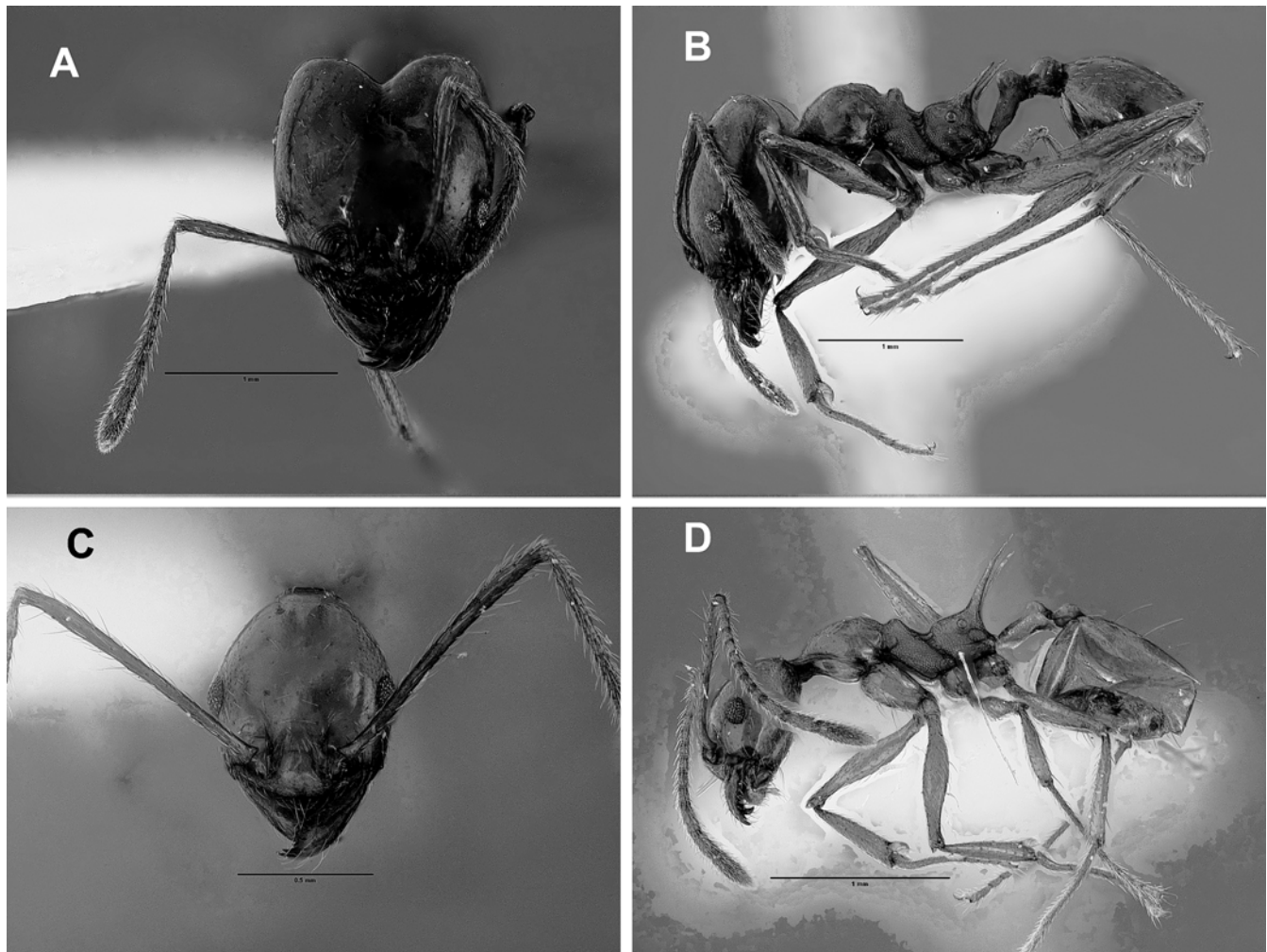


Figure 2. *Pheidole mutisi* new species. **A.** Head in full face view, holotype major worker (soldier). **B.** Body in lateral view, holotype major worker (soldier). **C.** Head in full face view, paratype minor worker. **D.** Body in lateral view, paratype minor worker.

in lateral view, mesonotum narrowly produced, propodeal spines very long, surpassing petiolar length; head, mandibles, promesonotum, coxae, dorsum of petiole and postpetiole and gaster smooth and shining, mesopleuron and propodeum reticulate, sides of petiole and postpetiole finely reticulate; except for appendages, body completely lacking pilosity.

Minor. Light brown, occiput narrowed with short nuchal, propodeal spines in side view noticeably longer than petiole, and from above divergent; dorsum of head, petiole and gaster with long, erect hairs (largest about 0.26 mm), rest of body (except appendages) without pilosity.

Measurements and indices. Holotype major (paratype minor) HL 1.38 (0.80) HLA 0.35 (0.30) HW 1.20 (0.61) SL 0.98 (1.07) EL 0.19 (0.14) ML 1.35 (1.08) PSL 0.50 (0.50) PMG 0.08 (0.06) SPL 0.08 (0.04) PTW 0.23 (0.11) PPW 0.33 (0.2) IHT 0.44 OHT (0.50 aprox.) CI 87 (77) SI 71 (134) PSLI 36 (63) PMGI 5.4 (7.1) SPLI 5.8 (5.4) PPI 145 (175) HTI 88 (aprox.).

Color. Major and minor: Body light brown, in major mandibles and genae dark brown.

Queen and male. Unknown.

Range. Known only from the type locality.

Biology. Collected with Winkler trap in litter of montane humid forest.

Comments. The very long propodeal spines, body smooth and shining lacking pilosity (major) distinguishes this new species from any other New World *Pheidole*.

Acknowledgments

To Sandra Cabrera who provided the ants described here, as well as other interesting ants from her thesis studies. To Dr. Cristian Samper and Fundación Alejandro Ángel Escobar for facilitating the visit of the second author (EOW) to Colombia in August, 2007. To Stefan Cover (MCZ) and Gary Alpert (Harvard University) for the facilities for taking the Automontage pictures in the Ant Room equipment, and to Carolina Medellín (Universidad Nacional de Colombia) for making the drawings. To Claudia Martínez for her help with measurements and images edition. Lauren Raz (ICN) kindly elaborated the first English version of the present paper, with some suggestions. To the anonymous reviewers for their helpful corrections.

Cited literature

- ECHEVERRI, R. (Without date). El discurrir de Mutis por el Departamento del Tolima, antigua provincia de Mariquita. Universidad del Tolima & Colciencias, 30 p.
- HERNÁNDEZ DE ALBA, G. 1983a. Diario de Observaciones de José Celestino Mutis (1760-1790) Tomo I. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica, Bogotá, 492 p.
- HERNÁNDEZ DE ALBA, G. 1983b. Diario de Observaciones de José Celestino Mutis (1760-1790) Tomo II. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica, Bogotá, 712 p.
- HERNÁNDEZ DE ALBA, G. 1983c. Escritos científicos de Don José Celestino Mutis. II. Matemáticas, Astronomía, Ciencias Naturales y Crítica Literaria. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica Volumen VII, Bogotá, 326 p.
- LONGINO, J. 2008. *Pheidole* Working Group. <<http://academic.evergreen.edu/projects/ants/pheidole>>. Last access: [May 2008].
- WILSON, E. O. 2003. *Pheidole* in the New World: A dominant, hyperdiverse ant genus. Harvard University Press, 794 p.

Recibido: 14-sep-2008 • Aceptado: 29-oct-2008

Composición de hormigas e interacciones competitivas con *Wasmannia auropunctata* en fragmentos de Bosque seco Tropical

Ant composition and competitive interactions with *Wasmannia auropunctata* in Tropical Dry Forest fragments

RAFAELACHURY¹, PATRICIA CHACÓN DE ULLOA² y ÁNGELAMARÍA ARCILA³

Resumen: La perturbación incrementa la posibilidad de dominancia por parte de la pequeña hormiga de fuego *Wasmannia auropunctata* (Formicidae: Myrmicinae), especie indicadora de baja diversidad de la comunidad de hormigas en Bosque seco Tropical del valle geográfico del río Cauca (Colombia). Para estudiar las relaciones de competencia interespecífica que involucran a dicha especie, se hicieron experimentos con cebos de atún sobre el suelo en cuatro localidades que conservan fragmentos de bosque seco: Alejandría, El Medio, El Vínculo y San Julián. En cada localidad se distinguieron tres biotopos: interior de bosque, borde de bosque y matriz (caña de azúcar o potrero). Con la información obtenida a partir de la composición de hormigas en los cebos, se calcularon índices de habilidad competitiva. La atracción a cebos fue del 91%, registrándose 66 especies de hormigas en 30 géneros. La composición de hormigas varió dependiendo principalmente de las condiciones de la localidad. Las mirmicinas *Pheidole*, *Solenopsis* y *Crematogaster* presentaron la mayor interacción con *W. auropunctata* y la partición del cebo estuvo influenciada principalmente por la clase de biotopo. El aprovechamiento del cebo por otras especies fue determinado por la abundancia de *W. auropunctata*; si en el cebo hay más de 500 obreras en promedio, el recurso no será compartido. *W. auropunctata* sobresale como especie dominante en la cuenca alta del río Cauca y esto lo logra principalmente por mecanismos de competencia por explotación, permitiéndole un rápido aprovechamiento de los recursos al reclutar gran número de obreras.

Palabras clave: Colombia. Cebos de atún. Ensamblaje de Formicidae. Pequeña hormiga de fuego. Competencia. Dominancia.

Abstract: Disturbance increases the probability of dominance by the little fire ant *Wasmannia auropunctata* (Formicidae: Myrmicinae), an indicator species of low diversity ant communities in Tropical Dry Forest fragments of the Cauca River Valley (Colombia). In order to study interactions of interspecific competition involving this species, we conducted experiments with soil-surface tuna-baits at four localities: Alejandría, El Medio, El Vínculo and San Julián. Three biotopes were distinguished at each locality: forest interior, forest margin and their surrounding matrices (sugar cane or pasture). Based on information obtained from the composition of ants at the baits, competition ability indices were calculated. Attraction to the baits was 91%, for a total of 66 species in 30 genera. Species composition was mainly influenced by locality conditions. The myrmicines *Pheidole*, *Solenopsis* and *Crematogaster* had the greatest interaction with *W. auropunctata* and partitioning of the baits was mostly influenced by biotope. Bait use by other species was determined by the abundance of *W. auropunctata*; if the bait had more than a mean of 500 workers, the resource was not shared. *W. auropunctata* emerged as the dominant species in the upper Cauca River watershed and this was mainly accomplished by exploitation competition, allowing the ants to rapidly take advantage of resources by recruiting a large number of workers.

Key words: Colombia. Tuna baits. Formicidae assemblage. Little fire ant. Competition. Dominance.

Introducción

La competencia es uno de los temas primordiales en estudios de ecología de comunidades de hormigas (Hölldobler y Wilson 1990; Davidson 1998; Holway y Case 2001). La coexistencia entre especies implica varias estrategias competitivas, descritas según las características de cómo las diferentes especies luchan por el recurso. Estas estrategias son: oportunista, insinuadora y extirpadora (Hölldobler y Wilson 1990; Wilson 1971). Las especies oportunistas practican la competencia por explotación y son aquellas que descubren rápidamente el recurso alimenticio y lo utilizan eficientemente. Las especies extirpadoras exhiben competencia por interferencia al dominar el recurso mediante agresión; mientras que las insinuadoras, son especies discretas que pueden aprovechar el recurso al ser inconspicuas. Algunas hormigas pertenecientes al grupo de las extirpadoras reclutan por pistas de olor y pelean por los recursos como por ejemplo las especies de los géneros *Pheidole*,

Crematogaster y *Camponotus*, la hormiga de fuego *Solenopsis geminata* (Fabricius, 1804) y la pequeña hormiga de fuego *Wasmannia auropunctata* (Roger, 1863) (Hölldobler y Wilson 1990).

Las hormigas vagabundas como *W. auropunctata* pueden comportarse como invasoras en sitios donde han sido introducidas (Passera 1994). Debido al desplazamiento de especies nativas o a la reducción de su abundancia, los invasores biológicos han perturbado severamente la estructura y función de algunas comunidades y ecosistemas nativos (Mack *et al.* 2000). Las hormigas invasoras muestran características típicas como la poliginia, unicolonialidad, obreras monomórficas pequeñas y una fuerte agresividad interespecífica (Passera 1994), permitiéndoles excluir a las especies nativas (Passera 1994; Hölldobler y Wilson 1990). Algunas introducciones han tenido impactos negativos en la fauna de hormigas así como en otros invertebrados y vertebrados (Clark *et al.* 1982; Walsh *et al.* 2004; Porter y Savignano 1990; Morrison 2002). Este fenó-

¹ Biólogo. Estudiante de Maestría. Universidad del Valle. A.A. 25360 Cali. rafaelachury@gmail.com. Autor para correspondencia.

² Bióloga, Ph. D., Profesora, Departamento de Biología. Universidad del Valle. A.A 25360 Cali. pachacon@uniweb.net.co.

³ Bióloga, Ph. D., Investigadora Corpoica Caribia. Santa Marta. aarcila@corpoica.org.co.

meno es liderado por *W. auropunctata* (Walsh *et al.* 2004), *Solenopsis invicta* (Buren, 1972) (Forys *et al.* 2002) y *Linepithema humile* (Mayr, 1868) (Suárez *et al.* 1998).

En su rango nativo *W. auropunctata* puede coexistir con otras especies de hormigas (Tennant 1994) o dominar en áreas fragmentadas (Brandão y Silva 2006), invadir campos cultivados (Posada *et al.* 1976; Ulloa-Chacón y Cherix 1990; Delabie *et al.* 1994) y ecosistemas muy intervenidos como el Bosque seco Tropical (Bs-T) del valle geográfico del río Cauca (Armbrecht y Ulloa-Chacón 2003). Es por esto que se hipotetiza que la perturbación desempeña un papel importante al incrementar la posibilidad de invasión por esta especie, la cual ha sido propuesta como indicadora de baja diversidad de la comunidad de hormigas en Bs-T (Armbrecht y Ulloa-Chacón 2003). En cuanto a su capacidad competitiva, experimentos con diferentes cebos indicaron que *W. auropunctata* es muy exitosa al remplazar a otras especies de hormigas en los cebos (Clark *et al.* 1982; Meier 1994; Tennant 1994; Le Breton *et al.* 2005).

Con base en lo anterior, este trabajo busca estimar la composición de hormigas atraídas a cebos de atún en cuatro sitios que conservan fragmentos de Bosque seco Tropical y en sus respectivas matrices (potreros y cultivos de caña de azúcar) para establecer si el sitio o los biotopos (bosque, matriz) son los factores que determinan la composición de especies. También se espera identificar las principales hormigas competidoras de la pequeña hormiga de fuego, y determinar si la abundancia de esta especie se relaciona con la riqueza de otras especies de hormigas en el recurso alimenticio.

Materiales y Métodos

Área de trabajo. El estudio se llevó a cabo en cuatro sitios localizados a lo largo de la cuenca alta del valle geográfico del río Cauca en jurisdicción de los departamentos de Cauca, Valle del Cauca y Risaralda. La temperatura promedio anual es de 24°C y la precipitación fluctúa entre 1.000 y 2.000 mm (Álvarez *et al.* 1998). En la tabla 1 se describen las principales características de cada sitio, incluyendo el fragmento de Bosque seco Tropical y su respectiva matriz.

Muestreo. Se realizó durante tres meses de época lluviosa (junio de 2004, marzo y abril de 2005), cuando las hormigas son más abundantes (Chacón de Ulloa 2003). En cada sitio se diferenciaron tres biotopos: interior de bosque, borde de bosque

y matriz (caña o potrero). Se tomó como borde la franja perimetral de 50 m a partir del límite del bosque hacia su interior; excepto en el fragmento de San Julián donde no se pudieron diferenciar los biotopos del bosque por su forma alargada y reducida extensión. En cada biotopo se delimitó un transecto lineal donde se marcaron en promedio 33 estaciones equidistantes (20 m), en las cuales se capturaron hormigas mediante cebos epígeos de atún. Este método ha sido ampliamente usado en bosque seco (Armbrecht y Chacón de Ulloa 1997a; Armbrecht y Ulloa-Chacón 1999; Ramírez 2001; Armbrecht y Ulloa-Chacón 2003), y consiste en una pieza de papel bond blanco de 4 x 4 cm donde se ponen 9 g ($\pm 1,7$) de atún en aceite, luego se coloca sobre la superficie del suelo y se deja expuesto por tres horas. Seguidamente, se recolectan las hormigas que se encuentren directamente sobre el atún y se recoge el resto del cebo, incluyendo parte de suelo, ya que en la superficie inferior del papel se pueden encontrar especies muy pequeñas o menos agresivas (Bestelmeyer *et al.* 2000). El material se introdujo en bolsas de cierre hermético (16,5 cm x 14,9 cm) y se mantuvo refrigerado. En el laboratorio, las muestras se limpiaron y conservaron en etanol al 80%. La identificación a nivel de género se realizó siguiendo a Palacio y Fernández (2003) y el 53% de las hormigas se llevaron a especie utilizando la clave de Longino (2003), y por comparación con las colecciones del laboratorio de mirmecología del Centro de Pesquisas do Cacau CEPEC (Itabuba BA, Brasil) y del Museo de Entomología de la Universidad del Valle MEUV (Cali, Colombia), donde se depositaron los especímenes.

Análisis de datos. Para cada muestra se contabilizó el total de individuos de cada morfoespecie. Para caracterizar la composición de hormigas atraídas al atún, se describió el porcentaje de ocupación de cebos por las diferentes subfamilias y géneros. Con los datos de frecuencia de captura de todas las especies, se exploró la similitud entre biotopos y sitios de muestreo mediante análisis de agrupamiento (McCune y Grace 2002). Posteriormente, se utilizó el programa PC-ORD versión 4 (McCune y Mefford 1999) para comparar los grupos formados usando la técnica multivariada no paramétrica MRPP (Multi Response Permutation Procedure) la cual pone a prueba la hipótesis de no diferencia entre dos o más grupos de entidades y requiere grupos previamente definidos (Zimmerman *et al.* 1985; McCune y Mefford 1999). Esta misma técnica se realizó para comparar los ensamblajes de hormigas entre biotopos y entre sitios.

Tabla 1. Ubicación geográfica y características de los cuatro fragmentos de Bosque seco Tropical estudiados.

Bosque	Ubicación	Coordenadas	Altitud (msnm)	Extensión (ha)	Matriz
San Julián	Hacienda San Julián, Carretera Panamericana Cali - Popayán. Municipio Santander de Quilichao (Cauca).	3°06'N - 76°31'W	950	3,5	Caña de azúcar y Potrero
El Vínculo	Santuario de Fauna y Flora El Vínculo. Vía a Palmira, Municipio de Buga (Valle del Cauca).	3°50'N - 76°17'W	1.050	15,0	Potrero
El Medio	Hacienda El Medio, en el curso del río La Paila, Municipio de Zarzal (Valle del Cauca).	4°20'N - 76°04'W	950	13,1	Caña de azúcar
Alejandro	Hacienda Alejandro. Vía Cerritos. Municipio La Virginia (Risaralda).	4°51'N - 75°52'W	940	15,3	Potrero

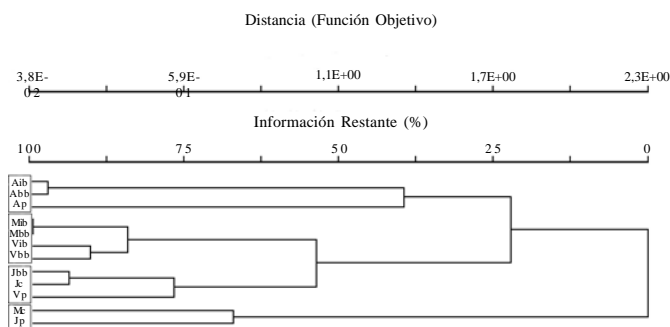


Figura 1. Agrupamiento de los ensambles de hormigas de los cuatro sitios y sus respectivos biotopos, con base en el índice de disimilitud de Sorensen (Bray-Curtis) y el método de agrupamiento Beta-flexible ($\beta = -0.25$). Las letras mayúsculas se refieren a los sitios A: Alejandría, M: El Medio, V: El Vínculo y J: San Julián. Las letras minúsculas denominan los biotopos ib: interior de bosque, bb: borde de bosque, p: potrero y c: caña de azúcar.

Para conocer el porcentaje de interacción, se examinó el número de cebos compartidos entre *W. auropunctata* y otras especies de hormigas. Además, se realizaron pruebas de Chi-cuadrado (Zar 1996) para determinar si la partición del cebo es independiente del biotopo. Para establecer si el número de especies de hormigas que se encuentra en los cebos se relaciona con la abundancia de *W. auropunctata*, se aplicó una prueba de Kruskal-Wallis (H) usando el programa STATISTICA 6.1 (Statsoft 1998). Para las cinco especies de hormigas más abundantes, se calcularon dos índices de habilidad competitiva: Explotación (a), razón entre el número de grupos de forrajeo grandes (> de 20 obreras por cebo) y el número total de ocurrencias; e Interferencia (b), razón entre el número de ocurrencias de obreras de una sola especie y el número total de ocurrencias (Von Aesch y Cherix 2005).

Resultados

Composición de hormigas en cebos. De los 397 cebos colocados el 90,9% resultaron positivos para hormigas (Tabla 2) y la atracción promedio fue del 90,3% ($\pm 9,06$). El número total de hormigas contabilizadas fue de 79.391 agrupadas en 30 géneros y 66 morfoespecies (Apéndice). Se registraron ocho subfamilias con diferentes grados de atracción: Myrmicinae (80%), Formicinae (9,9%), Dolichoderinae (5,1%), Ponerinae (2,0%), Pseudomyrmecinae (1,3%), Ectatomminae (1,0%), Ectoninae (0,7%) y Heteroponerinae (0,2%). Cinco géneros que se encontraron en todos los sitios, presentaron la mayor frecuencia de ocupación: *Wasmannia* (42,1%), *Pheidole* (30,7%), *Solenopsis* (23%), *Crematogaster* (15%) y *Camponotus* (6,3%).

Ensamblajes de hormigas. El dendograma resultante (Fig. 1) presentó un encadenamiento del 15,15% y separó cuatro

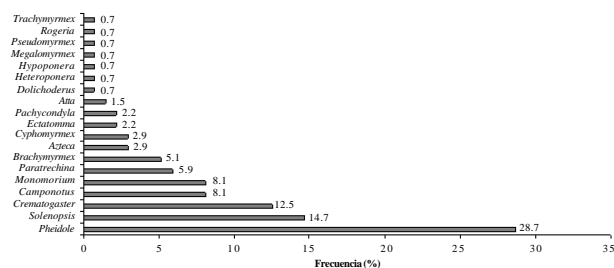


Figura 2. Géneros de hormigas que interactúan con *W. auropunctata* en cebos de atún.

grupos, con un nivel de retención de información por encima del 60%. El primer grupo correspondió a los tres biotopos de Alejandría. El segundo, lo formaron los biotopos boscosos (interior y borde) de El Medio y El Vínculo. El tercer grupo abarcó a San Julián y a la matriz de El Vínculo; y el cuarto grupo, solamente agrupó dos matrices. Hubo diferencias significativas (MRPP, $A = 0,226$; $P < 0,01$) cuando se compararon todos los grupos formados mediante el análisis de agrupamiento, es decir que la composición de especies de hormigas observada difiere de la que se esperaría si los grupos se formarían al azar. Seguidamente, al comparar los grupos definidos solamente por los sitios (Alejandría, El Medio, San Julián y El Vínculo), también se encontraron diferencias significativas (MRPP, $A = 0,144$; $P < 0,01$); pero no ocurrió lo mismo cuando se compararon los grupos con base en los biotopos (interior bosque, borde bosque, potrero y caña) (MRPP, $A = 0,019$; $P = 0,31$).

Interacciones por el recurso alimenticio. 19 géneros (Fig. 2) y 40 especies (Apéndice) se encontraron compartiendo los cebos con la pequeña hormiga de fuego. Sobresalen *Pheidole*, *Solenopsis* y *Crematogaster* que en conjunto representaron el 56% de todas las interacciones en el área de estudio. Cinco especies: *Pheidole mendicula* (Wheeler, 1925) (17%), *Solenopsis pollux* (Forel, 1893) (9,6%), *Crematogaster carinata* (Mayr, 1862) (8,1%), *Monomorium floricola* (Jerdon, 1851) (8,1%) y *Camponotus novogranadensis* (Mayr, 1870) (5,9%) (Tabla 3), conformaron el 48,7% del total de interacciones.

