

ISSN-0120-0488

# REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

Volumen 32 • Número 1 • Enero-Junio 2006

Tarifa Postal Reducida No. 239 - Vence Dic. 31 / 2006



*Publicación oficial de la Sociedad Colombiana de Entomología*

# REVISTA COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA

Volumen 32 No. 1 Enero-Junio 2006

Publicación oficial de la Sociedad Colombiana de Entomología

## JUNTA DIRECTIVA SOCOLEN

2004 – 2006

**Presidente**  
Miguel S. Serrano

**Secretario**  
Fernando Cantor R.

**Vocales Principales**  
Aura Cecilia Burgos

**Vocales Suplentes**  
Guiomar Nates

**Vicepresidente**  
Edison Torrado

**Tesorero**  
Guadalupe Caicedo R.

Carlos E. Sarmiento M.  
Eduardo Espitia

Darío Corredor  
Giovanny Fagua

**Coordinadora de Biblioteca** Aura Cecilia Burgos

**Revisor Fiscal de Socolen** Ariel Palomino Ulloa

### Editor

Carlos E. Sarmiento M.  
Instituto de Ciencias Naturales  
Universidad Nacional de Colombia

### Editor asistente

Ángela R. Amarillo S.  
Departamento de Ecología y Territorio  
Pontificia Universidad Javeriana

### Comité Editorial

Alex E. Bustillo P.  
Centro Nacional de  
Investigaciones de Café  
"Pedro Uribe Mejía" (Cenicafé)

Daniel Rafael Miranda E.  
Universidad Industrial  
de Santander

César Cardona M.  
Centro Internacional de Agricultura  
Tropical (CIAT)

Ingeborg Zenner de Polanía  
Universidad de Ciencias Aplicadas  
y Ambientales (UDCA)

Luko Hilje  
CATIE, Costa Rica

Sergio Orduz  
Corporación para Investigaciones  
Biológicas (CIB), Unidad de  
Biotecnología y Control Biológico

### Comité Científico

Alejandra Bravo  
Universidad Nacional  
Autónoma de México,  
Instituto de Biotecnología

Fernando Fernández  
Universidad  
Nacional de Colombia, Instituto  
de Ciencias Naturales

Martha Lucía Quiñones  
Universidad de Antioquia,  
Programa  
de Estudio y Control de Enfer-  
medades Tropicales (PECET)

Amanda Varela  
Pontificia Universidad  
Javeriana, Departamento  
de Biología

Marta Wolff  
Universidad de Antioquia,  
Instituto de Biología  
Fernando E. Vega  
U. S. Department of Agriculture –  
Agricultural Research Service,  
Insect Biocontrol Laboratory,  
Maryland

Daniel C. Peck  
Cornell University, New York  
State Agrigultural  
Research Station,  
Department of Entomology

Jorge E. Peña  
University of Florida,  
IFAS, Trop. Res. & Educ.  
Ctr., Homestead

Fernando Montealegre Z.  
University of Toronto,  
candidato a Ph. D.  
Stephen L. Lapointe  
U. S. Department of Agriculture –  
Agricultural Research Service,  
Horticultural Research  
Laboratory, Florida

Sociedad Colombiana  
de Entomología  
A. A. 11366 Bogotá, D. C.  
Teléfono 3472320 Fax 2126209  
<http://www.socolen.org.co>

Se acepta canje  
Ask for exchange  
E-mail: [publicaciones@socolen.org.co](mailto:publicaciones@socolen.org.co)

**Licencia Mingobierno**  
002274/81

**Tiraje** 500 ejemplares

**Edición digital  
e impresión**  
Editora Guadalupe Ltda.  
E-mail: [ediguada@yahoo.es](mailto:ediguada@yahoo.es)  
Teléfono 2690788 Bogotá

La Revista Colombiana de Entomología forma parte del Índice Nacional de Publicaciones Seriadas Científicas y Tecnológicas Colombianas de Colciencias (Categoría B) y aparece reseñada en CAB INTERNATIONAL, en el Índice Latinoamericano de Revistas Científicas y Tecnológicas (Latindex), en Chemical Abstracts, y en BIOSIS: Zoological Record, Biological Abstracts y en Informe Académico.

SOCOLEN no se responsabiliza de las ideas emitidas por los autores.

Ninguna publicación, nacional o extranjera, podrá reproducir ni traducir los artículos o los resúmenes, sin la previa autorización escrita del editor.

La persona interesada en poseer un impreso de un artículo puede solicitarlo al autor cuya dirección aparece en el pie de página del mismo.

REVISTA COLOMBIANA  
DE ENTOMOLOGIA



Título  
"Paraíso"

Redúvido en  
Santa Elena,  
abril 13 de 2006

**Autor:**  
Edison Torrado-León

**Artículo de revisión****La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) como plaga y vectora de virus en fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.)**

The whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) as pest and vector of plant viruses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

MARÍA ELENA CUÉLLAR<sup>1</sup>, FRANCISCO J. MORALES<sup>2</sup>

**Resumen.** La mosca blanca *Bemisia tabaci* es una de las plagas más ampliamente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del mundo donde afecta más de 600 especies de plantas cultivadas y silvestres. Los daños que causa se deben a diversos efectos del insecto en las plantas atacadas, como el debilitamiento de la planta por la extracción de nutrientes; problemas fisiológicos causados por el biotipo B de *B. tabaci* (e.g. madurez irregular en tomate y plateado en cucurbitáceas); la excreción de sustancias azucaradas que favorecen el crecimiento de hongos sobre las plantas (i.e. fumagina); y la transmisión de begomovirus (Geminiviridae). En fríjol común, los begomovirus del mosaico dorado y el mosaico dorado amarillo son los patógenos más ampliamente distribuidos en Latinoamérica, donde causan pérdidas en rendimiento hasta del 100%. En Colombia, el arribo del biotipo B de *B. tabaci* y la ocurrencia de condiciones climáticas favorables para el desarrollo de altas poblaciones de este insecto, ha coincidido en los últimos años con la aparición de begomovirus en cultivos de tomate y frijol habichuela. La estrategia más eficiente de control de begomovirus es el uso de variedades resistentes. Desafortunadamente, no existen programas de mejoramiento adecuados para controlar los nuevos brotes de begomovirus en Colombia. Este hecho, sumado a la falta de asistencia técnica, hace que los agricultores afectados dependan casi totalmente de la aplicación de insecticidas para controlar la mosca blanca. En esta revisión se resume la información sobre los principales begomovirus del fríjol reportados en Latinoamérica, incluidos los encontrados recientemente en Colombia, y las medidas de control disponibles.

**Palabras clave:** Begomovirus, biotipo B.

**Abstract.** The whitefly *Bemisia tabaci* is one of the most widely distributed pests found in tropical and subtropical agricultural regions of the world, where it affects over 600 different cultivated and wild plant species. The damage it causes is due to diverse effects of the insect on the attacked plant, such as weakening the plant through extraction of nutrients; physiological disorders induced by biotype B of *B. tabaci* (e.g. irregular ripening of tomato and silver leaf of cucurbits); excretion of honeydew that promotes the growth of fungi on the plant (i.e. sooty molds); and the transmission of begomoviruses (Geminiviridae). In common bean, bean golden mosaic and bean golden yellow mosaic begomoviruses are the two most widely distributed pathogens in Latin America, where they cause yield losses of up to 100%. In Colombia, the arrival of biotype B of *B. tabaci* and the occurrence of climatic changes favorable for the development of high populations of the insect, have coincided in recent years with begomovirus outbreaks in crops such as tomato and snap bean. The most efficient control strategy for begomovirus is the use of resistant varieties. Unfortunately, adequate breeding programs for controlling new outbreaks of begomovirus in Colombia do not exist. This situation, plus the lack of proper technical assistance, has led farmers to rely almost exclusively on the application of insecticides to combat whiteflies. This review summarizes the information available on the main begomoviruses of common bean reported in Latin America, including those viruses recently detected in Colombia, and the control measures available.

**Keywords:** Begomovirus, B biotype.

**Introducción**

La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) es una especie ampliamente distribuida en regiones tropicales y subtropicales del mundo, donde se alimenta de más de 600 especies de plantas cultivadas y silvestres

(Mound y Halsey 1978; Greathead 1986; Secker *et al.* 1998). Los daños directos causados por este insecto se deben a su alimentación a expensas de los nutrientes de la planta y a desórdenes fisiológicos causados por el biotipo B, mientras que los indirectos se deben al crecimiento de hongos sobre la excreción de melaza por

la mosca blanca y a la habilidad de transmitir virus (Byrne *et al.* 1990; Perring 2001).

*B. tabaci* transmite virus pertenecientes a por lo menos cuatro géneros; de éstos, los begomovirus (*Begomovirus*: Geminiviridae) se constituyen en el grupo más

1 Autor para correspondencia, Asistente de Investigación Proyecto Mosca Blanca. CIAT, Cali-Valle, Colombia. A.A. 6713 Cali. E-mail: mariaelenacuellar\_2013@graffiti.net.

2 Virólogo, Jefe de la Unidad de Virología y Coordinador del Proyecto de Mosca Blanca Tropical, CIAT, Cali, Valle, Colombia. E-mail: f.morales@cgiar.org.

importante de patógenos que están causando pérdidas significativas en cultivos alimenticios e industriales en agroecosistemas tropicales y subtropicales a nivel mundial (Morales y Anderson 2001; Oliveira *et al.* 2001; Polston y Anderson 1999). En la actualidad, América Latina ha sido la región más afectada en términos de número total de begomovirus transmitidos por la mosca blanca, número de cultivos afectados, pérdidas en rendimiento y el área agrícola devastada por estos patógenos. Millones de hectáreas de tierra apta para la agricultura en 20 países sufren el ataque de más de treinta begomovirus (Morales y Anderson 2001).

El fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.), es uno de los hospederos más afectados por los begomovirus en más de 14 países de América Latina, donde varias epidemias han tenido lugar en las últimas décadas. Los virus del mosaico dorado y el mosaico dorado amarillo son los más devastadores y los que han representado la mayor amenaza a la producción de fríjol en los trópicos americanos (Morales 2000; Morales 2001; Morales y Anderson 2001).

La mayor contribución en el control de los begomovirus que afectan fríjol en América Latina ha sido el desarrollo de variedades resistentes. Siendo las principales fuentes de resistencia los genotipos de fríjol negro de origen mesoamericano y los pertenecientes a las razas Durango y Nueva Granada (Morales 2000b; Morales 2001).

Desde la llegada a América del biotipo B de *B. tabaci* y su continua expansión, nuevos virus han aparecido en diferentes países de América Latina (Polston y Anderson 1999). Ese es el caso del Virus del arrugamiento foliar del fríjol, el cual se presentó en lotes de habichuela en varios municipios del Valle del Cauca con una incidencia superior al 80% (Morales *et al.* 2003). Según estos autores, la ocurrencia de esta epidemia está estrechamente asociada con la aparición del biotipo B de *B. tabaci* en esta región y a factores que favorecen su reproducción, como es el incremento de períodos de sequía acompañados por altas temperaturas.

Esta revisión resume la información existente sobre los virus de fríjol reportados hasta el momento en América Latina, incluidos los virus transmitidos por *B. tabaci* en diferentes cultivos en Colombia, y las medidas de manejo de estos virus, con énfasis en el uso de variedades resistentes.

## *Bemisia tabaci* (Gennadius)

### Origen y distribución

*Bemisia tabaci*, también conocida como la mosca blanca del algodón, del tabaco o de la batata, fue originalmente observada en tabaco en Grecia, y fue descrita como *Aleyrodes tabaci* (Gennadius 1889). En el Nuevo mundo fue colectada por primera vez en 1897 sobre *Ipomoea batatas* (L.) Lam. en los Estados Unidos, donde se describió como *Aleyrodes inconspicua* Quaintance (Quaintance 1900, citado por Oliveira *et al.* 2001). Debido a la variación morfológica que sufre este insecto de acuerdo con el hospedero donde ha sido encontrado, se le han dado 22 nombres, los cuales hoy se consideran sinónimos de la especie *Bemisia tabaci*. Una detallada revisión de la nomenclatura que rodea el complejo de especies de *Bemisia* es presentada por Perring (2001).

Algunos científicos sugieren que *B. tabaci* puede ser originaria de África tropical, desde donde se dispersó a Europa y Asia, y fue posteriormente introducida al Neotrópico, principalmente por transporte de material de plantas (Brown y Bird 1992; Campbell *et al.* 1996). Sin embargo, otros científicos sugieren que esta especie puede ser nativa de India o Pakistán, donde se ha encontrado la mayor diversidad de especies de sus enemigos naturales (Brown *et al.* 1995).

*B. tabaci* se extiende en un amplio rango de sistemas agrícolas, desde subtropicales hasta tropicales, pero también ocurre en áreas de climas templados. Es una especie distribuida globalmente y se encuentra en todos los continentes con excepción de la Antártica (Martin *et al.* 2000, Oliveira *et al.* 2001).

### Rango de hospederos

*B. tabaci* ha sido registrada alimentándose de más de 600 especies de plantas hospederas (Mound y Halsey 1978; Greathead 1986; Secker *et al.* 1998). Estas especies se ubican en 74 familias, incluyendo hortalizas, plantas ornamentales, cultivos industriales y numerosas especies silvestres. Entre los hospederos atacados por este insecto se encuentran comúnmente plantas que pertenecen a las familias Cruciferae, Cucurbitaceae, Solanaceae, Leguminosae, entre otras (Brown 1993).

Aunque *B. tabaci* ha sido considerada como una especie polífaga, se han descubierto poblaciones monófagas (Brown *et al.* 1995; Perring 2001; Thompson

2003). Al respecto, se sugiere que existe un amplio rango de diferencias genéticas entre las poblaciones de *B. tabaci* que le permiten adaptarse a nuevos hospederos y climas en distintas regiones geográficas (Basu 1995, citado por Oliveira 2001), y que también podrían asociarse con las variaciones morfológicas que sufre la especie en las diferentes especies de plantas (Mohanty y Basu 1986).

### Biotipos

El término biotipo es usado para designar poblaciones que carecen de diferencias morfológicas, pero que poseen otras características que sirven para separarlas de otras (Claridge *et al.* 1997, citado por Perring 2001). Al respecto, se han usado diversas técnicas principalmente electroforesis de esterasas no específicas, técnicas moleculares como RAPD-PCR y análisis de genes específicos (18S rARN, 16S rADN), para estudiar 41 poblaciones de *B. tabaci*; de estas poblaciones, 24 han recibido la designación de biotipos (Perring 2001). Sin embargo, en estos estudios se han usado diversas herramientas para los análisis moleculares e interpretación de los resultados, lo cual causa dificultad para poder compararlos y dar conclusiones (Oliveira *et al.* 2001).

En 1986 se encontró una nueva forma de *B. tabaci* en plantas de poinsetia (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) mantenidas en invernaderos del estado de La Florida. Esta nueva forma, llamada biotipo "poinsetia" o biotipo B, se introdujo al suroeste de los Estados Unidos, rápidamente reemplazando la forma original, el biotipo A. Para 1991, el biotipo B había causado millones de dólares de pérdidas en los cultivos de California y Arizona (Anderson 2000).

Se ha demostrado que el biotipo B posee un rango más amplio de plantas hospederas (Brown *et al.* 1995), una fecundidad mayor que la del biotipo A (Bethke *et al.* 1991), ingiere una mayor cantidad de savia del floema de las plantas durante la alimentación y consecuentemente excreta un mayor volumen de melaza que el biotipo A (Byrne y Miller, 1990); además, a diferencia del A, el biotipo B induce desórdenes fisiológicos (McAuslane *et al.* 2004).

Con base en datos experimentales biológicos, morfológicos y genéticos, utilizando poblaciones de *Bemisia* de California, Perring *et al.* (1993) y Bellows *et al.* (1994), concluyeron que los biotipos A y B eran especies distintas denominando el biotipo B como *Bemisia argentifolii*

(Bellows y Perring). Sin embargo, esta conclusión no ha sido sustanciada al mirar más ampliamente las poblaciones de *B. tabaci* del Viejo y Nuevo Mundo (Brown *et al.* 1995). Adicionalmente, estudios filogenéticos y reproductivos realizados por Campbell *et al.* (1993) entre los dos biotipos, no soportan la existencia de dos especies. Por consiguiente, se considera que solo existe una especie, *Bemisia tabaci* (Gennadius) como un complejo de biotipos (Anderson 2000).

### Daños directos e indirectos

En las últimas tres décadas, *B. tabaci* ha causado millones de dólares en pérdidas de cultivos en agroecosistemas a lo ancho del mundo (Brown *et al.* 1995; Morales y Anderson 2001; Oliveira *et al.* 2001). No obstante, la estimación real del impacto económico de sus poblaciones en la agricultura mundial ha sido difícil de obtener debido a la gran cantidad de áreas afectadas, el número de cultivos y plantas ornamentales involucrados, y los diferentes sistemas monetarios. El daño a los cultivos se debe a su alimentación directa en el floema, a los desórdenes fisiológicos causados por el biotipo B, y de modo indirecto, a la excreción de melaza que favorece el crecimiento de hongos (e.g. *Capnodium* spp.), y a la transmisión de virus. Estos son factores que afectan el rendimiento de los cultivos en términos cuantitativos y cualitativos. La magnitud de la infestación, la especie y variedad de planta, la época del año, el sitio geográfico y el biotipo de *B. tabaci* determinan los daños causados sobre un cultivo (Oliveira *et al.* 2001; Byrne *et al.* 1990). Igualmente, la magnitud del daño causado por virus, depende de este mismo tipo de factores (Brown y Bird 1992; Cohen 1990; Galvez y Morales 1994a; Morales y Niessen 1988).

La alimentación de unas pocas ninfas por planta induce fitotoxicidad o desórdenes fisiológicos (Costa *et al.* 1993) en una variedad de especies de plantas, y los síntomas varían de acuerdo con la especie del hospedero y los diferentes cultivares (Brown *et al.* 1995). El desorden más comúnmente reportado es el plateado de las cucurbitáceas (Costa *et al.* 1993; McAuslane *et al.* 2004). Otros desórdenes incluyen la madurez irregular en el tomate, también conocido como arco iris (Schuster *et al.* 1990; Morales *et al.* 2003), el rayado blanco longitudinal en los tallos de col y la deformación en las hojas y clorosis en el tallo de lechugas (Brown *et al.* 1995; Quintero *et al.* 1998), y más recientemente la decoloración o

albinismo de los tejidos jóvenes y de las vainas del frijol (Hassan y Sayed 1999; Rodríguez *et al.* 2005). En condiciones de campo, estos síntomas han sido definitivos para la identificación y confirmación de la presencia del biotipo B (Quintero *et al.* 1998; Morales *et al.* 2003).

### Virus transmitidos por *B. tabaci*

Uno de los daños indirectos y quizá el mayor problema generado por este insecto es la transmisión de virus. *B. tabaci* transmite virus pertenecientes a siete grupos que incluyen *Begomovirus*, *Carlavirus*, *Ipomovirus* y *Crinivirus* (Jones 2003). Los virus más importantes por el daño causado son los Begomovirus y los Crinivirus (Closteroviridae: *Crinivirus*).

A pesar de que la mayoría de los virus que infectan plantas (80 a 90%) tienen ARN de cadena sencilla como componente genético, los begomovirus poseen ADN de cadena sencilla, con una o dos moléculas de ADN circular y de reducidas dimensiones (aproximadamente de 2.6 a 2.8 kb). El tamaño total del genoma varía de 2.7 a 5.4 kb, lo cual coloca a los geminivirus como uno de los virus más pequeños en poseer genomas de replicación independiente, y como uno de los únicos virus de ADN en poseer el genoma dividido. El nombre de los geminivirus proviene de la morfología característica de su cápside, la cual asemeja dos poliedros regulares idénticos (gemelos o geminados) fusionados por una de sus caras (Fig. 1a). El tamaño de los viriones es de 18 x 30 nanómetros (Harrison 1985).

De acuerdo con su estructura genómica, el vector que los transmite y los hospederos que infectan, la familia Geminiviridae está dividida en cuatro géneros: El primer género, *Mastrevirus*, deriva su nombre de su virus tipo *Maize streak virus*. Estos virus solo tienen un componente genómico, infectan exclusivamente monocotiledóneas y son transmitidos por cicadélidos (Mullineaux *et al.* 1984). El segundo género, *Curtovirus*, nombre derivado del virus tipo *Beet curly top virus* poseen un solo componente genómico, infectan dicotiledóneas y son también transmitidos por cicadélidos (Stanley *et al.* 1986). El tercer género, *Begomovirus*, nombre derivado del virus tipo *Bean golden mosaic Gvirus* (Howart *et al.* 1985), posee uno o dos componentes genómicos, solo infectan dicotiledóneas y son transmitidos por *B. tabaci*. El Virus del enrollamiento de la hoja del tomate y varios aislamientos del virus del enro-

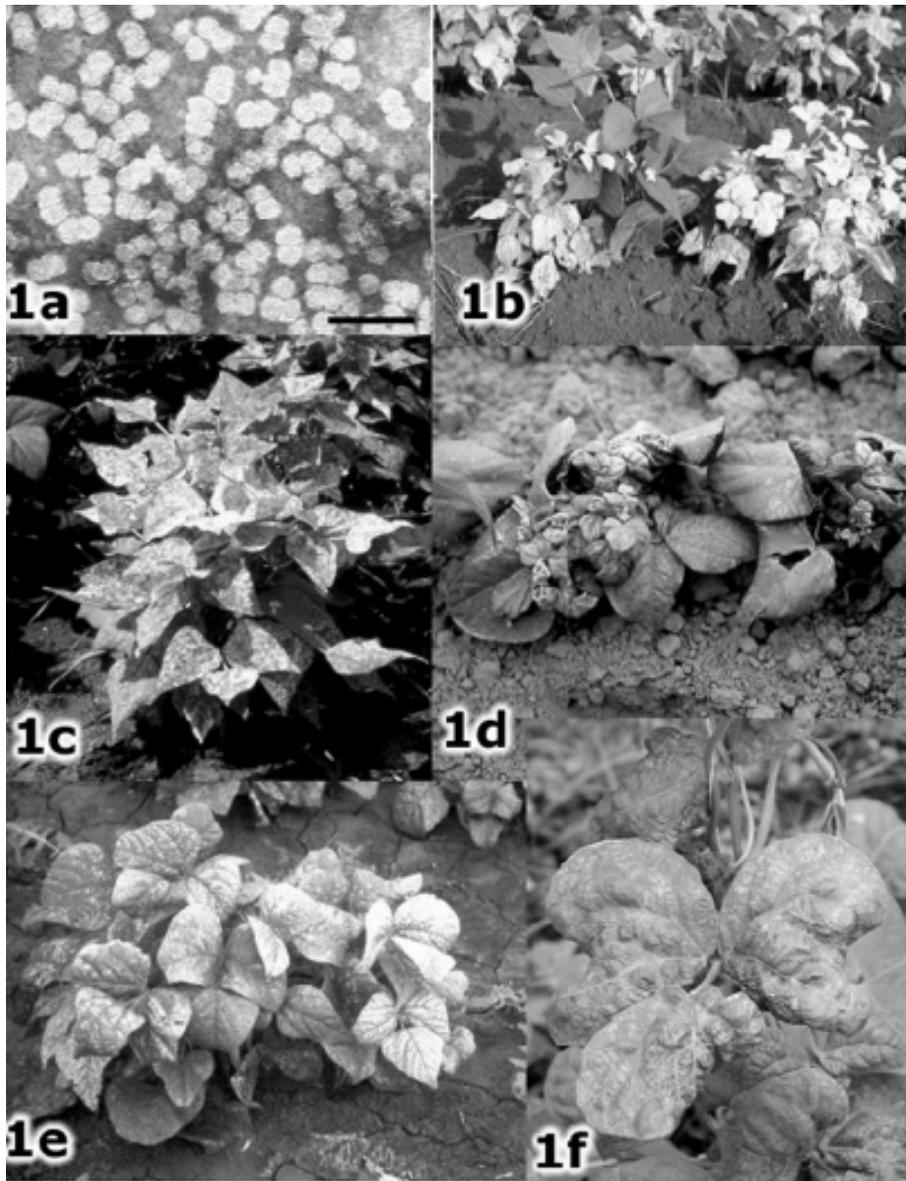
llamiento amarillo de la hoja del tomate, son begomovirus atípicos porque poseen genomas monopartitas. Un cuarto género, *Topocuvirus* incluye únicamente el *Tomato pseudo-curly top virus*, transmitido por el membrácido *Micrutalis malleifera* (Rojas 2000).

La transmisión de begomovirus por *B. tabaci* es del tipo persistente circulativo, descrita para otros homópteros (Duffus 1987). Los adultos necesitan un periodo de 20 minutos o más para adquirir el virus de plantas infectadas. Este período de adquisición relativamente prolongado (comparado con los 15-60 segundos requeridos para virus semi-persistentes), se debe a la localización de estos virus en el floema de las plantas afectadas. Una vez adquirido, el virus requiere un periodo de incubación en el vector, que varía de algunas horas a un día. Esta observación es la que sugiere que el virus circula en el insecto vector. El proceso de transmisión (inoculación), generalmente requiere un tiempo similar al de adquisición del virus. Esto se debe a que algunos virus transmitidos por mosca blanca, aparentemente pueden iniciar el proceso de infección en tejido no vascular. La persistencia del virus en la mosca blanca varía de algunos días hasta semanas, llegando a ser retenido de por vida en algunos adultos. Sin embargo, hay comúnmente pérdida de infectividad con el tiempo, lo cual sugiere que estos virus no se multiplican dentro de la mosca blanca. Estos virus, sin embargo, parecen ser retenidos por los diferentes estadios del insecto hasta el adulto, a pesar de que solo el primer ínstar y el adulto son móviles (Morales 1994a).

### Begomovirus transmitidos por *B. tabaci*

Los geminivirus transmitidos por moscas blancas (begomovirus) comúnmente causan pérdidas totales en el rendimiento de cultivos alimenticios e industriales en agroecosistemas tropicales y subtropicales alrededor del mundo. La distribución global de los begomovirus está estrechamente relacionada con la diseminación pantropical de la mosca blanca vectora *B. tabaci* (Morales y Anderson 2001).

Se sabe que más de 100 especies de begomovirus son transmitidos por *B. tabaci* a más de 20 especies de plantas cultivadas. Algunos de los principales cultivos afectados por los begomovirus son: *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus lunatus* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Capsicum annuum* L., *Capsicum frutescens* L., *Cucumis melo* L., *Citrullus*



**Figura 1.** 1a. Partículas geminadas de los begomovirus (Escala = 100 nm), (Foto Unidad de Virología – CIAT). 1b-f Síntomas causados por begomovirus en fríjol: 1b Mosaico dorado, 1c Mosaico dorado amarillo, 1d Mosaico enano, 1e Mosaico cálico, y 1f Arrugamiento foliar (Fotos Francisco J. Morales).

*lanatus* (Thunb.), *Cucurbita pepo* L., *Manihot esculenta* Crantz, *Gossypium hirsutum* L. y *Nicotiana tabacum* L. (Brown 1994; Oliveira *et al.* 2001). Sin embargo, los begomovirus que infectan tomate, yuca y fríjol se han mencionado entre los más diseminados e importantes (Oliveira *et al.* 2001).

En tomate se han presentado grandes pérdidas económicas como consecuencia del daño causado por *Tomato yellow leaf curl virus* en la región del Mediterráneo, norte y centro de África, sur de Asia (Czosnek y Laterrot 1997). Una variante de este virus fue introducido accidentalmente en las Américas (Polston *et al.* 1994; Polston y Anderson, 1999). En el cultivo de la yuca

en África, el problema más serio es la enfermedad del mosaico africano de la yuca (*African cassava mosaic disease*), causada por un complejo de begomovirus. Estos virus son transmitidos por *B. tabaci*, pero el principal método de diseminación es a través de la propagación vegetativa de estacas infectadas (Morales 2001). En fríjol común, el Virus del mosaico dorado del fríjol y el Virus del mosaico dorado amarillo del fríjol son considerados los patógenos más limitantes en las Américas (Morales 2001; Oliveira *et al.* 2001).

#### Reportes de begomovirus en Colombia

En Colombia, la información sobre begomovirus transmitidos por moscas

blancas es sintetizada por Morales *et al.* (2000). Según los autores, este país había estado relativamente libre de problemas causados por begomovirus, pero en los últimos años se han observado ataques severos de estos patógenos en diversos cultivos de importancia socio-económica. Los primeros reportes sobre la presencia de begomovirus transmitidos por mosca blanca en Colombia fueron presentados por Galvez *et al.* (1975), cuando encontraron en Espinal, Tolima plantas de fríjol común afectadas por mosaico dorado y mosaico enano. Para el año 2000 se reportan nuevos begomovirus para Colombia (Morales *et al.* 2000; Morales *et al.* 2003; Morales y Anderson 2001). En el Valle del Cauca, el Virus del moteado amarillo de la soya; en el Valle central del Magdalena, el Virus del arrugamiento foliar del tabaco y el Virus de la clorosis del melón en la Costa Atlántica. Secuencias parciales de estos begomovirus indican que pertenecen a los grupos del Virus del mosaico del abutilón y al Virus del encrespamiento de la hoja de la calabaza, respectivamente. Para *Passiflora quadrangularis* L. se reportó el Virus de la deformación de la badea en el departamento de Córdoba. Más recientemente, y a tan solo tres años del último reporte de begomovirus para Colombia, Morales *et al.* (2003) reportan dos nuevas especies de virus en el Valle del Cauca, el Virus del arrugamiento foliar del fríjol y el Virus del mosaico suave del tomate. Los mismos autores mencionan que también se presentó en el municipio de Fusagasugá, Cundinamarca, el Virus del mosaico amarillo del tomate, originalmente descrito en Venezuela.

#### Virus transmitidos por *B. tabaci* en fríjol en América Latina

El área cultivada de fríjol común está por encima de nueve millones de hectáreas, siendo Brasil el país que produce más del 50% de la cosecha total en América, seguido por México con cerca de dos millones de hectáreas. En los países de América Central se cultivan aproximadamente 500 mil hectáreas, lo cual representa una de las más altas densidades de siembra de fríjol en América Latina (Morales 2000a).