Partición del recurso alimenticio. La partición del cebo en los diferentes sitios fue afectada significativamente por el biotopo ($\chi^2 = 46,226$; $P = 5,47 \times 10^{-7}$; g.l. = 9) (Fig. 3). Así, en interior de bosque, la partición del cebo fue más homogénea ya que se encontraron cebos compartidos y cebos monopolizados por una especie. Los biotopos borde de bosque y potrero favorecieron el compartimiento del cebo mientras que la matriz de caña es preferiblemente dominada por una especie.

Abundancia de *W. auropunctata* y aprovechamiento del cebo por otras especies. La presencia de otras especies de hormigas en los cebos varió significativamente con respecto

Tabla 2. Oferta de cebos y efectividad de atracción para hormigas en el área de estudio.

	Alejandría	El Medio	San Julián	Vínculo	Total
No. de cebos expuestos	94	135	78	90	397
No. de cebos ocupados	82	132	76	71	361
% de atracción	87,2	97,8	97,4	78,9	90,9

Tabla 3. Número de interacciones entre especies de hormigas que comparten el cebo con *W. auropunctata*.

Especie	Alejandría	El Medio	San Julián	El Vínculo	Total
<i>Pheidole mendicula</i>	9	14	0	0	23
<i>Solenopsis pollux</i>	3	4	2	4	13
<i>Crematogaster carinata</i>	0	7	0	4	11
<i>Monomorium floricola</i>	9	1	0	1	11
<i>Camponotus novogranadensis</i>	2	4	0	2	8
Otras especies	27	16	17	10	70
Total	50	46	19	21	136

al número de obreras reclutadas de la pequeña hormiga de fuego (H: 166; $P < 0,001$; g.l. = 5; $n = 358$) (Fig. 4). Con una abundancia promedio de 515 ($\pm 40,6$) obreras de *W. auropunctata* por cebo, el recurso no fue compartido con ninguna otra especie de hormiga; pero cuando la densidad de *W. auropunctata* fue aproximadamente cinco veces más baja (< 100 obreras por cebo), el recurso se compartió hasta con otras cinco especies.

Intensidad de competencia. En la tabla 4 se describen los dos índices de habilidad competitiva cuyos valores fluctúan entre 0 y 100%. Por ejemplo, para *Crematogaster evallans* (Forel, 1907) el número total de ocurrencias en cebos fue de 14 y de éstas en 13 se contaron más de 20 obreras por cebo, lo que resulta en un índice a igual a 93%. Por el contrario, para *S. geminata*, el número total de ocurrencias en cebos fue de 38 y en 31 de éstas se encontró solamente a esta especie, lo que resulta en un índice b igual a 82%.

Discusión

Los cebos de atún son útiles para estimar composición y riqueza de especies de hormigas que forrajeen en el suelo (Bestelmeyer *et al.* 2000), evaluar competencia (Hölldobler y Wilson 1990) y medir eficiencia de forrajeo y comportamientos competitivos cuando se contabiliza la abundancia (Greenslade y Greenslade 1971). En el presente estudio, la efectividad de atracción de hormigas a cebos fue superior al 90%, resultado similar al obtenido por otros autores en Bosque seco Tropical (Bs-T). Así, Armbrrecht y Chacón de Ulloa (1997a) observaron una atracción del 98% en cebos epigeos y arbóreos, y Ramírez (2001) reportó una efectividad del 82%, siendo el segundo método con mayor porcentaje de captura de hormigas, después del método manual o captura directa.

Sin embargo, el número de especies puede variar si se utilizan combinaciones de diferentes métodos de muestreo (Delabie *et al.* 2000).

Las 66 especies de hormigas recolectadas en los cuatro fragmentos de bosque seco representan el 33% del total de especies (200) conocidas para el área de estudio (Chacón de Ulloa y Armbrrecht 2006). Este porcentaje es importante ya que los cebos atraen principalmente a hormigas generalistas y pueden excluir a especies que tengan otras preferencias alimenticias como las cortadoras de hojas o depredadoras especializadas (Bestelmeyer *et al.* 2000). Sin embargo, ocasionalmente se encontraron en los cebos, especies cultivadoras de hongos como *Atta cephalotes* (Linnaeus, 1758), *Cyphomyrmex rimosus* (Spinola, 1851) y *Trachymyrmex* sp. 1. Ocho subfamilias de Formicidae fueron atraídas a los cebos, confirmando las observaciones de Ramírez (2001) y Lozano (2002), para la misma zona de estudio. La subfamilia más diversa fue Myrmicinae con 41 morfoespecies (Apéndice) que representó el 62% de la composición de hormigas y de la cual se registraron 17 de los 27 géneros conocidos para el bosque seco del valle geográfico del río Cauca (Chacón de Ulloa y Armbrrecht 2006).

Tres géneros de Myrmicinae fueron los mejor representados en los cebos, *Pheidole* (12 spp.), *Crematogaster* (7) y *Solenopsis* (6), y el género con mayor porcentaje de captura fue *Wasmannia* con la única especie *W. auropunctata*, lo que puede estar indicando desplazamiento de otras hormigas en términos de eficacia competitiva, historia natural y explotación de sitios perturbados (Armbrrecht y Ulloa-Chacón 2003; López 2005).

La composición de los ensamblajes de hormigas presentó influencia local (Fig. 1); tendencia notable especialmente en los biotopos de bosque (interior y borde) que se agruparon por sitios. Las matrices de tres sitios (El Medio, El Vínculo, San

Tabla 4. Índices de habilidad competitiva para las cinco especies de hormigas más abundantes en el área de estudio.

Especie	Abundancia	Número de ocurrencias	(a) % de grupos (>20 obreras)	(b) % de ocurrencias de una sola especie
			Explotación	Interferencia
<i>Crematogaster carinata</i>	1.928	25	48 (12)	24 (6)
<i>Crematogaster evallans</i>	2.398	14	93 (13)	86 (12)
<i>Monomorium floricola</i>	1.186	23	22 (2)	26 (6)
<i>Solenopsis geminata</i>	4.331	38	84 (32)	82 (31)
<i>Wasmannia auropunctata</i>	64.538	165	77 (127)	52 (86)

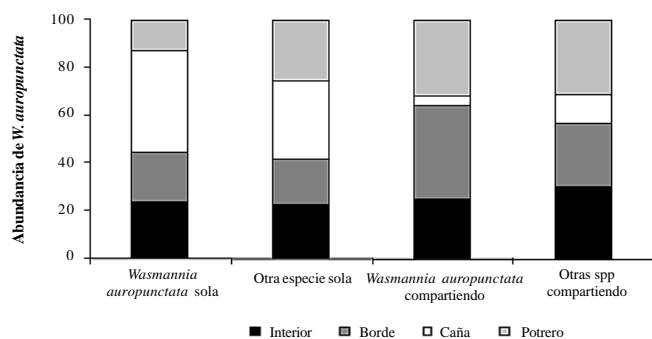


Figura 3. Frecuencia (%) de partición del cebo según el biotopo en toda el área de estudio.

Julián) presentaron composición de hormigas más parecidas entre ellas que con sus bosques vecinos, es decir, las matrices mantienen una diversidad de especies propia que se diferencia de la de los biotopos con cobertura arbórea, indicando un marcado efecto de borde. En esta área de alta perturbación se encuentran pocas especies, las cuales comparten hábitos generalistas y toleran condiciones agresivas como alta intensidad de luz y baja humedad (Pauchard y Alaback 2006).

No se encontraron diferencias en cuanto a la composición de hormigas entre los biotopos, pero si se encontraron diferencias significativas entre los sitios. Este resultado proporciona evidencia de que en el área de estudio existe un marcado efecto de sitio y por consiguiente, la composición de la fauna de hormigas puede estar siendo influenciada por variables como grado de perturbación e historia de manejo de cada sitio (Armbrecht y Chacón de Ulloa 1997b).

Las 40 especies que se encontraron compartiendo los recursos con *W. auropunctata* (Apéndice) se pueden dividir en tres grupos: 1. Especies grandes que forrajean solitariamente como *Ectatomma ruidum* (Roger, 1861) y *Pachycondyla constricta* (Mayr, 1884); 2. Especies que reclutan masivamente como algunas *Pheidole*, *Crematogaster* y *Solenopsis*; y 3. Especies que se encuentran en frecuencias muy bajas como *Rogeria belti* (Mann, 1922) y *Megalomyrmex wallacei* (Mann, 1916). Tennant (1994) realizó observaciones similares en selvas húmedas de Costa Rica y Panamá; donde *W. auropunctata* ignoró a las especies grandes y solitarias que acarrearaban fuera del cebo pedacitos de atún (grupo 1). También registró la ocurrencia de especies que compiten fuertemente con *W. auropunctata* en los cebos (grupo 2). Finalmente, el tercer grupo estuvo representado por especies que utilizaron el recurso con pocas obreras y en muchas ocasiones las interacciones no fueron visibles ya que la partición del cebo ocurría espacialmente, una especie forrajeaba en la parte superior del cebo y las otras alrededor o por debajo.

El bosque con menor número de interacciones por el recurso fue San Julián, el cual presentó la riqueza de hormigas más baja y el mayor número de obreras de *W. auropunctata* por cebo. Armbrecht y Ulloa-Chacón (2003) encontraron que San Julián posee la menor diversidad de mirmecofauna y sugieren que la gran abundancia y alta agresividad interespecífica de la pequeña hormiga de fuego incrementa el desplazamiento de otras especies de hormigas. *W. auropunctata* es una especie muy eficiente en encontrar los recursos y generalmente es la primera en dominarlo, además, sus nidos cubren una gran área y reclutan en masa (Clark *et al.* 1982; Meier 1994; Tennant 1994).

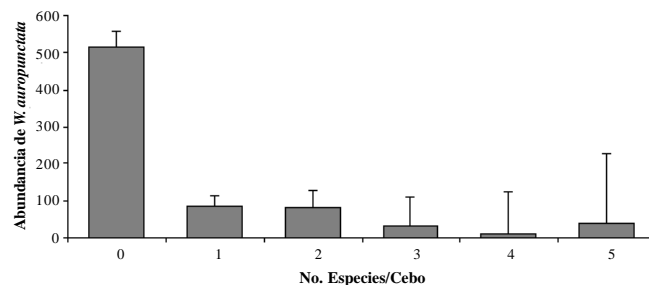


Figura 4. Otras especies de hormigas en cebos y abundancia promedio (\pm desviación estándar) de obreras de *W. auropunctata*.

Los biotopos que presentan cobertura arbórea proporcionan condiciones más homogéneas (sitios para anidar, alimento, microclima) y por lo tanto, es más probable encontrar diferentes tipos de partición del recurso en similar proporción. En contraste, las matrices (caña de azúcar y potrero) son ambientes donde se facilitan las condiciones para que exista dominancia de una especie sobre el recurso alimenticio; por ejemplo, en caña de azúcar, *W. auropunctata* encuentra disponibilidad de recursos y baja diversidad de hormigas, lo que le posibilitaba dominar ese ambiente. En potrero, a pesar de que la diversidad de hormigas también es baja, las condiciones de humedad no son adecuadas para que la pequeña hormiga de fuego se establezca y domine sobre otras especies, lo que explica la dominancia de *S. geminata*, una especie que aprovecha la perturbación y su hábitat principal es la matriz transformada (Davidson 1998).

En áreas muy perturbadas como el Bs-T de la cuenca alta del Río Cauca, *W. auropunctata* alcanza abundancias muy grandes y monopoliza el cebo cuando en promedio están presentes 500 obreras. Armbrecht y Ulloa-Chacón (2003), reportan que áreas donde la densidad de la pequeña hormiga de fuego es alta, la riqueza en el ensamblaje de hormigas disminuye significativamente. Adicionalmente, Clark *et al.* (1982) reportan que en el 35% de los casos donde *W. auropunctata* estuvo presente en los cebos, los grupos de forrajeo estaban compuestos por más de 128 obreras y excluían completamente a sus competidoras. Otro estudio similar, en la isla de Nueva Caledonia (Le Breton *et al.* 2005), encontró que en áreas invadidas todos los cebos son descubiertos por obreras de *W. auropunctata*, y rápidamente los ocupan con un gran número de individuos como resultado de su efectivo reclutamiento en masa. Además, cuando la especie alcanza densidades de más de 100 obreras no se observan otras especies de hormigas sobre los cebos a pesar de que algunas exploradoras se observan cerca del cebo.

Entre las cinco especies más abundantes se encuentran diferencias en los tipos de competencia que pueden presentar. *S. geminata* y *C. evallans* presentaron los índices de competencia más altos; estas especies son dominantes en los sitios donde se encuentran y pueden excluir a sus competidores por agresión física y siendo más eficientes en aprovechar los recursos. *W. auropunctata* fue la especie dominante en el estudio y su abundancia fue superior comparada con las otras especies (Apéndice); esta dominancia es lograda principalmente por mecanismos de explotación ya que presenta un poderoso reclutamiento en masa cuando detecta una fuente de alimento lo que le permite aprovechar eficientemente los recursos (Clark *et*

al. 1982; Passera 1994; Armbrrecht y Ulloa-Chacón 2003; Le Breton *et al.* 2005). Adicionalmente, la pequeña hormiga de fuego presenta características que le ayudan a excluir a sus competidoras como unicolonialidad, poliginia, baja agresión intraespecífica y alta agresión interespecífica (Passera 1994; López 2005); además de haber sido ubicada junto a las especies extirpadoras (Wilson 1971), las cuales desplazan a las otras especies mediante mecanismos competitivos (Clark *et al.* 1982; Meier 1994; Le Breton *et al.* 2005).

Conclusiones

Wasmannia auropunctata fue la especie de hormiga dominante tanto en la utilización del recurso alimenticio como en el número de obreras. Esta dominancia es alcanzada, en parte, por su habilidad competitiva, principalmente por explotación. Adicionalmente, la abundancia de la pequeña hormiga de fuego determina, en cierta medida, el aprovechamiento del recurso alimenticio por parte de otras hormigas, por lo cual, se refuerza la idea de que esta especie es indicadora de baja diversidad de hormigas en la cuenca alta del Valle del río Cauca. Las matrices (potrero y caña) poseen una diversidad mucho menor que las de los biotopos con cobertura arbórea; además, se observa que las relaciones entre hormigas en los biotopos productivos son menos complejas, ya que la intensidad de competencia es más baja al existir especies únicas que aumentan la probabilidad de que el recurso alimenticio sea monopolizado.

Debido a que la composición de hormigas probablemente está determinada por la localidad, la pérdida de alguno de los fragmentos de bosque supondría la desaparición de algunas especies a escala local y regional. Por consiguiente, sería importante aumentar la conectividad estructural entre parches así como evitar la degradación continuada y mejorar las formas de manejo de las matrices.

Agradecimientos

Al Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt por su apoyo financiero a través del convenio No. 192 con el grupo de investigación en Biología, Ecología y Manejo de Hormigas de la Universidad del Valle. Al Dr. Jacques H. Delabie por haber facilitado la determinación de algunas especies de hormigas en el CEPEC. A los evaluadores cuya revisión fue fundamental para mejorar la versión final del manuscrito. A los propietarios y administradores de los bosques por permitir el trabajo en sus predios: Hilda Sanint (Alejandría), Carlos Ávila (El Medio), Luis Carlos Sadovnik (San Julián) e INCIVA (El Vínculo). A los biólogos Pilar López, Paloma Vejarano, Christian Bermúdez, Néstor Zúñiga y Ana Osorio, por su valiosa ayuda en el trabajo de campo.

Literatura citada

- ÁLVAREZ, M.; ESCOBAR, F.; GAST, F.; MENDOZA, H.; REPIZZO, A.; VILLAREAL, H. 1998. Bosque seco Tropical. p. 56-72. En: Chávez, M. E.; Arango, N. (eds.). Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Informe nacional sobre el estado de la biodiversidad 1997. Colombia. Instituto Humboldt, PNUMA. Vol. 3. Ministerio del medio Ambiente. Santa Fe de Bogotá, Colombia.
- ARMBRECHT, I.; CHACÓN DE ULLOA, P. 1997a. Efectividad de cebos de atún para monitoreos de hormigas en fragmentos de Bosque Seco Tropical. En: Resúmenes XXIV Sociedad Colombiana de Entomología (Socolen). Julio 16-18 de 1997. Hotel Meliá, Pereira-Colombia. 122 p.
- ARMBRECHT, I.; CHACÓN DE ULLOA, P. 1997b. Composición y diversidad de hormigas en bosques secos relictuales y sus alrededores, en el Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 23 (1-2): 45-50.
- ARMBRECHT, I.; ULLOA-CHACÓN, P. 1999. Rareza y diversidad de hormigas en fragmentos de Bosque Seco Colombianos y sus matrices. *Biotropica* 31 (4): 646-653.
- ARMBRECHT, I.; ULLOA-CHACÓN, P. 2003. The little fire ant *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera: Formicidae) as a diversity indicator of ants in Tropical Dry Forest fragments of Colombia. *Environmental Entomology* 32 (3): 542-547.
- BESTELMEYER, B. T.; AGOSTI, D.; ALONSO, L. E.; BRANDAO, C. R. F.; BROWN JR, W. L.; DELABIE, J. H. C.; SILVESTRE, R. 2000. Field techniques for the study of ground-dwelling ants, pp. 122-144. En: Agosti, D.; Majer, J. D.; Alonso, L. E.; Schultz, T. R. (eds.). *Ants: Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity*. The Smithsonian Institution. EE.UU.
- BRANDÃO, C. R. F.; SILVA, R. R. 2006. Synecology of *Wasmannia auropunctata*, an invasive ant species (Hymenoptera: Formicidae), in continuous and fragmented areas in the Brazilian Atlantic Forest, pp. 141-151. En: Paine, T. D. (ed). *Invasive Forest Insects, Introduced Forest Trees and Altered Ecosystems*. Dordrecht: Springer.
- CHACÓN DE ULLOA, P. 2003. Biología reproductiva de *Wasmannia auropunctata* (R.) (Hymenoptera: Formicidae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias* 27 (104): 441-447.
- CHACÓN DE ULLOA, P.; ARMBRECHT, I. 2006. Las hormigas del Bosque Seco Tropical, pp. 345-351. En: Chávez, M. E.; Santamaría, M. (eds.). Informe sobre el avance en el conocimiento y la información de la biodiversidad 1998-2004. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá D.C. Colombia.
- CLARK, D. B.; GUAYASAMÍN, C.; PAZMIÑO, O.; DONOSO, C.; PÁEZ DE VILLACÍS, Y. 1982. The tramp ant *Wasmannia auropunctata*: Autoecology and effects on ant diversity and distribution on Santa Cruz Island, Galápagos. *Biotropica* 14 (3): 196-207.
- DAVIDSON, D. W. 1998. Resource discovery versus resource domination in ants: a functional mechanism for breaking the trade-off. *Ecological Entomology* 23 (4): 484-490.
- DELABIE, J. H. C.; DA ENCARNAÇÃO, A. M. V.; CAZORLA, I. M. 1994. Relations between the little fire ant, *Wasmannia auropunctata*, and its associated Mealybug, *Planococcus citri*, in Brazilian Cocoa farms, pp. 91-103. En: Williams, D. F. (ed.). *Exotic Ants Biology, Impact and Control of Introduced Species*. Westview Studies in insect Biology. Boulder. Colorado.
- DELABIE, J. H. C.; FISHER, B. L.; MAJER, J. D.; WRIGHT, I. W. 2000. Sampling effort and choice of methods, pp. 145-154. En: Agosti, D.; Majer, J. D.; Alonso, L. E.; Schultz, T. R. (eds.). *Ants: Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity*. The Smithsonian Institution. EE.UU.
- FORYS, E. A.; ALLEN, C. R.; WOJCIK, D. P. 2002. Influence of the proximity and amount of human development and roads on the occurrence of the red imported fire ant in the lower Florida Keys. *Biological Conservation* 108 (1): 27-33.
- GREENSLADE, P.; GREENSLADE, P. J. M. 1971. The use of baits and preservatives in pitfall traps. *Journal of the Australian Entomological Society* 10: 253-260.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. 1990. *The ants*. Cambridge. Massachusetts. Harvard University Press. 732 p.
- HOLWAY, D. A.; CASE, T. J. 2001. Effects of colony-level variation on competitive ability in the invasive Argentine ant. *Animal Behaviour* 61 (6): 1181-1192.

- LE BRETON, J.; JOURDAN, H.; CHAZEAU, J.; ORIVEL, J.; DEJEAN, A. 2005. Niche opportunity and anti-invasion: The case of *Wasmannia auropunctata* in a New Caledonian Rain Forest. *Journal of Tropical Ecology* 21: 93-98.
- LONGINO, J. T. 2003. Ants of Costa Rica. <<http://www.evergreen.edu/ants/AntsofCostaRica.html>>. Fecha última revisión: 10 enero 2007. Fecha último acceso: [1 diciembre 2007].
- LÓPEZ, M. P. 2005. Composición, densidad y agresividad intracoloniales de *Wasmannia auropunctata* (R.) (Hymenoptera: Formicidae) en fragmentos de Bosque seco Tropical y sus matrices. Trabajo de Grado en Biología. Cali-Colombia. Universidad del Valle. Facultad de Ciencias. 55 p.
- LOZANO, F. H. 2002. Estimación de la riqueza de hormigas y relaciones especie-área en fragmentos de Bosque seco Tropical en Colombia. Tesis de Maestría en Ciencias-Biología. Cali-Colombia. Universidad del Valle. Facultad de Ciencias. 86 p.
- MACK, R. N.; SIMBERLOFF, D.; LONSDALE, W. M.; EVANS, H.; CLOUT, M.; BAZZAZ, F. A. 2000. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* 10 (3): 689-710.
- MCCUNE, B.; GRACE, J. B. 2002. Analysis of Ecological Communities. MjM Software Design. Gleneden Beach. Oregon. USA.
- MCCUNE, B.; MEFFORD, M. J. 1999. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 4. MjM Software Design. Gleneden Beach. Oregon. USA.
- MEIER, R. E. 1994. Coexisting patterns and foraging behavior of introduced and native ants (Hymenoptera Formicidae) in the Galápagos Islands (Ecuador), pp. 44-62. En: Williams, D. F. (ed.). Exotic Ants Biology, Impact, and Control of Introduced Species. Westview Studies in insect Biology. Boulder. Colorado.
- MORRISON, L. W. 2002. Long-term impacts of an arthropod-community invasion by the imported fire ant, *Solenopsis invicta*. *Ecology* 83 (8): 2337-2345.
- PALACIO, E. E.; FERNÁNDEZ, F. 2003. Clave para las subfamilias y géneros, pp. 233-260. En: Fernández, F. (ed.). Introducción a las hormigas de la región neotropical. Instituto de Investigación de recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia.
- PASSERA, L. 1994. Characteristics of tramp species, pp. 23-43. En: Williams, D. F. (ed.). Exotic Ants Biology, Impact, and Control of Introduced Species. Westview Studies in insect Biology. Boulder. Colorado.
- PAUCHARD, A.; ALABACK, P. B. 2006. Edge type defines alien plant species invasions along *Pinus contorta* burned, highway and clearcut forest edges. *Forest Ecology and Management* 223 (1-3): 327-335.
- PORTER, S. D.; SAVIGNANO, D. A. 1990. Invasion of polygyne fire ants decimates native ants and disrupts arthropod community. *Ecology* 71 (6): 2095-2106.
- POSADA, L.; ZENNER DE POLANÍA, I.; DE AREVALO, I. S.; SALDARRIAGA, A.; GARCÍA, F.; CÁRDENAS, R. 1976. Lista de insectos dañinos y otras plagas en Colombia. Instituto Colombiano Agropecuario. Boletín Técnico 43. 97 p.
- RAMÍREZ, J. M. 2001. Evaluación de métodos de captura para muestreos de hormigas en fragmentos de Bosque seco Tropical. Trabajo de Grado en Biología. Cali-Colombia. Universidad del Valle. Facultad de Ciencias. 73 p.
- STATSOFT, INC. 1998. Statistica for Windows [Computer Program Manual]. Tulsa. USA.
- SUÁREZ, A. V.; BOLGER, D. T.; CASE, T. J. 1998. Effects of fragmentation and invasion on native ant communities in Coastal Southern California. *Ecology* 79 (6): 2041-2056.
- TENNANT, L. 1994. The ecology of *Wasmannia auropunctata* in primary Tropical Rainforest in Costa Rica and Panama, pp. 80-90. En: Williams, D. F. (ed.). Exotic Ants biology, impact and control of introduced species. Westview Studies in insect Biology. Boulder. Colorado.
- ULLOA-CHACÓN, P.; CHERIX, D. 1990. The little fire ant *Wasmannia auropunctata* (R.) (Hymenoptera: Formicidae), pp. 281-289. En: Vandermeer, R. K.; Jaffe, K.; Cedeño, A. (eds.). Applied Myrmecology: a World Perspective. Westview Press. Boulder. Colorado.
- VON AESCH, L.; CHERIX, D. 2005. Introduced ant species (Hymenoptera: Formicidae) and mechanisms of competition on Floreana Island (Galápagos, Ecuador). *Sociobiology* 45 (2): 463-481.
- WALSH, P. D.; HENSCH, P.; ABERNETHY, K. A.; TUTIN, C. E. G.; TELFER, P.; LAHM, S. A. 2004. Logging speeds little red fire ant invasion of Africa. *Biotropica* 36 (4): 637-641.
- WILSON, E. O. 1971. The Insect Societies. Cambridge, Mass. Belknap Press, Harvard Univ. Press. 548 p.
- ZAR, J. H. 1996. Biostatistical Analysis. Third edition. Prentice Hall. New Jersey. USA. 662 p.
- ZIMMERMAN, G. M.; GOETZ, H.; MIELKE Jr, P. W. 1985. Use of an improved statistical method for group comparisons to study effects for prairie fire. *Ecology* 66 (2): 606-611.