Según Morales y Anderson (2001), el fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.) no es un hospedero preferido por *B. tabaci*, pero en ausencia de otras especies más adecuadas, este insecto puede alimentarse y reproducirse sobre esta leguminosa causando un daño severo como plaga y

como vector de virus. Es así como desde mediados del siglo XX diferentes geminivirus transmitidos por *B. tabaci* se han reportado afectando fríjol en América Latina (Morales 2000a).

### Virus del mosaico dorado del fríjol

En 1961, en el Estado de São Paulo, Costa (1965) observó una enfermedad en un cultivo de fríjol caracterizada por un amarillamiento foliar intenso, a la cual llamó "mosaico dorado" (Fig. 1b). Esta enfermedad fue descrita como una enfermedad menor, por presentarse en baja incidencia. A principios de los años 1970, la expansión de los cultivos de soya en Brasil, un hospedero reproductor de *B. tabaci*, trajo como consecuencia una explosión de las poblaciones de *B. tabaci*, y con esto el inicio de la diseminación de enfermedades por todas las principales regiones productoras de fríjol en Brasil (Costa 1975; Morales y Anderson 2001), causando pérdidas en la producción entre 40 y 100% (Costa 1987). Posteriormente, la enfermedad llegó a las regiones productoras de fríjol del noroccidente de Argentina hacia 1983 y al suroriente de Bolivia en los comienzos de la década de 1990 (Morales 2000a). De este modo, la enfermedad causada por el virus del mosaico dorado se constituyó en un factor limitante en la producción de fríjol de estos países, principalmente durante los meses de verano cuando las poblaciones de la mosca alcanzaban su máxima densidad (Morales 2000a).

Morales y Anderson (2001) destacan la importancia del incremento de cultivos de soya como una de las causas fundamentales en la explosión del virus del mosaico dorado no solo en Brasil sino también en Argentina y Bolivia. Según estos autores, debido a los altos costos del precio internacional de la soya, Brasil inicia la exportación de esta leguminosa a principio de los años 1970. Por lo cual, se incrementa el área sembrada de 1.3 millones a 8.1 millones de hectáreas en 1983 y para la década de 1990 el área sembrada había ascendido a 13 millones de hectáreas (FAO 1994). A consecuencia de esta expansión en la producción de soya, las poblaciones de *B. tabaci* aumentaron y se diseminaron, invadiendo cultivos de fríjol y diseminando el virus en los estados de Parana, São Paulo, Minas Gerais, Goias y Bahía (Costa *et al.* 1973; Morales 1994b; Morales y Anderson 2001). Similar a lo ocurrido en Brasil, en 1973 Argentina y Bolivia incrementaron el área cultivada de soya, siendo este el factor decisivo en la ex-

pansión del virus del mosaico dorado en estos países (Morales 1994b; Morales y Anderson 2001).

El aislamiento procedente de Brasil del Virus del mosaico dorado del fríjol (en inglés *Bean golden mosaic Virus*, BGMV), fue caracterizado por Gilbertson *et al.* (1993). La identificación de los aislamientos de Argentina y Bolivia fue confirmada por métodos serológicos y moleculares. Este Virus solo puede ser transmitido por *B. tabaci* y no por inoculación mecánica ni por semilla, con excepción de los métodos biológicos de transmisión mecánica, donde el ADN se coloca sobre micropartículas metálicas, y se dispara mediante diversos tipos de instrumentos acelerados sobre tejidos meristemáticos (Morales 2000a).

### Virus del mosaico dorado amarillo del fríjol

Al principio se pensó que el Virus del mosaico dorado del fríjol encontrado en países de América del Sur era el mismo que se encuentra en México, Centro América y la región del Caribe causando síntomas similares en las plantas de fríjol (Morales 2000a, 2001). El nombre del mosaico dorado amarillo fue dado al observarse un amarillamiento intenso en plantas de fríjol lima (*Phaseolus lunatus*) y de fríjol común (*P. vulgaris*) en Puerto Rico (Bird *et al.* 1972, citado por Morales 2000a). Actualmente, se sabe que es un virus distinto del mosaico dorado suramericano y fue caracterizado molecularmente por Howarth *et al.* (1985) de un aislamiento de Puerto Rico. A diferencia del BGMV, el BGYMV (sigla del nombre del virus en inglés *Bean golden yellow mosaic virus*) puede transmitirse por inoculación mecánica (Morales 2000a).

Al igual que el BGMV, los síntomas se manifiestan por una marcada deformación de las hojas, muchas de las cuales pueden ocasionalmente volverse completamente amarillas o casi descoloridas (Fig. 1c). Algunos cultivares presentan síntomas de mosaico menos intensos, y en una etapa posterior de desarrollo pueden presentar algo de recuperación. Las vainas de las plantas infectadas son muy deformes. Las semillas se pueden decolorar, deformar y disminuir de tamaño y de peso. Algunas plantas infectadas en una etapa temprana se pueden atrofiar severamente y a menudo no producen vainas (Galvez y Morales 1994).

Morales (2000a), realizó una revisión sobre los reportes de la diseminación de la enfermedad causada por el virus en

toda el área de su distribución y menciona que desde 1969 fue observada en República Dominicana para luego aparecer en Haití en 1972. En Cuba se observó en los inicios de los años 70s, y para 1983, ya estaba diseminada en las principales regiones productoras de este país. En Jamaica, se manifestó también al inicio de los años 1970. En Centro América, el mosaico dorado amarillo del fríjol está ampliamente distribuido en el suroriente de Guatemala y valles medios y bajos de El Salvador. En Honduras, la enfermedad aparece en los años 1980 y en Nicaragua en los inicios de los 1970. Sin embargo, es a partir de 1990 que esta enfermedad viene a ser considerada limitante para el cultivo del fríjol en Honduras. En Costa Rica, aparece en los años 1960 pero solo hasta 1987 se constituye en un problema limitante. En Panamá se presenta más recientemente, pero con baja incidencia. En México, la enfermedad se presenta desde 1977 afectando los estados de Veracruz, Tamaulipas, Chiapas, Yucatán y la región de Huastecas.

En Colombia, la enfermedad del mosaico dorado amarillo fue registrada por primera vez por Galvez *et al.* (1975), en Espinal, Tolima. Adicionalmente, se ha observado esporádicamente en siembras experimentales realizadas en el Valle del Cauca, desde la segunda mitad de la década de los años 1970 (Morales *et al.* 2000).

Según Morales y Anderson (2001), el BGYMV sigue siendo un problema limitante en la producción de fríjol en países como Guatemala y El Salvador, particularmente durante los meses secos del año (noviembre a marzo). Aunque en Costa Rica y Panamá causa problemas de manera esporádica, puede constituirse en un problema serio durante los años en los que se prolonga la sequía.

### Virus del mosaico enano del fríjol

La enfermedad causada por el Virus del mosaico enano del fríjol fue observada por primera vez por Costa (1965) en Brasil, a la que llamó primero "moteado enano" y posteriormente "mosaico enano". Sin embargo, esta enfermedad nunca alcanzó importancia económica notable en Brasil (Morales 2000a). A esta enfermedad también se le conoció como "moteado clorótico" (Galvez *et al.* 1975). El virus causal de la enfermedad en Colombia se caracterizó en 1988 (Morales *et al.* 1990), y se le cambió definitivamente el nombre a "mosaico enano", para diferenciarlo de un com-

plejo de virus no transmitidos por mosca blanca al cual se dio el nombre de "moteado clorótico" (Jayasinghe 1982). En 1992, el aislamiento colombiano del virus del mosaico enano fue caracterizado a nivel molecular y se comprobó que pertenece al grupo filogenético del Virus del mosaico del abutilón (Padidam *et al.* 1995).

La sintomatología del virus del mosaico enano (*Bean dwarf mosaic virus* BDMV), depende del genotipo de frijol atacado (Fig. 1d). En variedades muy susceptibles, como era el caso de Alubia en Argentina, el síntoma dominante es el enanismo y la deformación foliar. En variedades de grano negro de origen mesoamericano, el síntoma más aparente es un moteado localizado en algunas partes del follaje (Morales 2000a). Al igual que BGYMV, el BDMV también se transmite mecánicamente (Morales *et al.* 1990).

El mosaico enano es relativamente común en los trópicos donde las malváceas en especial las del género *Sida* son frecuentemente afectadas por geminivirus que ocasionalmente pasan al frijol (Morales 2000a). Sin embargo, y a pesar de su baja incidencia en Latinoamérica, esta enfermedad tiene un potencial epidemiológico considerable, teniendo en cuenta lo observado entre 1978 y 1981, cuando brotes sucesivos del mosaico enano causaron la pérdida total de más de 40.000 hectáreas de frijol en el noroeste de Argentina (Morales *et al.* 1990). En Nicaragua, donde el virus ha sido detectado, la enfermedad no es un problema debido al uso de variedades de frijol resistentes. En Argentina, el virus del mosaico enano está prácticamente desplazado, pues los materiales con tolerancia al mosaico dorado resultaron tener mayor nivel de resistencia al mosaico enano (Morales 2000a).

### Virus del mosaico cálico del frijol

En 1990 se observó una enfermedad en el Estado de Sonora (México), a la cual se llamó "mosaico cálico" debido a un amarillamiento intenso casi blanquecino que mostraban las plantas enfermas (Brown *et al.* 1990). El nombre proviene de una tela blanca de algodón producida en la India. Inicialmente la enfermedad fue asociada con el mosaico amarillo y con el mosaico dorado. Sin embargo, se puede distinguir del mosaico dorado amarillo por la tendencia a producir una clorosis extrema que frecuentemente termina en un blanqueamiento de las hojas afectadas (Fig. 1e) (Morales 2000a).

En 1992, el agente causal del mosaico cálico fue caracterizado como un begomovirus relacionado al virus del enrollamiento foliar de la calabaza (*Squash leaf curl virus*), (Loniello *et al.* 1992). Según Morales (2000a), el virus del mosaico cálico (en inglés *Bean calico mosaic virus* BCaMV) es proveniente de cucurbitáceas, el cual se ha adaptado a frijol debido a la proximidad de los sistemas de producción de hortalizas en el suroeste de los Estados Unidos y en el noroeste de México. Por el momento, este virus está restringido al noroeste de México.

### Virus del arrugamiento foliar del frijol

Este virus fue reportado por Morales *et al.* (2003) en lotes de habichuela del departamento del Valle del Cauca en los municipios de Bugalagrande, Pradera, Rozo y Roldanillo. Las habichuelas presentaban un arrugamiento foliar severo y amarillamiento moderado (Fig. 1f). Los mismos autores mencionan que la secuenciación de un clon de 627 bases obtenido del fragmento amplificado para una muestra procedente de Rozo mostró una identidad a nivel de nucleótidos del 85% con la cápside del Virus del mosaico dorado amarillo del frijol (BGYMV), lo que indica que están estrechamente relacionados.

El Virus del arrugamiento foliar del frijol se presentó con una incidencia superior al 80% lo cual no tiene precedentes en la historia del país (Morales *et al.* 2003). Según estos autores, la ocurrencia de esta epidemia en el Valle del Cauca está estrechamente asociada con la aparición del biotipo B de *B. tabaci* en esta región y con factores que favorecen su reproducción como es la tendencia al incremento de períodos de sequía acompañados por temperaturas diurnas altas.

La emergencia de este begomovirus es de gran importancia económica, dado el gran potencial patogénico de este grupo de virus. A pesar de que existen fuentes de resistencia a begomovirus de frijol común, estas no han sido suficientemente usadas para mejorar variedades de habichuela como la que los productores del Valle del Cauca están cultivando actualmente. Se requiere entonces iniciar un programa de mejoramiento genético rápidamente (Morales *et al.* 2003).

### Ecología y epidemiología

El biotipo B de *B. tabaci* se está propagando a toda América (Brown *et al.* 1995; Polston y Anderson 1999). Los datos que indican que este biotipo tiene un ámbito

de hospedantes más amplio es más proflero y posiblemente tiene una capacidad de dispersión y de adaptación mayor que otras poblaciones de esta especie son de importancia epidemiológica (Bethke *et al.* 1991; Brown *et al.* 1995). Un ejemplo de esto, es el desplazamiento del biotipo A por el biotipo B en el Valle del Cauca (Colombia), el cual, se encuentra ahora en nichos que previamente eran ocupados por el biotipo A y por *Trialeurodes vaporariorum* (CIAT 2004; Rodríguez *et al.* 2003). De otra parte, el biotipo B se ha encontrado por primera vez en el Valle del Cauca causando epidemias de begomovirus en cultivos como tomate y frijol, con efectos importantes (Morales *et al.* 2003).

A pesar de que las malezas son hospedantes de la mosca blanca dentro del agroecosistema, los cultivos hospedantes son la fuente más importante de mosca blanca; ya que la biomasa del cultivo constituye una fuente de alimentación y propagación. No obstante, falta aún información sobre los hospederos reproductivos de *B. tabaci*. Esta información es valiosa, puesto que tiene implicaciones significativas para la epidemiología y manejo de los virus transmitidos por esta especie (Anderson 2000; Polston y Anderson 1999).

### Control de begomovirus en frijol

Factores como su amplia patogenicidad y alta virulencia son responsables por las grandes pérdidas en rendimiento asociadas al ataque de begomovirus en especies cultivadas, han conducido al uso indiscriminado de insecticidas para controlar *B. tabaci* (Morales 2001). Infortunadamente, los agroquímicos no necesariamente evitan la transmisión de estos virus por la mosca blanca. A cambio, lo que se ha logrado con esta práctica, es la eliminación de los enemigos naturales de *B. tabaci*; un rápido desarrollo de la resistencia a los insecticidas en esta mosca blanca y un desarrollo de epidemias a gran escala por los geminivirus que ella transmite (Morales 2001; Morales y Anderson 2001)

Debido a que no hay evidencias claras de existencia de genes que condicionen una resistencia efectiva a *B. tabaci* (Anderson 2000), el manejo que se ha dado al problema de los geminivirus en frijol es principalmente el desarrollo de variedades resistentes a la enfermedad, el cual ha probado ser el método más complementario y sostenible dentro del manejo integrado de la mosca blanca (Morales 2001).

## Control genético

Según Morales (2000b) desde el inicio de las primeras epidemias con los virus del mosaico dorado y mosaico dorado amarillo se observó que no había variedades inmunes. Por lo tanto, cuando se habla de “resistencia” a los geminivirus que afectan el frijol en América Latina, se hace en el sentido amplio de la palabra e incluye un rango de niveles de resistencia. Hasta el momento solo se ha observado inmunidad en el caso del *Virus del mosaico enano del frijol* (BDMV). La identificación de fuentes de resistencia al BGYMV facilitó la búsqueda de materiales resistentes al BDMV.

El caso del *Virus del mosaico calico del frijol* fue similar, partió de la búsqueda de resistencia al mosaico dorado amarillo en Mesoamérica. Materiales de la raza Nueva Granada resultaron tener un alto nivel de tolerancia, con una tendencia a resistir el aborto de flores y a producir vainas, a pesar de exhibir los síntomas característicos del mosaico cálico. Nuevas variedades se han desarrollado a partir de fuentes de resistencia de la raza Nueva Granada (Morales 2000b).

La búsqueda de fuentes de resistencia para solucionar el problema del mosaico dorado amarillo del frijol en América Central, se inicia en 1974 con un proyecto coordinado por el Programa Nacional Guatemalteco (ICTA) y el CIAT. Se evaluaron ca. 7000 accesiones del Banco de Germoplasma del CIAT en condiciones de campo de los cuales se destacaron los materiales de grano negro de origen mesoamericano especialmente ‘Turrialba 1’, ‘Porrillo 70’, ‘Porrillo 1’, ‘Porrillo Sintético’, ‘ICA Tui’ e ‘ICA-Pijao’. A partir de diversos cruzamientos entre estos surgen las primeras líneas de resistencia DOR (Morales 2000b).

Posteriormente se debió superar el problema de mosaico dorado en variedades de grano rojo, las cuales tienen una alta demanda en países como Costa Rica, Nicaragua, Honduras y El Salvador. Para lograr esto, una de las fuentes de resistencia más importante la constituyó la variedad “Garrapato” de la raza Durango proveniente de México, la cual presenta resistencia al amarillamiento característico del mosaico dorado (Morales y Niessen 1988). Al respecto, el gen *bgm-1* fue identificado como el responsable de este tipo de resistencia (Blair y Beaver 1993). Otro gen de resistencia a BGYMV fue el *bgm-2*, el cual es responsable de la resistencia en la línea DOR 303, cuyo origen está en frijoles de grano negro

como el ‘Porrillo Sintético’, y en genotipos de la raza Nueva Granada (Morales 2000b; Morales 2001).

Resultados obtenidos por Morales y Niessen (1988) en condiciones de invernadero demostraron la existencia de diferentes mecanismos de resistencia al BGYMV y al BGMV y a otros begomovirus del frijol en diferentes materiales de América Latina. Estos son: 1) “Escape a la infección” con BGMV en materiales de grano negro mesoamericanos. Las plantas infectadas tempranamente sufren pérdidas en rendimiento considerables, las cuales son compensadas por el rendimiento normal de las plantas que escapan a la infección. 2) “Resistencia al amarillamiento” o pérdida de la capacidad fotosintética, causada por BGYMV. Se encuentra en Garrapato y otros tipos Pintos de la raza Durango de México. 3) “Tolerancia” o la capacidad de producir aceptablemente a pesar de estar infectados sistémicamente con BGYMV y manifestar síntomas típicos. Este es el caso de materiales del tipo ‘red kidney’, como ‘Royal Red’ y ‘Red Kloud’ de la raza Nueva Granada. 4) “Resistencia al aborto de flores”, por los materiales del tipo red kidney. 5) “Resistencia a la deformación de vainas”, presente también en la raza Nueva Granada en los materiales tipo red kidney y habichuela de tipo andino, como el ‘Redlands Greenleaf C’. Las vainas no se deforman a pesar de manifestar síntomas claros de mosaico dorado en el follaje. Se ha identificado un gen, *Bgp*, asociado a esta característica (Morales 2000b).

Morales y Singh (1991) encontraron que existe una variabilidad genética de tipo aditivo en los materiales que representan los diferentes mecanismos de resistencia al BGYMV. Además, estos mecanismos se pueden combinar entre diferentes razas de frijol común. Adicionalmente, Morales (2000b) demostró que el principal mecanismo de resistencia que poseen las fuentes de resistencia y los materiales mejorados a partir de estos padres, es el de evitar o restringir la multiplicación de los geminivirus en los genotipos resistentes. Resistencia que también se ha asociado a caracteres cuantitativos (QTLs).

Son grandes los esfuerzos de mejoramiento realizados para obtener materiales (como las líneas DOR) con resistencia a los begomovirus que atacan frijol y con alta productividad. Otros mecanismos de resistencia han sido identificados en diferentes genotipos de frijol y su

recombinación ha rendido resultados promisorios en el caso de granos de tipo no negro. Sin embargo, de acuerdo con lo mencionado por Anderson (2000), estos genotipos no perduran si la presión del inóculo, *i.e.* muchas moscas blancas virulíferas, es alta. Así, se perpetúa la necesidad de reducir poblaciones de mosca blanca en el campo utilizando insecticidas. Es claro que, para proteger el germoplasma mejorado y prolongar su vida productiva, es necesario definir e implementar estrategias complementarias para manejar las poblaciones de vectores. En el corto plazo, esto podría resultar en menos daño para los productores y en el mediano a largo plazo en menos presión sobre el germoplasma mejorado.

## Otras medidas de control

Otras alternativas o medidas complementarias para el control de los geminivirus tienen que ver con el manejo de la mosca blanca vectora. Hasta el momento, la seriedad del problema que representa *B. tabaci* ha dado lugar a una cantidad de investigación que provee métodos de manejo aceptables (Oliveira *et al.* 2001). En países de América Central y del Caribe se han utilizado con éxito medidas específicas de control (Anderson 2000). Sin embargo, según Ellsworth y Martínez-Carrillo (2001) la estrategia más efectiva ha sido la combinación coordinada de las medidas existentes en los programas agrícolas. Entre las revisiones más recientes sobre las diferentes estrategias de manejo de *B. tabaci* y de los geminivirus, se encuentran: Ellsworth y Martínez-Carrillo (2001), Faria y Wraight (2001), Gerling *et al.* (2001), Hilje *et al.* (2001), Morales (2000b, 2001), Naranjo (2001), Palumbo *et al.* (2001).

Según Oliveira *et al.* (2001), el común denominador de la mayoría de los programas de control de *B. tabaci* es el uso de insecticidas solos o en mezclas. Afortunadamente, el problema de la resistencia ha sido en parte evitado con la implementación de umbrales de acción y de programas de manejo de la resistencia. Adicionalmente, se han realizado grandes esfuerzos para incorporar el control cultural, el biológico y métodos no químicos dentro de los sistemas de manejo en los cuales, la base del control son los insecticidas. Los avances logrados en el control biológico indican que el aumento y conservación de los enemigos naturales pueden ser factores fundamentales en el manejo de este insecto. Sin embargo, la acción de los agentes de control biológico solo será realizada

cuando se aprenda a usar racionalmente los productos químicos (Morales y Anderson 2001). Finalmente, se ha adoptado el uso de mallas, coberturas y otras formas de exclusión, al igual que materiales reflectivos para repeler *B. tabaci* y han sido parcialmente efectivos en algunos sistemas agrícolas (Oliveira *et al.* 2001).

En el caso del fríjol, según Morales (2000b, c), el control químico es ampliamente usado en América Latina para disminuir las poblaciones de *B. tabaci*. Sin embargo, considerando que la mayoría de los agricultores en esta región son de bajos recursos, los insecticidas utilizados son usualmente compuestos que ya no son efectivos, generando un incremento en el problema del desarrollo de resistencia a estos productos por la mosca blanca. Los nuevos químicos como el imidacloprid, son muy efectivos pero igualmente costosos para estos agricultores. Consecuentemente, el uso de insecticidas no sintéticos y agentes de control biológico están ganando terreno en América Latina. Insecticidas botánicos como los extractos de *Azadirachta indica* Adr. Juss. y *Nicotiana tabacum* L.; parasitoides como *Eretmocerus* spp y *Encarsia* spp y entomopatógenos como *Lecanicillium lecanii* y *Beauveria bassiana*, se están usando más frecuentemente. El uso de algunos jabones para el control de *B. tabaci*, es otro método interesante practicado por algunos de los pequeños agricultores.

El mismo autor menciona que las prácticas culturales no son usadas ampliamente por los agricultores latinoamericanos para el control de la mosca blanca y por lo tanto de los begomovirus. Lo que se usa comúnmente son las barreras físicas, principalmente mallas anti-mosca blanca, barreras vivas o cultivos trampa, trampas pegajosas, manejo de la densidad de siembra y fechas de siembra. Quizá la práctica de control más exitosa que se ha implementado en ciertos países de Latinoamérica para el control de BGYMV, es la aplicación de decretos legales que prohíben la siembra continua de hospederos reproductivos de la mosca blanca a través del año.

Los desafíos y oportunidades para el desarrollo de sistemas de manejo económicamente y ambientalmente eficientes con *B. tabaci* en fríjol y otros cultivos son muchos. La meta sería integrar los componentes de control en sistemas de manejo de *B. tabaci* que estén basados en prácticas ecológicamente sostenibles.

### Literatura Citada

- ANDERSON, P. K. 2000. La mosca blanca vectora: *Bemisia tabaci* (Genn.). En: El Mosaico Dorado y otras enfermedades del fríjol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. F. J. Morales (ed.). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira, Colombia. p. 107-127.
- BELLOWS Jr., T. S.; PERRING, T. M.; GILL, R. J.; HEADRICK, D. H. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America* 87: 195-206.
- BETHKE, J. A.; PAINE, T. D.; NUSSLY, G. S. 1991. Comparative biology, morphometrics and development of two populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. *Annals of the Entomological Society of America* 84: 407-411.
- BLAIR, M. W.; BEAVER, J. S. 1993. Inheritance of bean golden mosaic resistance from bean genotype A429. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*. 36:143.
- BROWN, J. 1993. Evaluación crítica sobre los biotipos de mosca blanca en América, de 1989 a 1992. En: Las Moscas Blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. L. Hilje., O. Arboleda (eds.). CATIE, Turrialba, Costa Rica. p 1-9.
- BROWN, J. 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. *FAO Plant Protection Bulletin* 42: 3-32.
- BROWN, J.K.; CHAPMAN, M.A.; NELSON, M.R. 1990. Bean calico mosaic, a new disease of common bean caused by a whitefly-transmitted geminivirus. *Plant Disease* 74:81.
- BROWN, J.K.; BIRD, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76(3): 220-225.
- BROWN, J. K.; FROHLICH, D. R.; ROSELL, R. C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whitefly: biotipes of *Bemisia tabaci* or a species complex?. *Annual Review of Entomology* 40: 511-534.
- BYRNE, D.; MILLER, W.B. 1990. Carbohydrate and amino acid composition of phloem sap and honeydew produced by *Bemisia tabaci*. *Journal of Insect Physiology* 36: 433-439.
- BYRNE, D.; BELLOWS, T.; PARRELLA, M. 1990. Whiteflies in agricultural systems. In: Gerling, D. (ed.), *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. New Castle, U.K. Atheneum. P. 227-251.
- CAMPBELL, B. C.; DUFFUS, J.E.; BAUMANN, P. 1993. Determining whitefly species. *Science* 261: 1333.
- CAMPBELL, B. C.; STEPHEN-CAMPBELL, J. D.; GILL, R. 1995. Origin and radiation of whiteflies: an initial molecular phylogenetics assessment. In: Gerling, D., Mayer, R. T. (eds.), *Bemisia: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management*. Intercept, UK, p. 29-52.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 2004. Integrated pest and disease management in major agroecosystems: Annual report, Project PE1. Cali, Colombia, 417 p.
- COHEN, S. 1990. Epidemiology of whitefly-transmitted viruses. In: Gerling, D. (ed.), *Whiteflies: their Bionomics, Pest Status and Management*. Intercept, U.K., p. 210-225.
- COSTA, A.S. 1965. Three whitefly-transmitted diseases of beans in the State of São Paulo, Brazil. *FAO Plant Protection Bulletin* 13: 121-130.
- COSTA, A.S. 1975. Increase in the population density of *Bemisia tabaci*, a threat of widespread virus infection of legume crops in Brazil. In: Bird J. y Maramorosch (eds.). *Tropical diseases of legumes*. Academic Press, New York. p. 27-49.
- COSTA, A.S. 1987. Fitoviroses do feijoeiro no Brasil. En: Feijão: Fatores de produção e Qualidade. Fundação Cargill, Campinas, S.P. Brasil. p. 175-256.
- COSTA, H.S.; ULLMAN, D.E.; JOHNSON, M.W.; TABASHNIK, B.E. 1993. Squash silverleaf symptoms induced by immature, but not adult, *Bemisia tabaci*. *Phytopathology* 83: 763-766.
- CZOSNEK, H.; LATERROT, H. 1997. A worldwide survey of tomato yellow leaf curl viruses. *Archives of Virology* 142: 1391-1406.
- DUFFUS, J.E. 1987. Whitefly transmisión de plant viruses. In: *Current Topics in Vector Research*. Vol 4, Harris K.F. (ed.), Springer-Verlag, New York. p.73-91.
- ELLSWORTH, P.C.; MARTINEZ-CARRILLO, J.L. 2001. IPM for *Bemisia tabaci*: a case study from North America. *Crop Protection* 20(9): 853-869.
- FAO. 1994. Anuario FAO de producción. Roma, FAO.
- FARIA, M.; WRAIGHT, S.P. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protection* 20(9): 767-778.
- GALVEZ, G.E.; CASTAÑO, M.; BELALCAZAR, S. 1975. Presencia de los virus del mosaico dorado y del moteado clorótico del fríjol, en Colombia. *Ascolfi Informa* 1: 3-4.
- GALVEZ, G.E.; MORALES, F.J. 1994. Virus transmitidos por la mosca blanca. En: Corrales, P.; Antonio, M.; Howard, S. (eds.). *Problemas de producción del fríjol en los trópicos*. 2. ed. Cali, Colombia : Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). p. 435-464.
- GENNADIUS, P. 1889. Disease of tobacco plantations in the trikonía. The aleurodid of tobacco. *Ellenike Georgia (Grecia)* 5: 1-3.
- GERLING, D.; ALOMAR, O.; ARNO, J. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids. *Crop Protection* 20(9): 779-799.
- GILBERTSON, R.; FARIA, J.C.; AHLQUIST, P.; MAXWELL, D.P. 1993. Genetic diversity in geminiviruses causing bean golden mosaic disease: the nucleotide sequence of the infectious cloned DNA components of a Brazilian isolate of bean golden mosaic virus. *Phytopathology* 83: 709-715.
- GREATHEAD, A.H. 1986. Host plants. In: *Bemisia tabaci* a Literature Survey on the Cotton Whitefly with an Annotated Bibliography. Cock, M.J.W. (ed.). CAB