Recibido: 15-feb-2008 • Aceptado: 26-oct-2008

Apéndice. Abundancia de las especies de hormigas atraídas a cebos de atún en cuatro sitios de la cuenca media del río Cauca, Colombia.

TAXÓN	Alejandro	El Medio	San Julián	El Vínculo	Total
<i>Atta cephalotes</i> (Linnaeus, 1758)*	8	1	0	8	17
<i>Azteca instabilis</i> (F. Smith, 1862)*	0	177	0	83	260
<i>Azteca</i> sp. 2	0	29	0	0	29
<i>Brachymyrmex heeri</i> (Forel, 1874)*	20	0	1	8	29
<i>Brachymyrmex</i> sp. 2	5	0	0	0	5
<i>Brachymyrmex</i> sp. 3	3	0	0	0	3
<i>Brachymyrmex</i> sp. 4	7	0	0	0	7
<i>Brachymyrmex</i> sp. 5*	1	0	0	0	1
<i>Brachymyrmex</i> sp. 6*	5	0	0	0	5
<i>Camponotus novogranadensis</i> (Mayr, 1870)*	9	64	0	6	79
<i>Camponotus</i> sp. 2	0	0	5	0	5
<i>Camponotus</i> sp. 3*	13	1	0	0	14
<i>Cardiocondyla minutior</i> (Forel, 1899)	0	0	2	0	2
<i>Crematogaster carinata</i> (Mayr, 1862)*	587	247	0	1.094	1.928
<i>Crematogaster curvispinosa</i> (Mayr, 1862)*	301	0	1	0	302
<i>Crematogaster evallans</i> (Forel, 1907)*	0	673	0	1.725	2.398
<i>Crematogaster limata</i> (F. Smith, 1858)*	22	212	0	1	235
<i>Crematogaster nigropilosa</i> (Mayr, 1870)*	175	0	0	0	175
<i>Crematogaster</i> sp. 5	66	0	0	0	66
<i>Cyphomyrmex costatus</i> (Mann, 1922)*	1	0	0	0	1
<i>Cyphomyrmex rimosus</i> (Spinola, 1851)*	0	0	2	1	3
<i>Dolichoderus bispinosus</i> (Olivier, 1792)*	135	0	0	0	135
<i>Eciton burchelli</i> (Mayr, 1886)	5	0	0	0	5
<i>Ectatomma ruidum</i> (Roger, 1861)*	11	0	0	1	12
<i>Heteroponera</i> sp. 1*	(1)	0	0	0	1
<i>Hylomyrma</i> sp. 1	0	0	0	3	3
<i>Hypoconerina</i> sp. 1*	9	1	0	0	10
<i>Labidus coecus</i> (Latreille, 1802)	0	0	0	294	294
<i>Linepithema</i> sp. 1	5	14	0	0	19
<i>Megalomyrmex wallacei</i> (Mann, 1916)*	0	0	3	0	3
<i>Monomorium floricola</i> (Jerdon, 1851)*	195	990	0	1	1.186
<i>Octostruma balzani</i> (Emery, 1894)	1	0	0	1	2
<i>Pachycondyla constricta</i> (Mayr, 1884)*	0	2	12	1	15
<i>Pachycondyla impressa</i> (Roger, 1861)*	0	5	0	0	5
<i>Paratrechina longicornis</i> (Latreille, 1802)	0	0	4	0	4
<i>Paratrechina</i> sp. 2*	1	1	17	0	19
<i>Paratrechina</i> sp. 3*	1	3	0	0	4
<i>Pheidole mendicula</i> (Wheeler, 1925)*	126	150	0	0	276
<i>Pheidole subarmata</i> (Mayr, 1884)*	38	0	0	0	38
<i>Pheidole synarmata</i> (Wilson, 2003)*	191	13	16	0	220
<i>Pheidole rugiceps</i> (Wilson, 2003)*	5	13	1	0	19
<i>Pheidole</i> sp. 5	0	0	285	0	285
<i>Pheidole</i> sp. 6	2	0	0	0	2
<i>Pheidole</i> sp. 7*	676	0	0	5	681
<i>Pheidole</i> sp. 8*	25	49	2	56	132
<i>Pheidole</i> sp. 9*	18	60	0	0	78
<i>Pheidole</i> sp. 10	4	0	0	0	4
<i>Pheidole</i> sp. 11	0	296	0	0	296
<i>Pheidole</i> sp. 12*	6	406	0	0	412
<i>Pseudomyrmex boopis</i> (Roger, 1863)	0	4	0	0	4
<i>Pseudomyrmex</i> sp. 2*	4	0	0	0	4
<i>Rogeria beltii</i> (Mann, 1922)*	1	0	0	0	1
<i>Solenopsis geminata</i> (Fabricius, 1804)*	0	1.929	2.350	52	4.331
<i>Solenopsis pollux</i> (Forel, 1893)*	349	83	20	123	575
<i>Solenopsis</i> sp. 3	0	6	0	0	6
<i>Solenopsis</i> sp. 4*	10	0	4	0	14
<i>Solenopsis</i> sp. 5	5	0	0	2	7
<i>Solenopsis</i> sp. 6*	3	7	0	0	10
<i>Solenopsis</i> sp. 7*	5	0	0	3	8
<i>Strumigenys trieces</i> (Brown, 1960)	1	0	0	0	1
<i>Temnothorax subditivus</i> (Wheeler, 1903)	0	0	1	0	1
<i>Tetramorium bicarinatum</i> (Nylander, 1846)	0	147	0	0	147
<i>Tetramorium simillimum</i> (F. Smith, 1851)	0	1	0	0	1
<i>Trachymyrmex</i> sp. 1*	1	0	0	0	1
<i>Tranopelta</i> sp. 1	18	0	0	0	18
<i>Wasmannia auropunctata</i> (Roger, 1863)	1.576	7.716	38.412	16.834	64.538
TOTAL	4.651	13.300	41.138	20.302	79.391

* Especies que se encontraron interactuando con *W. auropunctata* en cebos.

Diversidad de estafilínidos (Coleoptera: Staphylinidae) en cinco sistemas productivos de los Andes Colombianos

Staphylinid diversity (Coleoptera: Staphylinidae) in five productive systems in the Colombian Andes

CATALINA SANABRIA B.¹, INGE ARMBRECHT² y CATALINA GUTIÉRREZ-CHACÓN³

Resumen: El manejo agroecológico adecuado de los sistemas ganaderos beneficia la diversidad de la entomofauna asociada. Con este objeto, se determinaron las especies de estafilínidos en cinco sistemas productivos establecidos con base en el uso de tierra en los Andes colombianos clasificados dentro de un gradiente de recuperación vegetal. Se hipotetizó que la diversidad está asociada positivamente con la recuperación del componente arbóreo. El muestreo se realizó en dos estaciones lluviosas y una estación seca entre 2004 y 2006. Mediante trampas de caída (*Pitfall*) se recolectaron 272 especímenes, pertenecientes a cinco subfamilias y 45 morfoespecies. Las subfamilias Aleocharinae y Staphylininae fueron las de mayor riqueza, mientras que el género *Anotylus* (Oxytelinae) fue el más abundante. Se destaca que la pastura con árboles exhibió una riqueza de especies comparable con ecosistemas naturales tales como bosques secundarios y guaduales. La homogeneidad vegetal fue altamente relacionada con una baja diversidad de estafilínidos y con ello que los componentes de los sistemas productivos ganaderos influyen en su diversidad. Sin embargo, los diferentes elementos del paisaje aportan, en su conjunto a la diversidad regional de estafilínidos.

Palabras clave: Bosques andinos. Guaduales. Potreros arbolados. Sistemas ganaderos. Usos de la tierra.

Abstract: An adequate agroecological management of ranching systems benefits from the associated entomofauna. The aim of this research was to determine the species of staphylinids in five production systems established along a gradient of plant recovery in the Colombian Andes. The hypothesis was that the diversity was positively associated with the recovery of the arboreal component. The survey was made over two rainy and one dry seasons between 2004 and 2006. Using pitfall traps, 272 beetles were collected, which belonged to five subfamilies and 45 morphospecies. The subfamilies Aleocharinae and Staphylininae were the most diverse, while *Anotylus* (Oxytelinae) was the most abundant. Pastures with trees exhibited high species richness, which was comparable to that of natural ecosystems such as forests and "guadua" (bamboo-like) forests. Homogeneous vegetation was highly related to a low diversity of staphylinids, and so the components of production ranching systems influence diversity. The different elements of the landscape, however, contribute as a whole to the regional diversity of staphylinids.

Key words: Andean forests. Giant bamboo. Arboreal pastures. Ranching systems. Land uses.

Introducción

La agricultura y ganadería reemplazan los bosques naturales por sistemas productivos abiertos implicando pérdida o alteraciones de la biodiversidad (Altieri y Nicholls 2002). En Latinoamérica, la ganadería corresponde al 82% de los agroecosistemas y se caracteriza por la baja diversidad vegetal representada por pasturas extensivas. Por ello se considera que un manejo ambiental adecuado, utilizando el componente arbustivo y arbóreo, puede favorecer la biodiversidad silvestre (Murgueitio *et al.* 2003).

Las prácticas agrícolas y ganaderas han transformado el paisaje de los Andes Colombianos en mosaicos complejos de potreros, campos agrícolas, fragmentos de bosque y otros tipos de cobertura arbórea (IAVH 1998). A pesar de que estos elementos del paisaje proporcionan una amplia diversidad de hábitats, generalmente son considerados de poco valor en conservación y escasamente son incluidos en estudios de biodiversidad (Fajardo *et al.* 2006). Estudios recientes indican que una considerable proporción de la biodiversidad original puede persistir dentro de dichos elementos del paisajes y que el grado de cobertura arbórea remanente juega un papel fundamental (Harvey *et al.* 2004). Sin embargo, la información sobre biodiversidad en paisajes agrícolas es escasa

(Hernández *et al.* 2003) pero indudablemente útil para el diseño de planes de conservación eficaces y sostenibles.

Los insectos constituyen una porción muy importante en los agroecosistemas y bosques, tanto en abundancia como en diversidad. Dentro de los coleópteros, se destaca la familia Staphylinidae por ser altamente diversa y dominante en la fauna del suelo en muchos ecosistemas a nivel mundial (Obertel 1968; Bohac 1999; Navarrete-Heredia *et al.* 2002). La mayoría de las especies son depredadoras de otros artrópodos, muchas son saprófagas o se alimentan de hongos o polen. Sólo pocas especies son de importancia económica actuando como enemigos de plagas de cultivos (Andersen 1999); por ejemplo, algunas especies del género *Aleochara*, quienes han sido reportadas como predadores de segundo orden sobre plagas en sistemas manejados (Haynes *et al.* 1980).

Los estafilínidos han sido propuestos como potenciales bioindicadores en zonas seminaturales y cultivadas en Europa Central (Bohac 1999). Presentan susceptibilidad a las prácticas de agricultura extensiva; la riqueza y diversidad de especies aumentan con la reducción de la labranza y poco uso de pesticidas, lo que permite el crecimiento de malezas y por tanto favorables condiciones microclimáticas para estos organismos (Krooss y Schaefer 1998). Asimismo, la distribución y abundancia de estafilínidos parece estar influenciada por la

¹ Estudiante de Maestría. Universidad del Valle. A.A. 25360. Cali. catasanabria@gmail.com. Autor para correspondencia.

² Ph. D. Departamento de Biología. Universidad del Valle. A.A 25360 Cali. inge@univalle.edu.co.

³ Estudiante posgrado. Vrije Universiteit. The Netherlands. tucancito@gmail.com.

temperatura (Hoffman y Mason 2006) y la humedad (García 2001) del suelo. Además, se han encontrado diferencias a nivel de comunidad ligadas principalmente a las características estructurales de la vegetación (e.g. altura) (Hoffman y Mason 2006) y a la composición de la comunidad de plantas (Woodcock *et al.* 2005).

Colombia cuenta con al menos 796 especies de estafilínidos, lo que representa el 25% del potencial de su riqueza (Gutiérrez 2003; Newton *et al.* 2005). Los estudios sobre Staphylinidae en Colombia han sido desarrollados principalmente en bosques, desde altamente conservados en gradientes altitudinales en los Andes Occidentales (Gutiérrez-Chacón y Ulloa-Chacón 2006) hasta pequeños fragmentos de Bosque Seco (García *et al.* 2001; García y Chacón de Ulloa 2005) y sus matrices (Bermúdez *et al.* 2006) en el Sur Occidente del país. En general, se ha encontrado que los estafilínidos poseen estrechos rangos de distribución, exhibiendo altas tasas de recambio de especies a través del gradiente de elevación y entre localidades (Gutiérrez-Chacón y Ulloa-Chacón 2006) y que la diversidad de estos coleópteros se incrementa en elementos del paisaje con mayor heterogeneidad vegetal como bosques de galería y fragmentos de bosque (Bermúdez *et al.* 2006).

El objetivo de este estudio fue entonces determinar la composición y diversidad de estafilínidos en cinco sistemas productivos en la zona Andina Colombiana definidos con base en el uso de suelo en fincas ganaderas. Además se relaciona la biodiversidad con el grado de recuperación del componente arbóreo. Este trabajo constituye el primer estudio comparativo de la familia Staphylinidae en sistemas manejados en Colombia y es un aporte al conocimiento taxonómico de la entomofauna colombiana.

Materiales y Métodos

Área de estudio. El presente estudio se desarrolló en fincas ganaderas de cinco municipios en los departamentos de Quindío y Valle del Cauca, Colombia (Tabla 1, Fig. 1). Dichas fincas están incluidas en el proyecto: “Enfoques Silvopastoriles Integrados para el Manejo de Ecosistemas” (Rivera 2005).

Diseño del muestreo. Se seleccionaron cinco sistemas productivos con base en el uso de tierra y el orden creciente de

recuperación vegetal. De cada sistema se escogieron tres lotes, cada uno considerado como pseudoréplica (Tabla 1). En cada una de las pseudoréplicas se trazó un transecto de 100 m donde se instalaron 10 trampas de caída o Pitfall (equidistantemente) (Vásquez 2008) y se dejaron actuar por 24 horas. Se usó este tiempo porque en un estudio piloto, usando 24, 48 y 76 horas, el más eficiente en términos de relación costo-beneficio fue 24 h. Cada trampa consistió en un vaso plástico de 6 cm x 6 cm semilleno con agua jabonosa y enterrado a ras de suelo. En total se realizaron tres muestreos: el primero entre noviembre y diciembre de 2004, el segundo entre mayo y julio de 2005 y el tercero entre diciembre de 2005 y enero de 2006.

Determinación taxonómica. Los estafilínidos se separaron de los demás artrópodos y se montaron en seco en el laboratorio de Entomología, Universidad del Valle. La determinación taxonómica se realizó a nivel de género (a excepción de Aleocharinae) siguiendo las claves de Navarrete-Heredia *et al.* (2002) y García (2004) (Tabla 2). La colección resultante fue depositada en el Museo de Entomología de la Universidad del Valle (MEUV).

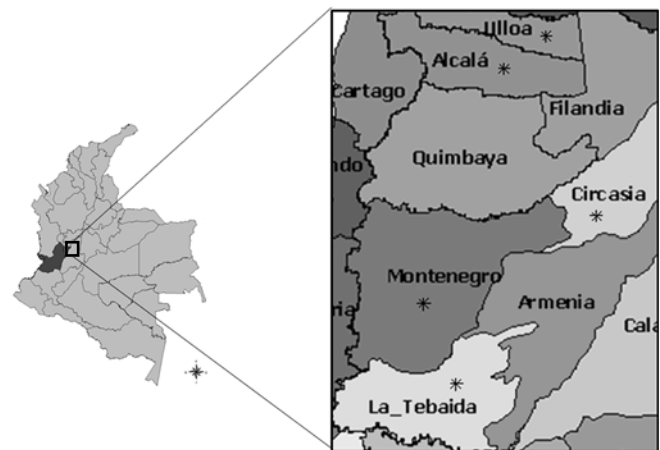


Figura 1. Mapa de ubicación geográfica del área de estudio, Departamento del Quindío y Valle del Cauca, Colombia. Fuente: CIPAV (2003).

Tabla 1. Localidades Muestreadas y descripción de la vegetación presente en cada uso de tierra.

Uso de la tierra	Descripción	Réplica	Altitud (m.s.n.m.)	Municipio
Pastura sin árboles	Dominada por pasturas nativas o introducidas, cobertura menor al 70%.	I	1.054	Montenegro
		II	1.822	Circasia
		III	1.215	Alcalá
Silvopastoril	Pasturas mejoradas con pasto estrella (<i>Cynodon</i> sp.) combinadas con <i>Leucaena leucocephala</i> para el forrajeo.	I	1.054	Montenegro
		II	1.109	Alcalá
		III	1.179	La Tebaida
Pastura con árboles	Pasturas mejoradas combinadas con árboles nativos maduros, densidad de 30 árboles por hectárea.	I	993	Montenegro
		II	1.822	Circasia
		III	1.054	Alcalá
Guadual	Bosque o plantación homogénea de guadua (<i>Guadua angustifolia</i>).	I	1.054	Montenegro
		II	1.215	Alcalá
		III	1.273	Alcalá
Bosque natural	Bosques nativos en recuperación con intervención moderada, bordes abruptos.	I	1.822	Montenegro
		II	1.215	Alcalá
		III	1.179	La Tebaida

Tabla 2. Especies de la familia Staphylinidae coleccionadas en cinco usos de tierra en el Valle del Cauca y Quindío. Pm-a: Pastura sin árboles, Slv: Silvopastoril, Pm+a: Pastura con árboles, Gd: Guadual, Bs: Bosque.

Subfamilia	Taxón	Código	Uso de la tierra					Total
			Pm-a	Slv	Pm+a	Gd	Bs	
Aleocharinae	Aleocharinae sp. 1	Aleo 1					2	2
	Aleocharinae sp. 2	Aleo 2				1		1
	Aleocharinae sp. 4	Aleo 4	1					1
	Aleocharinae sp. 5	Aleo 5					1	1
	Aleocharinae sp. 8	Aleo 8				1	3	4
	Aleocharinae sp. 9	Aleo 9				17	21	38
	Aleocharinae sp. 10	Aleo 10	1			3	29	33
	Aleocharinae sp. 12	Aleo 12	1	1	2			4
	Aleocharinae sp. 13	Aleo 13				2	3	5
	Aleocharinae sp. 14	Aleo 14	1	2		5	2	10
	Aleocharinae sp. 15	Aleo 15		1		1		2
	Aleocharinae sp. 16	Aleo 16			3			3
	Aleocharinae sp. 17	Aleo 17	1		1			2
	Aleocharinae sp. 18	Aleo 18		1				1
	Aleocharinae sp. 19	Aleo 19	13		20		1	34
	Aleocharinae sp. 20	Aleo 20					2	2
	Aleocharinae sp. 22	Aleo 21		1				1
	Aleocharinae sp. 23	Aleo 22				1		1
	Aleocharinae sp. 24	Aleo 23					1	1
	Aleocharinae sp. 25	Aleo 24				1		1
Aleocharinae sp. 26	Aleo 25				1		1	
Oxytelinae	<i>Anotylus</i> sp. 1	Anot 1		1	7	4	4	16
	<i>Anotylus</i> sp. 2	Anot 2	3	2	19	1		25
	<i>Anotylus</i> sp. 3	Anot 3	1	1	32	7		41
	<i>Anotylus</i> sp. 4	Anot 4			5	2		7
Tachyporinae	<i>Coproporus</i> sp. 2	Copro 2				1		1
	<i>Coproporus</i> sp. 3	Copro 3					1	1
	<i>Bryoporus</i> sp. 1	Bryo 1		1		1		2
	<i>Bryoporus</i> sp. 2	Bryo 2					1	1
	<i>Sepedophylus</i> sp.	Sepe					1	1
Staphylininae	<i>Diochus</i> sp.1	Dioch	1					1
	<i>Heterothops</i> sp. 1	Heter 1			1			1
	<i>Lissohypnus</i> sp. 1	Lisso 1				1		1
	<i>Lissohypnus</i> sp. 2	Lisso 2			1			1
	<i>Neobisnius</i> sp.	Neob			1			1
	<i>Neohypnus</i> sp. 1	Neoh 1			1			1
	<i>Neohypnus</i> sp. 2	Neoh 2			2		1	3
	<i>Philothalpus</i> sp.	Philoth				2		2
	<i>Oligotergus</i> sp. 2	Oligo 2			2			2
	<i>Philonthus</i> sp.	Philo			5			5
Paederinae	<i>Scopaeus</i> sp. 1	Scop 1		2	4			6
	<i>Scopaeus</i> sp. 2	Scop 2			1			1
	<i>Scopaeus</i> sp. 3	Scop 3			1		1	2
	<i>Lithocharis</i> sp.	Litho			1			1
	<i>Compl. Medon</i> sp. 2	Medon 2			1			1
Total			23	13	110	52	74	272

Análisis de datos. Para evaluar la efectividad de los muestreos en cada uso de la tierra, se realizaron curvas de acumulación de especies con el programa EstimateS (Colwell 2000) utilizando los estimadores no paramétricos ICE y Jack 2 (Colwell y Coddington 1994; Villareal *et al.* 2004). Se calcularon índices de diversidad de Shannon-Wiener (H') de acuerdo con la ecuación $H' = -\sum P_i \ln P_i$, donde $P_i = (n_i/N)$, siendo $n_i =$ No. de individuos de la especie i y $N =$ No. total de individuos en el sistema i ; el índice de Equitatividad (J'), se estimó de acuerdo con $J = H_{obs} - (H_{min}/H_{max}) - H_{min}$, cada índice se cálculo para cada localidad (Moreno 2001). Se calcularon índices de similitud de Jaccard, que se estima en función de los datos presencia-ausencia, así: $C_j = c/(a+b-c)$, donde, $a =$ No. de especies en sistema i , $b =$ No. de especies en el sistema j , $c =$ No. de especies comunes entre los usos de la tierra con base en el número de especies en común (Moreno 2001). Para determinar la distribución de la abundancia de las especies en cada uno de los usos de la tierra se construyeron curvas de dominancia-diversidad usando la formula $\pi_i \ln(\pi_i)$ (Magurran 1987).

Resultados

Se capturaron 272 especímenes de la familia Staphylinidae agrupados en cinco subfamilias y 45 morfoespecies. Las subfamilias Aleocharinae y Staphylininae presentaron la mayor riqueza con 21 y 10 morfoespecies respectivamente, valores que representan más del 50% del total, seguidas por Paederinae (5), Tachyporinae (5), Oxytelinae (4). (Tabla 2).

El sistema de pastura con árboles presentó la mayor riqueza y diversidad de especies seguido por el gradual. El uso de la tierra con menor riqueza fue la pastura sin árboles (Tabla 3). En cuanto a la distribución de abundancia de especies, el gradual fue el más equitativo mientras que la pastura sin árboles y el silvopastoril fueron los usos de tierra menos equitativos. Las curvas de acumulación de especies con los dos estimadores (ICE y Jack 2) son consistentes entre sí indicando que el bosque fue el uso de la tierra donde se recolectó una menor proporción de las especies esperadas (35-44%), mientras que en la pastura con árboles las especies colectadas representaron entre el 57 y 61% de las especies esperadas (Tabla 3; Fig. 2).

Los usos de la tierra fueron altamente disímiles entre sí, con valores menores a 0,3 (Tabla 4). La menor similitud se

Tabla 3. Riqueza observada y esperada con el estimador ICE, índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') y equitatividad de Pielou (J).