- International Institute, Biological Control. Silwood Park, UK. p. 17-26.
- HARRISON, B.D. 1985. Advances in geminiviruses research. Annual Review of Phytopathology 23: 55-82.
- HASSAN, A.A.; SAYED S.F. 1999. Chlorotic pod: a new physiological disorder of green-podded snap bean, *Phaseolus vulgaris* L. associated with silverleaf whitefly infestation. Egyptian Journal of Horticulture (Egipto) 26(2): 213-228.
- HILJE, L.; COSTA, H.S.; STANSLY, P.A. 2001. Cultural practices for managing *Bemisia tabaci* and associated viral diseases. Crop Protection 20(9): 801-812.
- HOWARTH, A.J.; CATON, J.; BOSSET, M.; GOODMAN, R.M. 1985. Nucleotide sequence of bean golden mosaic virus and a model for gene regulation in geminiviruses. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 82: 3572-3576.
- JAYASINGHE, W.U. 1982. Chlorotic Mottle of Bean (*Phaseolus vulgaris*). Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. 156 p.
- JONES, D. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. European Journal of Plant Pathology 109: 197-221.
- LONIELLO, A.O.; MARTINEZ, R.T.; ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; BROWN, J.K.; MAXWELL, D.P. 1992. Molecular characterization of bean calico mosaic geminivirus. Phytopathology 82: 1149.
- McAUSLANE, H.J.; CHENG, J.; CARLE, R.B.; SCHMALSTIG, J. 2004. Influence of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) infestation and squash silverleaf disorder on zucchini seedling growth. Journal of Economical Entomology 97(3): 1096-1105.
- MARTIN, J. H.; MIFSUD, D.; RAPISARDA, C. 2000. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and Mediterranean basin. Bulletin of Entomological Research 90: 407-448.
- MOHANTY, A.K.; BASU, A.N. 1986. Effect of host plants and seasonal factors on intraspecific variations in pupal morphology of the whitefly vector, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). Journal of Entomological Research 10: 19-26.
- MORALES, F.J. 1994a. Mosaico Dorado del Fríjol Avances de Investigación 1994. Palmira, Valle del Cauca, Colombia : Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 193 p.
- MORALES, F.J. 1994b. Current situation of Bean golden mosaic in Latin America. In: Morales, F.J. (ed). Mosaico Dorado del Fríjol Avances de Investigación 1994. Palmira, Valle del Cauca, Colombia : Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 193 p.
- MORALES, F. J. (ed.) 2000a. El Mosaico Dorado y otras enfermedades del fríjol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. Palmira, Valle del Cauca, Colombia : Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 169 p.
- MORALES, F. J. 2000b. Métodos de control de begomovirus del fríjol. En: El Mosaico Dorado y otras enfermedades del fríjol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. F. J. Morales (ed.). Palmira, Valle del Cauca, Colombia : Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), p. 133-154.
- MORALES, F. J. 2000c. English summary. En: El Mosaico Dorado y otras enfermedades del fríjol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. F. J. Morales (ed.). Palmira, Valle del Cauca, Colombia : Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), p. 159-167.
- MORALES, F. J. 2001. Conventional breeding for resistance to *Bemisia tabaci*-transmitted geminiviruses. Crop Protection 20: 825-834.
- MORALES, F.J.; ANDERSON, P.K. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. Archives of Virology 146: 415-441.
- MORALES, F. J.; MARTINEZ, A. K.; VELASCO, A. C. 2003. Nuevos brotes de begomovirus en Colombia. Fitopatología Colombiana 26(1): 75-79.
- MORALES, F. J.; MUÑOZ, C.; CASTAÑO, M.; VELASCO, A. C. 2000. Geminivirus transmitidos por mosca blanca en Colombia. Fitopatología Colombiana 24(2): 95-98.
- MORALES, F.J.; NIESSEN, A. 1988. Comparative responses of selected *Phaseolus vulgaris* germoplasm inoculated artificially and naturally with bean golden mosaic virus in *Phaseolus vulgaris* L. Euphytica 52: 113-117.
- MORALES, F.J.; NIESSEN, A.; RAMÍREZ, B.; CASTAÑO, M. 1990. Isolation and partial characterization of a geminivirus causing bean dwarf mosaic. Phytopathology 80(1): 96-101.
- MORALES, F. J.; SINGH, S. P. 1991. Genetics of resistance to bean golden mosaic virus in *Phaseolus vulgaris* L. Euphytica 52: 113-117.
- MOUND, L.A.; HASLEY, S.H. 1978. Whitefly of the World: a Systematic Catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with Host Plant and Natural Enemy Data. Wiley, New York, 340 pp.
- MULLINEAUX, P.M.; DONSON, J.; MORRIS-KRSINICH, B.A.M.; BOUTON, M.I.; DACIES, J.W. 1984. The nucleotide sequence of maize streak virus DNA. EMBO Journal 3: 3063-3068.
- NARANJO, S.E. 2001. Conservation and evaluation of natural enemies in IPM systems for *Bemisia tabaci*. Crop Protection 20(9): 835-852.
- OLIVEIRA, M. R. V.; T. J. HENNEBERRY; ANDERSON, P. 2001. History, current status, and collaborative research projects for *B. tabaci*. Crop Protection 20: 709-723.
- PADIDAM, M.; BEACHY, R.N.; FAUQUET, C.M. 1995. Classification and identification of geminiviruses using sequence comparisons. Journal of General Virology 76: 249-263.
- PALUMBO, J.C.; HOROWITZ, A.R.; PRABHAKER, N. 2001. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. Crop Protection 20(9): 739-765.
- PERRING, T. M. 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. Crop Protection 20: 725-737.
- PERRING, T.; COOPER, A.D.; RODRÍGUEZ, R.J.; FARRAR, R.J.; BELLOW, C.A. 1993. Identification of whitefly species by genomic and behavioral studies. Science 259: 74-77.
- POLSTON, J.E.; ANDERSON, P.K. 1999. Surgimiento y distribución de geminivirus transmitidos por mosca blanca en tomate en el Hemisferio Occidental. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 53: 24-42.
- POLSTON, J.E.; BOIS, D.; SERRA, C.A.; CONCEPCIÓN, S. 1994. First report of a tomato yellow leaf curl-like geminivirus from tomato in the Western Hemisphere. Plant Diseases 78: 831.
- QUINTERO, C.; CARDONA, C.; RAMÍREZ, D.; JIMÉNEZ, N. 1998. Primer registro del biotipo B de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia. Revista Colombiana de Entomología 24(1-2): 23-28.
- RODRÍGUEZ, I.; MORALES, H.; BUENO, J.M.; CARDONA, C. 2005. El biotipo B de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) adquiere mayor importancia en el Valle del Cauca. Revista Colombiana de Entomología 31(1): 21-28.
- ROJAS, M.R. 2000. Los begomovirus.. En: El Mosaico Dorado y otras enfermedades del fríjol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. F. J. Morales (ed.). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira, Colombia. p. 87-106.
- SCHUSTER, D.J.; MUELLER, T.F.; KRING, J.B.; PRIECE, J.F. 1990. Relationship of the sweetpotato whitefly to a new tomato fruit disorder in Florida. HortScience 25: 1618-1620.
- SECKER, A.E.; BEDFORD, I.A.; MARKHAM, P.G.; WILLIAM M.E.C. 1998. Squash, a reliable field indicator for the presence of B biotype of tobacco whitefly, *Bemisia tabaci*. In: Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases. British Crop Protection Council, Farnham, UK. p 837-842.
- STANLEY, J.; MARHAM, P.G.; CALLIS, R.J.; PINNER, M.S. 1986. The nucleotide sequence of an infectious clone of the geminivirus beet curly top virus. EMBO Journal 5: 1761-1767.
- THOMPSON, W.M.O. 2003. A new host plant species for the cassava biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hom., Aleyrodidae). Journal of Applied Entomology 127: 374-376.

## Sección Agrícola

# Efecto de la densidad del depredador de moscas blancas *Delphastus pusillus* (Le Conte) (Coleoptera: Coccinellidae) sobre su eficiencia de búsqueda

Effect of density of the whitefly predator *Delphastus pusillus* (Le Conte) (Coleoptera: Coccinellidae) on its searching efficiency

JAVIER GARCÍA GONZÁLEZ<sup>1</sup> EDGAR RICARDO BENÍTEZ S.<sup>2</sup> ARISTÓBULO LÓPEZ-ÁVILA<sup>3</sup>

**Resumen.** Se determinó el efecto de la densidad del depredador *Delphastus pusillus* (Le Conte) (Coleoptera: Coccinellidae), definido por los comportamientos de agregación e interferencia, sobre la eficiencia de búsqueda de su presa la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). Para determinar el comportamiento de agregación, se liberaron diez adultos de *D. pusillus* sobre las densidades de la plaga, 8, 16, 32, 64 y 128 ninfas del tercer instar. Se empleó un diseño de cuadrado latino 5 x 5, donde se estimaron las variables número de depredadores presentes en cada foco de presa, tiempo de duración de los depredadores en cada foco de presa, presas consumidas y posturas del depredador en cada foco. Con estas variables se estimó el coeficiente de agregación  $\mu$ . Para determinar el comportamiento de interferencia, se evaluaron cinco densidades de adultos del depredador 1, 2, 4, 6 y 8 adultos sobre una densidad de presa, 128 ninfas de tercer instar. Cada densidad del depredador se ubicó con la presa en diferentes arenas experimentales. Como modelo estadístico se empleó un diseño completamente aleatorio con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. Se registró la cantidad de depredadores presentes en el foco de presa, tiempo gastado por depredador en el foco de presa, número de encuentros entre coespecíficos, tiempo gastado en cada encuentro, cantidad de presas consumidas y número de huevos puestos. Se estimó el modelo de eficiencia de búsqueda y el coeficiente de interferencia ( $\infty$ ). Se presentan los resultados obtenidos para cada variable analizada y se estiman los modelos de agregación e interferencia para *D. pusillus*.

**Palabras clave:** Agregación. Interferencia. Eficiencia de búsqueda.

**Abstract.** The effect of density of the predator *Delphastus pusillus* (Le Conte), defined by the components of aggregation and interference, was determined in relation to searching efficiency of its prey, the whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). To determine aggregation behavior, ten adults of *D. pusillus* were put together with five prey densities, 8, 16, 32, 64 and 128 third instar nymphs. A 5 x 5 latin square design was used, where the estimated variables were number of predators present in each prey patch, time spent per predator on each prey patch, prey consumed and eggs laid per predator in each prey patch. The aggregation coefficient  $\mu$  was estimated from these variables. To determine interference behavior five densities of the adult predator, 1, 2, 4, 6 and 8, were evaluated on one prey density, 128 third instar nymphs. Each predator density was put with the prey in different experimental arenas. The statistical model used was a completely randomized design with five treatments and four replications. The number of predators present in the prey patch, time spent per predator in each prey patch, number of encounters between conspecifics, time spent in each encounter, quantity of prey consumed and number of eggs laid was measured. The model of searching efficiency and the interference coefficient ( $\infty$ ) were estimated. The results obtained for each analyzed variable are presented and the models of aggregation and interference for *D. pusillus* are estimated.

**Key words:** Aggregation. Interference. Searching efficiency.

### Introducción

El estudio de las características biológicas intrínsecas de parasitoides y depredadores es fundamental para entender el comportamiento de los agentes de control frente a las poblaciones de sus hos-

pederos o presas y de esta manera determinar el nivel de acción del enemigo natural y predecir el éxito o fracaso de un programa de control biológico. Dichos estudios permiten ampliar conocimientos sobre la biología de los insectos be-

néficos, como estos afectan la dinámica de población de su hospedero o presa y cómo alteran la estructura de las comunidades de insectos en las que ellos viven. Lo anterior es prerrequisito necesario para la selección de enemigos naturales en

1 Autor para correspondencia: Ingeniero Agrónomo M. Sc. Entomología. Investigador Master Asistente, Área de Entomología Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas MIP. Corpoica C.I. "Tibaitatá". [jgarcia@corpoica.org.co](mailto:jgarcia@corpoica.org.co)

2 Ingeniero Agrónomo M. Sc. Fitopatología. Cenipalma. [ebenitez@hotmail.com](mailto:ebenitez@hotmail.com)

3 Ingeniero Agrónomo Ph. D. Control Biológico. Investigador Principal Programa Nacional de Manejo Integrado de Plagas MIP. Corpoica C.I. "Tibaitatá". [alopez@corpoica.org.co](mailto:alopez@corpoica.org.co)

programas de control biológico y para la evaluación del desempeño del insecto después de liberado (Alphen y Jervis 1996).

Uno de los principales problemas de la teoría de la depredación es definir los mecanismos que contribuyen a la estabilidad de la interacción depredador-presa. De ellos se pueden mencionar respuestas de comportamiento como la respuesta funcional, interferencia y agregación de los depredadores en áreas de alta densidad de la presa (Sih 1979).

La abundancia de los depredadores que forrajean en un área afecta la tasa de muerte de presas. En estos casos, se producen comportamientos de interferencia o agregación. Algunos autores han demostrado que estos comportamientos son factores clave y afectan la estabilidad de los modelos de población presa-depredador (Alphen y Jervis 1996). El enemigo natural es más atraído por áreas con densidades altas de hospedero-presa que por áreas con densidades bajas, o puede mostrar un grado alto de búsqueda en áreas de densidad alta de hospedero-presa (Kidd y Jervis 1996).

Animales como los insectos parasitoides y los depredadores invierten más tiempo donde sus requerimientos pueden ser mejor satisfechos, comportamiento que tiene una ventaja selectiva obvia. Este comportamiento de agregación puede ser cuantificado en términos de número de depredadores, o tiempo consumido por depredador por unidad de área con diferente densidad de presas (Kidd y Jervis 1996). La distribución de depredadores se obtiene por un parámetro simple de caracterización ( $\mu$ ) tal que:

$$\beta_i = C\alpha_i^\mu \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde  $\beta_i$  es la proporción de depredador en cada área  $i$ ,  $C$  es una constante de normalización y  $\alpha$  es la distribución de hospederos en términos de proporción. El grado de agregación de un parasitoide o depredador está dado por  $\mu$  (Kidd y Jervis 1996; Hassell y May 1974).

El modelo propuesto muestra que en general un incremento en la agregación promueve estabilidad y el tipo de distribución de la presa es importante para la respuesta del depredador. En particular, a mayor estabilidad en la distribución de la presa, menor estabilidad en la interacción para valores dados de  $\mu$  y tasa neta reproductiva del depredador (Hassell y May 1974). Mientras es claro que la agregación diferencial del depredador en

regiones de densidad alta de presa es importante para la dinámica de las interacciones depredador-presa no es tan obvio cuáles son los parámetros críticos de la respuesta que deben ser medidos en laboratorio o en campo (Hassell y May 1974).

La respuesta de agregación puede darse en términos de tiempo gastado por depredador por unidad de área, o número de depredadores que buscan al mismo tiempo en una unidad de área, graficado contra las diferentes densidades de presa. Un depredador puede ser observado por un tiempo para determinar como gasta su tiempo. Alternativamente, una serie de conteos individuales puede realizarse midiendo la densidad promedio del depredador, o la proporción total de depredadores a diferentes densidades de presa. Así mismo, se puede usar como evidencia indirecta de agregación el porcentaje de depredación en diferentes áreas donde está la presa (Hassell y May 1974).

Gran atención se le ha dado al cambio en la tasa de ataque de un depredador como función de la densidad del mismo. En general, interacciones entre depredadores que buscan cuándo se presenta un incremento en su densidad, conllevan a una disminución en la eficiencia, lo que se conoce con el término de interferencia mutua. En el caso de interferencia, el comportamiento de algunos parasitoides y depredadores que se encuentran con un coespecífico, es dejar de forrajear el área para buscar una nueva.

Diferentes modelos de interferencia se han propuesto, incluyendo aquellos en los que el uso de presas inmóviles elimina su respuesta de escape, la cual puede tener efectos importantes en la dinámica de la interacción. El acto de escapar de un depredador puede hacer a una presa individual más susceptible al ataque del mismo u otro depredador de la misma o diferente especie. De tal manera que un incremento en la densidad del depredador podría incrementar o disminuir la disponibilidad de presa y podría llevar a interferencia o mejoramiento dependiendo de la respuesta de la presa (Sih 1979). La ecuación 2 presenta un estimativo de la interferencia en parasitoides y depredadores:

$$\log_{10} a' = \log_{10} a - m \log_{10} P$$

#### Ecuación 2

Donde  $a'$  es la tasa efectiva de ataque,  $P$  es la densidad de parasitoides o depre-

adores que buscan,  $a$  es la tasa de ataque en ausencia de interferencia y  $m$  es la medida de la extensión de la interferencia mutua (Kidd y Jervis 1996).

El presente trabajo se propuso con el fin de determinar el efecto de la densidad del depredador *D. pusillus*, definido por sus comportamientos de agregación e interferencia, sobre su eficiencia de búsqueda de su presa la mosca blanca *T. vaporariorum*.

### Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló en el centro de investigación "Tibatata" de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria -Corpoica-, ubicado en Mosquera (Cundinamarca) a una altitud sobre el nivel del mar de 2.547 m y una temperatura promedio de 14°C. La colonia de la mosca blanca se estableció en invernadero, mientras que la colonia del depredador *D. pusillus* se mantuvo en cuarto de cría a una temperatura de  $25 \pm 5^\circ\text{C}$  y humedad relativa de  $65 \pm 7\%$ .

**Establecimiento de las colonias.** Para la realización de los ensayos y para el mantenimiento de la colonia de mosca blanca, se utilizaron plantas de fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo arbustivo variedad Ica Cerinza sembradas en materas plásticas. El material vegetal se ubicó en un cuarto de malla destinado para su germinación y crecimiento en condiciones aisladas. Semanalmente se hicieron siembras en 15 materas de cinco semillas por matera, con el fin de tener suficiente material tanto para la colonia de la plaga como para el montaje de los ensayos propuestos. Se siguieron las prácticas agronómicas regulares de riego, fertilización y manejo sanitario.

Para iniciar la colonia de mosca blanca, se realizaron salidas de campo a los municipios de Sylvania, Fusagasugá y Chinauta, lugares donde se tiene conocimiento de presencia de la plaga. Se tomaron foliolos con ninfas en último instar y adultos de la plaga en cultivos de habichuela. Los foliolos se ubicaron en cubetas plásticas que en el fondo contenían papel toalla humedecido y tapa con muselina. El material se transportó y liberó en el cuarto de invernadero destinado para el mantenimiento de la colonia. Previo a la liberación de los individuos de la plaga, se introdujeron plantas sanas con tres foliolos formados. Una vez las plantas se ubicaron en cuarto de malla, se realizaron liberaciones con adultos de mosca blanca. Desde el inicio de la expe-

rimentación y hasta el final de la misma semanalmente se introdujo material vegetal.

Con el fin de tener material biológico para los ensayos propuestos, las plantas sanas ubicadas en casa de malla se sometieron a infestación controlada con adultos de la plaga provenientes de la colonia. Planta e insecto plaga se mantuvieron en contacto por 24 h, tiempo durante el cual se aislaron en jaulas de madera de 0,90 m x 0,90 m x 0,60 m. Una vez terminadas las 24 h, los adultos se retiraron de las plantas con la ayuda de aspiradores de boca y se reubicaron en las jaulas hasta que se observaron los estados por evaluar, huevo y ninfa en tercer instar.

Para el establecimiento de la colonia del depredador se realizaron salidas de campo a los municipios de Silvania, Fusagasugá y Chinauta (Cundinamarca), lugares donde se ha registrado la presencia de este insecto de acuerdo con López-Ávila *et al.* (2001). Con ayuda de aspiradores de boca y pinceles se colectaron los diferentes estados del depredador. Se trasladaron a vasos plásticos de 8 cm de diámetro por 6 cm de alto con tapa de muselina. Al interior del recipiente se ubicaron estados inmaduros de la mosca blanca que le sirvieron como alimento. En las condiciones mencionadas los individuos de *D. pusillus* se llevaron al laboratorio donde se inició la colonia.

En laboratorio, los adultos se ubicaron por parejas en cajas de Petri de vidrio que en su interior contenían un trozo de papel toalla humedecido, estados inmaduros de la presa y pequeñas gotas de miel impregnadas en las paredes de la caja. Las hojas se renovaron periódicamente. Mediante observación al estereoscopio, las hojas que poseían posturas del depredador, se ubicaron en cajas de Petri nuevas para la incubación de los huevos. Cuando se observó emergencia de larvas se les suministraron, como alimento, estados inmaduros de la presa. A los adultos recién emergidos se les determinó su sexo, y posteriormente se les ubicó por parejas en cajas de Petri de 5 cm de diámetro donde se inició nuevamente el ciclo del benéfico.

**Determinación del efecto de la densidad de *D. pusillus* sobre su eficiencia de búsqueda.** El efecto de la densidad del depredador se determinó mediante el estudio de los componentes de agregación e interferencia. Para determinar el comportamiento de agregación de *D. pusillus*,

se evaluó una densidad del depredador sobre diferentes densidades de la presa. Presa y depredador se dejaron en contacto en una misma arena experimental. La arena experimental consistió en una caja de acrílico transparente de 0,50 m x 0,55 m x 0,20 m. Al interior de la caja y en la base se ubicó papel cartulina blanco sobre el cual se dibujó una cuadrícula para facilitar la observación de los movimientos del depredador, así como para ubicar los focos a una distancia de 8 cm entre uno y otro (Fig. 1).

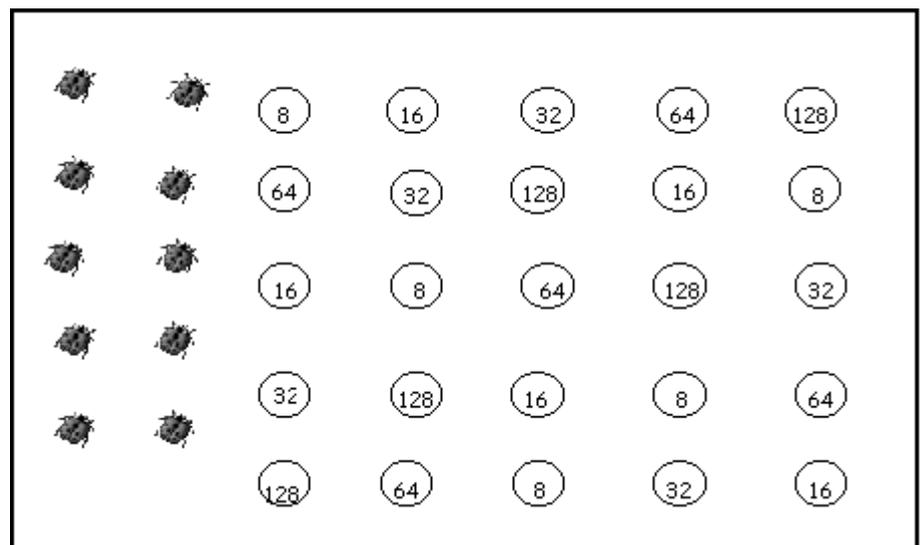
Se planteó un experimento cuyo modelo estadístico fue un cuadro latino 5 x 5 con cinco densidades de la presa y cinco repeticiones por densidad. Las densidades de la presa fueron 8, 16, 32, 64, y 128 ninfas en tercer estadio. Se liberaron diez individuos de *D. pusillus* en estado adulto. El experimento se repitió tres veces.

El experimento duró 24 h. En este tiempo se realizaron cuatro observaciones con duración de una hora cada una. En ellas se registró el número de depredadores presentes en cada foco y la duración de los depredadores en dichas áreas. Después de cumplido el tiempo los individuos de *D. pusillus* se retiraron de la arena experimental. Seguidamente se realizaron conteos de presas consumidas y posturas del depredador, en cada foco. Para definir posibles interacciones entre experimentos se realizó una prueba de homogeneidad de varianzas de Hartley. Los datos se procesaron con ayuda del paquete estadístico SAS ® (1999) mediante procedimiento Anova y prueba de

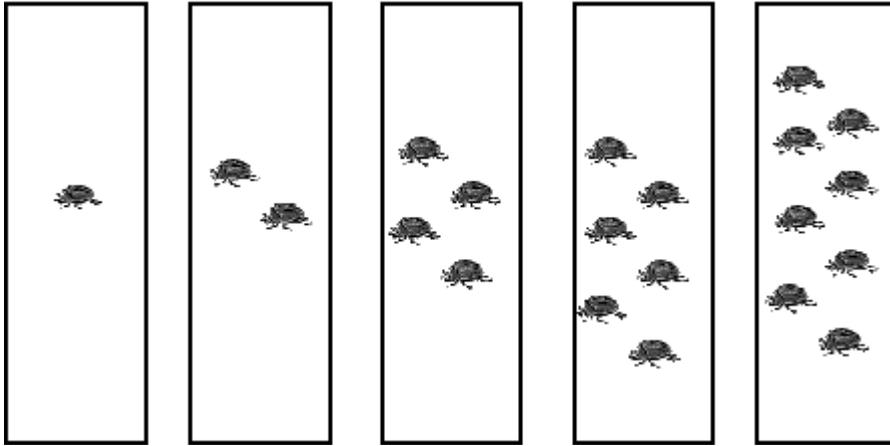
comparación de medias de Tukey. Mediante procedimiento de regresión exponencial se estimó el coeficiente de agregación (Ecuación 1) para la población del depredador, utilizando la variable número de depredadores/área.

El segundo factor estudiado, el cual define el efecto de la densidad del depredador, fue el comportamiento interferencia. Para determinar este comportamiento en *D. pusillus*, se evaluaron densidades del depredador en estado adulto sobre una densidad de presa en estado de ninfa. Cada densidad del depredador y su respectiva presa se ubicaron en arenas experimentales separadas (Fig. 2). Como modelo experimental se empleó un diseño completamente aleatorio con cinco tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento. Los tratamientos consistieron en las densidades del depredador de 1, 2, 4, 6 y 8 adultos. Cada tratamiento se repitió cinco veces.

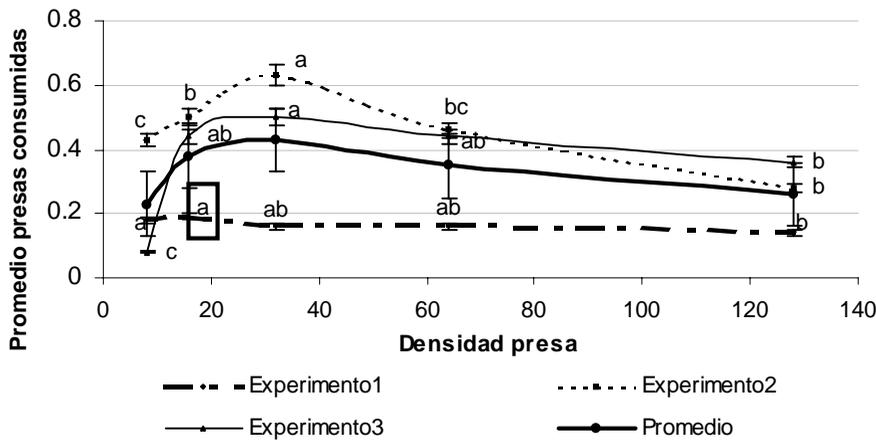
La arena experimental consistió en cajas de vidrio transparente de 0,40 m x 0,15 m x 0,20 m. La base de la caja se cubrió con papel cartulina blanco y se tapó con una lámina de vinilo transparente para facilitar la observación. Por cada arena experimental se liberaron parejas de adultos, excepto en la densidad de 1 adulto, donde se liberó una hembra previamente copulada. Cada experimento duró 24 h, tiempo en el que se realizaron cuatro observaciones durante 1 h cada una. Las observaciones se realizaron a las 1, 4, 16 y 24 h de montado el experimento. En cada observación se registró la cantidad



**Figura 1.** Representación esquemática del experimento para determinar efecto de la densidad del depredador sobre su eficiencia de búsqueda. Comportamiento de agregación a un nivel fijo de densidad del depredador (10 adultos). Los números dentro de los círculos indican el número de presas.



**Figura 2.** Representación esquemática del experimento para determinar el efecto de la densidad del depredador sobre su eficiencia de búsqueda. Comportamiento de interferencia a un nivel fijo de densidad de la presa (128 ninfas en tercer instar de *T. vaporariorum*)



**Figura 3.** Proporción de presas de mosca blanca consumidas por *D. pusillus* respecto al total de presas suministrada. Resultados presentados para los tres experimentos realizados. Valores seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel de al 5%. Las barras verticales representan el error estándar.

de depredadores presentes en el área con la presa, tiempo consumido por depredador en el área, número de encuentros entre coespecíficos y tiempo invertido en los encuentros.

Al final de las 24 h de duración del experimento se registraron la cantidad de presas consumidas y el número de huevos puestos. La información se analizó mediante regresión lineal. Con este procedimiento se estimó el modelo de eficiencia de búsqueda y el coeficiente de interferencia ( $m$ ), propuestos en la Ecuación 2.

## Resultados y Discusión

### Comportamiento de Agregación

**- Presas Consumidas.** La prueba de homogeneidad de varianzas de Hartley

( $F_{\max} = 2.78$  ;  $F_{\text{tab}} = 10.8$ ) no mostró diferencias significativas en los tres experimentos, por lo que no se evidenció interacción entre ellos. Para la variable presas consumidas, la prueba  $F$  del análisis de varianzas detectó diferencias significativas entre los tres experimentos. Los valores estadísticos para los tres ensayos fueron: experimento 1,  $gl = 24$ ;  $F = 3.09$ ;  $P < 0.0310$ ; Experimento 2  $gl = 24$ ;  $F = 2.99$ ;  $P < 0.0349$ ; experimento 3  $gl = 24$ ;  $F = 2.99$  ;  $P < 0.0014$ .

En todos los bioensayos el mayor consumo de presas se obtuvo en la densidad de 32 ninfas, con una tasa de consumo promedio de 0,43 presas consumidas/presa suministrada. Seguidamente y en orden descendente, se observaron los consumos en las densidades de 16 y 64 ninfas con

proporciones de consumo de 0,38 y 0,35 presas consumidas/presa suministrada, respectivamente. Los menores niveles de consumo se presentaron en las densidades de 128 y 8 ninfas, con una tasa de consumo de 0,26 y 0,23, respectivamente (Fig. 3).

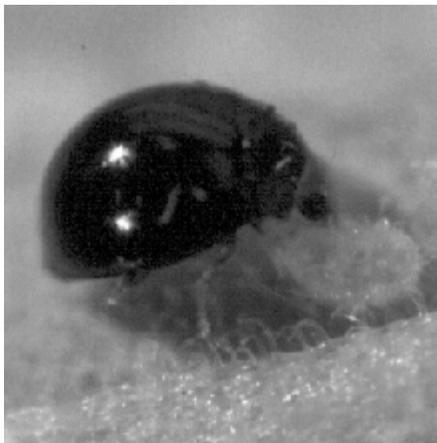
Los resultados para la variable presas consumidas mostraron que el depredador disminuye su consumo con el incremento en la densidad de presas. La curva de consumo del depredador *D. pusillus* presentó tres fases diferenciadas. La primera, en las densidades de presa 8 y 16, observó un incremento en la proporción de presas consumidas cuando se le suministraron, a los depredadores, bajas densidades de presa. La segunda fase entre las densidades de presa 16 y 32, donde se presentó estabilización en la tasa de consumo de presas. La última fase en las densidades de 64 y 128 ninfas, donde ocurrió una reducción gradual de consumo (Fig. 3).

De acuerdo con los resultados, *D. pusillus* puede reconocer el área con la densidad de presa donde expresa su mayor potencial de consumo sin considerar que ésta corresponda a la mayor de las densidades de presa suministradas.

La figura 4 muestra un adulto de *D. pusillus* consumiendo una ninfa de su presa, la mosca blanca de los invernaderos. El adulto depredador estira su aparato bucal y pincha a su presa con las mandíbulas, para proceder a succionar su contenido interno.