Uso de la tierra	Riqueza observada	Riqueza esperada (ICE)	Diversidad (H')	Equitatividad (J)
Pastura sin árboles	9	21,43	1,59	0,72
Silvopastoril	10	21,67	2,24	0,72
Pastura con árboles	24	35,93	2,44	0,77
Guadual	18	42,59	2,35	0,82
Bosque	17	49,26	1,94	0,68

presentó entre el bosque vs. pastura sin árboles y el bosque vs. silvopastoril, es decir entre el sistema natural y los usos de la tierra más intensivos (Tabla 4). Las curvas de dominancia-diversidad para todos los usos de la tierra (excepto el silvopastoril) mostraron que tres especies dominan numéricamente. Las pendientes son similares y abruptas, indicando la dominancia de unas pocas morfoespecies y muchas especies de aparición única. En estos casos, las morfoespecies dominantes pertenecen principalmente a las subfamilias Aleocharinae (Aleocharinae sp. 19 y Aleocharinae sp. 14) y Oxytelinae (género *Anotylus*) (Fig. 3).

Discusión

La proporción de cada subfamilia dentro del estudio refleja en parte su tamaño dentro de la familia Staphylinidae a nivel global. Las dos subfamilias mejor representadas fueron Aleocharinae seguida por Staphylininae cuyos miembros son considerados generalistas y depredadores dominantes en la fauna del suelo (Navarrete-Heredia *et al.* 2002), esto contrasta con los estudios en paisajes fragmentados del Bosque Seco Tropical del Valle del Cauca y Quindío (García *et al.* 2001; García y Chacón de Ulloa 2005), en donde se registraron 78 especies agrupadas en ocho subfamilias, de las cuales Paederinae, Staphylininae y Aleocharinae fueron las de mayor riqueza específica. De manera similar, los resultados obtenidos en el estudio de Gutiérrez-Chacón y Ulloa-Chacón (2006), en tres localidades de la cordillera occidental, se registraron 11 subfamilias y 293 morfoespecies encontrándose una propor-

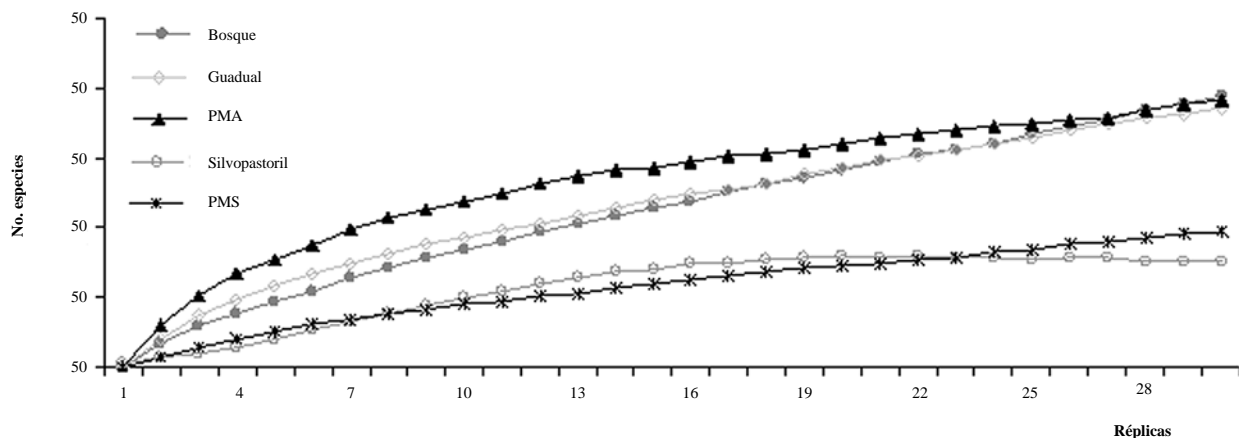


Figura 2. Curvas de acumulación de especies para todos los usos de suelo muestreados mediante el estimador no paramétrico Jack 2.

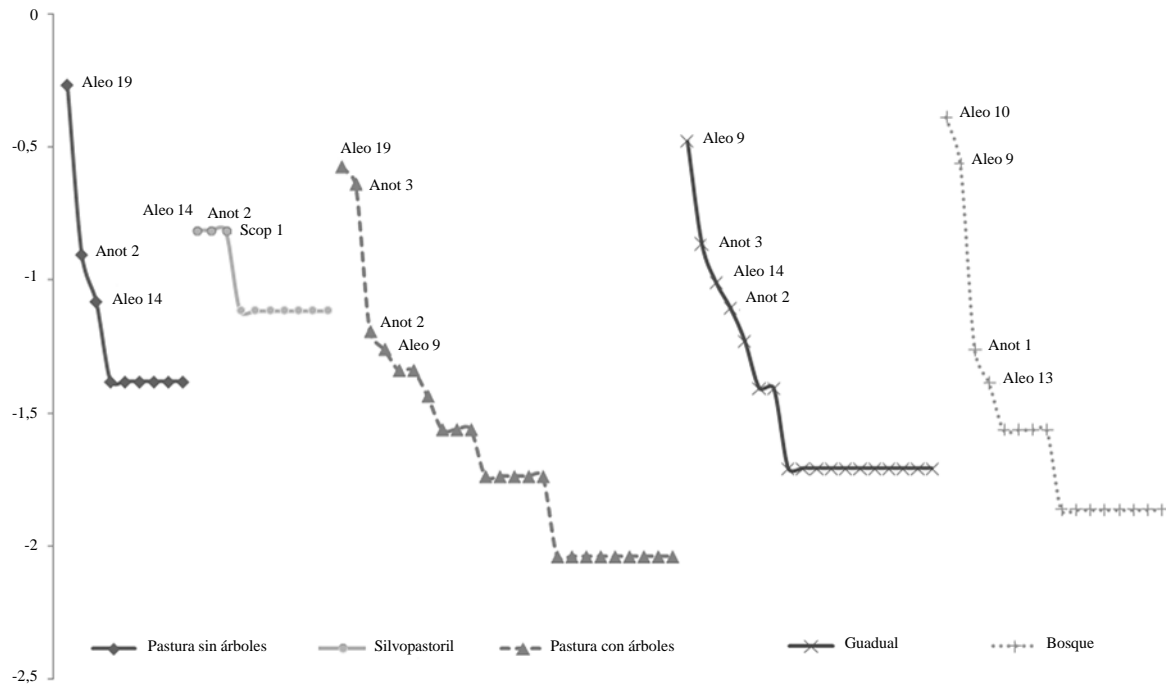


Figura 3. Relación de dominancia-diversidad de estafilínidos en cinco usos de tierra en el Valle del Cauca y Quindío-Colombia. Aleo: Aleocharinae; Anot: *Anotylus*; Scop: *Scopaeus*. Los códigos se refieren a las morfoespecies correspondientes en la tabla 2.

ción similar, pero en este último caso la subfamilia Pselaphinae estuvo en segundo lugar de riqueza debido al tipo de muestreo (sacos Winkler), con los cuales se recolecta una mayor proporción de artrópodos de hojarasca (Olson 1994). Los bajos valores de especies observadas en relación con las especies esperadas podrían atribuirse a que en este estudio se utilizaron exclusivamente trampas de caída, las cuales tienden a excluir animales con poco movimiento y generalmente submuestran depredadores que cazan al acecho y aquellas especies que pueden sostenerse en superficies verticales (Longino *et al.* 2002). Longino y colegas (2002), en Costa Rica, utilizaron cebos, fumigación de dosel, trampas Malaise muestras Berlese y Winkler y captura manual y encontraron 437 especies de hormigas con un inventario casi completo de acuerdo con los estimadores de riqueza. Por tanto, es recomendable complementar diferentes métodos de muestreo dirigidos a los diversos sustratos donde potencialmente habitan estos coleópteros. Al no tener en cuenta un método especializado en artrópodos de hojarasca (e.g sacos Winkler) se excluye la recolección de grupos altamente diversos pero de limitada movilidad como Pselaphinae, cuya representación en otros estudios (e.g. Bermúdez *et al.* 2006; Gutiérrez-Chacón y Ulloa-Chacón 2006) ha sido sustancial.

Tabla 4. Índice de similitud de Jaccard entre sitios.

	Bosque	Guadual	Pastura con árboles	Silvo-pastoril	Pastura sin árboles
Bosque	*	0,2068	0,108	0,06	0,08
Guadual	*	*	0,135	0,273	0,167
Pastura con árboles	*	*	*	0,172	0,214
Silvopastoril	*	*	*	*	0,267
Pastura sin árboles	*	*	*	*	*

Diferentes entidades de Aleocharinae (e.g. Aleocharinae sp.19, Aleocharinae sp. 14) y *Anotylus* spp fueron los que exhibieron dominancia en todos los usos. En un estudio que evaluó el impacto de los cultivos en los artrópodos del suelo, Holland y Reynolds (2003), encontraron que de los coleópteros recolectados, el 10% perteneció a la familia Staphylinidae y que de este porcentaje, el 72% correspondió a individuos del género *Anotylus*, consistente con el resultado de este estudio donde *Anotylus* fue el más abundante. Se esperaba que la biodiversidad se incrementara en relación con la recuperación del componente vegetal, sin embargo, a pesar de que el bosque presenta la mayor cobertura y diversidad vegetal respecto a los demás usos de la tierra, éste exhibió valores de diversidad relativamente bajos, posiblemente como consecuencia del reducido tamaño de los fragmentos, el aislamiento y el alto grado de intervención al que son sometidos (Kattán 2002). Por otro lado, los bosques en general, aún perturbados, presentan alta diversidad vegetal, por lo cual las relaciones ecológicas se tornan complejas, pueden entrar a ser importantes los efectos indirectos y otros factores que podrían limitar o estimular la diversidad de estafilínidos.

Adicionalmente, en los bosques, la proporción de especies recolectadas en relación a las especies esperadas fue la más baja en comparación con los otros usos de la tierra, lo cual dificulta una comparación equiparable en términos de diversidad y riqueza. En general, la eficiencia del muestreo fue mayor en los sistemas con baja heterogeneidad vegetal (silvopastoril y pastura sin árboles) respecto a aquellos con mayor componente arbóreo (bosque, guadual y pastura con árboles) (Tabla 1). Este resultado es razonable en tanto que se espera mayor diversidad en los bosques, que generalmente son más heterogéneos que los sistemas productivos.

Los bajos índices de similitud de Jaccard en general reflejan el carácter más bien exclusivo o singular la fauna en cada uso de la tierra, demostrando que los diferentes elementos del

paisaje aportan fuertemente a la diversidad regional de estafilínidos. Los índices que presentaron valores más bajos correspondieron al bosque en comparación con los sistemas ganaderos de manejo intensivo como lo son el silvopastoril y la pastura sin árboles (Sanabria 2006). Estos últimos tienen una menor cobertura arbórea y su fauna es muy diferente de aquella en sistemas más arbolados como el bosque y el guadual. Mientras que la cobertura de dosel del guadual y bosque puede alcanzar 15-20 m o más de altura con este dosel generalmente cerrado a estas alturas, la cobertura del sistema silvopastoril intensivo con *Leucaena* alcanza máximo 2,5 m, pues el ganado forrajea directamente sobre él. La pastura con árboles alcanza alturas similares a las del bosque pero las copas no se unen en la zona de dosel. Estas diferencias cualitativas, sumadas a los recursos que ofrecen los diferentes sistemas (alimenticios, de refugio, de hojarasca, entre otros) podrían influir en que la composición de los estafilínidos difiera en los sistemas de uso de la tierra.

En Colombia los trabajos realizados con la familia Staphylinidae se han concentrado en ecosistemas naturales como bosques. Este estudio se realizó en un paisaje heterogéneo de los Andes colombianos, involucrando usos de la tierra con diferentes intensidades de manejo antrópico, enfocadas principalmente a la ganadería. Teniendo en cuenta que el muestreo se realizó en sistemas altamente intervenidos y que los estimadores indican baja representatividad del muestreo en algunos casos, se puede afirmar que los agroecosistemas del paisaje ganadero de esta región aportan alta diversidad de fauna asociada (e.g. estafilínidos) y que este estudio es una contribución al conocimiento a la diversidad de estos sistemas. Los resultados demuestran que de los sistemas ganaderos, la pastura con árboles es el más favorable para la conservación de la fauna de estafilínidos. Este hallazgo es consistente con el comportamiento observado en hormigas de suelo, en las cuales se encontró una correlación positiva altamente significativa con la cobertura vegetal (Rivera 2005). Por tanto, se resalta especialmente que el sistema productivo con elementos arbóreos presenta riquezas comparables con ecosistemas naturales como bosques y guaduales.

Agradecimientos

Las autoras agradecen a Leonardo Rivera, María Botero y Selene Escobar quienes contribuyeron con apoyo logístico, trabajo de campo y separación de muestras. A la fundación CIPAV-Cali, por proporcionar la financiación para el trabajo de campo, la Universidad del Valle, Facultad de Ciencias y al Grupo de Investigación en Biología, Ecología y Manejo de Hormigas, para el trabajo de laboratorio y logística.

Literatura citada

- ALTIERI, M.; NICHOLLS, C. I. 2000. Agroecología. Teoría y práctica para una agricultura sustentable. 1ª edición. Cap. 9. Agricultura tradicional y conservación de la biodiversidad. Serie Textos Básicos para la Formación Ambiental. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente Red de Formación Ambiental para América Latina y El Caribe.
- ANDERSEN, A. N. 1999. My bioindicator or yours? Making the selection. *Journal of Insect Conservation*. 3: 61-64.
- BERMÚDEZ, C.; GUTIÉRREZ, C.; CHACÓN, P. 2006. Estimación de Coleópteros Staphylinidae en el paisaje del bosque seco tropical. En: Libro de resúmenes. Segundo congreso Colombiano de Zoología. Editorial Panamericana Formas e Impresos S.A. 572 p.
- BOHAC, J. 1999. Staphylinid beetles as bioindicators. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74: 357-372.
- CAMERO, E. 1999. Estudio comparativo de la fauna de coleópteros (Insecta: Coleoptera) en dos ambientes de bosque húmedo tropical Colombiano. *Revista Colombiana de Entomología* 25: 131-135.
- CIPAV- Fundación Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria. 2003. Restauración de suelos y vegetación nativa: ideas para una ganadería sostenible. Segunda edición. Cali, Colombia. 96 p.
- COLWELL, R. K.; CODDINGTON, A. 1994. Estimating the extend of terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 345: 101-118.
- FAJARDO, D.; JOHNSTON, R.; ARMBRECHT, I.; RIVERA, L.; MÉNDEZ, L. E.; PIEDRAHITA, L.; CALLE, Z. 2006. El papel de las aves, flora nativa y hormigas en ganadería basada en sistemas silvopastoriles en el río La Vieja. Estudio de caso, pp. 406-408. En: Murgueitio, R. E. (ed.). Uso sostenible de la biodiversidad en ecosistemas y hábitats transformados. Libro: Informe nacional sobre avances en el conocimiento e información sobre biodiversidad (INACIB).
- GARCÍA, R.; ARMBRECHT, I.; ULLOA-CHACÓN, P. 2001. Staphylinidae (Coleoptera): composición y mirmecofilia en bosques secos relictuales de Colombia. Staphylinidae (Coleoptera). Composition and myrmecophilia in dry relictual forests of Colombia. *Folia Entomológica Mexicana* 40: 1-20.
- GARCÍA, R. 2004. Comunidades de Coleópteros estafilínidos en remanentes de bosque seco tropical del Valle de geográfico del río Cauca. Tesis de Magíster. Cali-Colombia, Universidad del Valle, Facultad de Ciencias 82 p.
- GARCÍA, R.; CHACÓN DE ULLOA, P. 2005. Estafilínidos (Coleoptera: Staphylinidae) en fragmentos de bosque seco del Valle geográfico del río Cauca. *Revista Colombiana de Entomología*. 31: 45-50.
- GUTIÉRREZ, C. 2003. Composición de estafilínidos (Coleoptera: Staphylinidae) en tres localidades de la cordillera Oriental. Trabajo de grado para optar el título de Bióloga. Universidad del Valle, Departamento de Biología. Cali, Colombia. 59 pp.
- GUTIÉRREZ-CHACÓN, C.; ULLOA-CHACÓN, P. 2006. Composición de estafilínidos (Coleoptera: Staphylinidae) asociados a hojarasca en la cordillera Oriental de Colombia. *Folia Entomológica Mexicana*. 45: 69-81.
- HAMMER, O.; HARPER, D.; RYAN, P. D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontología Electrónica* 4: 1-9.
- HARVEY, C.; VILLANUEVA, C.; VILLANCIS, J.; CHACÓN, M.; MUÑOZ, D.; LÓPEZ, M.; IBRAHIM, M.; GÓMEZ, R.; TAYLOR, R.; MARTÍNEZ, J.; NAVAS, A.; PAÉZ, J.; SANCHEZ, D.; MÉDINA, A.; VILCHEZ, S.; HERNÁNDEZ, B.; PÉREZ, A.; RUÍZ, F.; LÓPEZ, F.; LANG, I.; KINTH, S.; SINCLAIR, F. 2003. Contribución de las Cercas Vivas a la productividad ecológica de los paisajes agrícolas en América Central. *Agroforestería de las Américas* 10: 39-40.
- HAYNES, D. L.; R. L. TUMMALA, T. L. ELLIS. 1980. Ecosystem Management for Pest Control. *BioScience*, 30: 10. 690-696.
- HERNÁNDEZ, B.; MAES, J. M.; HARVEY, C.; VILCHES, S.; MEDINA, A.; SÁNCHEZ, D. 2003. Abundancia y diversidad de escarabajos coprófagos y mariposas diurnas en un paisaje ganadero en el departamento de Rivas, Nicaragua. *Agroforestería para las Américas* 10: 40-46.
- HOFFMAN, T. A.; MASON, C. F. 2006. Importance of management on the distribution and abundance of Staphylinidae (Insecta: Coleoptera) on coastal grazing marshes. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 114: 397-406.

- HOLLAND, J. M.; REYNOLDS, C. J. M. 2003. The impact of soil cultivation on arthropods (Coleoptera and Araneae) emergence on arable land. *Pedobiologia* 47: 181-191.
- INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE RECURSOS BIOLÓGICOS ALEXANDER VON HUMBOLDT (IAvH). 1998. Informe Nacional sobre el estado de la biodiversidad. Colombia. Bosque seco tropical. En: Chávez, M. E.; Arango, N. (eds.). Tomo I: Diversidad Biológica. Instituto Humboldt, PNUMA, Ministerio del Medio Ambiente. Santafé de Bogotá, Colombia 3: 56-71.
- KATTAN, G. H. 2002. Fragmentación: patrones y mecanismos de extinción de especies, pp. 561-590. En: Guariguata, M. R.; Kattan, G. H. (eds.). *Ecología y Conservación de bosques Neotropicales*. Ediciones LUR. Costa Rica.
- KROOSS, S.; SCHAEFER, M. 1998. The effect of different farming systems on epigeic arthropods: a five-year study on the rove beetle fauna (Coleoptera: Staphylinidae) of winter wheat. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 69: 121-133.
- LONGINO, J.; CODDINGTON, J.; COLWELL, R. L. 2002. The ant fauna of a tropical rain forest: estimating species richness three different ways. *Ecology* 83: 689-702.
- MAGURRAN, A. E. 1987. *Diversidad ecológica y su medición*. Princeton University Press. 200 p.
- MURGUEITIO, E.; IBRAHIM, M.; RAMÍREZ, E.; ZAPATA, A.; MEJÍA, C. E.; CASASOLA, F. 2003. Uso de las tierras en fincas ganaderas: Guía para el pago de servicios ambientales en el proyecto Enfoques silvopastoriles Integrados para el Manejo de Ecosistemas. Fundación Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria CIPAV. 2: 120
- MORENO, C. E. 2001. Manual de métodos para medir la biodiversidad. Universidad Veracruzana. México. 49 p.
- NAVARRETE-HEREDIA, J. L.; NEWTON, A. F.; THAYER, M. K.; ASHE, J. S.; CHANDLER, D. S. 2002. Guía ilustrada para los géneros de Staphylinidae (Coleoptera) de México. Universidad de Guadalajara y CONABIO, México.
- NEWTON, A. F.; GUTIÉRREZ-CHACÓN, C.; CHANDLER, D.S. 2005. Checklist of the Staphylinidae (Coleoptera) of Colombia. *Biota Colombiana* 6: 1-72.
- OBRTTEL, R. 1968. Carabidae and Staphylinidae occurring on soil surface in luzerne fields (Coleoptera). *Acta Entomologica Bohemoslov* 65: 5-20.
- RIVERA, L. 2005. Segundo informe "Diversidad de hormigas en sistemas silvopastoriles de los andes colombianos". Proyecto: Enfoques silvopastoriles integrados para el manejo de ecosistemas. Fundación Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria CIPAV. www.cipav.org.co
- SANABRIA, C. 2006. Composición de estafilínidos (Coleoptera: Staphylinidae) en siete usos de tierra ganadera en el norte del Valle del Cauca y Quindío, Colombia. Trabajo de grado para optar el título de Bióloga. Universidad del Valle, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. 60 p.
- VILLAREAL, H.; ÁLVAREZ, M.; CÓRDOBA, S.; ESCOBAR, F.; FAGUA, G.; GAST, F.; MENDOZA, M.; OSPINA, M.; UMAÑA, A.M. 2004. Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad. Programa de Inventarios de Biodiversidad. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia. 236 p.
- WOODCOCK, B. A.; PYWELL, R. F.; ROY, D. B.; ROSE, R. J.; BELL, D. 2005. Grazing management of calcareous grasslands and its implications for the conservation of beetle communities. *Biological Conservation* 125: 193-202.

Recibido: 29-ene-2008 • Aceptado: 10-oct-2008

Diversidad de invertebrados acuáticos asociados a Bromeliaceae en un bosque de montaña

Diversity of aquatic invertebrates associated to Bromeliaceae in the mountain cloud forest

FABIOLA OSPINA-BAUTISTA¹, JAIME V. ESTÉVEZ VARÓN², EMILIO REALPE³ y FERNANDO GAST⁴

Resumen: Se estudiaron los invertebrados acuáticos asociados a los depósitos de agua de *Tillandsia turneri* y *T. complanata* (Bromeliaceae) en un bosque de montaña con el fin de determinar diferencias en la comunidad de invertebrados y relacionarlas con las variables morfológica y fisicoquímicas de la bromelia. Se muestrearon 19 individuos de cada especie de Bromeliaceae, y a cada uno se le estableció la comunidad de invertebrados acuáticos, el contenido de agua, de hojarasca y variables morfológicas y fisicoquímicas. Se encontraron 23 morfoespecies, dentro de las cuales el orden Diptera fue el más diverso y abundante; algunos géneros estuvieron presentes en solo una de las especies de Bromeliaceae. La comunidad de invertebrados acuáticos fue similar entre las dos bromelias. Para *T. complanata* las medidas del ancho de la hoja y contenido de hojarasca se relacionan con el número de especies. Para *T. turneri* la riqueza de Margalef fue explicada por un modelo que incluye las variables número de hojas, ancho de la vaina y contenido de agua,

Palabras clave: Bosques de niebla. fitotelmata. *Tillandsia turneri*. *Tillandsia complanata*.

Abstract: The aquatic invertebrate community associated with the water tank bromeliads *Tillandsia turneri* and *T. complanata* was studied in a mountain cloud forest to determine differences in the invertebrate community and relate those to morphological and physicochemical parameters of the bromeliads. Nineteen individuals of each Bromeliaceae species were sampled, and for each one the aquatic invertebrate community, the water content, litter amount and the morphological and physicochemical parameters were assessed. A total of 23 invertebrate morphospecies were found, of which the order Diptera was the most diverse and abundant; some genera were only found in one of the Bromeliaceae species. The aquatic invertebrate community was similar between the two species. For *T. complanata*, leaf width and litter amount was related to species number. For *T. turneri*, the Margalef richness was explained by a model that included the variables of number of leaves, pod width and water content.

Key words: Mountain cloud forests. Phytotelmata. *Tillandsia turneri*. *Tillandsia complanata*.

Introducción

Las fitotelmata son pequeños cuerpos de agua que provienen de secreciones líquidas o precipitaciones y que se reservan temporal o permanente en plantas o partes de ellas como tallos, ejes de hojas, frutos o flores (Maguire 1971; Machado-Allison *et al.* 1986; Greeney 2001). En el caso de las bromelias la formación de estanques se ve facilitada por la disposición de sus hojas en roseta, lo cual permite la reserva agua y detritus (Benzing 1990).