**- Huevos puestos por *D. pusillus* en áreas con diferentes densidades de presa.** La prueba  $F$  del análisis de varianzas para la variable huevos puestos por *D. pusillus* no mostró diferencias significativas en los experimentos 1 ( $gl = 24$ ;  $F = 0.51$ ;  $P < 0.8725$ ) y 2 ( $gl = 24$ ;  $F = 2.33$ ;  $P < 0.0781$ ), pero sí detectó diferencias en el experimento 3 ( $gl = 24$ ;  $F = 2.06$ ;  $P < 0.0011$ ). En el último experimento, la prueba de Tukey detectó diferencias significativas entre los promedios de huevos puestos por la hembra depredadora en la densidad de 64 ninfas con respecto a las densidades de 8 y 32 ninfas de la presa (Fig. 5).

En la densidad de 64 ninfas se encontró la mayor cantidad de huevos del depredador con un promedio de 12,7 huevos. Esta cantidad fue similar a la encontrada en la densidad de 128 ninfas, con un promedio de 10,7 huevos puestos. Los menores niveles de oviposición por hembra depredadora se encontraron en la menor de las densidades de presa evaluadas, 8 ninfas, con un promedio de 1,0 huevo. Los resultados sugieren que la hembra



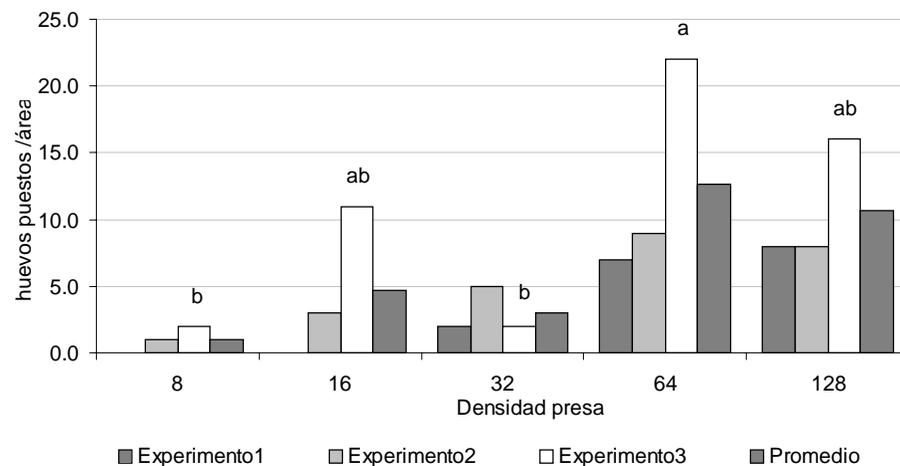
**Figura 4.** Adulto de *D. pusillus* alimentándose de una ninfa de su presa la mosca blanca de los invernaderos. (foto: J. García)

de *D. pusillus* prefiere ovipositar en áreas donde existe mayor disponibilidad de presa. Es de gran importancia que la hembra oviposite en áreas donde existe suficiente alimento para su descendencia.

Debido a que los estados larvales del depredador requieren consumir presas para completar su desarrollo y debido a que el primer ínstar larval posee recursos energéticos limitados para forrajear y conseguir presas óptimas, el hecho que la hembra depredadora prefiera ovipositar en áreas con densidad alta de presa, incrementa la probabilidad de sobrevivencia de la larva recién emergida. Como mecanismo para optimizar su eficiencia reproductiva, la hembra depredadora asegura el alimento de su estado más vulnerable a mortalidad natural, la larva recién emergida. Con ello *D. pusillus* reduce la mortalidad sus estados juveniles.

**- Tiempo de permanencia de *D. pusillus* en las áreas con diferentes densidades de presa.** La prueba de Hartley de homogeneidad de varianzas no evidenció diferencias significativas entre los experimentos ( $F_{\max} = 1.55$ ;  $F_{\text{tab}} = 10.8$ ). Seguidamente, la prueba  $F$  de análisis de varianza para la variable tiempo, no presentó diferencias significativas entre los promedios de tiempo de permanencia del depredador en las diferentes densidades de presa. Los valores estadísticos para los tres experimentos fueron: experimento 1 ( $gl = 24$ ;  $F = 1.19$ ;  $P < 0.3816$ ); Experimento 2 ( $gl = 24$ ;  $F = 0.59$ ;  $P < 0.8126$ ); experimento 3 ( $gl = 24$ ;  $F = 1.84$ ;  $P < 0.1514$ ).

En el área con la menor densidad de presas, 8 ninfas, *D. pusillus* permaneció en promedio 3,8 min. En la densidad de 16



**Figura 5.** Huevos puestos por hembras de *D. pusillus* sobre áreas con diferentes densidades de presa. Valores seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes al 5%.

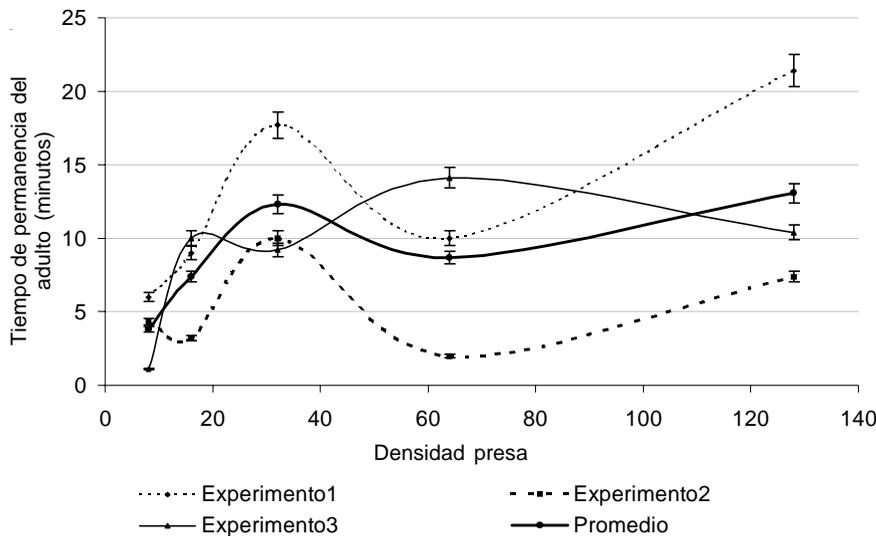
ninfas de mosca blanca los adultos del depredador permanecieron en el área por 7,4 min. Para las áreas que contenían la densidad de 32 ninfas, los adultos de *D. pusillus* invirtieron mayor cantidad de tiempo forrajearo en promedio 12,3 min (Fig. 6). En la densidad de 64 ninfas *D. pusillus* permaneció en el área en promedio por 8,7 min. Para la densidad de 128 ninfas, los adultos permanecieron por más tiempo en el área, con 13,0 min. en promedio.

El mayor tiempo invertido por los adultos de *D. pusillus* en las áreas con las densidades de 128 y 32 ninfas puede tener relación directa con la oviposición y consumo de presas. El depredador, al encontrar áreas con una densidad de presas óptima sobre las cuales alimentarse y ovipositar, invertirá más tiempo forrajearo allí. Existen diferentes modelos que permiten explicar el tiempo de permanencia de un depredador en un área con una densidad de presa; dichos modelos se basan en cambios de comportamiento del depredador. Uno de ellos propone cambios en el comportamiento de búsqueda del depredador después de encontrar una presa (Hassell y May 1974). El patrón de movimiento del depredador, en la fase de búsqueda, se caracteriza por movimientos rectilíneos con velocidades altas y recorrido de "largas distancias". Una vez que el depredador encuentra la presa y se alimenta de ella, modifica su comportamiento y procede a realizar búsquedas más intensivas en el área aledaña al área de encuentro de la presa. Esta fase se caracteriza porque el depredador presenta movimientos cortos, menores distancias recorridas y mayores tasas de giro (Hassell y May 1974).

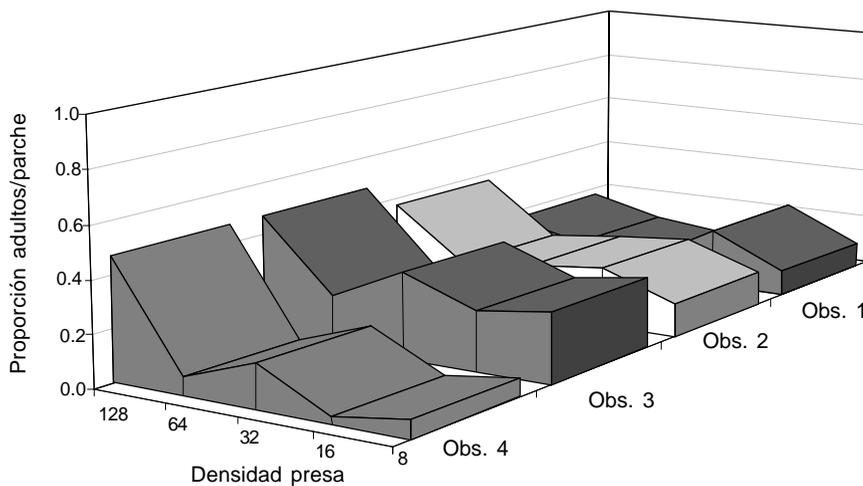
El comportamiento mencionado fue evidente en adultos de *D. pusillus* y podría ayudar a explicar su tiempo de permanencia en ciertas áreas. *D. pusillus*, después de liberado en la arena experimental, mostró movimientos rectilíneos rápidos hasta cuando encontró un área con la presa. Una vez localizada, el depredador procedió a reconocer el área y a forrajear. Después del consumo de la primera presa, el adulto depredador siguió buscando nuevas presas realizando movimientos cortos hasta que encontró una nueva presa.

**- Adultos de *D. pusillus* por densidad de presa.** El adulto depredador presentó comportamientos similares en su distribución y búsqueda. Desde que los adultos de *D. pusillus* se liberaron en la arena experimental, se observó una fase de reconocimiento del área mediante caminata y algunos vuelos cortos.

Una vez los depredadores hicieron el reconocimiento del área, procedieron a realizar una búsqueda más detallada en las áreas que contenían la presa. En la primera observación, los adultos del depredador se ubicaron indistintamente en las diferentes densidades de presa. En las densidades de 16 y 128 ninfas de mosca blanca se observó la mayor proporción de individuos depredadores con 0,23 y 0,17 adultos, respectivamente (Fig. 7). En la primera observación, la ubicación de los depredadores en la arena experimental se restringió a las áreas más cercanas de donde fueron liberados y con cortas distancias de recorrido. En esta observación algunos adultos dedicaron su tiempo al reconocimiento de la arena experimental, mientras que otros fueron directamente en búsqueda de su presa.



**Figura 6.** Tiempo de permanencia de los adultos de *D. pusillus* observados forrajeando en las diferentes densidades de presa evaluadas. Las barras verticales representan el error estándar.



**Figura 7.** Proporción de adultos de *D. pusillus* presentes en las diferentes densidades de presa (mosca blanca). Datos promedio presentados para cada observación realizada en los tres experimentos

Para la segunda observación una mayor proporción de adultos depredadores se ubicó en el área de mayor densidad de presas, 128 ninfas, con 0,37 adultos/adulto liberado. Los restantes adultos se localizaron en proporción similar en las restantes densidades de presa, siendo la densidad de 8 ninfas la que mostró menor cantidad de adultos 0,13 adultos/adulto liberado (Fig. 7). El depredador en esta observación recorrió mayores distancias para localizar a su presa y alcanzó presas ubicadas en las distancias más lejanas.

En las observaciones 3 y 4, se registraron similares proporciones de adultos del depredador para las diferentes densidades de presa. En la densidad de 128 ninfas se observó la mayor cantidad de adultos con una tasa de 0,47 adultos/adulto liberado. En orden descendente se ubicaron adultos en la densidad de 32 ninfas con una proporción de 0,33 y 0,17 adultos/adulto liberado. En estas mismas observaciones, la menor cantidad de adultos se ubicó en las densidades de 64 y 16 ninfas respectivamente, con una proporción de 0,20 y 0,03 adultos/adulto liberado (Fig. 7).

La mayoría de los adultos que encontraron las áreas con la mayor densidad de presas 128 ninfas, permanecieron en el área hasta el final de la experimentación. En estas áreas se observó un máximo de cuatro adultos de *D. pusillus*. Aquellos individuos que llegaron posteriormente, se vieron obligados a buscar nuevas áreas con presa. Este comportamiento ha sido identificado como determinante en la estabilidad del sistema depredador – presa; los individuos rechazados tienen que buscar otras áreas dónde forrajear, lo que asegura la presencia del depredador en áreas no exploradas.

#### - Obtención del índice de agregación.

Mediante análisis de regresión exponencial para los valores observados y predichos de adultos de *D. pusillus* presentes en las diferentes densidades de presa, se obtuvo la ecuación de regresión para el modelo y se estimaron los valores para la constante de normalización  $C$  con  $t = 3,21$ ;  $P < 0,049$  y el índice de agregación relativa  $\mu$  con  $t = 11,57$ ;  $P < 0,001$ . Para linearizar el modelo, que definió el comportamiento de agregación de *D. pusillus*, los dos lados de la ecuación 1 se transformaron a logaritmo. La ecuación 3 presenta el modelo linearizado:

$$\log \beta_i = \log(2,135\alpha_i) + 0,009$$

#### Ecuación 3

De acuerdo con el modelo estimado, los componentes que lo definen son:  $\beta_i$  es la proporción de depredador en cada  $i$  área,  $C$  es la constante de normalización, con un valor de  $2,135 \pm 0,1845$ .  $\alpha_i$  es la proporción total de presas en la  $i$ ésima área.  $\log(2,135\alpha_i)$ , es la pendiente de la curva del modelo. Finalmente  $0,009 \pm 0,0028$  es el valor del índice de agregación para *D. pusillus*. El grado de agregación de un enemigo natural es gobernado por el factor  $\mu$ . Cuando  $\mu$  se acerca a cero, el depredador presenta un comportamiento de búsqueda aleatorio, pero cuando  $\mu$  tiende a infinito el enemigo natural se concentra en áreas de alta densidad de presa (Hassell y May 1974).

El valor estimado para el factor de agregación en el depredador *D. pusillus* muestra que el insecto presenta un comportamiento de búsqueda aleatorio; es decir, no se limita a forrajear en áreas de alta densidad de presa, sino que también lo hace en aquellas áreas donde la presa está en bajas densidades. Como factor de regulación, *D. pusillus* puede encontrar

a su presa en áreas que puede emplear como refugio, incrementando su eficiencia biocontroladora.

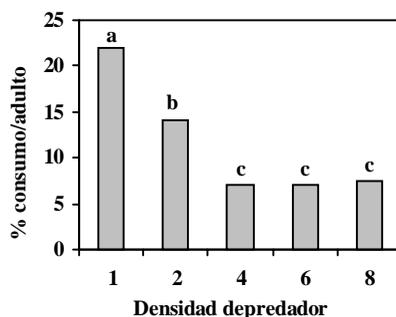
### Comportamiento de interferencia

- **Presas consumidas.** Los datos se ajustaron a una función log normal, donde se detectaron diferencias altamente significativas entre tratamientos (Prob D = 0.1500). La Prueba de comparación de medias de Tukey determinó diferencias significativas entre la densidad donde se liberó 1 adulto de *D. pusillus* con respecto a las demás densidades. Así mismo se determinaron diferencias entre la densidad donde se liberaron 2 adultos de *D. pusillus* con las densidades donde se liberaron 4, 6 y 8 adultos. Los demás tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí (Fig. 8).

La cantidad de presas consumidas por *D. pusillus* mostró relación inversa con la densidad de depredadores liberados. Es así como en la densidad de 8 adultos liberados se observó el menor consumo con un valor de 7,4% presas consumidas/adulto depredador. En las densidades de 4 y 6 adultos de *D. pusillus* liberados se encontraron similares niveles de consumo con valores de 7,0% y 7,1% respectivamente. En la densidad de 2 adultos de *D. pusillus* liberados se presentó un consumo 14,0%. El mayor consumo de presas (22,1%) se presentó en la arena experimental donde se liberó 1 adulto de *D. pusillus* (Fig. 8). Los resultados muestran el efecto negativo en el consumo de presas con incrementos en la cantidad de adultos del depredador que forrajea en una misma área.

Un comportamiento que fue evidente en las mayores densidades de depredador, fue la cantidad de adultos presentes en el área con la presa. Un máximo de tres adultos forrajeando se registró. Existe la probabilidad que estos adultos sean reemplazados por otros, cuando ocurren encuentros entre coespecíficos. La llegada de nuevos adultos incrementa el consumo de presas, ya que éstos presentan un nivel de saciedad menor al observado por los adultos que primero ubicaron el área.

Un factor adicional es el tiempo de búsqueda de presas sanas por el depredador. A medida que se incrementa el número de presas consumidas en el área, se reduce la disponibilidad de presas sanas. Este hecho hace que el depredador requiera mayor tiempo de búsqueda para el encuentro de presas sanas. El depredador, mediante un proceso de reconocimiento



**Figura 8.** Presas consumidas por adultos de *D. pusillus*, en arenas experimentales donde se liberaron diferentes densidades del depredador. Barras seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes al nivel  $\alpha$  del 1%.

del área, determina la cantidad de adultos que puede soportar dicha área. Con este comportamiento distribuye la cantidad de alimento que debe consumir, dejando la cantidad restante a su descendencia. De allí que en áreas con la densidad de presa, se observó un máximo de tres adultos forrajeando al tiempo. Los demás adultos, se presentaron fuera del área, probablemente buscando nuevas áreas.

- **Individuos observados en las densidades con la presa.** Los primeros adultos en encontrar el área con la presa, fueron aquellos liberados en las densidades de 6 y 8 adultos depredadores. Estos invirtieron 11,0 y 12,0 min. en este proceso respectivamente. En la primera observación, en las densidades de 6 y 8 adultos depredadores liberados, el 12,5% y 21,9% de los adultos se advirtió forrajeando en el área que contenía la presa (Fig. 9). Para la segunda observación, en la densidad de 6 adultos de *D. pusillus* la cantidad de individuos presentes en el área con la presa se incrementó a 20,8%, mientras que en la densidad de 8 adultos ésta se incrementó a 28,1%. Para el último registro, en las densidades de 6 y 8 adultos liberados, se evidenció un nuevo incremento en la cantidad de adultos en el área con la presa. La cantidad de adultos presentes en el área en las densidades mencionadas fue de 25%, 1,5 adultos y de 31,3%, 2,5 adultos para la densidad de 8 adultos liberados.

En las restantes densidades de *D. pusillus* 1, 2 y 4 los adultos requirieron mayor cantidad de tiempo para encontrar a su presa. En estas densidades, los primeros adultos en ubicar el área con la presa lo hicieron después de la segunda observación (Fig. 9). En la densidad de 4 adul-

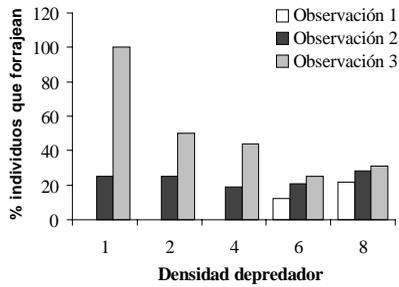
tos, los primeros depredadores ubicaron el área con la presa después de 2h de iniciado el experimento. En este tiempo el 18,8% de los depredadores liberados ubicó el área; para la tercera observación este porcentaje se incrementó a un 43,8%.

Para la densidad de 2 adultos, el primer depredador localizó el área después de 3h de liberado. En este tiempo el porcentaje de adultos en el área fue de 25%; para la tercera observación este porcentaje se incrementó a 50% de los adultos liberados. Los adultos liberados en la menor de las densidades evaluadas, 1 adulto, fueron los últimos en encontrar el área con la presa; después de 4 h el primer depredador forrajeó sobre el área. Para la segunda observación el porcentaje de adultos que encontraron el área en las diferentes repeticiones fue del 25%. En el tercer registro el 100% de los adultos liberados, se ubicaron forrajeando sobre la presa.

Los resultados mostraron una relación inversa entre la cantidad de adultos de *D. pusillus* liberados y el tiempo necesario para el encuentro de la presa. Fue así como en las mayores densidades de depredador evaluadas, 6 y 8 adultos por arena experimental, el encuentro de la presa se realizó unos pocos minutos después de liberado. En las densidades de 1, 2 y 4 adultos del depredador el encuentro del área con la presa ocurrió después de 4 h, 3 h y 2 h de liberados respectivamente. El tiempo que el depredador gasta en encontrar el área con la presa limita el tiempo de búsqueda, el cual se espera sea el mayor posible para la búsqueda de nuevas áreas y encuentro de nuevas presas.

- **Encuentros entre adultos depredadores.** Los encuentros entre adultos de *D. pusillus* se presentaron en dos escenarios los cuales tuvieron sus propias implicaciones de acuerdo con el lugar donde ocurrieron. Un primer escenario fue aquel con regiones alejadas al área que contenía la presa. En estas áreas los contactos se presentaron por la caminata de los adultos en las paredes y techo de la arena experimental; estos contactos tuvieron una duración corta, aproximadamente 2 segundos en promedio, y como consecuencia de ello los adultos tomaron rumbos diferentes y se distribuyeron en otras áreas. Este comportamiento incrementó la probabilidad de los adultos depredadores de localizar a su presa en un tiempo menor.

El segundo escenario donde se presentaron los encuentros entre coespecíficos de *D. pusillus*, se observó en el área que



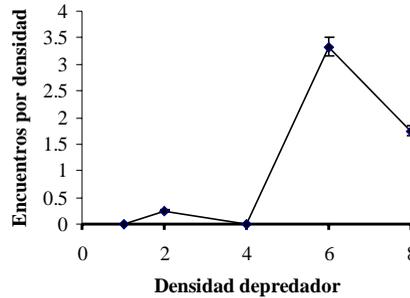
**Figura 9.** Porcentaje de adultos de *D. pusillus* presentes en el área con la presa *T. vaporariorum*. Se presentan los resultados de las tres observaciones realizadas, a la primera, tres y 18 h después de liberado el benéfico.

contenía ninfas de la presa *T. vaporariorum*. Un tipo de contacto breve, se presentó por dos o tres segundos entre adultos del depredador. Este tipo de encuentros interrumpió la actividad alimenticia de los individuos

En parasitoides y depredadores la interferencia se reconoce como el resultado de la reacción de búsqueda del enemigo natural al encontrarse con individuos de su especie o al encontrar hospederos/presa que hayan sido previamente parasitados/depredadas (Hassell 1980). Después que se presenta este comportamiento el enemigo natural tiende a salir fuera del área de búsqueda. Por ello ocurre una reducción en el tiempo de búsqueda, y una menor área de descubrimiento. La ventaja de este comportamiento es proveer un mecanismo para la redistribución del enemigo natural cuando su densidad es alta (Hassell 1980).

El segundo tipo de contactos estuvo relacionado con los intentos de cópula entre hembras consumiendo presas y machos; cuando ocurrió cópula, el tiempo del encuentro fue de 12 min. en promedio. Cuando la hembra rechazó al macho el contacto duró cerca de 30 segundos y como resultado se presentó redistribución de los adultos en el área. Como consecuencia de los contactos entre adultos del depredador al interior del área que contenía la presa, hubo una reducción en la cantidad de presas consumidas, al reducir el tiempo de búsqueda e interrumpir el consumo normal de presas.

El número de encuentros entre adultos de *D. pusillus* tuvo una relación directa con la cantidad de individuos liberados por arena experimental. La mayor cantidad de encuentros entre individuos de *D. pusillus* se presentó en la densidad de 6 adultos, con un promedio de 3,3 contac-



**Figura 10.** Encuentros entre adultos de *D. pusillus* en los áreas que contenían la presa *T. vaporariorum*. Datos promedio obtenidos en tres observaciones por 1 h cada una. Las líneas verticales representan el error estándar de los valores obtenidos.

tos/h (Fig. 10). En la densidad de 8 adultos del depredador se presentó el segundo nivel de encuentros con un promedio de 1,8 contactos/h. En tercer lugar, se ubicó la densidad de 2 adultos de *D. pusillus* con un promedio de 0,3 contactos/h; en la densidad de 4 adultos no se observó ningún tipo de encuentro entre coespecíficos (Fig. 10).

**- Estimación del coeficiente de interferencia.** El modelo que explica el efecto de la densidad del depredador sobre su eficiencia de búsqueda se determinó mediante análisis de regresión lineal. El modelo que define el comportamiento de interferencia en *D. pusillus* se define en la Ecuación 4:

$$\log_{10} a' = (-2,0522 \pm 0,0094) - (0,4532 \pm 0,1566) \log_{10} P$$

#### Ecuación 4

Donde  $a'$  es la tasa efectiva de ataque,  $P$  es la densidad de depredadores que buscan,  $(-2,0522)$  corresponde a la tasa de ataque del depredador en ausencia de interferencia y  $(-0,4532)$  es la medida de la extensión de la interferencia.

En la menor de las densidades evaluadas, 1 adulto de *D. pusillus*, se observó la mayor eficiencia de búsqueda, con un valor de  $-2,0522$ . Este valor disminuyó gradualmente a una tasa de  $-0,4532$ , hasta obtener una eficiencia de búsqueda  $a' = -2,5026$  en la densidad de 8 adultos del depredador. En la medida que la pendiente del modelo lineal es mayor, el efecto de interferencia por acción entre coespecíficos será menor, ya que la tasa de búsqueda se incrementa cuando el ene-

migo natural cambia su comportamiento de búsqueda aleatorio a patrones agregados de búsqueda (Alphen y Jervis 1996).

Este comportamiento es de esperarse en insectos benéficos, ya que a medida que la densidad del benéfico se incrementa, los depredadores/parasitoides individuales gastarán una mayor proporción de su tiempo de búsqueda en encontrarse con otros coespecíficos (Alphen y Jervis 1996).

### Conclusiones

De los resultados en los diferentes experimentos se puede concluir que:

- El adulto de *D. pusillus* discrimina dos áreas donde cumple en mayor medida con sus funciones vitales de alimentación y reproducción.
- El adulto depredador limita la cantidad de individuos que forrajean en una misma área, permitiendo el encuentro de nuevas áreas por parte de los adultos rechazados.
- La eficiencia de búsqueda de *D. pusillus* en áreas con alta densidad de depredadores, se reduce por incrementos en el tiempo de búsqueda de presas sanas y por incremento en el número de encuentros entre individuos coespecíficos.

### Literatura citada

- ALPHEN, J.; JERVIS, M. 1996. Foraging Behavior. Insect Natural Enemies. Ed. Chapman Hall, 1-62.
- HASSELL, M.P. 1980. The Dynamics of Competition and Predation. Department of Zoology and Applied Entomology. Imperial College of Science and Technology. Study in Biology No. 72, 68 pp.
- HASSELL, M.P.; MAY, M. 1974. Aggregation of predators and insect parasites and its effect on stability. Journal of animal ecology. 44: 567-587.
- KIDD, N.; JERVIS, M. 1996. Population Dynamics. Insect Natural enemies. Practical approaches to their study. ED. Chapman and Hall, 293-374.
- LÓPEZ-ÁVILA, A.; CARDONA MEJÍA, C.; GARCÍA GONZÁLEZ, J.; RENDÓN, F. Y 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): 137-142.
- SAS INSTITUTE. 1999. Sas Language. Reference. Versión 8. Sas institute. Cary NC
- SIH, A. 1979. Stability and prey behavioral responses to predator density. Journal of Animal Ecology. 48: 79-87.

## Efecto de plantas nectaríferas sobre la reproducción de *Diadegma aff insulare* Cresson (Hymenoptera: Ichneumonidae), parasitoide de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae)

Effect of nectar producing on the reproduction of *Diadegma aff insulare* Cresson (Hymenoptera: Ichneumonidae), parasitoid of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae)

DANIEL CARRILLO<sup>1</sup>, MIGUEL S. SERRANO<sup>2</sup>, EDISON TORRADO-LEÓN<sup>3</sup>

**Resumen.** Se estudió el efecto de plantas productoras de néctar (*Brassica rapa* (L.), *Calendula officinalis* (L.), *Ruta graveolens* (L.), y *Borracho officinalis* (L.)), comparadas con solución de miel de abejas sobre la longevidad y fecundidad de *Diadegma aff. insulare* bajo condiciones de casa de malla. La longevidad y fecundidad de hembras de *D. aff. insulare* alimentadas en *B. rapa* fueron iguales a las alimentadas con solución de miel y agua ( $15,4 \pm 1,1$  días,  $67,0 \pm 2,7$  progenie/hembra). *B. officinalis* fue la mejor fuente de alimentación ( $38,4 \pm 4,6$  días,  $186,8 \pm 2,5$  progenie/hembra), seguida por *R. graveolens* ( $18,2 \pm 10,6$  días,  $91,4 \pm 2,7$  progenie). Hembras alimentadas con *C. officinalis* ( $4,0 \pm 1,7$  días,  $12,2 \pm 2,97$  progenie) tuvieron la longevidad y fecundidad más baja respecto al testigo. Longevidad y fecundidad variaron con características morfológicas de las flores. Un incremento en longevidad y fecundidad estuvo relacionado con mayor ancho y longitud de corola. En pruebas de selección libre y de no selección se registró un número significativamente mayor de visitas a las flores de *R. graveolens* ( $4,2 \pm 1,7$  y  $5,75 \pm 1,2$  visitas/min) y *B. rapa* ( $3,8 \pm 0,9$  y  $5,75 \pm 0,9$  visitas/min). Se sugiere manipular la presencia plantas nectaríferas, especialmente *B. officinalis* para aumentar el impacto de *D. aff. insulare* en el manejo integrado de *P. xylostella*.