La cantidad de agua y hojarasca que intercepta la bromelia varía con la forma y el tamaño de la planta, así a mayor tamaño de la roseta mayor es la capacidad para recibir el agua proveniente de la lluvia y la hojarasca del dosel (Benzing 1990; Richardson 1999; Zotz y Vera 1999; Ospina-Bautista *et al.* 2004). Lo anterior, implica más espacio para colonización y recursos más diversos (Lawton 1986; Yanoviak 2001) esto influye en la abundancia, riqueza y diversidad de invertebrados asociados a las bromelias (Richardson 1999; Yanoviak 1999a, b).

El área de la roseta de la bromelia influye indirectamente sobre las condiciones fisicoquímicas del agua ya que modifica las tasas de evaporación y las concentraciones de las sales disueltas y estas variables a su vez influyen sobre la conductividad

y el pH. El área y su relación con la cantidad y calidad de hojarasca presentes en la fitotelma influye sobre el pH, concentración de oxígeno y dióxido de carbono disuelto en el agua (Laessle 1961). Esos efectos crean cambios en la riqueza y abundancia de fauna asociada a la bromelia (Frank *et al.* 1976; Warren y Spencer 1996; Sota 1996, 1998; Richardson *et al.* 2000a).

Adicionalmente, la riqueza de especies puede estar asociada a la complejidad estructural, es así como la riqueza aumenta a medida que la bromelia se hace más compleja (Machado-Allison *et al.* 1985). Para establecer la complejidad se puede utilizar el número de hojas y su disposición, porque mientras más hojas el número de compartimentos disponibles para la colonización aumenta (Laessle 1961; Frank 1983) y en cuanto a la disposición, en bromelias con cavidades separadas en la base de cada hoja de la roseta, la complejidad es mayor, mientras que bromelias donde existe una sola cámara central constituida por una espiral de hojas fuertemente imbricada y dispuestas verticalmente la complejidad es menor (Benzing 1980, 1990; Machado-Allison *et al.* 1985).

En los estudios de fauna asociada a bromelias se han usado indistintamente varias especies de estas plantas sin tener en cuenta las variaciones en el tamaño y complejidad estructural (Laessle 1961; Machado-Allison *et al.* 1986; Fragoso y Ro-

¹ Bióloga, M. Sc. Investigadora asociada al Laboratorio de Zoología y Ecología Acuática-LAZOEA, Universidad de Los Andes, Apartado 4976, Bogotá, Docente Universidad Católica de Manizales. Colombia. fospinab@hotmail.com. Autor para correspondencia.

² M. Sc. Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia. jvestezv@hotmail.com.

³ Biólogo, M. Sc. Laboratorio de Zoología y Ecología Acuática-LAZOEA, Universidad de Los Andes, Apartado 4976, Bogotá, Colombia. erealpe@uniandes.edu.co.

⁴ Biólogo, Ph. D. Director Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. fgast@humboldt.org.co.

jas-Fernández 1996; Reid y Janetzky 1996; Richardson 1999). Sin embargo, en pocos estudios se han encontrado que éstas y los factores fisicoquímicos del agua puedan afectar la riqueza y diversidad de invertebrados (Armbruster *et al.* 2002; Araujo *et al.* 2007). Conocer los patrones que influyen sobre la estructura de una comunidad determinada es un importante propósito ecológico ya que tiene implicaciones para la conservación de la diversidad debido a las altas tasas de destrucción de hábitats (Bowles *et al.* 1998).

El objetivo de este trabajo es comparar la comunidad de invertebrados acuáticos asociados a dos especies de Bromeliaceae *Tillandsia turneri* (Baker, 1888) y *Tillandsia complanata* (Benth, 1846), relacionar las variables morfológicas y fisicoquímicas del agua de cada especie de bromelia con su comunidad de invertebrados, y además, comparar las variables morfométricas como contenido de hojarasca, contenido de agua, parámetros fisicoquímicos entre las dos especies.

Materiales y Métodos

Área de estudio. El estudio se realizó en un bosque de montaña ubicado en el municipio de Guasca, Cundinamarca, Colombia (4°46'N, 74°10'W), a 3.100 m de altitud. El régimen de precipitación es bimodal con dos épocas de lluvia comprendidas entre los meses de marzo a mayo y octubre y noviembre. La precipitación media anual es de 778 mm, la evaporación media anual de 565 mm y la temperatura media mensual es de 12,3°C. El bosque presenta un dosel dominado por *Weinmannia* sp. de 10 m de alto. Los árboles están densamente cubiertos por epifitos y el suelo presenta un manto de musgo continuo donde crece gran diversidad de especies herbáceas (Jaramillo y Cavelier 1998).

Trabajo de campo. El estudio se realizó entre diciembre de 2001 y febrero de 2002, durante los cuales se tomaron muestras pareadas en sitios sombreados de 17 bromelias *T. turneri* y 17 de *T. complanata* por ser las especies más abundantes en el lugar de estudio, éstas se encontraban entre 0,5 y 3 m de altura asociadas a árboles de *Weinmannia* sp. A cada individuo se le realizaron mediciones morfométricas como número de hojas, altura de la roseta, cobertura, área y volumen de la roseta calculada a partir de las fórmulas del área y volumen de un cono. Además, se determinó el largo y el ancho de la lámina y de la vaina de las cinco hojas más grandes con el fin de determinar el tamaño y la capacidad de retención de agua.

De cada bromelia se midió la cantidad de agua retenida y se determinó el pH, la conductividad, la temperatura y la concentración de oxígeno; estas medidas se realizaron en la parte interna y externa de la roseta. El pH se determinó a partir de un medidor de pH marca Shott, la conductividad con un medidor de conductividad Extech y el oxígeno por medio de un medidor de oxígeno Hach La hojarasca retenida por los individuos de *T. turneri* y *T. complanata* fue recolectada, secada a 60°C y posteriormente pesada.

Para recolectar los invertebrados acuáticos asociados a las dos especies de bromelias se deshojó la planta, se lavaron sus hojas con agua destilada y se filtró el resultante con papel de 80 g. Este tipo de muestreo ha sido utilizado para evaluar la comunidad invertebrados en otros estudios (Richardson *et al.* 2000 a, b; Mestre *et al.* 2001; Stuntz 2002), tiene como ventaja que permite recolectar todos los individuos asociados a la

bromelia, principalmente los estados larvales, además, las poblaciones de bromelias no se ven afectadas por este tipo de muestreo ya que presentan altas densidades en los bosques de montaña (Isaza *et al.* 2004) lo cual permite que se incremente la proporción de propágulos y por lo tanto los potenciales colonizadores (Yeaton y Gladstone 1982). Se identificaron los invertebrados utilizando las claves de Ward y Whipple (1959), Pennak (1978), McCafferty (1982), Epler (1996), Consoli y Lourenço (1998) y Merritt y Cummins (2007).

Análisis de datos. Se utilizó el número de individuos de las especies de invertebrados presentes en cada planta para calcular el índice de diversidad de Shannon y el índice de riqueza de Margalef y se estableció la abundancia relativa de invertebrados por individuo de *T. turneri* y *T. complanata*.

Para establecer si existe relación entre las variables morfológicas, contenido de hojarasca, cantidad de agua y parámetros fisicoquímicos y la comunidad de invertebrados asociados, se realizó una regresión múltiple entre dichas variables y la riqueza, la diversidad y la raíz cuadrada de la abundancia de invertebrados más 0,5 para cada especie de bromelia.

Para determinar si había diferencia entre *T. turneri* y *T. complanata* en cuanto a su diversidad, riqueza y abundancia relativa de invertebrados por individuo de bromelia, como también entre las variables morfométricas, fisicoquímicos, contenido de agua, hojarasca entre las dos especies de bromelias se realizaron pruebas de *t*-student previa comprobación de homogeneidad de varianzas y distribución normal.

Resultados

Se encontraron 23 morfoespecies de Arthropoda dentro de las cuales el orden Diptera fue el más diverso con 15 morfoespecies y el más abundante (93,7 % de los individuos en *T. turneri*, 98,3% en *T. complanata*). Las morfoespecies de la familia Chironomidae son las más abundantes en *T. turneri* y las morfoespecies *Eristalis* sp. y *Rhabdomastrix* sp. para *T. complanata*. Además, algunas morfoespecies se encontraron solo en una de las dos especies o en alta proporción en alguna de las bromelias (Tabla 1).

Las variables que mejor describen la relación entre riqueza y los parámetros morfométricos, fisicoquímicos, contenido de agua y hojarasca en *T. complanata* es el ancho de la hoja y contenido de hojarasca, mientras que no se encontró un modelo que explique la diversidad y la abundancia de invertebrados (Tabla 2). Para *T. turneri* la riqueza de Margalef es explicada por un modelo que incluye las variables número de hojas, ancho de la vaina y contenido de agua; el número de especies es explicado por el contenido de agua y número de hojas (Tabla 3).

No se encontraron diferencias significativas entre las dos bromelias en cuanto a abundancia, diversidad de Shannon, número de especies y riqueza de Margalef de invertebrados acuáticos asociados (Tabla 4) pero si se encontraron diferencias significativas en las medidas de pH del agua, altura de la roseta, ancho de lámina y vaina y largo de la lámina entre los individuos de las dos especies de Bromeliaceae. *T. complanata* presenta rosetas con anchos de lámina y vaina mayores que *T. turneri*, por el contrario las medidas de altura de la roseta y largo de la hoja presentan valores más altos en *T. turneri* (Tabla 5).

Tabla 1. Morfoespecies de invertebrados asociados a los depósitos de agua de *T. turneri* y *T. complanata* con sus respectivas abundancias.

Orden	Familia	Subfamilia	Morfoespecie	<i>T. turneri</i>	<i>T. complanata</i>	
Diptera	Syrphidae		Morfoespecie 1	8	5	
			<i>Pipiza</i> sp.	0	7	
			<i>Eristalis</i> sp.	2	75	
	Psychodidae		<i>Pericoma</i> sp.	4	5	
			Morfoespecie 1	10	0	
	Thaumaleidae					
	Culicidae		<i>Haemagogus</i> sp.	22	13	
	Empididae		Morfoespecie 1	0	1	
	Ceratopogonidae		Morfoespecie 1	12	1	
	Chironomidae	Tanipodinae	Morfoespecie 1	59	39	
			Chironomini	41	14	
			Orthoclaadiinae	143	37	
			Morfoespecie 1	0	2	
	Tipulidae	Tipulinae	Morfoespecie 1	0	2	
			<i>Rhabdomastrix</i> sp.	35	67	
			<i>Ormosia</i> sp.	2	5	
<i>Brachipremna</i> sp.			23	16		
Morfoespecie 1			0	1		
Lepidoptera	Pyrilidae		<i>Crambus</i> sp.	1	1	
			<i>Simyra</i> sp.	3	0	
Coleoptera	Dytiscidae		Morfoespecie 1	4	1	
	Hydrophilidae		Morfoespecie 1	1	1	
Copepoda	Harpacticoida		Morfoespecie 1	15	1	
Branchiopoda	Cladocera	Daphnidae	Morfoespecie 1	0	1	

Discusión

En las dos especies de bromelias los Artrópodos fueron los más abundantes y diversos, especialmente el orden Diptera; estos resultados son similares a los encontrados para *T. turneri* en un bosque de montaña de la cordillera oriental colombiana (Ospina-Bautista *et al.* 2004) y en trabajos realizados en otras especies de bromelias como los de Laessle (1961), Reid y Janetzky (1996), Richarson (1999), Richardson *et al.* (2000a), Araujo *et al.* (2007), como los resultados en huecos de árboles Yanoviak (2001).

Los dípteros poseen una alta capacidad de dispersión por el vuelo y de ovoposición en el hábitat donde se desarrollará la larva, estas condiciones permiten que sobrevivan en ecosistemas con condiciones extremas (e.g. bromelia); así para algunos géneros de Diptera existe una relación especie específica con fitotelmata donde ellos usan estos reservorios naturales como sitios de reproducción (Judd 1998), esto explicaría

la gran abundancia y diversidad de los dípteros en *T. turneri* y *T. complanata*. La presencia de larvas de Culicidae se puede explicar por la alta riqueza de microorganismos y de detritus en los reservorios de las bromelias (Barrera 1996).

La comunidad de invertebrados acuáticos es similar entre *T. turneri* y *T. complanata*, debido a las diferencias en variables que influyen en la riqueza, abundancia y número de especies de invertebrados, según los estudios realizados en otras bromelias (Richarson 1999; Araujo *et al.* 2007). Por ejemplo, el área y volumen de la planta son medidas relacionadas con la capacidad de la planta de almacenar agua y hojarasca proveniente del dosel; la interacción entre altura de la planta y diámetro podría indicar el espacio posible para colonización (Lawton 1986; Richardson 1999; Yanoviak 2001; Araujo 2007). Adicionalmente, las dos especies de bromelias son similares en cuanto a la disposición de las hojas y forman pequeños reservorios para almacenar agua y detritus, así los procesos de competencia y depredación serían similares.

Tabla 2. Regresión múltiple entre la riqueza de Margalef, número de especies, diversidad de Shannon y variables morfométricas y fisicoquímicas de *T. complanata*.

Variable	Riqueza de especies			Número de especies		
	$\beta \pm e.e$	Valor de <i>t</i>	P(t)	$\beta \pm e.e$	Valor de <i>t</i>	P(t)
Intercepto	-4,224 ± 0,943	-4,478	0,001	-14,924	-3,085 ± 4,837	0,012
Contenido de hojarasca (g)	0,003 ± 0,01	3,032	0,013	0,127	2,513 ± 0,050	0,031
Ancho de lámina (cm)	0,868 ± 0,164	5,303	0,00	2,960	3,524 ± 0,840	0,006
	$R^2 = 0,75$ P = 0,001			$R^2 = 0,603$ P = 0,01		

Tabla 3. Regresión múltiple entre la riqueza de Margalef, número de especies, diversidad de Shannon y variables morfométricas y fisicoquímicas de *T. turneri*.

Variable	Riqueza de especies			Número de especies		
	$\beta \pm e.e$	Valor de <i>t</i>	P(t)	$\beta \pm e.e$	Valor de <i>t</i>	P(t)
Intercepto	-2,305 ± 0,767	-3,006	0,017	-1,261 ± 1,22	-1,033	0,329
Número de hojas	0,014 ± 0,006	2,355	0,046	0,068 ± 0,024	2,879	0,018
Ancho de vaina (cm)	0,396 ± 0,123	3,220	0,012	-	-	-
Contenido de agua (ml)	0,002 ± 0,001	2,420	0,042	0,017 ± 0,004	4,165	0,002
	$R^2 = 0,805$ P = 0,003			$R^2 = 0,814$ P = 0,001		

Tabla 4. Promedio, valores mínimo y máximo de abundancia de invertebrados, diversidad de Shannon y riqueza de Margalef de invertebrados en *T. turneri* y *T. complanata*.

	<i>T. turneri</i> Promedio ± e.e.	<i>T. complanata</i> Promedio ± e.e.	Prueba <i>t</i>	P
Abundancia	23,3 ± 8,05	17,05 ± 5,18	-0,67	0,56
Diversidad	0,84 ± 0,11	0,83 ± 0,12	-0,037	0,9
Número de especies	3,64 ± 0,64	3,31 ± 0,66	0,35	0,72
Riqueza	1,09 ± 0,15	0,9 ± 0,16	-0,83	0,41

La presencia de hojas anchas en la roseta de la bromelia permite una mayor cantidad de hojarasca y de espacio para colonización, lo cual resulta en un aumento de la longitud de la cadena trófica; estas características explicarían la relación entre el número y la riqueza de especies con el ancho de la hoja y contenido de hojarasca en *T. complanata*; la hojarasca es una medida de la productividad del microcosmos, por lo cual a mayor cantidad de hojarasca se esperaría una mayor riqueza especialmente en las cadenas tróficas basadas en detritus. La relación entre esta variable y el número de especies es similar a la encontrada por Ambruster (2001) para especies de los géneros *Guzmania*, *Streptocali* y *Tillandsia*.

El número de hojas es una medida de la complejidad de un hábitat porque indica el número de compartimentos disponi-

bles para colonización y la heterogeneidad del microecosistema (Armbruster *et al.* 2001); esa característica puede crear cambios en la densidad y diversidad de especies (Machado-Allison *et al.* 1985; Schwartz *et al.* 2000) al crear nuevos nichos para la especie o reducir las tasas de competencia (Young 2001) y aumentar los organismos detritívoros al reducir la posibilidad de depredación de éstos (Srivastava 2006). Por lo anterior se esperaría una relación entre el número de hojas y las variables del enjambre como la encontrada en *T. turneri*. Adicionalmente, en esta especie de bromelia el contenido de agua presentó una relación con riqueza de especies, lo cual se explica porque el agua constituye un recurso importante para los organismos que utilizan las bromelias ya sea temporal o permanentemente.

Tabla 5. Promedio, error estándar, valores prueba *t* (g.l. = 36, $\alpha = 0,05$) para muestras independientes y valores probabilidad (P) de las variables evaluadas a *T. turneri* y *T. complanata*.

Variable	Promedio ± e.e. <i>T. turneri</i>	Promedio ± e.e. <i>T. complanata</i>	Valor de <i>t</i>	P
Altura (cm)	44,22 ± 1,49	38,08 ± 1,76	2,66	0,012
Número de Hojas	50,79 ± 3,42	53,53 ± 2,74	-0,61	0,54
Cobertura (dm ²)	27,98 ± 2,1	26,46 ± 2,03	0,73	0,46
Contenido de agua (ml)	204,00 ± 25,88	177,80 ± 51,25	-1,25	0,22
Contenido de hojarasca (gr)	32,23 ± 3,85	37,28 ± 3,65	-0,95	0,34
Área total (dm ²)	64,6 ± 4,02	57,27 ± 4,25	1,24	0,22
Volumen total (dm ³)	32,61 ± 2,83	26,96 ± 2,98	1,37	0,17
Largo de la lámina (cm)	40,31 ± 0,85	36,56 ± 1,14	3,87	0,0
Ancho de la lámina (cm)	3,60 ± 0,14	4,79 ± 0,18	-5,01	0,0
Largo de la vaina (cm)	17,76 ± 0,45	16,88 ± 0,54	1,42	0,16
Ancho de la vaina (cm)	6,32 ± 0,21	6,97 ± 0,21	-2,22	0,03
Concentración de oxígeno (mg/lt)	5,40 ± 0,62	4,01 ± 0,34	1,82	0,07
Temperatura (°C)	14,54 ± 1,07	15,75 ± 1,19	-5,28	0,60
Conductividad (µs/cm)	64,1 ± 8,76	52,15 ± 5,93	1,20	0,23
pH	5,04 ± 0,13	4,63 ± 0,01	2,65	0,01

Las diferencias en los valores de pH entre las dos especies de bromelias se pueden explicar por los procesos de descomposición de la materia orgánica acumulada, que implican la liberación de ácidos orgánicos y dióxido de carbono (Wetzel 2001). Las diferencias a nivel de medidas morfológicas de las bromelias tales como altura de la planta y largo de la hoja no se relacionan con la comunidad, es decir que no presentan un efecto significativo sobre la riqueza, diversidad, número de especies y abundancia.

Conclusiones

La morfología de la bromelia puede influir en la comunidad de invertebrados al afectar las variables microclimáticas y los recursos importantes para la comunidad como el detritus, contenido de agua y espacio disponible para colonización, así, en bromelias con morfología parecida la comunidad de invertebrados sería similar si estas plantas se encuentran dentro del mismo ecosistema. Además, para los invertebrados acuáticos existen variables morfológicas importantes como el ancho de la hoja y vaina, en comparación con los invertebrados terrestres donde influye el diámetro y la altura de la bromelia.

En la comunidad también puede influir la competencia intra e interespecifica (Bradshaw y Holzappel 1983; Fincke 1992), que para el caso de las dos especies estudiadas sería similar debido a que ambas presentan un suministro por pulso donde el espacio y el recurso alimenticio pueden ser limitantes. Las tasas de inmigración y extinción de invertebrados pueden afectar la composición ya que éstas van a depender de la ubicación espacial de la bromelia dentro del bosque, del sitio de origen de propágulos, de los mecanismos de dispersión de cada especie de invertebrado y de los recursos disponibles (Srivastava y Lawton 1998; Yanoviak 1999b) en especial de la hojarasca proveniente del dosel, para el caso de las dos especies de Bromeliaceae estudiadas la fuente principal de hojarasca era la especie de encenillo (*Weinmannia* sp.).

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos al Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt y al programa de Jóvenes Investigadores de COLCIENCIAS por la financiación de este trabajo. A la Universidad de Los Andes por facilitar la realización del presente estudio. Al Centro de Innovación y Desarrollo Tecnológico de la Universidad de los Andes (CITEC) por facilitar los equipos para medir los parámetros fisicoquímicos.

Literatura citada

- ARAÚJO, V. A., MELO, S. K., ARAÚJO, A. P. A., GOMES, M. L. M., CARNEIRO, M. A. A. 2007. Relationship between invertebrate fauna and bromeliad size. *Brazilian Journal of Biology* 67 (4): 611-617.
- ARMBRUSTER, P.; HUTCHINSON, R. A.; COTGREAVE, P. 2002. Factors influencing community structure in South America tank bromeliad fauna. *Oikos* 96: 225-234.
- BARRERA, R. 1996. Competition and resistance to starvation in larvae of container-inhabiting *Aedes* mosquitoes. *Ecological Entomology* 21: 117-127.
- BRADSHAW, W. E.; HOLZAPFEL, C. M. 1983. Predator-mediated, non-equilibrium coexistence of tree-hole mosquitoes in southeastern North America. *Oecologia* 57: 239-256.
- BENZING, H.D. 1980. *The biology of bromeliads*. Mad River Press, Eureka, California. 287 p.
- BENZING, H. D. 1990. *Vascular epiphytes. General biology and related biota*. Cambridge University Press, Cambridge. 354 p.
- BOWLES, I. A.; RICE R. E.; MITTERMEIR R. A., FONSECA G.A. 1998. Logging and tropical forest conservation. *Science* 280: 1899-1900.
- CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO DE OLIVEIRA, R. 1998. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. 1ª Reimpressão. Fiocruz. Rio de Janeiro. 228 p.
- EPLER, J. H. 1996. Identification manual for the water beetles of Florida. Department of environmental protection. Division of water facilities. Tallahassee. 259 p.
- FINCKE, O. M. 1992. Interspecific competition for tree holes: consequences for mating systems and coexistence in neotropical damselflies. *American Naturalist* 139: 80-101.
- FRAGOSO, C.; ROJAS-FERNÁNDEZ, P. 1996. Earthworms inhabiting bromeliads in Mexican tropical rainforests: ecological and historical determinants. *Journal of Tropical Ecology* 12: 729-734.
- FRANK, J. H.; CURTIS, G. A.; EVANS, H. J. 1976. On the bionomics of bromeliad-inhabiting mosquitoes. II. The relationship of bromeliad size to the number of immature *Wyeomyia vanduzeei* and *W. medioalbipes*. *Mosquito News* 37: 180-192.
- FRANK, J. H. 1983. Bromeliad phytotelmata and their biota, especially mosquitoes, pp.101-128. En: Frank, J. H.; Lounibos, P. L. (eds.) *Phytotelmata: terrestrial plants as hosts of aquatic insects communities*. Plexus Inc., New Jersey. 293 p.
- GREENEY, H. F. 2001. The insects of plant-held waters: a review and bibliography. *Journal of Tropical Ecology* 17: 241-260.
- ISAZA, C.; BETANCUR, J.; ESTEVEZ-VARÓN, J. 2004. Vertical distribution of bromeliads in a montane forest in the eastern cordillera of the Colombian andes. *Selbyana* 25 (1): 126-137.
- JARAMILLO, M.; CAVELIER, J. 1998. Fenología de dos especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) en un bosque montano alto de la cordillera oriental colombiana. *Selbyana* 19: (1) 44-51.
- JUDD, D. D. 1998. Review of a bromeliad-ovipositing lineage in *Wyeomyia* and the resurrection of *Hystatomyia* (Diptera: Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America* 91: 572-589.
- LAESSLE, A. M. 1961. A micro-limnological study of Jamaican bromeliads. *Ecology* 42: 499-517.
- LAWTON, J. H. 1986. Surface availability and insect community structure: the effects of architecture and fractal dimension of plants, pp. 317-331. En: Juniper B. E.; Southwood T. R. E. (eds.) *Insects and the plant surface*, Edward Arnold, London, England. 360 p.
- MACHADO-ALLISON, C. E. R. BARRERA, FRANK, J. H., DELGADO L., GOMEZ-COVA, C. 1985. Mosquito communities in Venezuela phytotelmata, pp. 79-93. En: Lounibos, L. P.; Rey, J. R.; Frank, J. H. (eds.) *Ecology of mosquitoes*. Vero Beach, Florida. USA.
- MACHADO-ALLISON, C. E.; BARRERA, R.; DELGADO, L.; GÓMEZ-COVA, C.; NAVARRO, J. C. 1986. Mosquitos (Diptera: Culicidae) de los fitotelmata de Panaquire, Venezuela. *Acta Biológica Venezolana* 2 (12): 1-12.
- MAGUIRE, B. 1971. Phytotelmata: biota and community structure determination in plant-held waters. *Annual Review of Ecology and Systematics* 2: 439-464.
- McCAFFERTY, W. P. 1982. *Aquatic Entomology*. Science Books International. Boston. 448 p.
- MERRITT, R. W.; CUMMINS, K. W. 2007. *An introduction to the aquatic insects of North America*. Segunda edición. Kendall/Hunt Dubuque, Iowa. 722 p.
- MESTRE, L. A.; ARANHA, J. M.; ESPER, M. 2001. Macro-invertebrate fauna associated to the bromeliad *Vriesea inflata* of the atlantic forest (Paraná State, Southern Brazil). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 44 (1): 89-94.