**Palabras clave:** Palomilla Dorso de Diamante, control biológico, nectarios, arquitectura floral.

**Abstract.** The effect of nectar-producing plants (*Brassica rapa* (L.), *Calendula officinalis* (L.), *Ruta graveolens* (L.), and *Borracho officinalis* (L.)), compared to honey solution, on the longevity and fecundity of *Diadegma aff. insulare* were studied under green house conditions. The longevity and fecundity of *D. insulare* females fed on *B. rapa* (L.) were similar to those fed with a solution of honey and water ( $15,4 \pm 1,1$  days,  $67,0 \pm 2,7$  progeny/female). *B. officinalis* was the best food source ( $38,4 \pm 4,6$  days,  $186,8 \pm 2,5$  progeny/female), followed by *R. graveolens* ( $18,2 \pm 10,6$  days,  $91,4 \pm 2,7$  progeny). Females fed with *C. officinalis* ( $4,0 \pm 1,7$  days,  $12,2 \pm 2,97$  progeny) had the lowest fecundity and longevity with respect to the control. The longevity and fecundity of *D. insulare* varied with morphological characters of flowers. An increase in longevity and fecundity was correlated with a greater width and length of the corolla. In choice and no choice tests, a greater number of flower visits were recorded for *R. graveolens* ( $4,2 \pm 1,7$  y  $5,75 \pm 1,2$  visits/min) and *B. rapa* ( $3,8 \pm 0,9$  y  $5,75 \pm 0,9$  visits/min). It is suggested that the number of nectar producing plants, especially *B. officinalis*, be manipulated to increase the impact of *D. insulare* on the integrated management of *P. xylostella*.

**Key words:** Diamondback moth, biological control, nectaries, floral architecture.

### Introducción

En Colombia el cultivo de brasicas o crucíferas constituye un renglón productivo para la economía campesina y de medianos productores. En el año 2001 se sembraron 4.237 ha principalmente en cultivos de brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), repollo (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*), y coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) (Anónimo 2004).

Dentro del complejo de plagas que atacan las crucíferas se destacan especies de lepidópteros como *Copitarsia* sp., *Spodoptera* spp. y *Peridroma* sp. (Lepidoptera: Noctuidae), moluscos como

*Deroceras reticulatum* (Müller) y *Vaginulus* spp. (Pulmonata: Veronicellidae), el áfido *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) y *Lyriomiza* spp. (Diptera: Agromyzidae). No obstante, la principal plaga de cultivos de crucíferas en el mundo es la polilla dorso de diamante, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) (Xu *et al.* 2001; Idris y Grafius 1993). Sus poblaciones pueden alcanzar frecuentemente el 75% del total de insectos en un cultivo y pueden causar pérdidas de hasta el 90% en la producción (Ivey y Jonson 1997). Las pérdidas causadas varían con las características ambientales de la localidad, el

período de crecimiento del cultivo, la extensión de las plantaciones y la frecuencia de aplicación de insecticidas (Idris 1995).

La estrategia de control más utilizada ha sido el uso de insecticidas químicos de síntesis como piretroides, carbamatos, organofosforados y reguladores de crecimiento (Idris y Grafius 1996a). Sin embargo, *P. xylostella* ha desarrollado resistencia a todos los insecticidas usados en su contra (Liu *et al.* 2003; Zhao *et al.* 2001, 2002; Diaz *et al.* 2000; Tabashnik *et al.* 1990, 1994; Shelton *et al.* 1993; Leibiee y Savage 1992). Los problemas de resistencia se han combatido con la introducción de nuevas molé-

1. Ingeniero Agrónomo, daniel.carrillo@utadeo.edu.co

2. Autor para correspondencia: Entomólogo Ph. D. Compañía Agrícola Colombiana. Calle 100 No. 7-33 piso 19 Bogotá D.C. miguel.serrano@monsanto.com

3. Profesor asociado Universidad Nacional de Colombia etorrado@unal.edu.co

culas o principios activos, sin embargo lejos de resolver el problema la situación cada vez se ha tornado más compleja. Varios autores han registrado resistencia cruzada a diferentes grupos de insecticidas (Zhao *et al.* 2001; Idris 1995; Tabashnik *et al.* 1994).

Para el manejo integrado de *P. xylostella* se enfatiza la reducción de aplicaciones e integrar diferentes métodos de control. Para reducir la frecuencia de las aplicaciones se ha propuesto aplicar sólo durante etapas críticas del desarrollo fenológico del cultivo, como la inducción floral o la formación de cabeza (Carrillo 2004; Barrantes y Rodríguez 1996; Idris 1995; Carballo y Hruska 1989). Al reducir las aplicaciones se favorece la acción del control biológico ejercido por sus enemigos naturales, como ha sido el caso del programa establecido en Malasia donde las poblaciones de parasitoides controlan a *P. xylostella* y solo ocasionalmente se hacen aplicaciones de insecticidas químicos (Greathead 1995).

Entre los parasitoides que se usan para control de *P. xylostella* se destacan braconidos e ichneumonidos de los géneros *Cotesia*, *Microplitis* y *Diadegma* (Talekar y Shelton 1993). *Diadegma* reviste la mayor importancia debido a que sus especies tienen buena capacidad de búsqueda, alta fecundidad, capacidad de evadir superparasitismo, y pueden regular el desarrollo de su hospedero (Idris y Grafius 1996a).

*Diadegma insulare* Cresson, es el principal parasitoide de *P. xylostella* en varios países del mundo (Xu *et al.* 2001; Johanowicz y Mitchell 2000). En algunos casos, el parasitismo en campo supera el 90% sin embargo, en muchos otros el éxito del control biológico ha sido reducido por no tener en cuenta los requerimientos alimenticios del parasitoide (Wratten *et al.* 2003; Muckenfuss *et al.* 1990). Entender la importancia relativa de las flores como fuente de alimento para *D. insulare* es muy importante para aumentar su eficiencia como controlador biológico de *P. xylostella*.

La alimentación con azúcares es determinante para la supervivencia, fecundidad, y eficiencia de los parasitoides adultos (Godfray 1993). Un adecuado abastecimiento de azúcares en la dieta puede producir un efecto positivo en la tasa de maduración de huevos y aumentar el periodo reproductivo de las hembras (Idris 1995). La escasez de fuentes de azúcar puede reducir la actividad de búsqueda ya sea por una reducción gene-

ral de la actividad del insecto o por un incremento en el tiempo utilizado en la búsqueda de alimento (Wackers 1994). Lewis *et al.* (1998) encontraron que las hembras en ayuno son menos eficientes buscando y parasitando hospederos que las hembras bien alimentadas. Adicionalmente, Takasu y Lewis (1995) encontraron que hembras de *Microplitis croceipes* (Cresson) presentaron mayor superparasitismo cuando estaban hambrientas que las hembras bien alimentadas. Estos resultados y los de Wackers (2004) sugieren que proporcionar alimento a parasitoides adultos en el campo (como glucosa y proteínas) puede aumentar su eficiencia como controladores biológicos.

Para estudiar el efecto de las flores como fuente de azúcares para los parasitoides es necesario tener en cuenta varios factores. La disponibilidad (abundancia y distribución) calidad (valor nutricional) el grado de atracción y la accesibilidad del néctar, como parámetros más relevantes (Wackers 2004). La accesibilidad al néctar está determinada por la interacción entre la arquitectura floral y la morfología del insecto; por otra parte, las flores son naturalmente atractivas o emiten señales para que el parasitoide las acepte como fuente de alimento (Lewis *et al.* 1998). Estos factores se deben tener en cuenta si se pretende adicionar recursos florales a los sistemas de cultivos con el propósito de incrementar o mantener las poblaciones de enemigos naturales.

Idris y Grafius (1996b) y Johanowicz y Mitchell (2000) estudiaron el efecto de varias arvenses sobre la fecundidad y longevidad de *D. insulare* en Michigan (EE.UU.). En Colombia no se han realizado trabajos sobre la respuesta de *D. insulare* a la presencia de arvenses como fuentes de azúcares. Por esta razón este trabajo evaluó el efecto de varias plantas nectaríferas que normalmente se presentan en cultivos de crucíferas de la sabana de Bogotá, sobre la capacidad reproductiva de *D. aff. insulare*, así como el grado de aceptación y acceso a las estructuras florales donde se encuentra el alimento.

## Materiales y métodos

### Material vegetal

Se realizó un inventario florístico en 13 fincas productoras de hortalizas en varios municipios de la sabana de Bogotá (Gachancipá, Subachoque, Tausa, Cogua, Sopó, Tenjo, Madrid y Mosquera) con el fin de establecer las plantas más frecuentemente asociadas a cultivos de crucíferas en la zona. Para la selección de las plan-

tas se tomaron en cuenta los parámetros propuestos por Idris y Grafius (1996a) como el color, ancho y largo de la corola y ser hospederas de *P. xylostella*. Adicionalmente, se hicieron consultas con los agricultores y se realizaron observaciones directas en el campo para verificar que *D. aff. insulare* visitara estas flores bajo condiciones normales de cultivo. Se seleccionaron cuatro plantas, nabo *Brassica rapa* L. (Readales: Brassicaceae), caléndula *Calendula officinalis* L. (Asterales: Asteraceae), ruda *Ruta graveolens* L. (Terebinthales: Rutaceae) y borraja *Borrago officinalis* (Tubifloras: Boraginaceae), como fuentes de néctar para *D. aff. insulare*.

Se coleccionaron semillas y esquejes para establecer una siembra escalonada de las plantas y asegurar un abastecimiento permanente de flores durante la ejecución de los experimentos. Las plantas se sembraron en materas de 30 x 20 cm (5 kg de suelo) en una casa de malla, en la finca Potosí en el municipio de Subachoque, Cundinamarca (2.610 msnm, T= 13°).

### Material Entomológico

Los experimentos se realizaron con la F<sub>3</sub> de *D. aff. insulare* y la F<sub>6</sub> de *P. xylostella* de crías establecidas en la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá (20 ± 2° C; HR 80%) y fotoperíodo 12:12 h L:O.

**Efecto de cuatro plantas nectaríferas sobre la longevidad y fecundidad de *D. aff. insulare*.** Se colocaron jaulas cilíndricas de acrílico (10 cm. de diámetro por 20 cm. de alto) sobre ramas de cada especie vegetal, asegurándose que cada jaula alojara por lo menos una flor o inflorescencia. Para adherir las jaulas a las ramas, los tallos con inflorescencias se insertaron en espumas ubicadas en la base y tapa de la jaula. Cada jaula contó con cuatro orificios (cubiertos con muselina) para ventilación, y un pequeño orificio para introducir los insectos. En cada jaula se colocó una pareja de *D. aff. insulare* de la misma cohorte y 24 h de emergida. Cada especie vegetal se consideró un tratamiento y una solución de miel de abejas al 10% se utilizó como testigo en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones. Para el testigo se utilizaron algodones humedecidos con la solución y se reemplazaron cada dos días.

Diariamente se registró la supervivencia de *D. aff. insulare* y la longevidad se calculó como el número total de días de vida de la pareja de parasitoides. Para medir la

fecundidad, las hembras fueron retiradas de las jaulas y liberadas en una cámara de parasitismo (recipiente plástico con una hoja de repollo y 10 larvas *P. xylostella* de II o III instar) durante su periodo de mayor actividad (11:00-13:00 h. Idris [1995]). Después del periodo de exposición de 2 horas, las hembras de *D. aff. insulare* fueron regresadas a las jaulas con flores y las larvas de *P. xylostella* fueron alimentadas y observadas hasta la emergencia de adultos. Se registraron los adultos emergidos de *P. xylostella* y las larvas muertas, así como el sexo de los adultos de *D. aff. insulare* que emergieron diariamente. Este procedimiento se repitió diariamente durante toda la vida libre de los parasitoides. La fecundidad se calculó a partir de la progenie producida por cada hembra durante su periodo de vida libre al ofrecerle diariamente 10 larvas de *P. xylostella*.

Los datos se analizaron por ANAVA y la prueba de diferencias honestamente significativas de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) con el programa estadístico SAS v. 8.0 (SAS 2000). Los datos de longevidad y fecundidad se relacionaron entre sí mediante regresión con el mismo programa estadístico.

**Relación entre estructuras florales, longevidad y fecundidad de *D. aff. insulare* (Accesibilidad).** Para estudiar el grado de accesibilidad al néctar, se midió el diámetro de apertura y la longitud de la corola de una muestra de 10 flores escogidas al azar para cada una de las cuatro especies. Las mediciones se realizaron entre las 11:00 y las 13:00 horas cuando las corolas se encuentran completamente abiertas.

Los datos se analizaron por ANAVA y una prueba de diferencias honestamente significativas de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) con el programa estadístico SAS v. 8.0 (SAS 2000). Las medias del largo y la apertura de la corola fueron relacionadas con la longevidad y fecundidad del parasitoide mediante regresión utilizando el mismo programa estadístico.

**Selección de las flores de cuatro especies vegetales por hembras de *D. aff. insulare*.** El experimento se realizó en jaulas de 60x60x60 cm con paredes de muselina y techo de vidrio, bajo condiciones de laboratorio en Subachoque (Cundinamarca) ( $T=20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ; HR =70%, Fotoperíodo = 12:12 h L:O).

Se colocaron treinta hembras de *D. aff. insulare* (entre 0 y 24 horas de emergidas) en jaulas vacías (descritas antes) durante 24 h. Al finalizar este período de ayuno se

introdujo a cada jaula un recipiente plástico de 300 ml con 4 ramas florecidas de cada especie vegetal. Las ramas se escogieron uniformizando el tamaño, color y el número de flores por rama de cada especie. Treinta minutos después de la introducción de las flores se anotó el número de hembras que visitaron cada flor durante un periodo de un minuto. Durante el mismo tiempo se contaron las hembras posadas sobre las paredes o techo de la jaula. Después de la evaluación se retiraron los recipientes con las flores y se redistribuyeron aleatoriamente en las jaulas para repetir el proceso de adaptación (30 min.) y conteo (1 min.).

La misma prueba se repitió en la modalidad de no-elección. Para estas pruebas se ofrecieron recipientes con cuatro ramas florecidas de la misma especie con 30 min. de adaptación y uno de observación. Al finalizar los 31 minutos se retiraron los recipientes con flores y se colocaron nuevamente al azar en las jaulas.

Cada prueba se distribuyó en un diseño de bloques completos al azar, con cuatro tratamientos (flores de cada especie vegetal) y doce repeticiones en el tiempo. Los datos del número de visitas a cada flor se analizaron por medio de ANAVA y la prueba de diferencias honestamente significativas de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) con el programa estadístico SAS v. 8.0 (SAS 2000). Las dos pruebas se relacionaron mediante regresión utilizando el mismo programa estadístico.

## Resultados y Discusión

**Efecto de cuatro plantas nectaríferas sobre la longevidad y fecundidad de *D. aff. insulare*.** La longevidad de *D. aff. insulare* fue significativamente mayor cuando se alimentó con néctar de *B. officinalis* ( $F=22,17$ ;  $gl=4, 24$ ;  $P<0,01$ ) comparada con la alimentación con el néctar de las otras plantas y el testigo (Tabla 1). *R. graveolens* y *B. rapa* no fueron diferentes del testigo (solución de miel de abejas al 10%) y produjeron adultos con una longevidad entre 20.2 y 23.0 días (40 y 47%) menor a los producidos sobre *B. officinalis*. El néctar de *C. officinalis* produjo la menor longevidad, con una diferencia de 34 días (90%) con respecto a *B. officinalis*. La fecundidad de *D. aff. insulare* fue significativamente mayor cuando se alimentó con néctar de *B. officinalis* ( $F=21,96$ ;  $gl=2, 24$ ;  $P<0,01$ ) comparado con la alimentación con el néctar de las otras plantas (Tabla 1). El efecto sobre la fecundidad del parasitoide fue similar al ser alimentado con *R.*

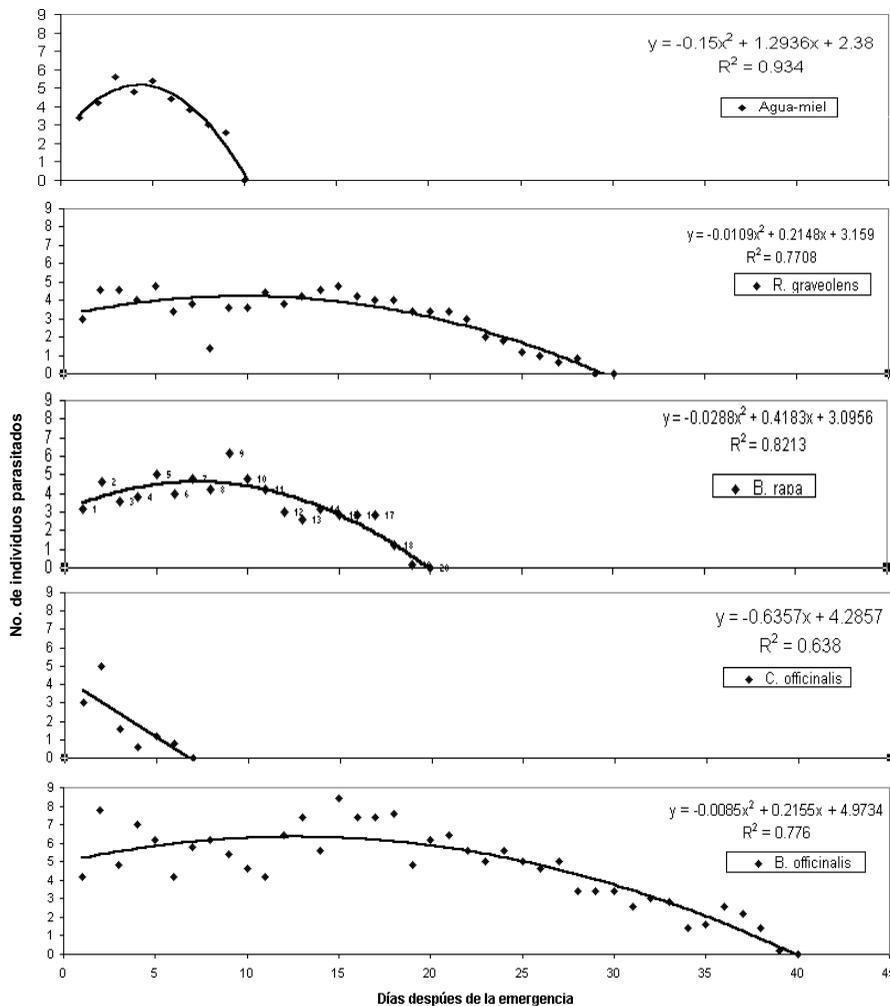
*graveolens*, *B. rapa* y solución de miel de abejas. La fecundidad de las hembras alimentadas con flores de *R. graveolens* fue 2.5 veces mayor que con solución de miel de abejas. El éxito reproductivo fue menor en hembras alimentadas con néctar de *C. officinalis* y se presentó una reducción del 93% en la longevidad respecto a la de adultos alimentados con *B. officinalis*. La longevidad y fecundidad analizadas en conjunto mediante regresión lineal (Fig. 1) presentan una relación significativa ( $r^2=0,99$ ;  $F=778,2$ ;  $gl=1, 4$ ;  $P<0,01$ ). El éxito reproductivo de *D. aff. insulare* puede incrementarse linealmente al aumentar los días de vida libre y el número de individuos parasitados por las hembras (Fig. 1).

En estudios similares solo se había logrado demostrar un aumento en la longevidad y fecundidad igual al generado por la solución de miel de abejas al 10%. Idris y Grafius (1996a) registraron a *Brassica kaber* (D. C.) (Readales : Brassicaceae) como la mejor fuente de néctar natural para *D. insulare*. Su efecto sobre la longevidad fué igual al producido por la solución de miel de abejas. Igualmente, Johanowicz y Mitchell (2000) estudiaron el efecto de la alimentación con flores de *Lobularia maritima* L. (Readales: Brassicaceae) y obtuvieron resultados similares. Idris y Grafius (1996b), proponen a las arvenses *Daucus carota* L. (Apiales: Umbelliferae) *B. kaber* y *Barbarea vulgaris* R. Br. (Readales: Brassicaceae) como fuentes de alimento apropiadas para *D. insulare* pues mejoran su eficiencia en campo en Michigan, E.E. U.U. En este trabajo se propone a *B. officinalis* como la mejor fuente de alimento en términos de reproducción de *D. aff. insulare* para cultivos de crucíferas en la sabana de Bogotá. Su efecto sobre la longevidad y fecundidad supera ampliamente al testigo y a las otras plantas evaluadas. Adicionalmente es una planta de fácil propagación y con un periodo prolongado de floración. *R. graveolens* presentó resultados similares a los de *B. rapa* y solución de miel de abejas en las dos pruebas, no obstante su efecto sobre la longevidad y fecundidad del parasitoide fue mayor a la de los otros tratamientos excluyendo a *B. officinalis*. Su buen desempeño en las pruebas de longevidad y fecundidad, así como su floración casi permanente, hacen de esta especie otra buena opción como alimento para *D. aff. insulare* dentro de un programa de control biológico de *P. xylostella*. *B. rapa* es una arvense abundante en los periodos lluviosos del año y es hospedera de *P. xylostella*. Probable-

**Tabla 1.** Longevidad y fecundidad de *D. aff. insulare* al ser alimentado con néctar de cuatro plantas nectaríferas bajo condiciones de casa de malla en Subachoque Cundinamarca.

Fuente de Néctar	Longevidad (días)*	Fecundidad (adultos / pareja)*
<i>Borrago officinalis</i>	38,4 ± 4,6a	186,8 ± 12,5a
<i>Calendula officinalis</i>	4,0 ± 1,7c	12,2 ± 2,9c
<i>Brassica rapa</i>	15,4 ± 1,2b	67,0 ± 1,1bc
<i>Ruta graveolens</i>	18,2 ± 10,6b	91,4 ± 2,7b
Miel de abejas 10%	9,6 ± 1,1bc	37,2 ± 2,7bc

\*Promedios (± D. E.) seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes, prueba de significancia honesta de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

**Figura 1.** Emergencia diaria de adultos del parasitoide *D. aff. insulare* alimentado con cuatro fuentes de néctar y solución de miel de abejas en condiciones de casa de malla en Subachoque, Cundinamarca.

mente *D. aff. insulare* reconozca fácilmente esta planta y juegue un papel importante en el ambiente natural del parasitoide. Finalmente, las hembras alimentadas con flores de *C. officinalis* presentaron los peores resultados en las pruebas de longevidad y fecundidad, lo que nos hace presumir su incapacidad de

proveer alimento de buena calidad a *D. aff. insulare*.

**Relación de las estructuras florales con la longevidad y fecundidad (Accesibilidad).** El diámetro de apertura de la corola de *B. officinalis* fue significativamente mayor que el de las demás especies de flores ( $F = 4,2$ ;  $gl = 3, 39$ ;  $P < 0,01$ ; Tabla

2). *B. rapa* y *R. graveolens* presentaron un diámetro muy similar entre ellas y *C. officinalis* es la especie con menor longitud de corola. El largo de la corola fue mayor en *B. officinalis* ( $F = 1999,7$ ;  $gl = 3, 39$ ;  $P < 0,01$ ) seguido por *B. rapa*, *R. graveolens*, y *C. officinalis* respectivamente (Tabla 2).

El análisis de regresión indicó que el 83% ( $F = 10,4$ ;  $gl = 1, 3$ ;  $P < 0,01$ ) y el 79% ( $F = 7,8$ ;  $gl = 1, 3$ ;  $P < 0,01$ ) de la variación en la longevidad y fecundidad de *D. aff. insulare*, puede ser explicado por el diámetro de apertura de la corola de la flor visitada como fuente de alimento (Fig. 2). El mismo análisis indicó que el 79% ( $F = 7,8$ ;  $gl = 1,3$ ;  $P < 0,01$ ) y el 76% ( $F = 6,3$ ;  $gl = 1, 3$ ;  $P < 0,01$ ) de la variación en la longevidad y fecundidad de *D. aff. insulare*, puede ser explicado por el largo de la corola de la flor visitada como fuente de alimento. Este análisis también indica una relación positiva entre los datos de longevidad y fecundidad de *D. aff. insulare*, y el largo y apertura de la corola de las flores evaluadas (Fig. 2).

*B. officinalis* es la especie con mayor apertura y largo de la corola y también la que mejor influenció los atributos de longevidad y fecundidad del parasitoide. Posiblemente su arquitectura floral hace más accesible el néctar lo que podría estar asociado al tamaño del parasitoide. Para todas las especies, entre mayor fue la apertura y largo de la corola de la flor visitada, mayor fue la longevidad y fecundidad del parasitoide. Los resultados concuerdan con los de Idris (1995) quien propone al diámetro de apertura y el largo de la corola como indicadores de las flores potencialmente buenas como fuente de alimento.

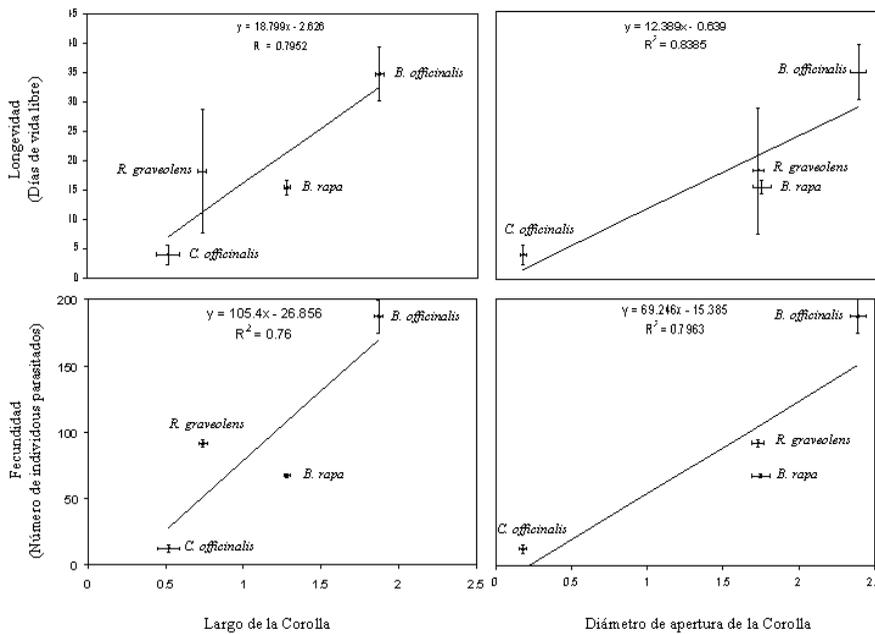
Existen otros factores que afectan la accesibilidad al néctar. La separación entre los sépalos y pétalos determina el grado de exposición de la parte basal de las flores donde se encuentra localizado el néctar en la mayoría de los casos (Idris y Graifus 1996a). Las flores de *B. rapa* proveen fácil acceso del parasitoide a los nectarinos por tener los pétalos y sépalos separados, a pesar de su corta longitud y menor apertura de corola.

**Selección de las flores de cuatro especies vegetales por hembras de *D. aff. insulare*.** En la prueba de libre elección las flores más visitadas por hembras de *D. aff. insulare* ( $F = 9,6$ ;  $gl = 15, 191$ ;  $P < 0,01$ ) fueron *R. graveolens* y *B. rapa* (Tabla 3). En esta prueba *B. officinalis* tuvo 50% menos visitas que *R. graveolens*. *C. officinalis* recibió 69% menos visitas de

**Tabla 2.** Largo y diámetro de apertura de la corola de flores de 4 plantas nectaríferas ofrecidas como alimento a parejas de *D. aff. insulare* bajo condiciones de casa de malla en Subachoque, Cundinamarca.

Especie de flor	Largo de la corola ( cm )*	Apertura de la corola (cm)*
<i>Borrago officinalis</i>	1,87 ± 0,03 a	2,39 ± 0,05 a
<i>Calendula officinalis</i>	0,52 ± 0,07 d	0,18 ± 0,02 c
<i>Brassica rapa</i>	1,28 ± 0,02 b	1,75 ± 0,06 b
<i>Ruta graveolens</i>	0,74 ± 0,02 c	1,73 ± 0,04 b

\*Promedios (± D.E.) seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes, prueba de significancia honesta de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).



**Figura 2.** Relación entre el tamaño de las estructuras florales (largo y diámetro de apertura de la corola) de cuatro especies ofrecidas a *D. aff. insulare* como fuente de néctar y el éxito reproductivo (fecundidad y longevidad) del parasitoide bajo condiciones de casa de malla en Subachoque, Cundinamarca.

hembras de *D. aff. insulare* que *R. graveolens*. En la prueba de no-elección las flores más visitadas fueron las de las especies *R. graveolens*, *B. rapa* y *C. officinalis* ( $F = 6,6$ ;  $gl = 3, 47$ ;  $P < 0,01$ ; Tabla 3).

*R. graveolens* y *B. rapa* tienen flores de color amarillo, el color de flor más abundante en la naturaleza (Lewis *et al.* 1998) lo que podría ayudar a explicar el mayor número de visitas a estas flores. El número y tamaño de las flores pueden ser factores adicionales para explicar la res-

**Tabla 3.** Preferencia de *D. aff. insulare* a 4 especies de flores; resultados de pruebas de elección y no-elección. (Subachoque Cundinamarca, 2004).

Fuente de Néctar	Visitas de <i>D. aff. insulare</i> en 1 minuto	
	No-elección*	Libre elección*
<i>Borrago officinalis</i>	3,58 ± 1,24 b	2,08 ± 1,30 b
<i>Calendula officinalis</i>	4,25 ± 0,96 ab	1,31 ± 0,99 c
<i>Brassica rapa</i>	5,75 ± 1,76 a	3,79 ± 1,61 a
<i>Ruta graveolens</i>	5,75 ± 1,81 a	4,22 ± 1,79 a

\*Promedios (± D.E.) seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes, prueba de significancia honesta de Tukey ( $\alpha = 0,05$ )

puesta de los parasitoides. Las flores de *R. graveolens* y *B. rapa* tienen un menor tamaño que las de *B. officinalis*. El número de flores por inflorescencia de estas dos especies es mayor al compararla con las demás. La calidad del alimento puede influir en el número de visitas necesarias para que el parasitoide satisfaga sus necesidades de néctar. Las pruebas de longevidad y fecundidad mostraron a *B. officinalis* como una fuente de néctar de alta calidad debido a su mayor efecto sobre la reproducción de *D. aff. insulare*, entonces es probable que *D. aff. insulare* necesite un menor número de visitas a esta flor para satisfacer sus necesidades alimenticias.

Habitualmente las arvenses que florecen dentro o en los bordes del cultivo son las únicas fuentes de alimento disponibles para insectos benéficos. El establecimiento de una arvense en asocio con un cultivo a una densidad determinada no es fácil y los productores consideran las malezas como problemas por su alta competitividad y porque pueden propiciar otros problemas fitosanitarios para el cultivo. Los efectos positivos que tienen ciertas arvenses sobre la efectividad de *D. aff. insulare* nos llevan a proponer la incorporación de plantas nectaríferas de fácil manejo (distribución, propagación, adaptación y ubicación) períodos largos de floración y buena calidad de néctar dentro de programas de manejo integrado de los cultivos de crucíferas donde *P. xylostella* sea plaga limitante.