- OSPINA-BAUTISTA, F.; ESTEVEZ, J. V.; BETANCUR J.; REALPE E. 2004. Invertebrados acuáticos asociados a *Tillandsia turneri* Baker (bromeliaceae) en un bosque altoandino (Cundinamarca, Colombia). *Acta Zoológica Mexicana* 20 (1): 153-166.
- PENNAK, R. W. 1978. Fresh-water invertebrates of United States. Second edition. John Wiley & Sons, New York. 803 p.
- REID, J. W.; JANETZKY, W. 1996. Colonization of Jamaican bromeliads by *Tropocyclops jamaicensis* n. sp. (Crustacea: Copepoda: Cyclopoida). *Invertebrate Biology* 115 (4): 305-320.
- RICHARDSON, B. A. 1999. The bromeliad microcosm and the assessment of fauna diversity in a Neotropical forest. *Biotropica* 31 (2): 321-336.
- RICHARDSON, B.; ROGERS, C.; RICHARDSON, M. J. 2000a. Nutrients, diversity and community structure of two phytotelm systems in a lower mountain forest, Puerto Rico. *Ecological Entomology* 25: 348-356.
- RICHARDSON, B.; RICHARDSON M. J.; SCATENA F. N.; McDOWELL W. H. 2000b. Effects of nutrient availability and other elevation changes on bromeliad populations and their invertebrate communities in a humid tropical forest in Puerto Rico. *Journal of Tropical Ecology* 16 (2): 167-188.
- SCHWARTZ, M. W.; BRIGHAM, C. A.; HOEKSEMA, J. D.; LYONS, K. G.; VANMANTGEM, P. J. 2000. Linking biodiversity to ecosystem function: implications for conservation ecology. *Oecologia* 122: 297-305.
- SOTA, T. 1996. Effects of capacity on resource input and the aquatic metazoan community structure in phytotelm. *Researches on Population Ecology*. 38: 65-73.
- SOTA, T. 1998. Microhabitat size distribution affects local difference in community structure: metazoan community in treeholes. *Researches on Population Ecology* 40: 249-255.
- SRIVASTAVA, D. S.; LAWTON, H. 1998. Why more productive sites have more species: experimental test of theory using tree-hole communities. *American Naturalist* 152: 510-529.
- SRIVASTAVA D. S. 2006. Habitat structure, trophic structure and ecosystem function: interactive effects in a bromeliad-insect community. *Oecologia* 149: 493-504.
- STUNTZ S.; ZIEGLER C.; SIMON U.; ZOTZ G. 2002. Diversity and structure of the arthropod fauna within three canopy epiphyte species in central Panama. *Journal of Tropical Ecology* 18: 161-176.
- WARD, H. B; WHIPPLE, G. C. 1959. Fresh water biology. Second edition. W. T. Edmondson. New York.
- WARREN, P. H; SPENCER, M. 1996. Community and food-web responses to the manipulation of energy input and disturbance in small ponds. *Oikos* 75: 407-418.
- WETZEL, R. G. 2001. Limnology: lake and river ecosystems. 3rd ed. Academic Press, California. 1006 p.
- YANOVIK, S. P. 1999a. Community structure in water-Filler tree holes in Panama: effects of hole height and size. *Selbyana* 20: 106-115.
- YANOVIK, S. P. 1999b. Effects of leaf litter species on macro-invertebrate community properties and mosquito yield in neotropical tree hole microcosms. *Oecologia* 120: 265-271.
- YANOVIK, S. P. 2001. The macrofauna of water- filled tree holes on Barro Colorado island, Panama. *Biotropica* 33 (1): 110-120.
- YEATON, R. I.; GLADSTONE, D. E. 1982. The pattern of colonization of epiphytes on calabash tress (*Crescentia alata* HBK) in Guanacaste Province, Costa Rica. *Biotropica* 14: 137-140.
- YOUNG, K. 2001. Habitat diversity and species diversity: testing the competition hypothesis with juvenile salmonids. *Oikos* 95: 87-93.
- ZOTZ, G; VERA, T. 1999. How much water is in the tank? Model calculations for two epiphytic bromeliads. *Annals of Botany* 83: 183-192.

Recibido: 14-mar-2008 • Aceptado: 29-oct-2008

Gerridae (Hemiptera: Heteroptera) del Museo Entomológico de la Universidad del Valle

Gerridae (Hemiptera: Heteroptera) from the Entomological Museum of the Universidad del Valle

CARMEN ELISA POSSO G¹ y RANULFO GONZÁLEZ O.¹

Resumen: La colección del Museo Entomológico de la Universidad del Valle cuenta con especímenes de 13 familias de heterópteros acuáticos, entre los que figura Gerridae, una familia asociada a la película superficial del agua en hábitats lóticos y lénticos, aguas dulces, salobres y saladas de los océanos. Con el objeto de obtener una aproximación a la diversidad y distribución de los ejemplares de esta familia representados en el museo, se revisaron todos los registros y material determinado hasta el nivel de especie. En total se encontraron 27 especies, representadas en los siguientes géneros: *Rheumatobates* (cuatro especies), *Limnogonus* (cuatro especies), *Trepobates* (cuatro especies), *Telmatometra* (tres especies), *Halobates* (tres especies), *Potamobates* (dos especies) y los géneros *Charmatometra*, *Eurygerris*, *Tachygerris*, *Brachymetra*, *Platygerris*, *Telmatometroides* y *Metrobates* con una especie cada uno, distribuidos en una franja altitudinal que va desde el nivel del mar hasta los 2.725 metros de elevación. Se reporta como primer registro para Colombia, *Metrobates amblydonti*. El trabajo representa un aporte taxonómico que complementa la distribución de estos géneros para Colombia.

Palabras clave: Diversidad. Insectos acuáticos. Patinadores.

Abstract: The collection of the Entomological Museum of the Universidad del Valle has specimens from 13 families of aquatic heteropterans, which includes Gerridae, a family associated with the surface film of water in lotic and lentic habitats, freshwater, brackish water and salt water. In order to approximate the diversity and distribution of the specimens from this family represented in the museum, all the entries and determined materials were revised to the species level. In total 27 species were found, represented in the following genera: *Rheumatobates* (four species), *Limnogonus* (four species), *Trepobates* (four species), *Telmatometra* (three species), *Halobates* (three species), *Potamobates* (two species), and the genera *Charmatometra*, *Eurygerris*, *Tachygerris*, *Brachymetra*, *Platygerris*, *Telmatometroides* and *Metrobates* each with one species, distributed in an altitudinal corridor ranging from sea level up to 2,725 meters in elevation. We report for the first time in Colombia *Metrobates amblydonti*. This work represents a taxonomic contribution which complements the distribution of these genera in Colombia.

Key words: Diversity. Aquatic insects. Water-strider bugs.

Introducción

La familia Gerridae, excepto en la Antártida presenta una amplia distribución mundial. Ocupa la película superficial del agua, tanto de hábitats lóticos como lénticos principalmente en agua dulce aunque con algunas especies de ambientes marinos. Constituyen una familia rica en especies, aunque comparada con la familia Veliidae es un grupo estructuralmente más homogéneo, con un gran número de caracteres apomórficos (Andersen 1982). Revisiones filogenéticas de la familia han sido realizadas por Andersen (1979, 1995), Calabrese (1982), Andersen *et al.* (2000), Hebsgaard *et al.* (2004) y Damgaard *et al.* (2005), entre otros. El grupo incluye especies con un amplio rango de longitud corporal, entre 1,6 y 27,0 mm y presentan la superficie corporal típicamente cubierta por una capa densa de micro vellosidades. Los caracteres morfológicos que identifican esta familia, se describen en Andersen (1982).

La familia Gerridae es un grupo monofilético que comprende las subfamilias Rhagadotarsinae, Trepobatinae, Halobatinae, Charmatometrinae, Eotrechinae, Gerrinae, Cylirostethinae y Ptilomerinae (Andersen 1982). En el nuevo mundo no se encuentran especies de Eotrechinae ni Ptilomerinae. Schuh y Slater (1996) reconocen 60 géneros en los cuales se incluyen aproximadamente 500 especies y presentan una clave para la identificación de las subfamilias. Las subfamilias con mayor número

de géneros las constituyen Trepobatinae, Gerrinae y Halobatinae con 19, 12 y 10 géneros respectivamente.

Una clave para los géneros del mundo es presentada por Hungerford y Matsuda (1960b). La fauna de Gerrinae del hemisferio occidental fue revisada por Drake y Harris (1934). Polhemus y Polhemus (1995) revisaron a los Trepobatinae del mundo. Aristizabal (2002) publica una clave para la determinación de los géneros neotropicales de la familia Gerridae basada principalmente en la de Nieser (1970), modificada y complementada con dos nuevos géneros neotropicales descritos por Polhemus (1991). Entre las descripciones de especies de Colombia que se incluyen en estudios taxonómicos, figuran: *Charmatometra bakeri* (Kirkaldy) (Hungerford 1953); *Potamobates horvathi* Esaki y *P. unidentatus* Champion (Drake y Harris 1934); *Rheumatobates longisetosus* Polhemus y Manzano, 1992 y *R. probolicornis* Polhemus y Manzano, 1992.

Álvarez y Roldán (1983), registraron para el Departamento de Antioquia las especies *Brachymetra albinervis* (Amyot & Serville), *E. kahli* (Drake y Harris, 1934) y *Trepobates trepidus* Drake y Harris, 1928; además de especies del género *Limnogonus*. Polhemus y Manzano (1992) reportan otras especies del pacífico tropical colombiano como *R. carvalhoi* Drake y Harris, 1944 y *Telmatometroides rozeboomi* (Drake y Harris, 1937). Roback y Nieser (1974), registraron varias especies de los Llanos Orientales de Colombia.

¹ Biólogos, Departamento de Biología, Universidad del Valle. A.A. 25360.Cali. ceposso@univalle.edu.co, ranulfog@gmail.com.

Los estudios más recientes sobre Gerridae de Colombia han sido elaborados por Aristizabal (2002) quien registró un total de 16 géneros y 47 especies. Padilla-Gil y Nieser (2003), reportaron para Colombia 12 géneros y 29 especies; estos autores incluyeron la especie *Telmatometra withei* Bergroth, recolectada en el departamento de Nariño, como primer registro para Colombia y describieron el macho áptero de la especie *E. atrekes* y una nueva especie, *Tachygerris dentiferus* cuyo holotipo fue recolectado también en el Departamento de Nariño. También registraron las especies *P. anchicaya* Polhemus & Polhemus y *P. manzanoae* Polhemus & Polhemus para los departamentos de Nariño y Cundinamarca, respectivamente. Aportes importantes al conocimiento de gérridos en los Departamentos de Quindío y Risaralda, fueron realizados por Molano *et al.* (2005a), Molano y Camacho (2006a), Rojas, *et al.* (2006) y Molano y Camacho (2006b). Un listado taxonómico de los Heteroptera Gerromorpha de Colombia en el que figuran 53 especies en 16 géneros, fue publicado por Molano *et al.* (2005b).

Considerando la importancia de esta familia de chinches en los ecosistemas acuáticos, se revisó la colección de las especies de Gerridae, depositada en el Museo Entomológico de la Universidad del Valle (MUSENUV). Esta colección fue realizada con el propósito de registrar la diversidad y distribución de sus especies en el Valle del Cauca. También incluye especímenes de otras áreas del suroccidente colombiano, océano Pacífico y unos pocos ejemplares de la serranía de La Macarena.

Materiales y Métodos

Los Gerridae del Museo Entomológico de la Universidad del Valle (MUSENUV), depositados a partir de 1984, fueron determinados a género mediante la clave de Nieser (1970), modificada y complementada por Polhemus (1991). Parte de esta colección fue previamente determinada por los mismos autores durante su visita al MUSENUV. Las determinaciones a especie se realizaron utilizando las claves y revisiones taxonómicas de Drake y Harris (1932, 1934), Shaw (1933), Kenaga (1941), Hungerford (1954), Herring (1961), Drake (1963), Matsuda (1960), Nieser (1970), Polhemus y Manzano (1992), Polhemus y Polhemus (1995), Andersen (2002), Aristizabal (2002) y descripciones originales de algunas especies. Posteriormente se construyó una base de datos, para el cálculo de estadísticas descriptivas. También se elaboraron mapas de distribución geográfica en el Departamento del Valle del Cauca, para cada uno de los géneros, pero sólo se presentan en este trabajo los de los géneros con mayor abundancia, diversidad y riqueza de especies.

Resultados

La colección MUSENUV contiene 13 géneros y 27 especies de la familia Gerridae. De 210 registros, el 79,1% corresponde al departamento del Valle del Cauca, 13,3% a localidades de zonas costeras de los departamentos de Chocó, Cauca y Nariño, 2,4% a la Serranía de la Macarena y el 5,2% a aguas del Océano Pacífico, en proximidades de la Isla Malpelo. El orden para los géneros y sus respectivas especies, se presenta por subfamilias según Schuh y Slater (1996).

Subfamilia Charmatometrinae

Brachymetra albinervis (Amyot y Serville, 1843)

Material examinado. 3H, 3M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Bajo Calima. 75m. 22-mar-1987. González, R. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Río Tatabro. 150m. 22-ene-1992. Villegas, M. [MUSENUV]. 2H, 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Río Tatabro. 150m. 28-feb-1987. González, R. [MUSENUV]. 7H, 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. 0m. May-1986. González, R. [MUSENUV]. 3H (1 Alada, 2 Ápteras), 3M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Danubio. 220m. 2-ene-1986. Encarnación, K. [MUSENUV]. 2H. (1 Áptera, 1 Alada). COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Llano Bajo. 85m. 28-feb-1987. González, R. [MUSENUV]. 1H. Alada. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Quebrada la Narcisca. 95m. 22-mar-1986. González, R. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Bajo Calima. 220m. 22-ene-1992. Villegas, M. [MUSENUV]. 2H, 4M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Punta Arenas. 0m. 31-jul-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 1H. Alada. COLOMBIA. Valle del Cauca. Bajo Anchicayá. 283m. 7-feb-1990. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H (1 Alada), 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Ladrilleros. 216m. 5-mayo-1987. González, R. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Darién 1620m. 10-may-1985. González, R. [MUSENUV]. 1H, 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Pance. 1000m. Ene-1991. Gaitán, E. [MUSENUV].

Comentarios: De las tres especies registradas para Colombia, se encuentra en la colección del MUSENUV únicamente *B. albinervis* con especímenes ápteros y alados. Una gran proporción de especímenes fue recolectada en zonas cercanas al municipio de Buenaventura, asociados a aguas salobres y manglares. Algunos especímenes fueron recolectados en la Isla Gorgona. La elevación máxima para esta especie se registró en los 1620 metros.

Charmatometra bakery (Kirkaldy, 1898)

Material examinado: 1H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. 70m. 1-ago-1989. Escobar, F. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Dapa. Chicoral. 1970m. 13-may-1990. Dorado, G. [MUSENUV]. 2H. Ápteras. COLOMBIA. Valle del Cauca. Dapa. Chicoral. 1970m. 23-nov-990. Cáceres, X. [MUSENUV]. 5H, 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Dapa. Chicoral. 1970m. 1-may-1991. Escobar, F. [MUSENUV]. 5H, 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Dapa. Chicoral. 1970m. 1-dic-1991. Lozano, F. [MUSENUV].

Comentarios: Esta especie ha sido recolectada principalmente en el municipio de la Cumbre (Valle del Cauca) y zonas aledañas. La distribución en el Departamento del Valle abarca una franja altitudinal mínima de 1.926 m y máxima de 1.970 m.

Subfamilia Cylindrostethinae***Platygerris depressus* White, 1883**

Material examinado. 1M. áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. 0m. 3-nov-1988. Medina, C. [MUSENUV]. 1M. áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Bajo Calima. 75m. 26-may-1993. [MUSENUV]

Comentarios: *P. depressus* presenta una distribución restringida a la costa pacífica, encontrándose los pocos especímenes recolectados, hasta una elevación máxima de 70 msnm.

***Potamobates tridentatus* Esaki, 1926**

Material examinado. 2H, 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Bajo Calima. 70m. 3-mar-1987. Manzano, M. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Quebrada La Narcisa. 95m. 3-mar-1987. Manzano, M. [MUSENUV]. 3H, 3M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Quebrada La Narcisa. 95m. 22-mar-1987. González, R. [MUSENUV]. 4H, 9M. COLOMBIA. Valle del Cauca. Río Tatabro. 150m. 28-feb-1987. González, R. [MUSENUV]. 1H, 1M. Ápteros. COLOMBIA. Cauca. Isla Gorgona. 0m. 9-sep-1987. Murillo, C. [MUSENUV]. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Chocó. Baudó. Quebrada Murata. 50m. 6-jul-1986. Flor, G. [MUSENUV]. 11H (1 Alada, 10 Ápteras), 11M (1 Alado, 10 Ápteros). COLOMBIA. Valle del Cauca. Río Tatabro. 150m. 30-jul-1989. Manzano, M. [MUSENUV].

***Potamobates bidentatus* Champion, 1898**

Material examinado: 5H, 8M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Río San Cipriano. 127m. 7-ago-1989. Manzano, M. [MUSENUV].

***Potamobates horvathi* Esaki, 1926**

Material examinado. 6H, 5M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Córdoba. 102 m. 17-ene-1992. Galindo, A. [MUSENUV].

Comentarios: Del género *Potamobates* *P. tridentatus* es la especie con mayor representación en la colección MUSENUV. Las especies de este género se distribuyen en la zona occidental del Departamento del Valle del Cauca, cercana al litoral pacífico, con un rango altitudinal entre el nivel del mar y 127 metros de elevación. También se cuenta con especímenes recolectados en el Departamento vecino de Chocó y en la Isla Gorgona en el Departamento del Cauca.

Subfamilia Gerrinae***Tachygerris celocis* (Drake y Harris, 1931)**

Material examinado. 1H. Alada. 1M. Áptero. COLOMBIA. Cauca. Isla Gorgona.: Pluviómetro. 21-abr-1987. Murillo, C. [MUSENUV].

Comentarios: Género con escasa representación en la colección MUSENUV, con distribución restringida a la Isla Gorgona, zona costera del Departamento del Cauca.

***Eurygerris kalhi* (Drake y Harris, 1934)**

Material examinado. 3H, 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Peñas blancas. 1900m. 3-mar-1986. González, R. [MUSENUV].

***Eurygerris fuscineris* (Berg, 1898)**

Material examinado. 1H, 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Tulúa. 1900m. 20-abr-1986. González, R. [MUSENUV]. 2H, 5M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. La Cumbre. Chicoral. 1970m. 2-dic-1991. Lozano, F. [MUSENUV]. 3H. Ápteras. COLOMBIA. Valle del Cauca. Palmira. Vereda el Cabuyal. 1000m. 10-feb-1989. Medina, C. [MUSENUV]. 3H, 6M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Tocotá. 1400m. 17-ene-1991. [MUSENUV].

Comentarios: En la colección del MUSENUV predomina *E. fuscineris*, reportado en un rango altitudinal desde 1000 hasta 1900 metros, abarcando principalmente la zona central del Departamento del Valle. En menor proporción se encuentra *E. kalhi* a una elevación de 1900msnm. Todos los ejemplares estudiados de las dos especies, fueron ápteros.

***Limnogonus franciscanus* (Ståhl, 1859)**

Material examinado. 1H. 2M. Alados. COLOMBIA. Valle del Cauca. Peñas Blancas. 1900m. 1-ene-1988. Nieser, N. [MUSENUV]. 24H (21 Aladas, 3 Ápteras), 26M. Alados. COLOMBIA. Valle del Cauca. Peñas Blancas. 1900m. 4-ene-1988. Nieser, M. [MUSENUV]. 2H. (1 Alada, 1 Áptera), 1M. (Alado). COLOMBIA. Valle del Cauca. Palmira. CIAT. 965m. 21-nov-1985. Eichelkraut, K. [MUSENUV]. 2H (Ápteras), 1M (Alado). COLOMBIA. Valle del Cauca. Palmira. CIAT. 965m. 22-nov-1985. Eichelkraut, K. [MUSENUV]. 2H, 2M (Alados). COLOMBIA. Valle del Cauca. Palmira. CIAT. 965m. 11-mar-1986. González, R. [MUSENUV]. 1H (Alada). COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. 1000m. 8-oct-1985. Eichelkraut, K. [MUSENUV]. 1H (Áptera). COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Univalle. 1000m. 19-ene-1984. Bastidas, J. [MUSENUV]. 1H (Áptera). COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Univalle. 1000m. 2-feb-1985. Quezada, B. [MUSENUV]. 8H (Aladas), 6M (1 Áptero, 5 Alados). COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Univalle. 1000m. 5-feb-1988. Mendoza, M. [MUSENUV]. 2H. (Aladas). COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Río Pance. 1000m. 12-ene-1990. Rubio, M. [MUSENUV]. 2H, 1M. (Alados). COLOMBIA. Valle del Cauca. Jamundí. 1050m. 5-oct-1992. Prieto, V. [MUSENUV]. 2H (1 Áptera, 1 Alada). COLOMBIA. Valle del Cauca. Dagua. 1488m. 23-oct-1989. Caicedo, G. [MUSENUV]. 1H (Áptera). COLOMBIA. Valle del Cauca. Sonso. Laguna de Sonso. 1003m. Abr-1986. González, R. [MUSENUV]. 6H, 6M. (Alados). COLOMBIA. Cauca. Puerto Tejada. 849m. 13-jul-991. Villegas, E. [MUSENUV].

***Limnogonus aduncus* Drake & Harris, 1933**

Material examinado. 1H. 3M. Alados. COLOMBIA. Valle del Cauca. Darién. 1620m. 5-oct-1986. González, R. [MUSENUV]. 5H, (1 Áptera, 4 Aladas), 7M. Alados. COLOMBIA. Valle del Cauca. Darién. 1620m. 9-may-1985. [MUSENUV]. 1H Alada. 8M Alados. COLOMBIA. Valle del Cauca. Darién. 1620m. 9-may-1986. González, R. [MUSENUV]. 2H, 2M. Alados. COLOMBIA. Valle del Cauca. Darién. Río Calima. 20-may-1984. González, R.

[MUSENUV]. 9H, 4M. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buga. 969m. 25-dic-1991. Galindo, A. [MUSENUV]. 3H. Aladas. 1M Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Lago Univalle. 1000m. Oct-1985. Baena; M. [MUSENUV]. 9H. 4M. Alados. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Lago Univalle. 1000m. 6-oct-1986. González, R. [MUSENUV]. 1H. Áptero. 2M. Ápteros. 1M. Alado. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Lago Univalle. 1000m. 29-sep-1985. [MUSENUV]. 1M. Alado. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Lago Univalle. 1000m. 10-ago-1992. Morales, C. A. [MUSENUV]. 1M. Alado. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Lago Univalle. 1000m. 2-feb-1988. Quezada, B. [MUSENUV]. 2M. COLOMBIA. Palmira. CIAT. 965m. 27-jun-1985. Eichelkraut, K. [MUSENUV]. 1H. 3M. Alados. COLOMBIA. Valle del Cauca. El Queremal. 1456m. 20-may-1986. González, R. [MUSENUV]. 1M. Alado. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. El Topacio. 1858m. 1-ago-1986. González, R. [MUSENUV]. 1M. Alado. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Río Pance. 1000m. 12-ene-1990. Rubio, H. [MUSENUV]. 1M Alado. COLOMBIA. Valle del Cauca. Dagua. 1488m. 23-oct-1987. Caicedo, G [MUSENUV]. 1M Alado. COLOMBIA. Valle del Cauca. Laguna de Sonso. 1003m. Abr-1986. González, R. [MUSENUV]. 2M Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. El Cerrito. Pie de Chínche. 950m. 2-ene-1986. González, R. [MUSENUV]. 1M Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Río Lilí. 1000m. 8-may-1985. Encarnación, K. [MUSENUV]. 1 H. Alada. COLOMBIA. Valle del Cauca. Juanchaco. Ladrilleros. 17-may-1987. González, R. [MUSENUV]. 1 H. Alada. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. La Buitrera. Río Meléndez. 1000m. 6-feb-1988. Ruíz, P. [MUSENUV]. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. El Carmen. 950m. 2- jul-1986. Astaiza, R. [MUSENUV]. 4H, 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Jamundí. 1050m. 18-ene-1991. Reyes, E. [MUSENUV]. 1H. Alada. COLOMBIA. Cauca. Isla Gorgona. 0m. 21-mar-1987. Murillo, C. [MUSENUV].