## Conclusiones

Los resultados de este estudio indican que el éxito reproductivo de *D. aff. insulare*, medido en términos de su longevidad y fecundidad, está influenciado por el tipo de recursos florales con los que cuente para alimentarse. La arquitectura de las flores y las características morfológicas del insecto influyen en el grado de accesibilidad a las fuentes de néctar. De las plantas que se evaluaron, las que tuvieron mayor ancho y longitud de corola prolongaron la longevidad y aumentaron la fecundidad del parasitoide. *B. officinalis* (Borraja) fue la mejor fuente de alimento ya que incrementó cuatro veces la longevidad y cinco veces la fecundidad de *D. aff. insulare* respecto a una solución de miel de abejas. Se sugiere manipular la presencia plantas nectaríferas para aumentar el efecto de *D. aff. insulare* sobre el manejo de *P. xylostella* dentro de un programa de manejo integrado de los cultivos de crucíferas en la sabana de Bogotá.

## Agradecimientos

A la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia por su

apoyo financiero y logístico. Especialmente a los laboratorios y al UNAB. De forma muy especial a Luisa Fernanda Bermúdez por su apoyo en las actividades de campo, a Diego Campos y Edgard Palacios por la identificación de las especies y a los productores de la Cooperativa de trabajo Asociado HUERTOS por prestar los escenarios donde se realizó la investigación.

### Literatura Citada

- ANONIMO 2004. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Secretaría de Agricultura Departamental. Oficina de información y estadística.
- BARRANTES, J. A.; RODRÍGUEZ, C. L. 1996. Abundancia estacional y daño de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) y el cultivo de repollo, durante la época seca en Alfaro Ruiz, Alajuela, Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas Costa Rica (CATIE) No. 39 p. 17-24.
- CARBALLO, M.; HRUSKA, A. 1989. Periodos críticos de protección y efecto de la infestación de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) sobre el rendimiento del repollo. Manejo Integrado de Plagas Costa Rica (CATIE) No. 14 p. 46-60.
- CARRILLO, D. 2004. Caracterización de *Diadegma aff. insulare* (Cresson) (HYMENOPTERA: ICHNEUMONIDAE) y su potencial como agente de control biológico de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Trabajo de Grado para el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Bogotá. 65 p.
- DIAZ, O.; RODRIGUEZ, J. C.; SHELTON, A. M.; LAGUNES, A.; BUJANOS, M. 2000. Susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) populations in Mexico to commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology 93(3): 963-970.
- GODFRAY, H. C. J. 1993. Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton University Press. Princeton, New Jersey, EE.UU. 473 p.
- GREATHEAD, D. J. 1995. Natural enemies in combination with pesticides for integrated pest management. En: REUVENI, R. Novel approaches to integrated pest management. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida. 369 p.
- IDRIS, A. B. 1995. Ecology and behavior of *Diadegma insulare* (Cresson), a biological control agent of Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). Ph.D. Dissertation, Michigan State University, East Lansing, MI.
- IDRIS, A. B.; GRAFIUS, E. 1993a. Differential toxicity of pesticides to *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) and its host, the Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Economic Entomology. 86 (2): 529-536.
- IDRIS, A. B.; GRAFIUS, E. 1993b. Field studies on the impact of pesticides on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) and parasitism by *Diadegma insulare* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Journal of Economic Entomology. 86: 1196-1202.
- IDRIS, A. B.; GRAFIUS, E. 1996a. Effects of nectar-producing plants on *Diadegma insulare* (Cresson), a biological control agent of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). The Management of diamondback moth and other crucifer pests, Proceedings of the Third International Workshop, Kuala Lumpur, Malaysia. Pgs. 90-96.
- IDRIS, A. B.; GRAFIUS, E. 1996b. Effects of wild and cultivated host plants on oviposition, Survival, and development of Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Environmental Entomology. 25(4): 825-833.
- IVEY, P. W.; JOHNSON, S. J. 1997. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* and cabbage cultivar resistance to Diamondback moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). Florida Entomologist. 80 (3): 396-401.
- JOHANOWICZ, D. L.; MITCHELL, E. R. 2000. Effects of Sweet Alyssum flowers on the Longevity of the parasitoid wasps *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) y *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Florida Entomologist 83(1): 41-47.
- LEIBIEE, G. L.; SAVAGE, K. E. 1992. Evaluation of selected insecticides for control of diamondback moth and cabbage looper in cabbage in Central Florida with observations on insecticide resistance in the Diamondback moth. Florida Entomologist. 75(4): 585-591.
- LEWIS, W. J.; STAPEL J. O.; CORTESERO, A. M.; TAKASU, K. 1998. Understanding how parasitoids balance food and host needs: importance to biological control. Biological Control. 11(1): 175-183.
- LUI, T. X.; HUTCHISON, W. D.; CHEN, W.; BURKNESS, E. C. 2003. Comparative Susceptibilities of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae) from Minnesota and South Texas to Cyhalothrin and Indoxcarb. Journal of Economic Entomology. 94(4): 1230-1236.
- MUCKENFUSS, A. E.; SHEPPARD, B. M.; FERRER, E. R. 1990. Natural mortality of diamondback moth in coastal South Carolina. Diamondback moth and other crucifer pests, Proceedings of the Second International Workshop. Tainan, Taiwan. AVRDC publication No.92-368. 603 p.
- SAS Institute, 2000. SAS statistical software. Versión 8. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- SHELTON, A. M.; ROBERTSON, J. L.; TANG, J. D.; PEREZ, C.; EINGENBRODE, S. D.; PREISLER, H. K.; WISLEY, W. T.; COOLEY, R. J. 1993. Resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* subspecies in the field. Journal of Economic Entomology. 86: 697-705.
- TABASHNIK, B. E.; CUSHING, N. L.; FINSON, N.; JOHNSON, M. W. 1990. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Economic Entomology. 83: 1671-76.
- TABASHNIK, B. E.; FINSON, N.; GROETTERS, F. R.; MOAR, W. J.; JOHNSON, M. W.; LOU, K.; ADANG, M. J. 1994. Reversal of resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Plutella xylostella*. Agricultural Science. 91: 4120-4124.
- TAKASU, K.; LEWIS, W. J. 1995. Importance of Adult Food Sources to Host Searching of the Larval Parasitoid *Microplitis croceipes*. Biological Control 5 (1): 25-30.
- TALEKAR, N. S.; SHELTON, A. M. 1993. Biology, ecology, and management of the Diamondback moth. Annual Review of Entomology. 38: 275 - 301.
- WÄCKERS, F. L. 1994. The effect of food deprivation on the innate visual and olfactory preferences in the parasitoid *Cotesia rubecula*. Journal of Insect Physiology. 40: 641-649.
- WÄCKERS, F. L. 2004. Assessing the suitability of flowering herbs as parasitoid food sources: flower attractiveness and nectar accessibility. Biological Control. 29: 307-314.
- WRATTEN, S.; BERNDT, L.; GURR, G.; TYLIANAKIS, J.; FERNANDO, P.; DIDHAM, R. 2003. Adding floral diversity to enhance parasitoid fitness and efficacy. 1<sup>st</sup> International Symposium on Biological Control of Arthropods. 211-214 pp.
- XU, J.; SHELTON A. M.; CHENG, X. 2001. Comparison of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) and *Microplitis plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) as biological control Agents of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): field parasitism, insecticide susceptibility, and host-searching. Journal of Economic Entomology. 94(1): 14-20.
- XU, J.; SHELTON A. M.; CHENG, X. 2001. Variation in susceptibility of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) to permethrin. Journal of Economic Entomology. 94(2): 541-546.
- ZHAO, J.; LI, Y.; COLLINS, H. L.; CAO, J.; EARLE, E. D.; SHELTON, A. M. 2001. Different cross-resistance patterns in the Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistant to *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry1C. Journal of Economic Entomology. 94 (6): 1547-1552.
- ZHAO, J.; LI, Y.; COLLINS, H. L.; SHELTON, A. M. 2002. Examination of the F<sub>2</sub> screen for rare resistance alleles to *Bacillus thuringiensis* toxins in the Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Economic Entomology. 95(1): 14-21.
- ZHAO, J.; LI, Y.; COLLINS, H. L.; GUSUKUMA-MINUTO, J.; MAU, R. F.; THOMPSON, G. D.; SHELTON, A. M. 2002. Monitoring and characterization of Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to Spinosad. Journal of Economic Entomology. 95 (2): 430-436.

## Efecto de temperatura, concentración y tiempo de almacenamiento en la supervivencia de nemátodos entomopatógenos

Effect of temperature, concentration and storage time on the survival of entomopathogenic nematodes

JUAN PABLO MOLINA ACEVEDO<sup>1</sup>, ALCIDES MOINO JR<sup>2</sup>, RICARDO SOUSA CAVALCANTI<sup>2</sup>,  
VANESSA ANDALÓ<sup>2</sup>, LÚCIA APARECIDA MENDONÇA<sup>2</sup>

**Resumen.** Los nemátodos entomopatógenos (NEP) son agentes potenciales para control de plagas agrícolas. Estudios para mejorar su supervivencia y patogenicidad en condiciones de almacenamiento son necesarios, donde factores como temperatura, concentración y tiempo determinan su viabilidad. En este experimento se determinó el porcentaje de supervivencia de nemátodos (PSN) en almacenamiento, de seis especies de NEP, tres steinernemátidos (Rhabditida: Steinernematidae): *Steinernema carpocapsae* (Weiser), *S. glaseri* (Steiner) and *S. arenarium* (Artyukhovsky), y tres heterorhabditidos: (Rhabditida: Heterorhabditidae) *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar), *H. bacteriophora* HP88 (Grenier) y *H. baujardi* LPP7 (Dolinski), en cinco temperaturas (8, 12, 16, 20 y 24°C), dos concentraciones (1000 y 10000 IJ/mL) y dos tiempos (15 días y 3 meses). El diseño experimental fue parcelas subdivididas en el tiempo, con diseño factorial 6 x 2 en la parcela en dos tiempos, respectivamente, donde cada tratamiento contó con 10 repeticiones. En la supervivencia de todos los NEP, la interacción triple entre temperatura, concentración y tiempo de almacenamiento fue significativa ( $P < 0,05$ ). En la mayoría de los steinernemátidos el PSN aumentó gradualmente en un rango amplio de temperatura desde 8 hasta 20°C, en ambas concentraciones y en el menor tiempo, registrándose supervivencia entre 87 y 95%. Por el contrario temperaturas altas 20 y 24°C, junto con la menor concentración y tiempo, favorecieron la alta supervivencia de heterorhabditidos estando entre 78 a 92% respectivamente. Así en este experimento se lograron determinar condiciones específicas para cada NEP, lo cual representa una alta supervivencia, para su uso en programas de control biológico y preservación con alta viabilidad en laboratorio.

**Palabras clave:** Factores abióticos, entomonemátodos, viabilidad, insecto plaga, control biológico.

**Abstract.** Entomopathogenic nematodes (EPN) are potential agents for the control of agricultural pests. Studies to improve their survival and pathogenicity under storage conditions are necessary where factors like temperature, concentration and time determine their viability. In this experiment the percent survival of nematodes (PSN) in storage was determined for six species of EPN, three steinernematids (Rhabditida: Steinernematidae): *Steinernema carpocapsae* (Weiser), *S. glaseri* (Steiner) and *S. arenarium* (Artyukhovsky), and three heterorhabditids: (Rhabditida: Heterorhabditidae) *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar), *H. bacteriophora* HP88 (Grenier) and *H. baujardi* LPP7 (Dolinski), at five temperatures (8, 12, 16, 20, and 24°C), two concentrations (1000 and 10000 IJ/mL) and two times (15 days and 3 months). The experimental design was plots subdivided by time, with a 6 x 2 factorial design in the plot over two times, respectively, where each treatment had 10 replications. In the survival of all EPN, the three-way interaction among temperature, concentration and storage time was significant ( $P < 0,05$ ). In most of the steinernematids the PSN gradually increased in a wide range of temperature from 8 to 20°C, in both concentrations and in the shortest time, registering survival between 87 and 95%. On the contrary, high temperatures of 20 and 24°C, together with the low concentration and shortest time, favored a high survival of heterorhabditids, being between 78 and 92%, respectively. In this experiment it was possible to determine the specific conditions for each EPN that represent a high survival, for their use in programs of biological control and preservation with high viability in the laboratory.

**Key words:** Abiotic factors, entomonematodes, viability, insect pest, biological control.

### Introducción

Los nemátodos entomopatógenos (NEP) son organismos no segmentados e invertibrados pertenecientes al Phylum

Nematoda los cuales han establecido coevolutivamente un parasitismo obligado con insectos (Kaya y Stock 1997). En las últimas décadas los NEP han cobrado

importancia, como agentes para el control de plagas, ante las actuales restricciones por el uso de insecticidas, constituyéndose como una herramienta efectiva

1 Doctorando, Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), CCTA/Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF), CEP 28015-620, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. E-mail: [juanpamolina@yahoo.com.br](mailto:juanpamolina@yahoo.com.br)

2 Universidade Federal de Lavras. Departamento de Entomologia, C.P.37, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

para incorporar en programas MIP (Ehlers 1996). De acuerdo con Molina y López (2003) los NEP presentan alta potencialidad para control de plagas del suelo y de hábitos crípticos como *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae); sin embargo, factores abióticos como la humedad pueden disminuir su eficiencia. Así mismo varios factores afectan también la supervivencia del juvenil infectante (JI) como son la radiación ultravioleta, la textura del suelo, el pH y la temperatura extremas en campo (Georgis y Manweiler 1994). En general la actividad térmica en campo de NEP steinernemátidos se encuentra entre 3 e 14°C y para heterorhabditidos, entre 10 e 16°C (Molineux 1985). Temperaturas sobre 30°C o bajo 0°C afectan negativamente la persistencia de NEP, pero depende de las especies de NEP y la región geográfica de origen (Smits 1996). Por otra parte, Kaya y Stock (1997) afirman que casi todas las especies de NEP son activas a temperatura ambiente (25±2°C) y en condiciones de almacenamiento nemátodos steinernemátidos se conservan mejor a temperaturas entre 8 a 15°C, sobreviviendo de 6 a 9 meses; nemátodos heterorhabditidos sobre las mismas condiciones, sobreviven por 3 a 4 meses. Con respecto a concentración de NEPs en almacenamiento afirman que bajas concentraciones entre 1000 a 2000 JI/mL son ideales. Así el objetivo de este trabajo fue establecer cuál temperatura, concentración y tiempo de almacenamiento favorecen la supervivencia y patogenicidad de diferentes especies NEP usadas convencionalmente en control biológico.

### Materiales y Métodos

La investigación se realizó en el laboratorio de Patología de Insectos del Departamento de Entomología de la Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizada en la ciudad de Lavras, Estado de Minas Gerais, Brasil.

**Material biológico.** Se utilizaron algunas de las especies más usadas de NEP en control biológico como *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955), *S. glaseri* (Steiner, 1929) y *S. arenarium* (Artyukhovsky, 1967) suministradas por la Dra. Marineide Aguilera de la Universidade Federal de São Carlos (UFScar) en Araras-São Paulo-Brasil y las especies *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1955), *H. bacteriophora* cepa HP88 (Grenier *et al.* 1996) y *H. baujardi* cepa LPP7 (Dolinski 2004) fueron suministradas por la Dra Claudia Dolinski de la Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) en Campos-Rio de Janeiro-Brasil. Todas estas especies de NEP estaban almacenadas en nevera a una temperatura de 8±2°C (Fig. 1A). Para la reactivación de los NEP se dejaron aclimatar y reactivar durante 24 horas a una temperatura ambiente de 25 ± 2°C (Fig. 1B).

**Producción de JI para el bioensayo.** Los JI se multiplicaron y activaron de acuerdo con la metodología descrita por Molina y López (2001); se infectaron larvas de último instar de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae), con un promedio de peso de 0,20 ± 0,018g, obtenidas de la cría del laboratorio de patología de insectos de la UFLA. Cinco larvas se colocaron en una caja de Petri con papel filtro (Diámetro=9cm) y fueron inoculadas con 100 JI de NEP mediante el sistema de infección tópica (Fig. 1C). Este procedimiento se realizó por cada especie de NEP. Las placas de Petri se llevaron a incubación a 25±2°C y se colocaron en cámara seca (caja de Petri con papel filtro) solo las larvas que presentaron sintomatología de infección (Fig. 1D). Así para steinernemátidos y heterorhabditidos la sintomatología típica son colores pardos y rojizos en la cutícula de las larvas respectivamente; entre 5 y 10 días después se colocaron radialmente las larvas en trampas White (White 1927) humedecidas con 5 mL de agua destilada (AD) (Figs. 1E-F) para obtener la nueva generación de JI emergiendo masivamente de larvas de *G. mellonella* (Fig. 1G), los cuales se emplearon para el experimento.

**Desinfección superficial y ajuste de concentraciones de JI.** En probetas de 1L se colocaron 800mL de agua destilada estéril (ADE) con hipoclorito de sodio al 0,05%. Por cada especie de nemátodos en alta concentración, se agregaron a las probetas 100 mL de AD con JI que estaban en las trampas White. Durante 12 horas a temperatura ambiente (tiempo y temperatura de acondicionamiento) se dejaron decantando los JI para de esta forma ser limpiados a medida que descienden por la probeta hasta reposar en el fondo. Posteriormente se recogieron los JI en aproximadamente 100 mL de AD, siendo transferidos a erlenmeyers de 500mL, con 100 mL de ADE con hipoclorito al 0,05% para desinfección y se verificó que los JI estuvieran vivos y activos (Fig. 1). Posteriormente por cada especie de NEP, se tomo una alícuota de 1mL y mediante una cámara de conteo de nemátodos (Fig. 1H) se ajustó a las

concentraciones evaluadas de 1000 JI/mL y 10000 JI/mL.

**Evaluación de temperatura y concentración para el almacenamiento de nemátodos.** Suspensiones ajustadas con los nemátodos *Steinernema carpocapsae*, *S. glaseri*, *S. arenarium*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *H. bacteriophora* cepa HP88 y *H. baujardi* cepa LPP7 en las concentraciones de 1000 y 10000 JI/mL, se colocaron en 25 mL de AD en vasos plásticos (110 mL de capacidad) protegidos con papel aluminio con perforaciones para permitir la oxigenación (Fig. 1J).

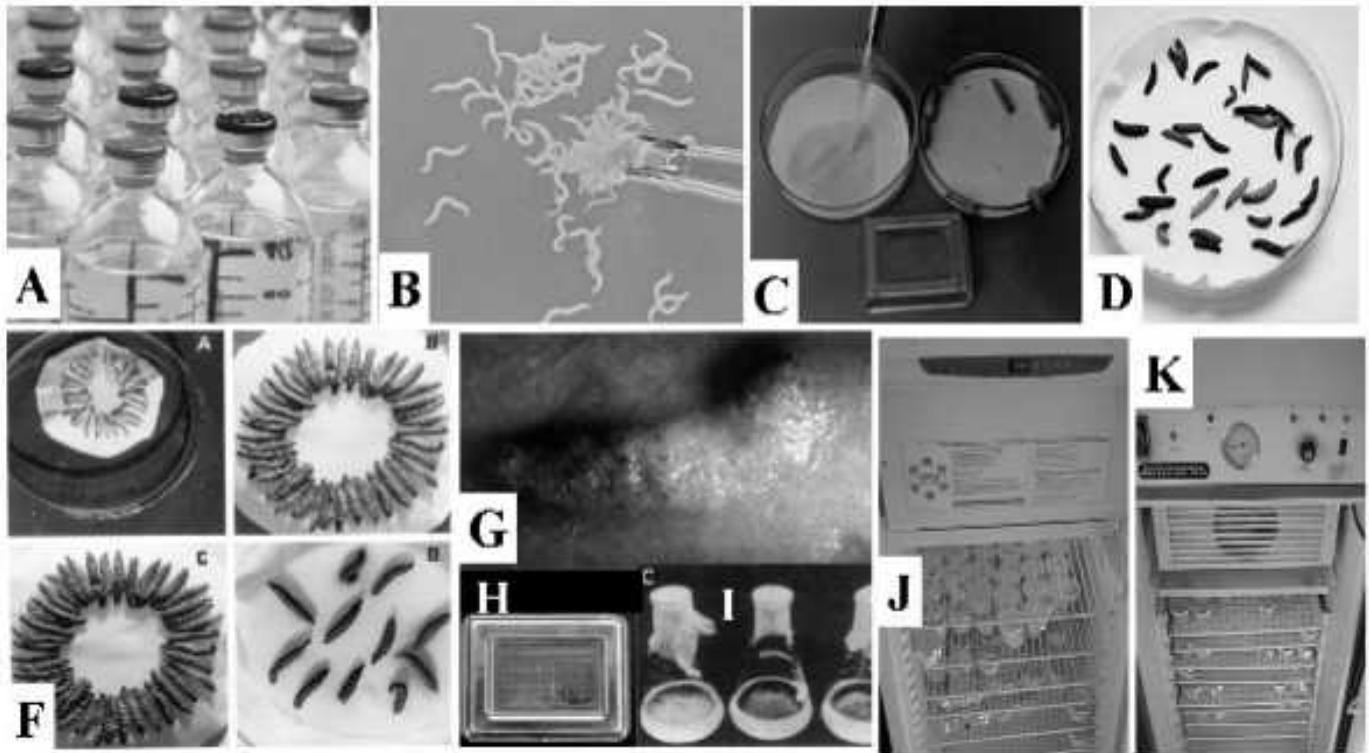
Los vasos con las diferentes especies y concentraciones de nemátodos fueron colocados a diferentes temperaturas (8, 12, 16, 20 y 24°C), en incubadoras con fotoperiodo de 12 horas (Fig. 1K). Las evaluaciones se hicieron en dos tiempos (15 días y 3 meses) al termino de los cuales se agitó cada vaso con los JI y se tomó una alícuota de 100uL en la cámara de conteo de nemátodos agregándose 900uL hasta completar 1mL y contar JI vivos y muertos. Este procedimiento se repitió cuatro veces por muestra para obtener un promedio. De esta forma se estimó la variable porcentaje de supervivencia de los nemátodos (PSN):

$$PSN = \left( \frac{JI \text{ vivos}}{JI \text{ muertos}} \right) \times 100$$

**Análisis estadístico.** Se utilizó un diseño enteramente aleatorio, en parcelas subdivididas en el tiempo (días y meses), en esquema factorial 6 x 2 en la parcela (los factores fueron seis especies de nemátodos y dos concentraciones evaluados en dos tiempos). Cada tratamiento contó con nueve repeticiones (vasos). Para la variable porcentaje de supervivencia de nemátodos, se realizó un análisis de variancia. Los promedios de JI producto de las temperaturas y concentraciones de NEP en los dos tiempos se compararon a través de la prueba Scott-Knott al 5% de significancia. Para cada especie de NEP se estimaron las ecuaciones de regresión ajustadas a diferentes modelos matemáticos de acuerdo con el coeficiente de correlación R<sup>2</sup>.

### Resultados y Discusión

**Supervivencia de nemátodos.** Se encontró para la variable porcentaje de supervivencia, que la interacción triple entre los factores temperatura, concentración



**Figura 1.** Esquema general del proceso de producción y almacenamiento de nemátodos entomopatógenos.

y tiempo fue significativa ( $P < 0,05$ ) para las seis especies de nemátodos.

Para la especie *S. carpocapsae* se presentaron PSN entre 81 y 96%, en un rango amplio de temperaturas entre 8 y 20°C, donde 12 y 16°C fueron las temperaturas que presentaron los mayores PSN. Existieron diferencias en supervivencia (Scott-Knott  $P < 0,05$ ) a favor del menor tiempo de evaluación (15 días) en todas las temperaturas, presentando los mayores PSN. No se encontraron diferencias en la concentración de JI empleada, don-

de para la mayor y menor concentración de JI a 16°C, se obtuvieron los mayores PSN (94,05 y 95,68%) y para 12°C se obtuvieron 91,65 y 90,08% respectivamente (Tabla 1). De esta forma los JI de *S. carpocapsae* podrían almacenarse en alta concentración a 16 y 12°C en corto tiempo con alta viabilidad, ya que presentan una respuesta similar a la encontrada con la menor concentración para las mismas temperaturas, esto con fines de uso práctico en pruebas de control biológico, con nemátodos de alta virulencia. Podría incrementarse el tiempo de almacena-

miento a tres meses, utilizándose una baja concentración a 12°C, pero con una reducción en la supervivencia hasta 77,65%, para obtener nemátodos viables para simple preservación.

De la misma forma, para la especie *S. glaseri*, se presentaron PSN (83 y 98%), en un rango amplio de temperaturas entre 8 y 20°C. Así temperaturas de 8, 12 y 16°C fueron las que presentaron la mayor supervivencia. Existieron diferencias en supervivencia (Scott-Knott  $P < 0,05$ ) a favor del menor tiempo de evaluación (15 días) en todas las temperaturas con los mayores PSN. También se presentaron diferencias ( $P < 0,05$ ) en la concentración de JI en las temperaturas donde se presentó supervivencia, a excepción de la temperatura 20°C, donde no se presentaron diferencias entre las concentraciones. Así los mayores PSN de 97,96, 94,95 y 94,99% se obtuvieron en la menor concentración a 8, 12 y 16°C respectivamente (Tabla 2).

Los JI de *S. glaseri* preferencialmente podrían almacenarse en baja concentración entre 8 y 16°C en corto tiempo con alta viabilidad. También alta concentración podrían emplearse a mayores temperaturas, entre 16 y 20°C, almacenando nemátodos con una viabilidad de 84,11 y 85,75% la cual es relativamente alta; esto en el caso de obtener un alto número de nemátodos producidos con fines de

**Tabla 1.** Supervivencia de *S. carpocapsae*

Factores		Concentración (JI/mL)	
T (°C)	Tiempo	1000	10000
8	15 días	87.40 Aa	80.87 Ab
	3 meses	60.37 Bb	55.81 Bb
12	15 días	91.65 Ab	90.08 Ab
	3 meses	77.65 Ba	60.94 Bb
16	15 días	94.05 Ab	95.68 Ab
	3 meses	49.76 Ba	28.97 Bb
20	15 días	81.13 Aa	78.14 Ab
	3 meses	35.74 Ba	15.55 Bb
24	15 días	66.11 Aa	52.73 Ab
	3 meses	6.40 Bb	6.55 Bb

Promedios (%) seguidos por la misma letra minúscula en la fila y mayúscula en la columna no difieren significativamente según el test Scott-Knott ( $p < 0,05$ )

uso práctico en corto tiempo. También podría incrementarse el tiempo de almacenamiento a tres meses con baja concentración a 12°C, con una leve reducción en la supervivencia a 82,88%, para el caso de obtener nemátodos de alta viabilidad para preservación.

Para la especie *S. arenarium*, se presentaron PSN entre 87 y 96% en un rango intermedio de temperaturas entre 12 y 20°C, donde 12 y 16°C fueron las temperaturas ideales. Existieron diferencias en supervivencia (Scott-Knott  $P < 0,05$ ) a favor del menor tiempo de evaluación (15 días) en la mayoría de las temperaturas, a excepción de la temperatura de 8°C donde el tiempo de almacenamiento no influyó en la supervivencia, la cual fue similar en ambos tiempos, pero donde la temperatura incidió en la baja supervivencia. Por otra parte no se presentaron diferencias en concentración de JI, principalmente en las temperaturas con las mayores supervivencias, donde para la mayor y menor concentración se obtuvieron PSN de 90,60 y 88,77% a 12°C y de 95,89 y 95,01 a 16°C respectivamente (Tabla 3).

De esta forma los JI de *S. arenarium* podrían almacenarse en corto tiempo en baja y alta concentración a 16 y 12°C con viabilidad superior al 88% para fines prácticos. De la misma forma que sucedió con los otros steinernemátodos, podría incrementarse el tiempo de almacenamiento a tres meses en alta concentración a 12°C, obteniendo nemátodos con viabilidad de 80,90% con el objetivo de mejorar su preservación.

Por otra parte, los heterorhabdítidos también presentaron diferencias ( $P < 0,05$ ) en tiempo de almacenamiento, concentración y un reducido rango de temperaturas en las cuales se obtuvieron altos PSN.

*H. bacteriophora* solamente presentó un PSN moderadamente alto de 78,13% a 24°C en la menor concentración y en el menor tiempo evaluado. Los otros PSN fueron inferiores al 57%, decreciendo con la disminución de la temperatura y con el aumento del tiempo y concentración. Existieron diferencias en supervivencia (Scott-Knott  $P < 0,05$ ) en alta proporción a favor del menor tiempo de evaluación y de la menor concentración de JI en las mayores temperaturas evaluadas (16 a 24°C). En temperaturas inferiores a 16°C, la supervivencia fue baja considerando que estas temperaturas no garantizan condiciones de supervivencia junto con las concentraciones y tiempo evaluados. (Tabla 4).