Limnogonus hyalinus (Fabricius, 1803)

Material examinado. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. El Cerrito. Pie de Chínche. 1465m. 1-feb-1986. González, R. [MUSENUV].

Limnogonus ignotus (Drake & Harris, 1934)

Material examinado. 1H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Río Lilí. 1000m. 9-mar-1985. Eichelkraut, K. [MUSENUV].

Comentarios: La distribución de las especies de este género es amplia en el Departamento del Valle del Cauca, en una franja altitudinal que va desde el nivel del mar hasta los 1.620 msnm. La mayoría de especímenes fueron recolectados en la región central del Departamento. Muy pocos especímenes fueron recolectados en el litoral pacífico (Fig. 1).

Subfamilia Halobatinae

Halobates sobrinus White, 1883

Material examinado. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Océano Pacífico. Isla Malpelo. 300 millas marinas desde la costa. 0m. 15-nov-1988. Ocampo, P. [MUSENUV]. 4H. 6M. Ápteros. COLOMBIA. Océano Pacífico. Isla Malpelo. 100 millas marinas oeste desde la costa. 0m. 1-sep-2003. Gutiérrez, E. [MUSENUV]. 2H. 6M. Ápteros. COLOMBIA. Océano Pacífico. 50 millas marinas desde la costa. 0m. 1-sep-2003. Gutiérrez, E. [MUSENUV].

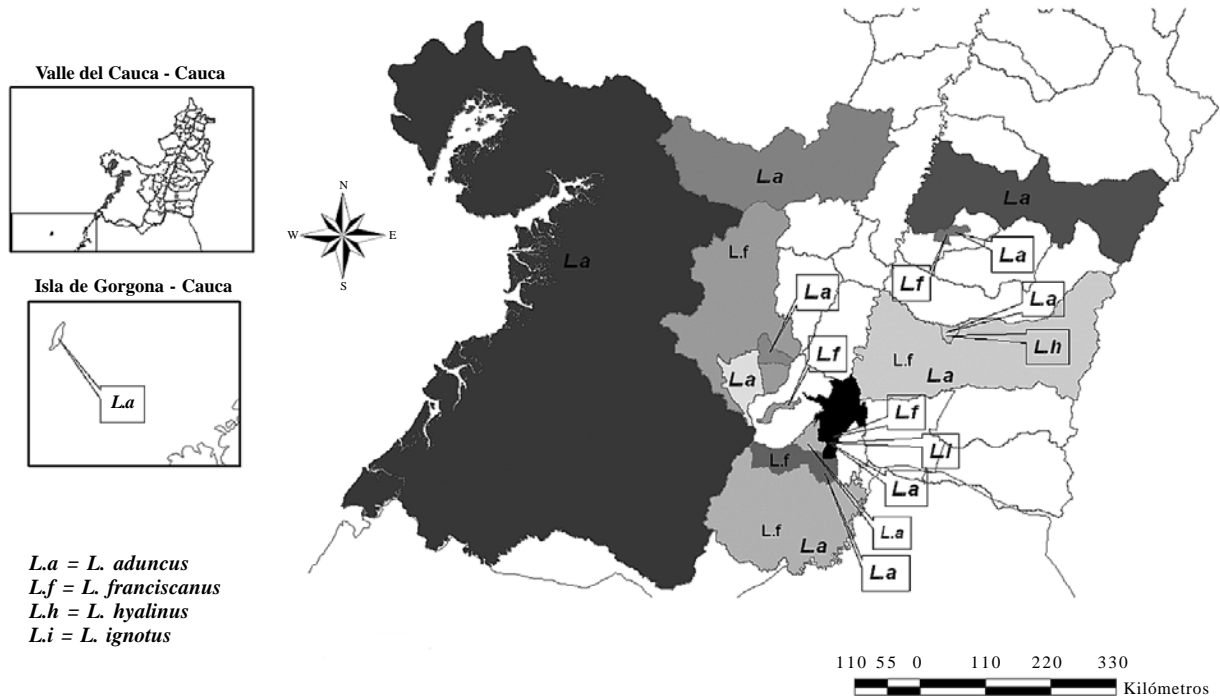


Figura 1. Distribución de especies del género *Limnogonus* depositados en el Museo de Entomología de la Universidad del Valle (MUSENUV). Fuente: Geógrafos Asociados del Valle GAV 2008.

Halobates splendens Wtlaczi, 1886

Material examinado. 4 H. Ápteras. COLOMBIA. Océano Pacífico a 50 millas marinas de la costa. 0m. 1-sep-2003. Gutiérrez, E. [MUSENUV].

Halobates micans Eschscholtz, 1822

Material examinado. 1H, 1M. Ápteros. COLOMBIA. Océano Pacífico. 50 millas marinas de la costa. 0m. 1-sep-2003. Gutiérrez, E. [MUSENUV].

Comentarios: *Halobates*, es el único género de insectos verdaderamente pelágico de chinches acuáticos (Cheng 1985). Los especímenes del MUSENUV han sido recolectados a 30, 50 y 300 millas náuticas en el Océano Pacífico colombiano desde 1988. *H. sobrinus* constituye la especie con mayor representación en la colección, mientras que de *H. splendens* el MUSENUV sólo contiene especímenes hembra. En la Figura 2 se ilustra la diferencia de los procesos estiliformes asimétricos en los machos de *H. sobrinus* y *H. micans*.

Subfamilia Rhagadotarsinae

Rheumatobates probolicornis Polhemus & Manzano, 1992

Material examinado. 4H. 1M. 5 ninfas. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 7-sep-1985. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. 1M. Ápteros. 2 ninfas. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 26-oct-1985. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. 4M. 2 ninfas. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 22-ene-1986. Manzano, M. [MUSENUV]. 4H. 5M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 5-may-1986. Manzano, M. [MUSENUV]. 58H. 56M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 1-ago-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca.

Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 7-sep-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 1 ninfa. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Arenas. 0m. 31-ago-1986. Manzano, M. [MUSENUV]. 5H. Ápteras. 1 ninfa. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Estero Cangrejo. 0m. Sep-1984 Manzano, M. [MUSENUV]. 1M. 2 ninfas. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Golfo Tortugas. 0m. 8-nov-1985. Albornoz, J. [MUSENUV].

Rheumatobates carvalhoi Drake & Harris, 1944

Material examinado. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado, 11-jul-1985. Manzano, M. [MUSENUV]. 3M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Arenas. 0m. 2-may-1986. Manzano, M. [MUSENUV]. 15H. 3M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Arenas. 0m. 31-jul-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Estero Cangrejo. 0m. 3-may-1986. Manzano, M. [MUSENUV].

Rheumatobates longisetosus Polhemus & Manzano, 1992

Material examinado: 20H. 20M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Arenas. 0m. 31-jul-1986. Manzano, M. [MUSENUV].

Comentarios: Todos los especímenes de las tres especies *Rheumatobates* fueron recolectados asociados a manglares y aguas salobres de la costa pacífica sobre el nivel del mar.

Subfamilia Trepobatinae

Trepobates trepidus Drake & Harris, 1928

Material examinado: 11H. 16M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Peñas Blancas. 1900m. 1-ene-1988. Nieser, N. [MUSENUV]. 1 H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Palmira. CIAT. 965m. 11-nov-1985. Encarnación, K. [MUSENUV]. 1 H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Univalle. 1000m. 10-oct-1992. Morales, C. A. [MUSENUV]. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Univalle. 1000m. 6-nov-1993. Trochez, E. [MUSENUV]. 15H. 4M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. El Cerrito. Pie de Chinche. 950m. 1-feb-1986. González, R. [MUSENUV]. 1H, 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Río Pance. 1000m. 22-ene-1990. Rubio, H. [MUSENUV]. 6M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Valle del Lilí. 1000m. 3-mar-1985. Encarnación, K. [MUSENUV]. 6H. Ápteras. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Valle del Lilí. 1000m. 3-mar-1985. González, R. [MUSENUV]. 9M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Valle del Lilí. 1000m. 8-mar-1985. González, R. [MUSENUV]. 2H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. 1000m. 8-mar-1985. Encarnación, K. [MUSENUV]. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Palmira. 965m. 21-feb-1985. Eichelkraut, K. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Guacarí. Ingenio Pichichí. 867m. 27-feb-1989. Ruíz, P. [MUSENUV]. 13H, 11M. Ápteros. especímenes, indeterminado. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buga. 789m. Abr-1986. González, R. [MUSENUV]. 5H. 6M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buga. 789m. 27-dic-1991. Galindo, A. [MUSENUV]. 2H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Tulúa. Páramo de Barragán. 2725m. 4-abr-1987. González, R.

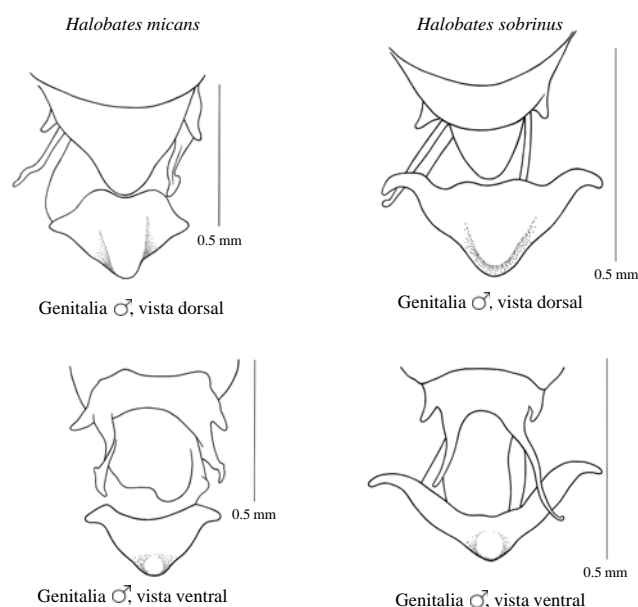


Figura 2. Vista dorsal y ventral de genitales de machos de *H. micans* y *H. sobrinus*.

[MUSENUV]. 6H. 5M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Dagua. 1488m. 20-may-1987. González, R. [MUSENUV]. 15H (1 Alada, 14 Ápteros). 6M (1 Alado, 5 Ápteros). COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. 0m. Jun-1987. González, R. [MUSENUV].

Trepobates taylori (Kirkaldy, 1899)

Material examinado. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Univalle. 1000m. 4-ene-1989. Astudillo, A. [MUSENUV]. 9H Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. Univalle. 1000m. 8-mar-1985. González, R. [MUSENUV]. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Palmira. CIAT. 965m. 21-mar-1985. Encarnación, K. [MUSENUV]. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Ginebra. 980m. 22-feb-1989. Bastidas, J. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Ginebra. 980m. 27-feb-1989. Bastidas, J. [MUSENUV]. 7 H. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Valle del Lilí, 1000m. 8-mar-1985. Encarnación, K. [MUSENUV]. 11H. 4M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Laguna de Sonso. 1003m. 9-jun-1985. González, R. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. 0m. 20-may-1985. González, R. [MUSENUV]. 1H. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Ladrilleros. 0m. 16-may-1987. González, R. [MUSENUV]. 9H. 3M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Gamboa. 0m. 15-jun-1985. González, R. [MUSENUV].

Trepobates panamensis Drake & Hottes, 1952

Material examinado. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. Río Escalerete. 127m. 4-nov-1988. Polhemus, J. [MUSENUV].

Comentarios: Este género presenta una amplia distribución en el departamento del Valle del Cauca (Fig. 3), en una franja altitudinal que va desde el nivel del mar hasta los 2725 metros, siendo ésta la mayor altitud para la especie *T. trepidus* y para todos los especímenes depositados en la colección MUSENUV; esta especie fue recolectada cerca al páramo de Barragán.

Metrobates amblydonti Nieser, 1993

Material examinado: 1H Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Córdoba. 96m. 17-ene-1992. Galindo, A. [MUSENUV]. 1H Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Guacarí. Ingenio Pichichí. 966m. 27-feb-1988. Ruiz, P. [MUSENUV]. 2H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. 50m. 30-jul-1989. Manzano, M. [MUSENUV].

Comentarios: *M. amblydonti* constituye un nuevo registro para Colombia. Posiblemente de acuerdo con la descripción y las fotografías presentadas por Aristizabal (2002), corresponde a lo que el autor denomina *Metrobates* sp. 1. Nieser (1993), presentó una clave para las especies suramericanas de este género. *M. amblydonti* se determina por presentar el primer antenómero más largo que el segundo y tercero juntos y el cuarto más largo que el tercero (Fig. 4a); mesoacetabulo medio ventralmente con una espina (Fig. 4b); el fémur frontal sin espina ventral y parámetros con extremo apical angosto (Fig. 4c). Aunque se cuenta con pocos especímenes (4 hembras y un macho), la especie se recolectó en Buenaventura y en el

centro del Departamento del Valle del Cauca, a una elevación inferior a los 1000m.

Telmatometra whitei Bergroth, 1908

Material examinado. 1H. 2M. 3 ninfas. Ápteros. COLOMBIA. Nariño. El Charco. 10m. Ago-1986. González, R. [MUSENUV]. 1 H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Bajo Calima. 70m- 31-jul-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. 5M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Río Tatabro. 150m. 30-jul-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 6H. 2M. 3 ninfas. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. 127m. 5-nov-1988. Manzano, M. [MUSENUV]. 3H. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. 127m. 7-ago-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Córdoba. 102m. 15-ene-1992. Galindo, A. [MUSENUV].

Telmatometra ujhelyii Esaki, 1937

Material examinado. 5H. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. 127m. 5-nov-1988. Manzano, M. [MUSENUV]. 5H. 6M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Bajo Calima. 70m- 31-jul-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 1H. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. 127m. 7-ago-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. 5M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Bajo Calima. 70m. 22-abr-1987. González, R. [MUSENUV]. 5 H. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Quebrada la Narcisa. 95m. 22-mar-1986. González, R. [MUSENUV]. 2M. Ápteros. 1 ninfa. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Ladrilleros. 17-may-1987. Carrejo, N. [MUSENUV].

Telmatometra acuta Kenaga, 1941

Material examinado. 21H. 8M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. 127m. 7-ago-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. 127m. 5-nov-1988. Manzano, M. [MUSENUV]. 1M. Áptero. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Bajo Calima. 70m- 31-jul-1989. Manzano, M. [MUSENUV]. 1M. Áptero. 1 ninfa. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. 127m. 3-nov-1988. Bastidas, J. [MUSENUV]. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. San Cipriano. 127m. 4-nov-1988. Serrato, C. [MUSENUV].

Comentarios: Aunque Padilla-Gil y Nieser (2003) registran por primera vez para Colombia *T. whitei* recolectados en 1995 y 1996, en la colección de la Universidad del Valle se encuentra esta especie coleccionada desde 1986, con 24 especímenes correspondientes a siete localidades. Aristizabal en el 2002 sólo reportó para Colombia *T. acuta* y *T. ujhelyii*. Las tres especies de este género fueron recolectadas en una franja altitudinal entre cero y 150 metros de altitud restringidas a la zona costera de Buenaventura y aguas dulces de sitios cercanos a la Bahía.

Telmatometroides rozeboomi (Drake & Harris, 1937)

Material examinado. 5H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 7-sep-1984. Man-

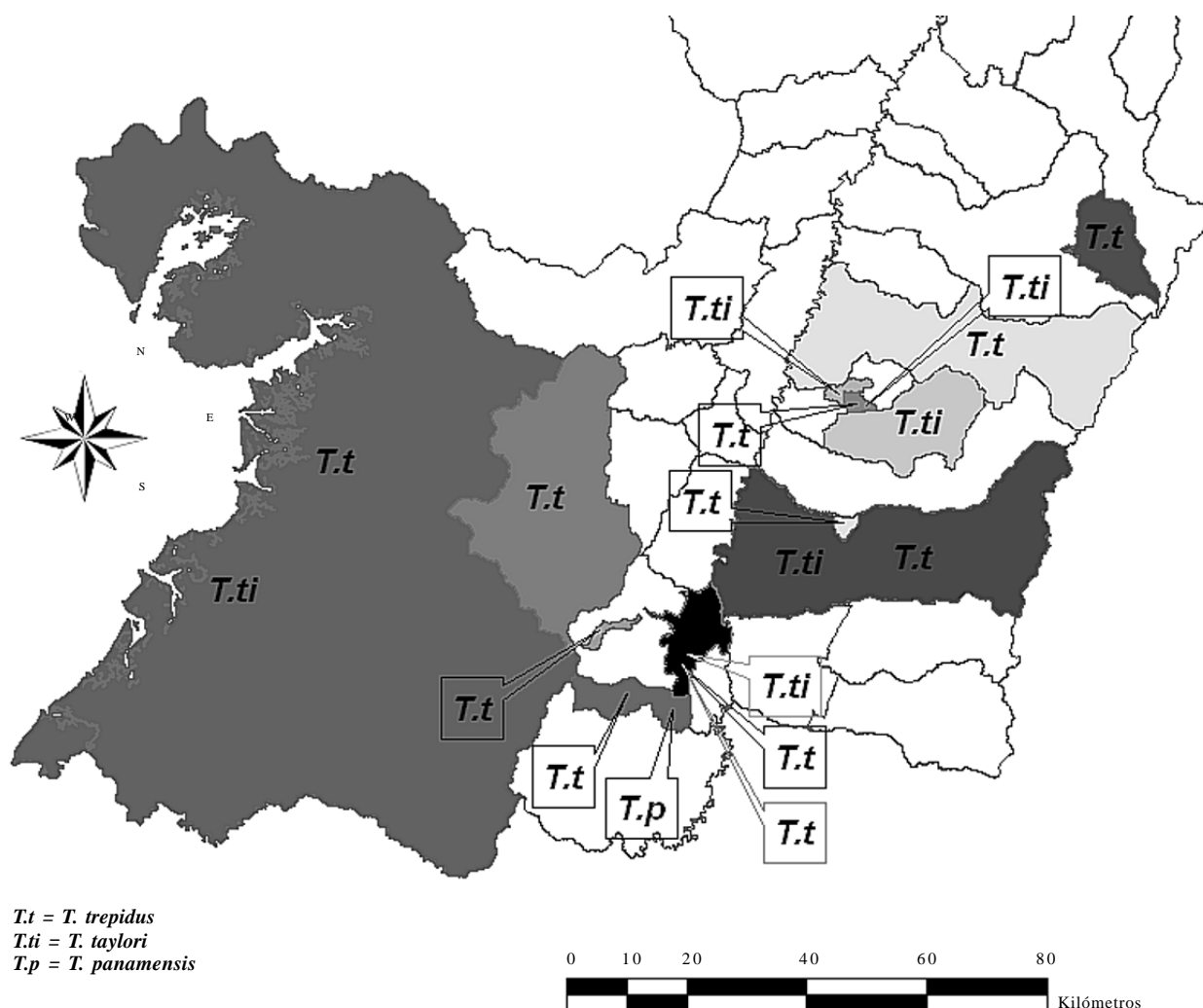


Figura 3. Distribución de especies del género *Trepobates* depositados en el museo de Entomología de la Universidad del Valle (MUSENUV).
 Fuente: Geógrafos Asociados del Valle GAV 2008.

Manzano, M. [MUSENUV]. 6H. 4M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 12-jun-1985. Manzano, M. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 29-mar-1985. Manzano, M. [MUSENUV]. 2M. Ápteros. 1 ninfa. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Soldado. 0m. 26-jul-1985. Manzano, M. [MUSENUV]. 3H. 6M. Ápteros. COLOMBIA. Chocó. Charambirá. 16-oct-1986. Murillo, C. [MUSENUV]. 3H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Cauca. Guapi. 6m. 20-mar-1986. Neira, R. [MUSENUV]. 4H. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Nariño. Mosquera. 0m. 23-feb-1988. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Nariño. Tumaco. 0m. 8-mar-1988. Ocampo, P. [MUSENUV]. 5H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Nariño. Mosquera. 0m. 18-mar-1986. Neira, R. [MUSENUV]. 1H. 1M. Ápteros. 1 ninfa. COLOMBIA. Valle del Cauca. Buenaventura. Punta Bonita. 9-feb-1988. Astaiza, R. [MUSENUV]. 5H. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Buenaventura. Punta Arenas. 0m. 31-may-1985. Manzano, M. [MUSENUV]. 5H. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Buenaventura. Punta Arenas. 0m. 26-ene-1986. Manzano, M. [MUSENUV]. 7H. 3M. Ápteros. COLOMBIA. Buenaventura. Punta Arenas. 0m. 11-jun-1986. Manzano, M.

[MUSENUV]. 5H. 2M. Ápteros. COLOMBIA. Buenaventura. Punta Arenas. 0m. 31-jul-1986. Manzano, M. [MUSENUV]. 2H. 1M. Ápteros. COLOMBIA. Buenaventura. Golfo Tortugas. 0m. 8-feb-1985. Alborno, J. [MUSENUV]. 1H. 3M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. Cali. La Buitrera. Río Meléndez. 1000 m. 3-ene-1991. Aldana, R. [MUSENUV]. 4H. 3M. Ápteros. COLOMBIA. Valle del Cauca. El Queremal. 1456m. Sep-1990. Foray, L. [MUSENUV]. 1H. Áptera. COLOMBIA. Valle del Cauca. Palmira. Río Bolo. 965m. Feb-1990. Arana, J. [MUSENUV].

Comentarios: Esta especie fue recolectada en una franja altitudinal desde el nivel del mar hasta los 1.456 metros asociados a manglares y agua salobres de la costa pacífica y en menor proporción en aguas dulces, en los municipios de El Queremal, Palmira y Cali.

Esta revisión complementa la distribución en Colombia de la familia Gerridae, especialmente del suroccidente y litoral pacífico y contribuye al conocimiento taxonómico de las especies aquí registradas, especialmente a la identificación de *M. amblydonti*, primer registro para Colombia.

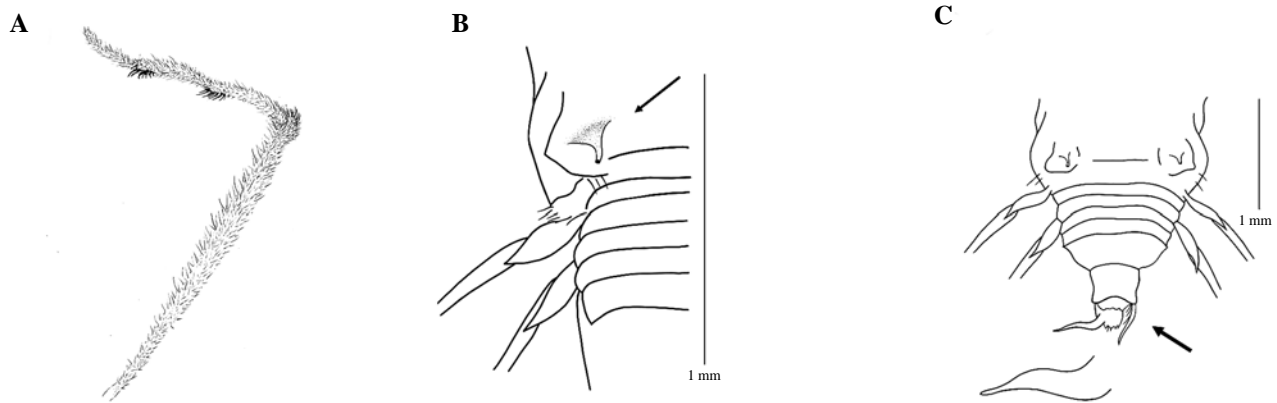


Figura 4. Detalles morfológicos de *Metrobates amblydonti* primer registro para Colombia: **A.** Antena. **B.** espina del mesoacetabulo medio. **C.** parámetros.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad del Valle y a todos los que contribuyeron en la recolección de especímenes y determinaciones específicas de algunos ejemplares, especialmente a María del Rosario Manzano, Karin Eichelkraut, Nico Nieser y John Polhemus; al Grupo Geógrafos Asociados del Valle del Cauca, por la elaboración de los mapas; a Jairo Larrahondo, Catalina Gutiérrez y Christian Bermúdez, por la elaboración y edición de los dibujos.

Literatura citada

- ÁLVAREZ, L.; ROLDÁN, G. 1983. Estudio del orden Hemiptera (Heteroptera) en el Departamento de Antioquia en diferentes pisos altitudinales. *Actualidades Biológicas* 12 (14): 31-46.
- ANDERSEN, N. M. 1979. Phylogenetic inference applied to the study of evolutionary diversification of semiaquatic bugs (Hemiptera: Gerromorpha). *Systematic Zoology* 28: 554-78.
- 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, an a check list of gerrinae water striders (Hemiptera, Gerridae) of the world. *Steenstrupia* (21): 93-123.
- ANDERSEN, N. M.; CHENG, L.; DAMGAARD, J.; SPERLING, F. A. H. 2000. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeography of oceanic insects (Hemiptera: Gerridae: *Halobates* spp.). *Marine Biology* 136: 421-430.
- ANDERSEN, N.M. 2002. Illustrated Key to the sea skaters, *Halobates* and allied genera. Web site. <<http://www.zmug.dk/EntoWeb/Halobates/HALOKEY1.HTM>>. Fecha última revisión: 4 de septiembre, 2002. Fecha último acceso: [22 de diciembre 2005].
- ARISTIZÁBAL, H. 2002. Los hemípteros de la película superficial del agua en Colombia. Parte 1. Familia Gerridae. Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. Editora Guadalupe Ltda. Bogotá, Colombia. 239 p.
- CALABRESE, D. M. 1982. Wing polymorphism and cladogenesis in the Gerridae (Hemiptera: Heteroptera), pp. 19-25. En: M. V.; Stock, Bartlett, A. C. (eds.). *The evolutionary significance of insect polymorphism* Stock.
- CHENG, L. 1985. Biology of *Halobates* (Heteroptera: Gerridae). *Annual Review of Entomology* 30: 111-135.
- 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: 289-309.
- DRAKE, C. J. 1963. A New Neotropical Water-strider (Hemiptera, Gerridae). *Journal of Kansas Entomological Society* 36 (2): 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.
- 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.
- HERRING, J. L. 1961. The genus *Halobates* (Hemiptera: Gerridae). *Pacific Insects* 3 (2-3): 223-305.
- HUNGERFORD, H. B. 1953. Concerning *Charmatometra bakery* (Kirkaldy) (Hemiptera: Gerridae). *Entomological News* 64(7): 172-175.
- HUNGERFORD, H. B. 1954. Genus *Trepobates* Herrich-Schaeffer (Hemiptera: Gerridae). *The Great Basin Naturalist* 12: 35-38.
- HUNGERFORD, H. B.; MATSUDA, R. 1960. Keys to subfamilies, tribes, genera and subgenera of the Gerridae of the World. *The University of Kansas Science Bulletin* 41: 3-23.
- KENAGA, E. 1941. The genus *Telmatometra* Bergroth (Hemiptera: Gerridae). *The University of Kansas Science Bulletin* 27 (9): 169-183.
- MATSUDA, R. 1960. Morphology, evolution and a classification of the Gerridae (Hemiptera: Heteroptera). *Kansas University Science Bulletin* 41 (2): 25-632.
- MOLANO, F.; CARDONA, A.; GARCÍA, A. L.; CASTRO, A. F.; RIVERA, C.; PARRA, D.; SUÁREZ, H.; RODRÍGUEZ, I.; VALENCIA, J.; RESTREPO, M. 2005a. Contribución al conocimiento de chinches acuáticos y semiacuáticos de la Reserva la Montaña del Ocaso, Quimbaya: Quindío. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas* 17: 210.
- MOLANO, F.; CAMACHO, D. L.; SERRATO, C. 2005b. Gerridae (Heteroptera: Gerromorpha) de Colombia. *Biota Colombiana* 6 (2): 163-172.
- MOLANO, F.; CAMACHO, D. L. 2006a. Especies de Gerridae (Heteroptera: Gerromorpha) del Departamento del Quindío, pp.

- 370-376- En: Molano, F.; Morales, I. T. (eds.). Riqueza Biótica Quindiana. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia.
- MOLANO, F.; CAMACHO, D. L. 2006b. Clave ilustrada de especies de Gerridae (Heteroptera: Gerromorpha) para el departamento del Quindío, Colombia. Revista de Investigaciones de la Universidad del Quindío. Armenia 15: 75-82.
- NIESER, N. 1970. Gerridae of Surinam and the Amazon with additional records of other neotropical species. Studies on the Fauna of Suriname and other Guyanas 121 (47): 94-138.
- NIESER, N. 1993. Two new South American taxa of *Metrobates* (Heteroptera: Gerridae). Storkia (2): 21-25.
- PADILLA-GIL, D. N.; NIESER, N. 2003. Nueva especie de *Tachygerris* y nuevos registros de colecta de los Gerridae (Hemiptera: Heteroptera) de Colombia. Agronomía Colombiana 21 (1-2): 51-57.
- POLHEMUS, J. T. 1991. Two new neotropical genera of Trepobatinae (Heteroptera: Gerridae) from South America. Journal of New York Entomological Society 99: 78-96.
- POLHEMUS, J. T.; POLHEMUS, D. A. 1995. A phylogenetic review or the *Potamobates* fauna of Colombia (Hemiptera: Gerridae) with descriptions on three new species. Proceedings of Entomological Society of Washington 97 (2): 350-372.
- POLHEMUS, J. T.; MANZANO, M. R. 1992. Marine Heteroptera of the Eastern Tropical Pacific (Gelastocoridae, Gerridae, Mesoveliidae, Saldidae, Veliidae), pp. 302-320. En: Quintero, D; Aiello, A. (eds.). Insects of Panama and Mesoamerica. Oxford University Press. 692 p.
- ROBACK, S. S.; NIESER, N. 1974. Aquatic Hemiptera (Heteroptera) from the Llanos of Colombia. Proceedings of Academy of Natural Science of Philadelphia 126 (4): 29-49.
- ROJAS, M. R.; MOLANO, F.; MORALES, I. T. 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.
- SCHUH, R. T.; SLATER, J. A. 1996. True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera) classification and natural history. Cornell University Press. Ithaca and London. 336 p.
- SHAW, J. G. 1933. Study of the genus *Brachymetra* (Hemiptera: Gerridae). The University of Kansas Science Bulletin 21 (3): 221-233.

Recibido: 28-feb-2007 • Aceptado: 17-ago-2008

Nota Científica

***Megathopa villosa* (Coleoptera, Scarabaeidae, Scarabaeinae): primeros registros distribucionales para el desierto costero transicional chileno**

Megathopa villosa (Coleoptera, Scarabaeidae, Scarabaeinae):
first distributional records for the Chilean transitional coastal desert

FERMÍN M. ALFARO¹, JAIME PIZARRO-ARAYA¹ y JOSÉ MONDACA²

Resumen: Se registra por primera vez a *Megathopa villosa* (Coleoptera, Scarabaeidae, Scarabaeinae) en el desierto costero transicional de Chile. Se capturaron ejemplares de esta especie en diversas localidades costeras del norte del país. Las capturas se realizaron de noche mediante trampas de luz blanca. Se provee una breve descripción del hábitat donde fueron recolectados los ejemplares, junto con una diagnosis de la especie.

Palabras clave: Desierto costero. Dunas costeras. Distribución. Nuevos registros. Chile.

Abstract: *Megathopa villosa* (Coleoptera, Scarabaeidae, Scarabaeinae) is reported for the first time in the coastal transitional desert of Chile. Specimens of this species were captured in several coastal localities in the northern part of the country. The captures were made at night using white-light traps. A brief description is provided of the habitat where the specimens were collected, along with a diagnosis of the species.

Key words: Coastal desert. Coastal dunes. Distribution. New records. Chile.

Introducción

Las regiones de Atacama y Coquimbo (i.e., Norte Chico) forman la franja meridional del desierto costero transicional de Chile (DCT, 25-32°S), el cual representa el límite septentrional del foco de diversidad vegetal (*hotspot*) de Chile Central (Gaston 2000). El DCT se caracteriza por la presencia de una entomofauna particular en términos de riqueza específica (Cepeda-Pizarro *et al.* 2005a, 2005b; Pizarro-Araya *et al.* 2008), endemismos (Jerez 2000; Pizarro-Araya y Jerez 2004) y distribución restringida (Agusto *et al.* 2006).

El conocimiento de la familia Scarabaeidae para el DCT es escaso, representado actualmente por 15 géneros y 21 especies correspondiendo al 23,4% y 10,0% del conocimiento de este taxón para Chile (Elgueta 2000). Entre los géneros característicos del DCT se destacan *Liogenys* Guérin-Ménéville, *Oogenius* Solier, *Pacuvia* Curtis, *Tomarus* Erichson y *Megathopa* Eschscholtz, siendo este último género el único de hábitos coprófagicos del DCT, desempeñando un papel clave en los procesos de fragmentación biológica del recurso vegetal y en los ciclos de los nutrientes (Sánchez-Piñero y Ávila 2004). Se considera que este grupo cumple un importante rol dentro de los ecosistemas áridos al ser dispersores de excremento y dispersores secundarios de semillas (Favila y Halffter 1997).

Actualmente, el género *Megathopa* distribuido en Argentina, Chile y Uruguay, está conformado por las especies *M. villosa* Eschscholtz, 1822 y *M. violacea* Blanchard, 1843 (Martínez 1961; Halffter y Martínez 1966). De estas especies, sólo *M. villosa* se encuentra descrita para Chile, cuyo rango distribucional abarca desde la Región de Coquimbo hasta la Región de los Ríos (Gutiérrez 1940; Martínez 1950; Ovalle y

Solervicens 1980; Vaz-de-Mello y Halffter 2006; Smith 2008). El objetivo de este trabajo es dar a conocer nuevos registros distribucionales de *Megathopa villosa* en el norte de Chile.

Las capturas se realizaron de noche en diversas localidades costeras de las regiones de Atacama y Coquimbo (Chile), mediante trampas de luz blanca, entre los años 2004 y 2006. Los especímenes se preservaron en alcohol (70%) hasta el momento de su procesamiento y montaje. El material fue depositado en la colección del Laboratorio de Entomología Ecológica de la Universidad de La Serena, La Serena, Chile (LEULS), en la colección nacional de insectos del Museo Nacional de Historia Natural, Santiago, Chile (MNNC) y en la colección de José Mondaca E., Santiago, Chile (CJME).

Material examinado. *Megathopa villosa*. 1 adulto. CHILE. Región de Atacama. Freirina. Playa Tontado. 18-jul-2006. Alfaro, F.M. [LEULS]. 1 adulto. CHILE. Región de Atacama. Freirina. Bahía Sarco. 11-ago-2006. Alfaro, F.M. [LEULS]. 25 adultos. CHILE. Región de Coquimbo. Elqui. Punta Choros. 27-ago-2005. Pizarro-Araya, J. [LEULS, MNNC]. 6 adultos. CHILE. Región de Coquimbo. Elqui. Punta Choros. 19-sep-2004. Mondaca, J. [CJME]. 1 adulto. CHILE. Región de Coquimbo. Los Choros. Isla Damas. 3-ago-2006. Alfaro, F.M. [LEULS].

Hábitat. *Megathopa villosa* ha sido recolectada sólo en dunas costeras de las regiones de Atacama y Coquimbo, en el tramo que se extiende desde los 28° a los 32°S. Los sitios de captura poseen suelos planos a nivel del mar, con sustrato de tipo arenoso y arenoso-pedregoso (Paskoff y Manríquez 2004; Castro y Brignardello 2005). El clima tiene tendencia mediterránea y poca amplitud térmica diaria y anual producto de la influencia marina, mientras que las precipitaciones son irregu-

¹ Laboratorio de Entomología Ecológica, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, Casilla 599, La Serena, Chile. falfaro@alumnosul.cl; japizarro@userena.cl.

² Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), Avenida Portales N.° 3396, Santiago, Chile. jose.mondaca@sag.gob.cl.

lares y se concentran en la estación invernal (Castro y Brignardello 2005). Los escarabeidos de zonas áridas y semiáridas presentan diversas adaptaciones morfológicas, como meso y metatarsos marginados por sedas largas que sirven para la marcha sobre sustrato arenoso (Monteresino y Zunino 2003). La presencia de rebaños de burros (*Equus asinus* Linneo, 1758) asegura la disponibilidad de alimento para estos insectos, debido a que utilizan bolas de estiércol para confeccionar un bolo reproductivo y posteriormente una cámara pupal (Ovalle y Solervicens 1980). Asimismo estos hábitats con sustrato arenoso, facilitan el desarrollo de galerías para el refugio temporal durante las horas de mayor calor (Monteresino y Zunino 2003).

Megathopa villosa Eschscholtz, 1822 (Figs. 1, 2, 3)

Diagnosis. Esta especie se diferencia de los demás cantoninos chilenos (i.e., *Scybalophagus* Martínez y *Tesserodoniella* Vaz-de-Mello y Halffter) por su tamaño mediano a grande (rango: 14,9-26,0 mm; n = 21) y tegumento negro y no cubierto de rugosidades dorsalmente en protórax y élitros (Fig. 1). Los machos se diferencian de las hembras por presentar la protibia con el espolón apical dilatado o bifurcado en el ápice (Fig. 2), y el quinto ventrito abdominal estrechado medialmente. Las hembras presentan el espolón apical agudo y arqueado (Fig. 3).

Consideraciones distribucionales. Según estos nuevos registros, *M. villosa* se distribuye en gran parte del DCT, que corresponde a la provincia biogeográfica de Coquimbo de la Subregión Chilena Central, áreas transicionales con respecto al desierto de Atacama y a la estepa costera (Morrone 2006). Es probable que muestreos más exhaustivos realizados en sectores de difícil acceso, permitan ampliar el rango distribucional de esta especie y de otros escarabeidos. Al respecto, Jerez (2000) señala que la mayoría de la información disponible en colecciones y en la literatura corresponde a recolecciones efectuadas cerca de poblados o de la red vial, lo que en conjunto no aporta información completa del área. En este sentido, prospecciones entomológicas a realizar en la Reserva Nacional Pajón (25°05'S, 70°29'W) y en el Parque Nacional Pan de



Figura 1. Vista dorsal del macho de *Megathopa villosa*.

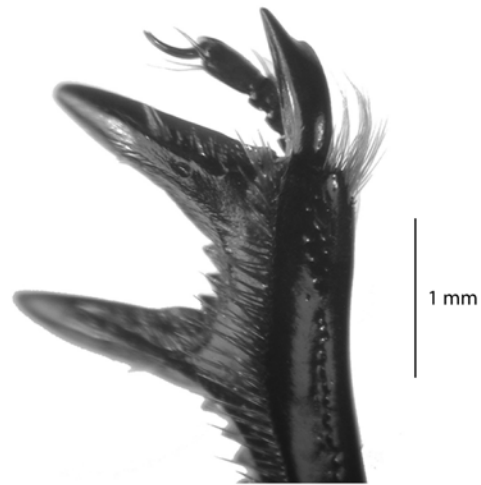


Figura 2. Vista dorsal del espolón protibial del macho.



Figura 3. Vista dorsal del espolón protibial de la hembra.

Azúcar (26°08 S, 70°39'W), podrían ser relevantes para elaborar un inventario general y categorizar los futuros estados de conservación de la fauna de artrópodos, lo que contribuiría a manejar con mayor eficacia esta área silvestre.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos FPA-04-007-2005, FPA 04-015-2006 (CONAMA, Región de Coquimbo, Chile), DIULS-PF07101 de la Universidad de La Serena, Chile (J.P.A.) y Southern South American Scarabs. Biodiversity Surveys and Inventories Grant (DEB-0342189) de A.B.T. Smith y F. Ocampo.

Literatura citada

AGUSTO, P.; MATTONI, C.I.; PIZARRO-ARAYA, J.; CEPEDA-PIZARRO, J.; LÓPEZ-CORTES, F. 2006. Comunidades de escorpiones (Arachnida: Scorpiones) del desierto costero transicional de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 407-421.

- CASTRO, C.; BRIGNARDELLO, L. 2005. Geomorfología aplicada a la ordenación territorial de litorales arenosos. Orientaciones para la protección, usos y aprovechamiento sustentables del sector de Los Choros, Comuna de la Higuera, IV Región. Revista de Geografía Norte Grande (Chile) 33: 33-58.
- CEPEDA-PIZARRO, J.; PIZARRO-ARAYA, J.; VÁSQUEZ, H. 2005a. Composición y abundancia de artrópodos epigeos del Parque Nacional Llanos de Challe: impactos del ENOS de 1997 y efectos del hábitat pedológico. Revista Chilena de Historia Natural 78: 635-650.
- CEPEDA-PIZARRO, J.; PIZARRO-ARAYA, J.; VÁSQUEZ, H. 2005b. Variación en la abundancia de Arthropoda en un transecto latitudinal del desierto costero transicional de Chile, con énfasis en los tenebriónidos epigeos. Revista Chilena de Historia Natural 78: 651-663.
- ELGUETA, M. 2000. Coleoptera en Chile, pp. 145-154. En: Martín-Piera, F.; Morrone, J. J.; Melic, A. (eds.). Hacia un Proyecto CYTED para el inventario y Estimación de la Diversidad Entomológica en Iberoamérica: PRIBES-2000. m3m-Monografías Tercer Milenio, Volumen 1, Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA), Zaragoza, España. 329 p.
- FAVILA, M.E.; HALFFTER, G. 1997. The use of indicator groups for measuring biodiversity as related to community structure and function. Acta Zoológica Mexicana 72: 1-25.
- GASTON, K.J. 2000. Global patterns in biodiversity. Nature 405: 220-227.
- GUTIÉRREZ, R. 1940. Contribuciones al estudio de los Scarabaeidae chilenos. Revista Chilena de Historia Natural 44: 93-99.
- HALFFTER, G.; MARTÍNEZ, A. 1966. Revisión monográfica de los Canthonina americanos (Coleoptera, Scarabaeidae) (1a. Parte). Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural 27: 89-177.
- JEREZ, V. 2000. Diversidad y patrones de distribución geográfica de insectos coleópteros en ecosistemas desérticos de la región de Antofagasta, Chile. Revista Chilena de Historia Natural 73: 79-92.
- MARTÍNEZ, A. 1950. Contribución al conocimiento del género *Megathopa* Eschsch., 1822, en la Argentina. Revista Española de Entomología 26: 197-269.
- MARTÍNEZ, A. 1961. Notas sobre el complejo *Megathopa* Eschscholtz, 1822 (Col. Scarab. Scarabaeinae). Neotropica 7: 81-86.
- MONTERESINO, E.M.; ZUNINO M. 2003. Sobre el comportamiento de alimentación y nidificación de Eucraniini (Coleoptera Scarabaeidae: Scarabaeinae). En: Onore, G.; Reyes-Castillo, P.; Zunino, N. (eds.). Escarabeidos de Latinoamérica: estado del conocimiento. m3m: Monografías Tercer Milenio, volumen 3, Sociedad Entomológica Aragonesa, Zaragoza, España. 86 p.
- MORRONE, J. J. 2006. Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. Annual Review of Entomology 51: 467-494.
- OVALLE, M.; SOLERVICENS, J. 1980. Observaciones sobre la biología de *Megathopa villosa* Eschscholtz, 1822 (Coleoptera, Scarabaeidae, Scarabaeinae). Boletín del Museo Nacional de Historia Natural (Chile) 37: 235-246.
- PASKOFF, R.; MANRÍQUEZ, H. 2004. Las dunas de las costas de Chile. Ediciones Instituto Geográfico Militar. Santiago, Chile. 112 p.
- PIZARRO-ARAYA, J.; JEREZ, V. 2004. Distribución geográfica del género *Gyrinosomus* Guérin-Méneville, 1834 (Coleoptera: Tenebrionidae): una aproximación biogeográfica. Revista Chilena de Historia Natural 77: 491-500.
- PIZARRO-ARAYA, J.; CEPEDA-PIZARRO, J.; FLORES, G.E. 2008. Diversidad Taxonómica de los Artrópodos Epigeos de la Región de Atacama (Chile): Estado del Conocimiento, pp. 257-274. En: Squeo, F. A., Arancio, G.; Gutiérrez, J. R. (eds.). Libro Rojo de la Flora Nativa y de los Sitios Prioritarios para su Conservación: Región de Atacama: Ediciones Universidad de La Serena, La Serena. Chile. 456 p.
- SÁNCHEZ-PIÑERO, F.; ÁVILA, J.M. 2004. Dung-insect community composition in arid zones of south-eastern Spain. Journal of Arid Environments 56: 303-327.
- SMITH, A. B. T. 2008. Checklist of the Scarabaeoidea of southern South America. <<http://www.unl.edu/museum/research/entomology/SSSA/SSSA-Guide/SSSAchecklist.htm>>. Fecha última revisión: 14 de marzo de 2008. Fecha último acceso: [08 de julio de 2008].
- VAZ-DE-MELLO, F.; HALFFTER, G. 2006. A new dung beetle genus with two new species from Chile (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae). Zootaxa 1193: 59-68.

Recibido: 2-abr-2008 • Aceptado: 11-ago-2008

REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

Volumen 34 No.2 Julio -Diciembre 2008

Artículo de Revisión / Review paper

Diversification practices: their effect on pest regulation and production

Katja Poveda, María Isabel Gómez and Eliana Martínez 131

Sección Agrícola / Agriculture

Identificación de biotipos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) mediante marcadores mitocondriales y nucleares
Ana María Vélez-Arango, Rafael Eduardo Arango, Diego Villanueva M., Elizabeth Aguilera G. y Clara Inés Saldamando B. 145

Comportamiento de híbridos de cacao (*Theobroma cacao*) al ataque de *Steirastoma breve* (Coleoptera: Cerambycidae)
Franklin Morillo, Pedro Sánchez, Cirilo Girón, Ángel Valera, Wilfredo Muñoz y Jerónimo Guerra 151

Herbivoría de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) sobre tres sustratos vegetales
Jhonnattan Rodríguez G., Zoraida Calle D. y James Montoya-Lerma 156

Estrategia MIP para el control de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) en melón y tomate
Carlos Espinel C., María Denis Lozano, Laura Villamizar R., Erika Grijalba B. y Alba Marina Cotes P. 163

Distribución espacial de las ninfas de *Jacobiasca lybica* (Hemiptera: Cicadellidae) en un viñedo en Andalucía, España
José Francisco Ramírez-Dávila y Elvia Porcayo-Camargo 169

Efecto de bioplaguicida sobre la actividad depredadora de *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae)
Ricardo Pérez, Javier García-González y Alba Marina Cotes 176

Effectiveness of the standard evaluation method for hydraulic nozzles employed in stored grain protection trials
Javier A. Vásquez-Castro, Gilberto C. de Baptista, Casimiro D. Gadhana Jr. and Luiz R. P. Trevizan 182

Sección Médica / Medical

Evaluación de Temephos 50% CE sobre poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en Trujillo, Venezuela
Leslie Alvarez González, Milagros Oviedo Araújo y Arelis Briceño Azuaje 188

Ácaros (Arachnida: Acari) asociados con moscas Calliphoridae (Diptera: Oestroidea) en tres localidades de Panamá
Roberto Miranda y Sergio Bermúdez 192

Notas científicas / Scientific notes

Seasonal abundance of *Chrysomya megacephala* and *C. albiceps* (Diptera: Calliphoridae) in urban areas
Evaldo M. Pires, Vinicius M. Carraro and José C. Zanuncio 197

Modificación de un protocolo estándar de extracción de ADN para flebotómicos pequeños (Phlebotominae: *Lutzomyia*)
Gabriel Golczer y Jazzmin Arrivillaga 199

Sección Básica / Basic

José Celestino Mutis, the ants, and *Pheidole mutisi* sp. nov.
Fernando Fernández and Edward O. Wilson 203

Composición de hormigas e interacciones competitivas con *Wasmannia auropunctata* en fragmentos de bosque seco tropical
Rafael Achury, Patricia Chacón de Ulloa y Ángela María Arcila 209

Diversidad de estafilínidos (Coleoptera: Staphylinidae) en cinco sistemas productivos de los andes colombianos
Catalina Sanabria B., Inge Armbrrecht y Catalina Gutiérrez-Chacón 217

Diversidad de invertebrados acuáticos asociados a Bromeliaceae en un bosque de montaña
Fabiola Ospina-Bautista, Jaime V. Estévez Barón, Emilio Realpe y Fernando Gast 224

Gerridae (Hemiptera: Heteroptera) del Museo Entomológico de la Universidad del Valle
Carmen Elisa Posso G. y Ranulfo González O. 230

Nota científica / Scientific notes

Megathopa villosa (Coleoptera: Scarabaeidae, Scarabaeinae): primeros registros distribucionales para el desierto costero transicional chileno
Fermín M. Alfaro, Jaime Pizarro-Araya y José Mondaca 239

Índice 242



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