**Tabla 2.** Supervivencia de *S. glaseri*

Factores		Concentración (JI/mL)	
T (°C)	Tiempo	1000	10000
8	15 días	97.96 Aa	82.94 Ab
	3 meses	72.43 Ba	51.62 Bb
12	15 días	94.95 Aa	87.05 Ab
	3 meses	82.88 Ba	69.23 Bb
16	15 días	94.99 Aa	84.11 Ab
	3 meses	62.01 Ba	36.07 Bb
20	15 días	86.85 Aa	88.75 Aa
	3 meses	25.18 Bb	7.39 Bb
24	15 días	52.28 Aa	14.17 Ab
	3 meses	10.13 Bb	3.23 Bb

Promedios (%) seguidos por la misma letra minúscula en la fila y mayúscula en la columna no difieren significativamente según el test Scott-Knott ( $p < 0,05$ )

**Tabla 3.** Supervivencia de *S. arenarium*

Factores		Concentración (JI/mL)	
T (°C)	Tiempo	1000	10000
8	15 días	51.68 Bb	66.97 Aa
	3 meses	50.37 Ba	43.01 Bb
12	15 días	90.60 Aa	88.77 Aa
	3 meses	80.90 Ba	50.30 Bb
16	15 días	95.89 Aa	95.01 Aa
	3 meses	45.83 Ba	24.12 Bb
20	15 días	87.09 Aa	72.99 Ab
	3 meses	27.47 Ba	15.83 Bb
24	15 días	56.01 Aa	47.39 Ab
	3 meses	5.60 Bb	2.85 Bb

Promedios (%) seguidos por la misma letra minúscula en la fila y mayúscula en la columna no difieren significativamente según el test Scott-Knott ( $p < 0,05$ )

**Tabla 4.** Supervivencia de *H. bacteriophora*

Factores		Concentración (JI/mL)	
T (°C)	Tiempo	1000	10000
8	15 días	6.34 Aa	0 Bb
	3 meses	0.98 Ba	0 Ba
12	15 días	38.21 Aa	8.81 Ab
	3 meses	16.66 Ba	0.88 Bb
16	15 días	52.99 Aa	16.04 Ab
	3 meses	12.28 Ba	2.63 Bb
20	15 días	57.20 Aa	23.20 Ab
	3 meses	16.38 Ba	0.63 Bb
24	15 días	78.13 Aa	34.53 Ab
	3 meses	18.06 Ba	1.04 Bb

Promedios (%) seguidos por la misma letra minúscula en la fila y mayúscula en la columna no difieren significativamente según el test Scott-Knott ( $p < 0,05$ )

Así, para *H. bacteriophora* almacenada en alta concentración y durante 3 meses, no facilitaría la supervivencia del nemátodo, ya que se obtuvieron PSN inferiores al 34,53% y 2,63% respectivamente. Posiblemente, un tiempo corto de 15 días a un mes, en concentraciones mas bajas, teóricamente podrían incrementar la viabilidad de los JI, siendo necesario multiplicar nuevamente el nemátodo.

Por el contrario la cepa *H. bacteriophora* HP88, presentó una alta supervivencia (71 y 88%) en un rango de temperaturas mas bajas (16 y 24°C) con relación a *H. bacteriophora*. Las temperaturas de 20 y 24°C, fueron las mejores para *H. bacteriophora* HP88, con PSN de 87,64 y 82,20% respectivamente (Tabla 5).

Temperaturas inferiores a 12°C, en las concentraciones y tiempos evaluados, no favorecieron la supervivencia del nemátodo. Existieron diferencias en supervivencia (Scott-Knott  $P < 0,05$ ) a favor del menor tiempo de evaluación (15 días) en todas las temperaturas y también a favor de la menor concentración de JI.

A pesar de las diferencias entre la baja y alta concentración a 20 y 24°C la viabilidad en alta concentración es moderadamente alta y próxima a los mayores PSN en la menor concentración para las mismas temperaturas, con 68,08 y 71,23% respectivamente, lo que daría a entender que esta especie soporta una alta concentración de inóculo, sin incidir en su viabilidad. De esta forma, JI de *H. bacteriophora* cepa HP88 podrían almacenarse en una concentración intermedia o inferior a 5000JI/mL a 20 y 24°C en corto tiempo, y obtener una alta viabilidad, próxima a la encontrada con la menor concentración para estas mismas temperaturas. El tiempo de almacenamiento definitivamente debe estar entre 15 días a un mes ya que en 3 meses, con ninguna concentración ni temperatura, se logro obtener una alta viabilidad, por lo cual tanto para fines de uso como de manutención esta especie se debe multiplicar periódicamente.

*H. baujardi* cepa LPP7 fue la única especie entre los heterorhabditidos, que presentó el más alto PSN (91,98%) con el menor tiempo y concentración y con la mayor temperatura empleada (24°C). El otro PSN de importancia fue en la misma temperatura pero con la mayor concentración (80,25%) (Tabla 6).

Los otros PSN fueron inferiores al 67,38% registrado a 20°C, decreciendo a medida que disminuye la temperatura y

aumenta la concentración. Existieron diferencias en supervivencia (Scott-Knott  $P < 0,05$ ) a favor del menor tiempo de evaluación y de la menor concentración en todas las temperaturas.

Con relación a los otros heterorhabditidos, *H. baujardi* cepa LPP7 presenta la ventaja de que en alta temperatura (24°C), independientemente de la concentración, arroja una alta viabilidad en corto tiempo, con lo cual para fines de uso y manutención es recomendable estar multiplicando periódicamente, para obtener JI viables. Posiblemente una concentración intermedia, podría presentar una alta viabilidad para preservación del nemátodo para un tiempo superior a 15 días, ya que en las condiciones del experimento, para un tiempo de tres meses en

alta concentración, la viabilidad del nemátodo decrece drásticamente hasta un 21%.

Finalmente, en todos los heterorhabditidos se observó para el tiempo final de evaluación, una reducción en la cantidad de lípidos presentando estos un mayor tamaño al visualizar los JIs muertos al estereoscopio con relación a JI recién emergidos, aspecto que posiblemente estaría influenciado no solo por la naturaleza de los nemátodos, sino por la temperatura y/o tiempo de almacenamiento, incidiendo en la baja supervivencia. Caso contrario sucedió con steinernematidos para el tiempo final de evaluación, donde mantienen estable su cantidad de lípidos, presentando viabilidad, lo cual podría ser otro indicativo para

**Tabla 5.** Supervivencia de *H. bacteriophora* HP88

Factores		Concentración (JI/mL)	
T (°C)	Tiempo	1000	10000
8	15 días	0	0
	3 meses	0	0
12	15 días	0	0
	3 meses	0	0
16	15 días	70.58 Aa	44.83 Ab
	3 meses	9.39 Ba	0.44 Bb
20	15 días	87.64 Aa	68.08 Ab
	3 meses	24.66 Ba	0.11 Bb
24	15 días	82.20 Aa	71.23 Ab
	3 meses	17.38 Ba	0.22 Bb

Promedios (%) seguidos por la misma letra minúscula en la fila y mayúscula en la columna no difieren significativamente según el test Scott-Knott ( $p < 0,05$ )

**Tabla 6.** Supervivencia de *H. baujardi* LPP7

Factores		Concentración (JI/mL)	
T (°C)	Tiempo	1000	10000
8	15 días	0	0
	3 meses	0	0
12	15 días	13.76 Aa	3.99 Ab
	3 meses	4.82 Ba	0 Bb
16	15 días	38.86Ab	43.0 Aa
	3 meses	3.59 Ba	0 Bb
20	15 días	67.38 Aa	60.92 Ab
	3 meses	10.39 Ba	0 Bb
24	15 días	91.98 Aa	80.24 Ab
	3 meses	21.14 Ba	1.58 Bb

Promedios (%) seguidos por la misma letra minúscula en la fila y mayúscula en la columna no difieren significativamente según el test Scott-Knott ( $p < 0,05$ )

**Tabla 7.** Ecuaciones de regresión para las especies *S. carpocapsae* y *S. glaseri*

Factores	Ecuación <i>S. carpocapsae</i>	R <sup>2</sup> %	Ecuación <i>S. glaseri</i>	R <sup>2</sup> %
15d/1000JI	$Y=67,45+3,33X-0,11X^2$	98,47	$Y=177,78-19,71X+1,52X^2-0,038X^3$	99,95
15d/10000JI	$Y=-23,68+21,40X-1,22X^2+0,02X^3$	87,51	$Y=279,06-49,05X+3,84X^2-0,094X^3$	96,43
3m/1000JI	$Y=-98,74+35,31X-2,22X^2+0,04X^3$	96,16	$Y=-166,53+54,35X-3,62X^2+0,0069X^3$	99,82
3m/10000JI	$Y=-92,98+36,37X-2,63X^2+0,05X^3$	97	$Y=-258,32+71,57X-4,88X^2+0,098X^3$	99,45

**Tabla 8.** Ecuaciones de regresión para las especies *S. arenarium* y *H. bacteriophora*

Factores	Ecuación <i>S. arenarium</i>	R <sup>2</sup> %	Ecuación <i>H. bacteriophora</i>	R <sup>2</sup> %
15d/1000JI	$Y=-127,54+32,68X-1,39X^2+0,015X^3$	99,36	$Y=-192,92+40,12X-2,25X^2+0,04X^3$	99,78
15d/10000JI	$Y=47,59+2,84X+0,19X^2-0,013X^3$	94,09	$Y=-12,01+1,39X+0,022X^2$	99,55
3m/1000JI	$Y=-249,64+66,69X-4,27X^2+0,08X^3$	95,21	$Y=-94,32+20,03X-1,19X^2+0,02X^3$	88,63
3m/10000JI	$Y=-158,43+46,88X-3,19X^2+0,06X^3$	90,98	$Y=-10,86+2,15X-0,12X^2+0,002X^3$	56,59

**Tabla 9.** Ecuaciones de regresión para las especies *H. bacteriophora* HP88 y *H. baujardi* LPP7

Factores	Ecuación <i>H. bacteriophora</i> HP88	R <sup>2</sup> %	Ecuación <i>H. baujardi</i> LPP7	R <sup>2</sup> %
15d/1000JI	$Y=219,39-58,01X+4,58X^2-0,099X^3$	93,96	$Y=-27,56+2,36X+0,11X^2$	99,59
15d/10000JI	$Y=241,59-60,40X+4,54X^2-0,11X^3$	99,21	$Y=-36,37+3,39X+0,07X^2$	95,50
3m/1000JI	$Y=39,21-9,60X+0,69X^2-0,01X^3$	99,60	$Y=109,03-28,77X+2,24X^2-0,04X^3$	98,67
3m/10000JI	$Y=0,49-0,17X+0,02X^2+0,0004X^3$	63,14	$Y=-33,25+7,65X-0,54X^2+0,01X^3$	98,27

prolongar por mas tiempo su almacenamiento, ya que no han hecho uso de parte de sus reservas lipídicas.

En las tablas 7, 8 y 9, se presentan las ecuaciones de regresión estimadas para cada especie de nemátodo, representando la viabilidad de las diferentes especies a diferentes concentraciones y tiempos de evaluación, según las temperaturas evaluadas.

De acuerdo con Kaya y Stock (1997), los nemátodos pueden ser almacenados con alta viabilidad en un rango de temperaturas que varían de 4 a 15°C de 6 a 9 meses para steinernematidos y de 3 a 4 meses para heterorhabdítidos. En el experimento se encontró que un rango de 8 a 16°C es el más adecuado para almacenar steinernematidos con alta viabilidad en cualquier concentración hasta un periodo inclusive superior a tres meses; la supervivencia comienza a decrecer levemente en baja concentración de inóculo para este tiempo. Temperaturas de almacenamiento superiores de 20 a 24°C, comenzaron a afectar la supervivencia de estos steinernematidos. Por el contrario este rango de temperatura benefició a los heterorhabdítidos, los cuales presentaron alta supervivencia a mayores temperaturas y a baja concentración de inóculo en corto tiempo. De la misma forma, temperaturas inferiores a 16 grados afectaron la supervivencia de este grupo de nemá-

todos, los cuales consiguen sobrevivir hasta tres meses pero con muy baja supervivencia; por esto, se deben estar multiplicando frecuentemente.

Esta diferencias en la supervivencia en condiciones de almacenamiento tanto para steinernematidos y heterorhabdítidos posiblemente obedecen a su adaptación térmica adquirida desde los lugares de origen de donde fueron aislados.

De acuerdo con Kaya (1990), temperaturas superiores a 30°C o inferiores a 9°C, afectan la persistencia de NEP, variando entre las especies. Especies subtropicales como *S. glaseri* persisten en el medio por más tiempo a temperaturas entre 10 y 35°C que a temperaturas inferiores a 5°C; *S. carpocapsae* persiste más tiempo entre 5 y 15°C que a 35°C. También la adaptación a diferentes temperaturas depende del lugar de aislamiento; así, heterorhabdítidos aislados de las regiones templadas persisten mejor a temperaturas más bajas que los aislados en áreas tropicales, en donde resisten altas temperaturas, tal es el caso de *Heterorhabditis indica* (Kaya 1990). De acuerdo con Segal y Glazer (2000), especies como *H. bacteriophora* HP88 presentan una alta tolerancia al calor, prolongando su supervivencia por 6 horas a 37°C, lo que explicaría posiblemente la alta supervivencia encontrada en el experimento en temperaturas altas de almacenamiento, no

solo en el caso *H. bacteriophora* HP88, sino para *H. baujardi* LPP7. Esta especie presentó una alta supervivencia a 24°C. Probablemente, a temperaturas mayores este nematodo podría lograr alta supervivencia. Estas características de adaptación a temperaturas mayores podrían beneficiar heterorhabdítidos, no solo para almacenamiento en laboratorio sino para su uso en campo, en programas de control biológico en áreas de alta temperatura.

Precisamente una de las mayores causas que impide a los NEP alcanzar su potencial en control biológico es su sensibilidad a altas temperaturas del medio y también en almacenamiento, donde algunas especies son poco termotolerantes para sobrevivir (Kaya y Gaugler 1993). Este aspecto restringe la aplicación de NEP en ambientes de alta temperatura, principalmente en aplicaciones foliares (Kaya 1990).

Por otra parte, la persistencia de steinernematidos asociada a bajas temperaturas, puede depender más de la tolerancia al frío por naturaleza, que de la cantidad de reservas energéticas (Grewal 2000). Molineux (1985) afirma que bajas temperaturas inducen no solo inactividad de los JI, sino un aumento en su persistencia en el tiempo, ya que existe una disminución en la actividad enzimática y en los gastos metabólicos. De esta forma, comienza una acumulación de trehalosa

y reducción en los niveles de lípidos, característico de steinernematidos como *S. carpocapsae*, con alta supervivencia en el tiempo (Kaya 1990). Los JI de *S. feltiae* entran en inactividad a 5°C, comenzando a acumular trehalosa y sólo a 20°C logran activarse. Al parecer los JI parecen experimentar un periodo obligatorio de inactividad, indicando el establecimiento de un estado de diapausa (un estado temporal de inactivación por temperatura asociado con una fase de morfogénesis), en el cual son incapaces inclusive de infectar hasta recuperar su viabilidad a temperatura de acondicionamiento (Fan y Hominick 1991).

Estas características de tolerancia al frío y acumulación de trehalosa, pudieron favorecer la supervivencia principalmente de los steinernematidos empleados en el experimento, prolongando su persistencia y viabilidad en el tiempo, aspecto que no sucedió en los heterorhabditidos, donde en el tiempo final de evaluación exhibieron agotamiento de sus reservas lipídicas y una alta mortalidad.

### Conclusiones

En nemátodos steinernematidos temperaturas de almacenamiento de un rango amplio de 8 a 20°C indiferente de la concentración empleada, favorecieron la alta supervivencia de los JI, prolongando su viabilidad hasta tres meses.

En nemátodos heterorhabditidos temperaturas de almacenamiento en un rango entre 16 a 24°C, en la menor concentración y para un tiempo entre 15 días y el mes de almacenamiento, favorecieron la alta supervivencia de los JIs.

Cada especie de NEP, tiende a presentar características particulares de temperatura, concentración y tiempo de almacena-

miento para su preservación con alta supervivencia.

### Recomendaciones

Implementar el almacenamiento de estas especies teniendo en cuenta la concentración de JI, el tiempo y la temperatura, para así mejorar su supervivencia con fines de control biológico y/o manutención de los mismos.

Para futuros trabajos se recomienda evaluar condiciones similares de bioensayo, empleando otros sustratos para almacenar nemátodos, con el objetivo de mejorar su supervivencia en el tiempo.

### Agradecimientos

A la Dra. Claudia Dolinski del Departamento de Produção Vegetal de la Universidade Estadual do Norte Fluminense "UENF" (Campos dos Goytacazes-RJ-Brasil) y a la Dra. Marineide Aguilera, de la Universidade Federal de São Carlos (Araras-SP-Brasil) por su colaboración y constate incentivo.

### Literatura citada

- EHLERS R. U. 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: Practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Biocontrol Science and Technology* 6: 303-316.
- FAN, X.; HOMINICK M. W. 1991. Effects of low storage temperature on survival and infectivity of two *Steinernema* species (Nematoda: Steinernematidae). *Revue Nematologia*. 14:407-412.
- GEORGIS, R.; S. A. MANWEILER. 1994. Entomopathogenic nematodes: A developing biological control technology. *Agriculture Zoology Review* 6:63-94.
- GREWAL, P.S. 2000. Anhydrobiotic potential and long-term storage of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae).

*International Journal for Parasitology* 30, p. 995-1000.

- KAYA, H. K.; STOCK, P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L. Manual of techniques in insect pathology. Academic Press p.281-324.
- KAYA, H. K. 1990. Soil ecology. En: Entomopathogenic nematodes in biological control. R. Gaugler and H. K. Kaya (Eds.). CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 93-115.
- KAYA, H. K.; GAUGLER, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*, 38:181- 206.
- MOLINA J. P.; LÓPEZ N. J. C. 2003. Supervivencia y parasitismo de nemátodos entomopatogénos para el control de *Hypothenemus hampei*, (Coleoptera: Scolytidae) en frutos de café. *Revista Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas* 29(4): 523-533.
- MOLINA J. P.; LÓPEZ N. J. C. 2001. Producción in vivo de tres entomonemátodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. *Revista Colombiana de Entomología* 27(1-2): 73-78.
- MOLINEUX A. C. 1985. Survival of infective juveniles of *Heterorhabditis* spp and *Steinernema* spp (Nematoda: Rhabditida) at varies temperatures and their subsequent infectivity for insects. *Review Nematology* 8: 165.
- SEGAL, D.; GLAZER, I. 2000. Genetics for improving biological control agents: the case of entomopathogenic nematodes. *Crop Protection* 19: 685-689.
- SMITS, P. H. 1996. Post-application persistence of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology* 6: 379-387.
- WHITE, G. F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science* 66: 302-303.

Recibido: 03-mar-05 • Aceptado: 16-ago-05

## Evaluación de dos cepas comerciales de entomonematodos como agentes de control de *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae)

Evaluation of two commercial strains of entomonematodes as control agents of *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae)

ELSA LILIANA MELO M.<sup>1</sup>, CARLOS ALBERTO ORTEGA-OJEDA<sup>2</sup>, ANDREAS GAIGL<sup>3</sup>, RALF-UDO EHLERS<sup>3</sup>, ANTHONY C. BELLOTTI<sup>2</sup>

**Resumen.** *Cyrtomenus bergi* Froeschner es un fitófago subterráneo importante en cultivos tropicales. Se evaluaron dos cepas comerciales de nemátodos entomopatógenos (nep) (*Steinernema feltiae* (Filipjev) y *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar) como antagonistas biológicas bajo invernadero (18-28°C y 55-85% humedad relativa). Se utilizaron las concentraciones comerciales recomendadas por la casa comercial E-nema: 1000 y 500 nep/ml de *S. feltiae* y *H. bacteriophora*, respectivamente. Estas soluciones se aplicaron en potes de 1,5 dm<sup>3</sup> con suelo agrícola y arena (1:1) con 20 individuos de *C. bergi* (adultos o inmaduros del quinto instar) confinados por pote. Los insectos fueron alimentados con plantas de maní (*Arachis hypogaea* L.). La tasa de infestación en el chinche y la mortalidad fueron medidas por medio de evaluaciones destructivas a los 15 y 30 días después de infectados (ddi), tres potes por época. Solo los adultos resultaron infectados (P<0,05). Considerando ambas evaluaciones y todas las cepas, se observó la mayor tasa de penetración en *S. feltiae* (93,9%) comparado con *H. bacteriophora* (72,1%). En términos de mortalidad, a 15 ddi *H. bacteriophora* (42,2%) mató a más insectos que *S. feltiae* (8,6%); sin embargo, a los 30 ddi no se encontraron diferencias entre las dos cepas de nep (ca. 54,3%). Adicionalmente, se observaron nemátodos melanizados, probablemente como respuesta inmunológica de *C. bergi* al entomopatógeno, donde *S. feltiae* (37,5%) fue más susceptible que *H. bacteriophora* (13,1%) a los 30 ddi. Se concluye que solo los chinches adultos son significativamente susceptibles a los entomonematodos; *H. bacteriophora* es la cepa más promisoriosa al obtener las mayores mortalidades en menos tiempo y presentar el menor porcentaje de melanización bajo estas condiciones.

**Palabras clave:** *Steinernema feltiae*. *Heterorhabditis bacteriophora*. Control Biológico. Melanización.

**Abstract.** *Cyrtomenus bergi* Froeschner is a subterranean phytophage important in tropical crops. We tested two commercial entomopathogenic nematode (epn) strains (*Steinernema feltiae* (Filipjev) and *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar) as biological antagonists in the greenhouse (18-28°C and 55-85% relative humidity). We used the concentrations recommended by the supplier E-nema: 1000 and 500 epn/ml of *S. feltiae* and *H. bacteriophora*, respectively. These solutions were applied to pots of 1,5 dm<sup>3</sup> filled with agricultural soil and sand (1:1) with 20 burrower bugs (adults or 5th instar immatures) confined to each pot. The insects were fed on groundnuts (*Arachis hypogaea* L.). Infestation rate of the burrower bug and mortality were measured through destructive evaluations 15 and 30 days after application (daa), three pots per time period. Only adults were infested (P<0,05). Considering both evaluations and all strains, we observed the greatest penetration rate for *S. feltiae* (93,9%) compared to *H. bacteriophora* (72,1%). In terms of mortality, *H. bacteriophora* killed more bugs after 15 days (42,2%) than *S. feltiae* (8,6%); however, after 30 days no differences were found between the two epn strains (54,3%). Moreover, we observed melanized nematodes, probably as an immune response of *C. bergi* against nematodes, where *S. feltiae* (37,5%) was more susceptible than *H. bacteriophora* (13,1%) at 30 daa. We conclude that only adults of *C. bergi* are susceptible to entomonematodes; *H. bacteriophora* is the most promising strain for producing greater mortality in less time and presenting a lower percent of melanization under these conditions.

**Key words:** *Steinernema feltiae*. *Heterorhabditis bacteriophora*. Biological Control. Melanization.

### Introducción

*Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae), chinche subterráneo de la viruela, es considerada una importante plaga rizófaga cuyos registros en Colombia se han realizado sobre maíz (ICA

1980), yuca (CIAT 1980; García y Bellotti 1980) y maní (Riis 1997); reportándose como un problema serio en diversas regiones a través del Neotrópico (Bellotti *et al.* 1988). Su distribución geográfica aún no está bien determinada, habiéndose encontrado únicamen-

te en países como Cuba, Surinam, Ecuador, Panamá, Colombia, Brasil y Costa Rica (Clavijo 1981; Lacerda 1983; Carballo y Saunders 1990a; Riis 1990; Aguilar *et al.* 1991). En Colombia el rango geográfico es amplio y se ha encontrado en 15 departamentos: Cauca, Valle

1 Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Colombia. A.A. 6713, tel: 445 00 00, fax: 445 00 73, e-mail: meloelsa@gmail.com

2 Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Colombia. E-mail: a.gaigl@cgiar.org

3 Instituto de Fitopatología, Departamento de Biotecnología y Control Biológico, Universidad de Kiel, Klausdorfer Straße 28-26, 24223 Raisdorf, Alemania.

del Cauca, Tolima, Huila, Quindío, Risaralda, Caldas, Antioquia, Córdoba, Magdalena, Sucre, Bolívar, Atlántico y los dos Santanderes (Sánchez 1996).

El daño del chinche es causado tanto por ninfas como por adultos al introducir su estilete en la epidermis y corteza de la raíz, permitiendo indirectamente la entrada de microorganismos del suelo de géneros como *Fusarium*, *Aspergillus*, *Genicularia*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Diplodia* (CIAT 1980). El insecto posee tres estados de desarrollo, huevo, ninfa (cinco instares) y adulto, este último es volador, todos se desarrollan en el suelo, incluyendo la cópula y oviposición. Los vuelos nocturnos de estos adultos, y su repentina aparición en nuevas localidades sugiere que es altamente móvil (Gold *et al.* 1988, Bellotti *et al.* 1999). Arias y Bellotti (1985) sugieren que las malezas aledañas a los cultivos pueden servir de hábitat permanente desde donde *C. bergi* puede migrar a los cultivos; de hecho, Lacerda (1983) capturó más adultos en trampas de luz que estaban próximas a la vegetación nativa que en trampas dentro del cultivo.

En estudios de laboratorio cuando se alimenta al insecto con raíces de yuca con bajo contenido de cianuro (HCN) el periodo de incubación promedio de huevo es de 13,5 días, los estados ninfales ocurren en 111,3 días y el promedio de vida del adulto es de 293,4 días. Esto indica que *C. bergi* puede vivir más de un año alimentándose de estas raíces (García y Bellotti 1980). En efecto, la plaga se alimenta de muchos cultivos como: yuca (*Manihot esculenta* Crantz), maíz (*Zea mays* L.), maní (*Arachis hypogaea* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.), cebolla (*Allium fistulosum* L. y *Allium cepa* L.), palma africana (*Elaeis guinensis* Jacq.), café (*Coffea arabica* L.), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), frijón (*Phaseolus vulgaris* L.), arveja (*Pisum sativum* L.), espárragos (*Asparagus officinalis* L.), cilantro (*Coriandrum sativum* L.), pastos y malezas (Bellotti y García 1983; Lacerda 1983; Riis 1990).

Por su amplia distribución, presenta daños que implican hasta el 100% de la producción de muchos cultivos, no siendo siempre identificado como el causante de estos males por encontrarse camuflado en el suelo (Vargas 1996; Bellotti *et al.* 1988). En el cultivo de la yuca no afecta el vigor de la planta, y el daño en raíces no se detecta hasta el momento del pelado de éstas, lo cual toma de sorpresa a los

agricultores que ya no pueden hacer nada en este momento; se ha reportado más del 85% de raíces afectadas y un 51% de reducción en la producción de almidón (CIAT 1983; CIAT 1985; Riis 1997). En maíz se le atribuye el 50% en la reducción de la emergencia de plantas y en ataques severos en esta edad puede causar marchitamiento del cultivo; observándose igualmente manchas rojas circulares en las raíces donde ocurre la inserción del estilete y clorosis de las hojas de plantas atacadas (Shenk y Saunders 1984; King y Saunders 1984). En maní tanto ninfas como adultos pueden penetrar la vaina y alimentarse de los granos; en ataques poco severos se observan manchas de pudrición secas delimitadas que van de amarillo a café (Riis 1997).

Su control en zonas endémicas mediante insecticidas sintéticos, aunque puede reducir la población del insecto, no es muy efectivo ni recomendable, no solo por los costos, sino también por la destrucción de los enemigos naturales que controlan otras plagas asociadas a cultivos, el deterioro ambiental que causa su uso frecuente y el perjuicio a la salud humana (Bellotti *et al.* 1988; Carballo y Saunders 1990b). Por este motivo la alternativa es el manejo integrado de la plaga y, dentro de éste, el componente biológico de control.

Dentro de la búsqueda de enemigos naturales, que comparten los hábitats crípticos de la plaga se pueden destacar los entomopatógenos, siendo uno de los más importantes, los nemátodos. En los últimos 50 años, diferentes tipos de nemátodos que atacan insectos han sido examinados como un potencial para el control biológico de plagas. Los grupos más estudiados son los de hábito obligado como los mermitidos, los de hábito facultativo como los neotilénquidos; y, los más importantes, los steinernemátidos y heterorabdítidos de hábito críptico (Federici 1999).

Los nemátodos entomopatógenos (nep's) (Rhabditida), se aplican inundativamente y usualmente no es necesario que se multipliquen en el hábitat, por lo que un amplio espectro de competencias ecológicas que son esenciales para los nep's silvestres podrían sacrificarse en la producción de cepas comerciales, dedicando los recursos de investigación hacia características de importancia comercial como formulación, viabilidad o, introducción de combinaciones de genes originales que no se hayan favorecido en la selección

natural o que no estuvieron disponibles en las poblaciones ancestrales. Las cepas que expresan combinaciones de genes originales transmitirán sus capacidades con menor probabilidad, de modo que no persistan indefinidamente como las cepas naturales que sufrieron selección por competencia bajo condiciones naturales. Acorde con esta línea de pensamiento, aunque pareciera favorecer a los productores, desde el punto de vista del cuidado ambiental y, donde hayan estrictas medidas de seguridad, los industriales deberían desarrollar cepas de nep's que sean estrictamente hechas para sus propósitos y, a la vez, sean incapaces de persistir indefinidamente en el campo. Respecto al uso de cepas transformadas, se podría llegar al uso de cepas incapaces de cruzarse, por ejemplo, *Heterorhabditis*, que puede producirse comercialmente sin la necesidad de fertilización cruzada; las líneas incapaces de aparearse tendrían reducida posibilidad de establecerse, liberar o de transferir genes a cepas silvestres, lo que evitaría alteraciones en los ecosistemas, favoreciendo que las especies introducidas no desplacen a las nativas (Downes y Griffin 1996).

La liberación de cepas exóticas para el control biológico de plagas, se está realizando hace más de un siglo en todo el globo. Estas en muchos casos no han sido efectivas, pero no se conoce que causen problemas a la salud humana. Aunque no se espera que las cepas introducidas perduren en el ambiente, debido a la incapacidad de reproducción, inducida en algunos casos, o al problema de adaptación de especies foráneas, la capacidad de sobrevivir de las cepas nativas debería sacrificarse en las introducidas, factor que no presentaría riesgos en la seguridad ecológica en aplicaciones inundativas (Downes y Griffin 1996).

Al respecto, como lo anota Ehlers (1996), las reglas para el control de los riesgos en el uso de nep's exóticos deberían estandarizarse internacionalmente y relacionarse específicamente a la biología y ecología de estos nep's. El volumen de los actuales mercados no justificaría para los nemátodos los costos de los procedimientos de registros actualmente requeridos para químicos, insecticidas microbiales u organismos genéticamente modificados. Adicionalmente, las políticas reguladoras deberían alcanzar a abarcar la introducción de nep's como agentes de biocontrol.

En Colombia cepas nativas e introducidas han sido evaluadas como agentes de

control mostrando posibilidades para el manejo de *C. bergi* bajo condiciones de laboratorio e invernadero.

En los últimos años se ha observado un gran interés en el uso de estos microorganismos para el control de plagas pero, considerando lo antes expuesto y el hecho de que una especie nativa tendría menos problemas de adaptabilidad que una introducida, se ha incrementado la necesidad de hacer reconocimientos de especies nativas, partiendo de exploraciones de suelos y previendo también el intercambio de cepas entre instituciones, lo que puede devenir en la introducción de nep's exóticos de un área a otra. Por lo anterior se deben identificar y manejar los riesgos y las desventajas que pueden traer estos eventos.

Por otro lado, dentro de los factores que pueden limitar la introducción exitosa de estos nep's, Jansson (1993), destaca a los siguientes: la biología, comportamiento del hospedero blanco y su hábitat, virulencia e infectividad, tiempo de almacenamiento de los productos, factores abióticos y bióticos del lugar donde se liberarán, estrategias de aplicación, etc. Dentro de los riesgos de introducir estos patógenos se tiene en cuenta: el potencial para diseminarse, el rango de hospederos, el impacto sobre los organismos no blancos, la permanencia en el sitio de introducción, el desplazamiento de las cepas nativas y la relación con las bacterias simbiotes.

El efecto nocivo que *C. bergi* está causando en variedad de cultivos ha motivado algunos experimentos buscando estudiar su control y su comportamiento frente a diferentes controladores principalmente nep's y hongos entomopatógenos; de éstos, los estudios específicamente con nemátodos entomopatógenos realizados en el país para el manejo de esta plaga son pocos (CIAT 2003; CIAT 2004; Struck *et al.* 2004; Jaramillo *et al.* 2005)

Se ha evaluado por ejemplo *Steinernema carpocapsae* Weiser especie que parasita exitosamente todos los estados del chinche en laboratorio, siendo el adulto el estado más susceptible, con 58,6% de infección después de 10 días de inoculado; mientras que los menos susceptibles fueron el primer y segundo instar con 17 y 31%, respectivamente (Caicedo y Bellotti 1994).

Otras investigaciones hechas en laboratorio con dos cepas nativas de *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (LFR92 y

SQC92), mostraron que las dos razas parasitaron todos los estados del chinche; donde el parasitismo más bajo (65%) se presenta en ninfas de primer instar con ambas razas, mientras que el quinto instar resultó más susceptible, con un 90 y 100%, para SQC92 y LFR92 respectivamente 10 días después de inoculado (Barberena y Bellotti 1998). Experimentos realizados con cepas nativas e introducidas de *Steinernema* spp. y *Heterorhabditis* spp. muestran infecciones hasta del 100%, pero presentándose mortalidades muy bajas (22%); esto debido posiblemente a un efecto de inmunidad del chinche frente a estos nep's, observándose incluso un fenómeno de melanización (CIAT 2003).

Luego de algunos experimentos realizados en condiciones de laboratorio, el Proyecto de Manejo Integrado de Plagas Subterráneas del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), se ha planteado esta investigación con el objetivo de determinar la eficiencia de dos entomopatógenos *Steinernema feltiae* (Filipjev) y *H. bacteriophora*, cepas comerciales de E-NEMA®, sobre los dos últimos estados de desarrollo de la plaga *C. bergi* en condiciones de invernadero.

### Materiales y Métodos

**Ubicación.** Este ensayo se llevó a cabo en invernadero, bajo condiciones de temperatura entre 18 a 28°C y humedad relativa entre 55 a 85%; en el campo experimental del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Palmira, Departamento del Valle del Cauca, a 965 msnm.

**Cría del insecto blanco.** Se seleccionaron para este experimento los estados adulto y quinto instar de *C. bergi*, por ser los más susceptibles a los nep's (Caicedo y Bellotti 1994; Barberena y Bellotti 1998); la cría se mantuvo en un cuarto de crecimiento a 22°C y 70 ± 5% de humedad relativa, en total oscuridad, en recipientes de acrílico rectangulares, con suelo a capacidad de campo, esterilizado previamente por ebullición en mufas u hornos de suelos por 24 horas a 105°C. Se alimentaron con maní, dieta que es reemplazada cada ocho días; tiempo en el cual los chinches succionan la semilla o las raíces que estas produzcan al germinar. Este insecto se seleccionó por instares de primero a quinto y adultos: manteniendo alrededor de 500 individuos por caja. Después de establecida la colonia los adultos se cambiaron de suelo cada ocho días para separar los huevos.

**Insecto trampa.** Como control, se incluyeron larvas de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), a fin de ser un indicador de infección de la suspensión de nemátodos, debido a su alta susceptibilidad a éstos. Las larvas, de último instar se obtuvieron, al igual que los chinches, de la cría que se mantiene en el Laboratorio de Manejo Integrado de Plagas del Centro Internacional de Agricultura Tropical. La cría se mantiene en un cuarto a 29°C y humedad relativa de 67%, con una dieta consistente en 500 g de salvado de trigo, 145 g de levadura de cerveza, 72 g de cera de abejas, 150 cm<sup>3</sup> de glicerina, 270 cm<sup>3</sup> de miel de abejas y formaldehído, aplicada como 1% del total de los "líquidos viscosos" (la mezcla glicerina + miel). Además se utilizó estreptomycinina una vez al mes en una dosis de 0,25 g por 500 g de salvado, con el objetivo de disminuir la contaminación por bacterias y hongos.

Se utilizaron frascos de vidrio grandes y de boca ancha para la oviposición de los adultos y recipientes de acrílico rectangulares (24 x 32 x 11 cm) para los huevos y larvas. Las bandejas se esterilizaron previamente con agua caliente e hipoclorito, con posterior exposición a luz ultravioleta (12 h).

**Nematodos.** Provinieron de dos cepas híbridas importadas de Alemania como productos comerciales de la empresa E-NEMA®: NEMAPLUS (*S. feltiae*) y NEMATOP (*H. bacteriophora*), que se adquirieron una vez cumplidas las regulaciones del Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Estos productos se obtienen en bolsas plásticas estériles, en un sustrato arcilloso de fácil dilución en agua. El material es inocuo para vertebrados e invertebrados. La inoculación con nemátodos se realizó dos semanas después de la infestación con el chinche, a fin de que este último se adapte previamente a las condiciones de cría bajo invernadero. Para el efecto, se aplicó una suspensión de 500 000 nemátodos por m<sup>2</sup>, es decir, 7 697 nemátodos en la superficie del pote (153,94 cm<sup>2</sup>) así:

**Nemaplus:** Bajo la recomendación de la casa comercial de 50 millones de nemátodos *S. feltiae* sobre una superficie de 100 m<sup>2</sup> en 20 a 50 litros de agua (1000 nep/ml de agua), se calcularon: 7,7 ml para la superficie de la materia, con 7 697 nemátodos (ca. 1000 nep/ml).

**Nematop:** Bajo la recomendación comercial de 50 millones de nemátodos de *H. bacteriophora* para 100 m<sup>2</sup> con 120 litros de agua (417 nemátodos/ml de agua),

se calcularon: 18,47 ml para la superficie de la materia, con 7 697 nep (ca. 500 nep/ml).

Se agitó la suspensión con nemátodos previo a cada aplicación (inoculación) en los tratamientos propuestos para homogenizar el producto. La movilización de estos preparados se hizo siguiendo las recomendaciones técnicas para evitar muerte o debilitamiento de los nep's, por efecto de los rayos UV, altas temperaturas, desecamiento, etc.

Los nemátodos se aplicaron en las horas de la tarde sobre un suelo ligeramente húmedo (a capacidad de campo). Posteriormente a la aplicación se regaron 40 ml de agua por materia para facilitar la dispersión de los nemátodos dentro del sustrato.

**Ensayo en invernadero.** Se utilizó como hospedero (alimento) para los chinches, plántulas de maní sembradas 15 días antes de la infestación. Se utilizaron materas de 15 x 15 x 10 cm para almacenar aproximadamente 1 500 cm<sup>3</sup> de suelo (50% arena + 50% suelo agrícola), con una superficie efectiva de 153,94 cm<sup>2</sup> (14 cm de diámetro superficial). Cada unidad experimental contó con seis potes, en los que se sembraron cinco plantas que luego se ralearon para dejar solo tres por pote; en cada pote se colocaron 20 chinches de cada estado. En todos los tratamientos se colocó una cabina de acetato para evitar que escapen los insectos. Todos los potes fueron colocados en jaulas con tul para individualizar los tratamientos.

En el caso del control de viabilidad de las cepas de nemátodos se colocaron larvas de último ínstar de *G. mellonella* en minijaulas de malla metálica para evitar que escapen; estas se introducen en los potes, en la zona cercana a la superficie (bajo el suelo) y a la zona radicular, a los días 1, 15 y 30 desde la inoculación con nep (ddi).

**Diseño experimental.** Se utilizó un diseño experimental de bloques completos aleatorios DBCA, con arreglo factorial de 2 x 2 + 3, con tres repeticiones. Se evaluaron dos factores en estudio: chinches de dos edades (quinto ínstar y adultos) criados en laboratorio, y dos cepas comerciales de nemátodos (E-NEMA®), *S. feltiae* y *H. bacteriophora*. A éstos se sumaron testigos con agua destilada tanto para adultos como para quinto ínstar. De la combinación de los factores en estudio y un control con *G. mellonella* se desglosaron seis tratamientos. Estos ensayos se evaluaron en dos épocas, a los

15 y 30 días después de aplicar los nemátodos (ddi).

**Ensayo complementario en laboratorio.** Para esto se dispuso un experimento en bloques completos aleatorios en arreglo factorial de 2 x 2 + 2, con dos factores en estudio comprendidos por dos edades de chinches (adulto y quinto ínstar) y dos cepas de nemátodos entomopatógenos (*S. feltiae* y *H. bacteriophora*), con 11 repeticiones y seis tratamientos, esto se evaluó a los 30 ddi. Para el efecto se utilizaron multipozos, donde las unidades experimentales se componían por diez pozos cada una, con un chinche por multipozo. Los análisis se realizaron con similar metodología a la utilizada para el experimento en invernadero. Para ambos casos se desglosan los siguientes tratamientos: Chinches adultos con *Steinernema feltiae*, Chinches adultos con *Heterorhabditis bacteriophora*, Chinches adultos con ADE (testigo), Chinches de quinto ínstar con *S. feltiae*, Chinches de quinto ínstar con *H. bacteriophora*, Chinches de quinto ínstar con ADE (testigo).

**Análisis estadístico.** Se realizó un Análisis de Varianza ANAVA para evaluar estadísticamente cada variable del estudio, utilizando para el efecto el paquete estadístico Infostat (2004). Como los datos contenían valores de cero (0), debieron transformarse previamente para este análisis utilizando la fórmula  $\sqrt{x+1}$ . Los controles no presentaron infección ni mortalidad por lo cual no se incluyeron en el análisis; sin embargo, para la presentación de tablas y gráficas se utilizaron los datos originales en porcentaje. Finalmente se realizaron pruebas de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) para determinar los rangos de significación de las variables que presentaron diferencias estadísticas con los factores y con la interacción entre ellos.

#### Variables evaluadas

**Porcentaje de infección.** Este se evaluó para adultos e inmaduros de quinto ínstar, a los 15 y 30 días de la inoculación de nemátodos. Luego de disectar los chinches vivos (se dejaron seis días después de la evaluación en cámara húmeda, tiempo prudente para verificar la capacidad de matar de los nemátodos) y muertos, se contabilizaron aquellos que presentaron nemátodos, en cada fecha de evaluación. El índice se expresó en porcentaje. Siendo esta evaluación destructiva, se tomaron tres potes en cada oportunidad.

**Porcentaje de mortalidad.** A fin de determinar si la muerte se debió a la infección con nemátodos o por causas diferentes, tales como hongos, parásitos u otros, se disecaron todos los individuos muertos, tanto adultos como inmaduros, para establecer la presencia de nemátodos en su interior. Al igual que la variable anterior el índice se expresó en porcentaje.

**Porcentaje de nemátodos melanizados.** En el experimento de invernadero, al tiempo que se hacían las evaluaciones anteriores, se contabilizaron los nemátodos melanizados encontrados tras la disección, estos estaban muertos, rígidos y tenían una coloración entre amarilla anaranjada a rojiza (Fig. 1). Este fenómeno se presenta en los insectos como un mecanismo de acción dado por una respuesta inmune de tipo celular, asociada a la producción o absorción de fenol oxidasas, estas también están relacionadas con la melanización de la cutícula y de los huevos, además con la cicatrización de heridas (Uribe 1997).

**Viabilidad de nemátodos.** Para esta evaluación se colocaron larvas de *G. mellonella* en potes, dentro del invernadero, en las mismas condiciones que el experimento principal. Se analizaron las larvas muertas encontradas en los potes expresando el valor en porcentaje; y, se evaluó en tres oportunidades: a los 6, 20 y 35 ddi, después de la inoculación.

La infección de nemátodos en *G. mellonella* se determinó por presencia del nematodo en trampa *White* modificada (Kaya y Stock 1997), a partir de larvas muertas dispuestas en las mismas, sobre papel filtro con agua destilada, de donde los nemátodos migran al líquido externo de la trampa.

En el laboratorio se llevaron dos controles de la viabilidad de los dos productos uno con *G. mellonella* y otro con los dos estados de la plaga, todos sobre arena y usando la concentración de nep's recomendada comercialmente, el tiempo de evaluación fue de 5 ddi para el primero y 30 ddi para el segundo. Estos como verificación de la viabilidad del producto comercial de las dos cepas de nemátodos al momento de su utilización.

**Características externas de las larvas de *G. mellonella*.** Para esta evaluación se revisaron los individuos muertos de los controles con *G. mellonella* a los cinco días después de colocadas en las materas en el invernadero y también para los controles en el laboratorio a las 72 horas.

## Resultados y Discusión

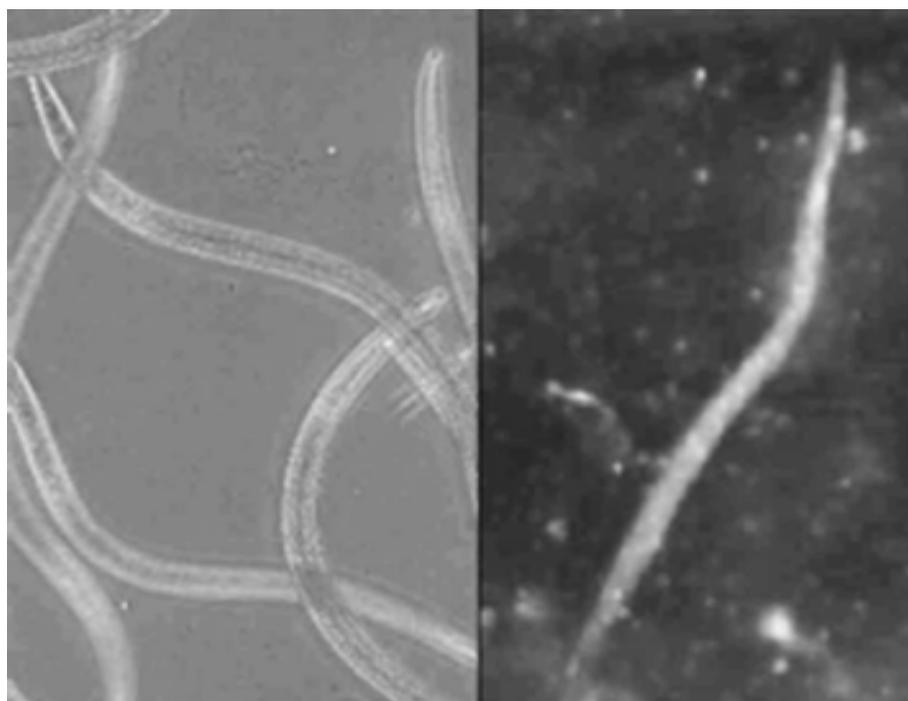
**Porcentaje de infección.** Para las dos fechas de evaluación el análisis de varianza mostró alta significación estadística para cada factor y para su interacción. El coeficiente de variación fue de 12,4%. Efectuada la separación de las respectivas medias, se establecieron rangos de significación para cada variable así: en la interacción edad por cepas las dos cepas evaluadas son igualmente infectivas, pero solo para adultos, pues el quinto ínstar no mostró susceptibilidad significativa a ninguna de las cepas ( $F=728,14$ ;  $df=1$ ;  $P \leq 0,0001$ ). La interacción edad por tiempo presenta tres rangos; en el tercero se aprecia que *H. bacteriophora* es más infectiva que *S. feltiae* (segundo rango). El quinto estado muestra muy baja infección con ambas cepas (primer rango) ( $F=2,27$ ;  $df=1$ ;  $P \leq 0,154$ ). Esto último discrepa con lo hallado por Barberena

(1998), quien encontró un promedio de 80% de infección en los estados adulto y quinto, mientras que los primeros ínstares mostraron valores menores. En otros trabajos en condiciones de laboratorio, se encontró hasta un 100 % de infección con la especie *Steinernema* sp. sobre adultos, comparado con *Heterorhabditis* sp. (45%), evaluada a los 10 ddi (CIAT 2003).

Los porcentajes de infección para los adultos (interacción cepas por tiempo) mostraron diferencias sólo para *S. feltiae* en los dos tiempos ( $F=5,93$ ;  $df=1$ ;  $P \leq 0,0289$ ), presentando un menor porcentaje en la primera evaluación (15 ddi) con respecto a la segunda (30 ddi) (Tabla 1), igual resultado se encontró cuando se evaluaron diferentes estadios de este insecto con la cepa introducida *S. carpocapsae* en condiciones de laboratorio 10 ddi, donde la infección promedio para

adultos fue de 58,6%, Caicedo y Bellotti (1994) determinando dosis letales encontraron que 193 nep/ml y 641 nep/ml produjeron 50% y 90% de infección, frente a la dosis recomendada comercialmente y usada en este experimento, para la cepa de *Steinernema feltiae* (1.000 nep/ml). Por otro lado, en invernadero, al usar esta misma concentración con dos cepas nativas (*Steinernema* sp. y *Heterorhabditis* sp.) se obtuvieron bajas infecciones (18 y 10%, respectivamente); estas infecciones se incrementaron cuando se aumentaron las dosis (25 000 nep/ml) hasta 55% y 45%, cantidad de nep's imposible de considerar comercialmente (CIAT 2003), según Bedding *et al.* (1983), la asociación prolongada de un nematodo con un insecto lleva a que la población benéfica busque hacer el menor daño a su hospedero, por lo cual una población introducida podría ejercer un mejor control.

**Porcentaje de mortalidad.** El análisis de varianza mostró alta significación estadística para los factores edad, tiempo y sus interacciones, pero no para cepas. Efectuada la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), se determinaron dos niveles de significación en el factor edad de chinches, donde el estado adulto se mostró más susceptible (39,6%) frente al quinto estado (1,1%) ( $F=148,6$ ;  $df=1$ ;  $P \leq 0,0001$ ). En el factor tiempo, sin ser el ideal, la mayor mortalidad la presenta el tiempo dos (30 ddi), con 27,8%, frente a 12,9% a los 15 ddi ( $F=6,77$ ;  $df=1$ ;  $P \leq 0,0209$ ). En la interacción cepas por tiempo solo *S. feltiae* presenta diferencias entre los tiempos de evaluación, con apenas 4,3% de mortalidad a los 15 ddi frente a 31,9% a los 30 ddi; no habiendo diferencias para *H. bacteriophora*, cuyo promedio de mortalidad en los mismos tiempos es de 22,6%. Ambas cepas comparten el mismo rango de mortalidad a los 30 ddi, lo que permite inferir que *H. bacteriophora* sería más eficiente, en términos de celeridad ( $F=4,82$ ;  $df=1$ ;  $P \leq 0,0455$ ). Por otro lado, en la interacción edad por cepas y por tiempo, se confirman los resultados parciales, mostrando al estado adulto como el más susceptible sin importar la cepa; *H. bacteriophora* y *S. feltiae* a los 30 ddi son estadísticamente iguales pero, como no hay diferencias en el porcentaje de mortalidad de *H. bacteriophora* entre las dos fechas de evaluación, lo que si ocurre con *S. feltiae*, la primera sería más eficiente que la segunda por su rápida acción sobre el rizófago ( $F=4,41$ ;  $df=1$ ;  $P \leq 0,0544$ ) (Fig. 2). El promisorio éxito de *H. bacteriophora* podría explicarse gracias a su menor tamaño, lo que le per-

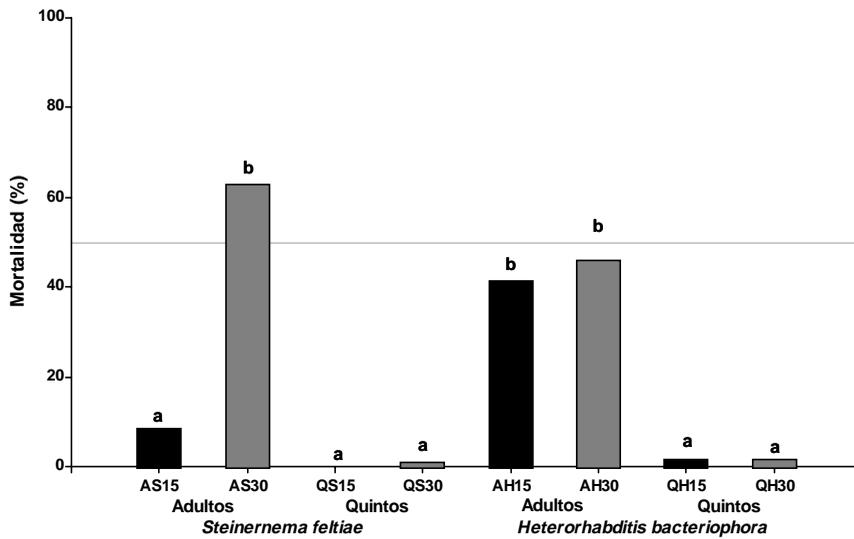


**Figura 1.** Nemátodos entomopatógenos, infectivos (J3). Izq. Especímenes normales; Der. Especímen melanizado.

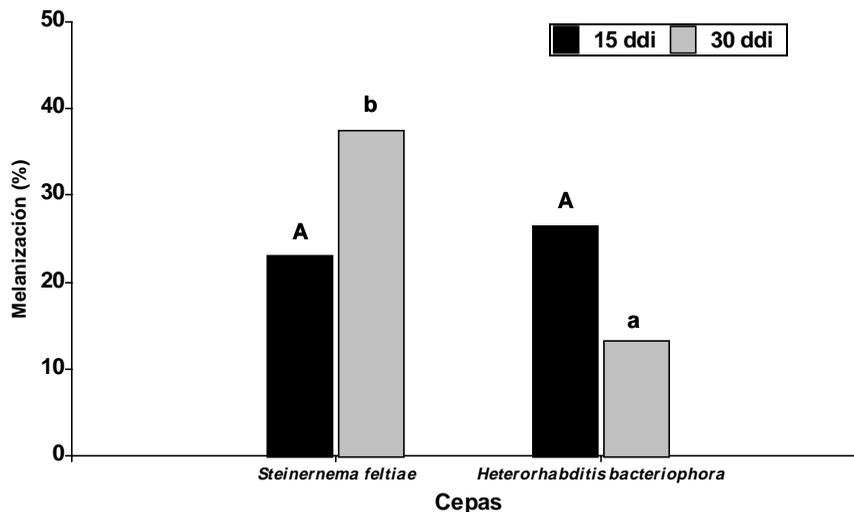
**Tabla 1.** Porcentaje de infección para adultos de *Cyrtomenus bergi*, con dos cepas de nematodos entomopatógenos (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*), en dos épocas de evaluación (15 y 30 ddi); bajo condiciones de invernadero.

Especie	Tiempo de evaluación (ddi)	Infección (%)
<i>Steinernema feltiae</i>	15	55,4 a
	30	93,9 b
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	15	69,5 ab
	30	72,1 ab

Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey  $P \leq 0,05$ ).



**Figura 2.** Porcentaje de mortalidad de dos estados de *Cyrtomenus bergi*, quinto ínstar (Q) y adulto (A), con dos cepas de nematodos entomopatógenos, *Steinernema feltiae* (S) y *Heterorhabditis bacteriophora* (H), y en dos épocas de evaluación (15 y 30 ddi); bajo condiciones de invernadero. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey  $P \leq 0,05$ ).



**Figura 3.** Porcentaje de nematodos entomopatógenos melanizados (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*), en dos tiempos de evaluación (15 y 30 ddi) en pruebas de virulencia de nep's sobre *Cyrtomenus bergi* en condiciones de invernadero. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey  $P \leq 0,05$ ).

mitiría acceder más rápida y fácilmente al chinche, el que por no tener un sistema bucal mandibular como en las larvas de coleópteros o lepidópteros, sino un estilete, tiene menores posibilidades de acceso para los organismos entomopatógenos. Los resultados en esta variable concuerdan con los estudios de Bedding (1981), quien encontró que cepas de *Heterorhabditis* son más virulentas que las de *Steinernema*. En cuanto al estado más susceptible Barberena y Bellotti (1998) encontraron, por el contrario, que la cepa nativa *H. bacte-*

*riophora* mata más eficientemente a los chinches de quinto instar (en promedio 83,8%) que a los adultos (32,5%), con 8 000 nep/ml. Cabe resaltar que la mortalidad resultante en el presente estudio supera a la encontrada en un experimento realizado en invernadero que, usando dosis altas de nep's (100 000 nep/ml) sobre adultos de esta plaga, solo presentó una mortalidad promedio de 29% usando la cepa introducida *Steinernema riobravus* y las nativas *Steinernema* sp. y *Heterorhabditis* sp. (CIAT 2003).

### Porcentaje de nemátodos melanizados.

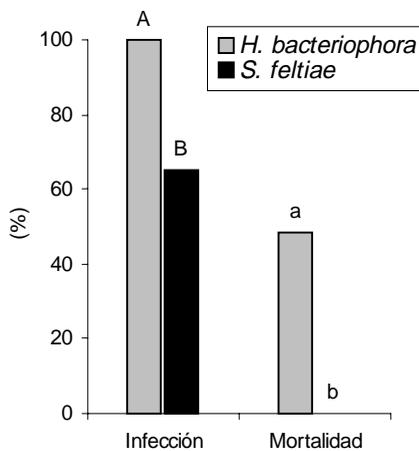
La mayoría de nemátodos presentaron morfología normal y se encontraron vivos dentro de los insectos, llegando incluso a obtenerse nuevas generaciones de nep's; sin embargo, algunos chinches luego de la disección presentaron nemátodos melanizados, seguramente como una reacción del insecto al microorganismo invasor, al parecer desencadenando una cascada de enzimas (Profenil oxidasas) presentes en la hemolinfa de este insecto, las que actúan sobre los nep's, evitando que maten a *C. bergi* (Soderhall y Aspan 1993).

Debido a que no existieron nemátodos melanizados en el quinto ínstar de *C. bergi*, se hizo un análisis solo para los adultos frente a las dos cepas de nep's, tras lo cual se encontraron diferencias estadísticas para nemátodos melanizados solo en la segunda evaluación. Determinados los rangos de significación, *S. feltiae* presenta mayor melanización que *H. bacteriophora* a los 30 días de evaluación (ANOVA  $F = 33,38$ ;  $df = 1$ ;  $P \leq 0,0287$ ).

Adicionalmente, al comparar las dos fechas de evaluación no hubo influencia del tiempo de exposición de los chinches a los nemátodos frente a la melanización; observándose un promedio de 25% de melanización en las 293 muestras positivas para nemátodos con las dos cepas (Fig. 3). Este efecto ya fue observado en experimentos preliminares donde se inyectaron dos cepas nativas de nep's vivos y muertos en el chinche (*Steinernema* sp. y *Heterorhabditis* sp.); en ambos casos se observaron liberación de profenoloxidasas (10 ddi) (CIAT 2003). Además en experimentos con *S. feltiae*, cepa comercial reproducida *in vivo*, se encontró que al aumentar las concentraciones, aumentaba el porcentaje de melanización llegando a ser aproximadamente del 80% con 10 000 nep/ml, mientras que *H. bacteriophora* no superó el 20% a la misma concentración, lo que mostró nuevamente la mayor susceptibilidad de la primera cepa a este fenómeno (CIAT 2004).

### Viabilidad de los nep's inoculados al sustrato.

Se destaca que los nep's inoculados (*S. feltiae* y *H. bacteriophora*) mantuvieron su virulencia en el sustrato durante todo el experimento, pues se verificó una mortalidad del 100% en *G. mellonella*, cuyas larvas mostraron signos y síntomas característicos a cada cepa de nep (color rojizo para las infectadas con *H. bacteriophora* y café para las de *S. feltiae*).



**Figura 4.** Porcentaje de infección y mortalidad de dos cepas comerciales de nep's (*Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora*) sobre el adulto de *Cyrtomenus bergi*, en condiciones de laboratorio (Control), 30 ddi. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey  $P \leq 0,05$ ).

Adicionalmente, al evaluar la infectividad sobre chinches en laboratorio, no hubo infección en los inmaduros de *C. bergi* (quinto instar), solo en adultos; estos sufren mayor infección con *H. bacteriophora* frente a *S. feltiae*. Respecto a mortalidad, *H. bacteriophora* obtuvo el mayor porcentaje ( $P \leq 0,05$ ) (Fig. 4).

### Conclusiones

Comparando los dos estados del chinche, el estado adulto es el más susceptible a la infectividad y mortalidad, indistintamente de la cepa de nematodo evaluada bajo estas condiciones. Al evaluar el efecto de la inoculación de nemátodos sobre *C. bergi* (infección) *Heterorhabditis bacteriophora* mostró una acción más rápida frente a *Steinernema feltiae* la cual necesita más tiempo para penetrar y matar al insecto.

Observando el efecto de las cepas sobre la mortalidad del chinche, en la evaluación a los 15 días desde la inoculación (ddi) presenta el mejor efecto *H. bacteriophora*; y, solo a la segunda época de evaluación (30 ddi) se le iguala *S. feltiae*, compartiendo el mismo rango estadístico; lo que permite inferir que *H. bacteriophora* es más eficiente al actuar más rápido que *S. feltiae*. Respecto a la respuesta inmune del insecto a los nep's, la cepa *S. feltiae* presenta mayor melanización, lo que puede afectar su efectividad entomopatógena hacia *C. bergi*. Estos resultados evidencian que *H. bacteriophora* es la cepa más promisoría

por actuar en un tiempo más corto (15 ddi) bajo las condiciones de invernadero, respuesta que en campo favorecería un control más rápido de la plaga.

En condiciones de laboratorio esta misma cepa presenta también la mayor infección; aunque, no supera el 50% en mortalidad, como se observó en invernadero. Mientras tanto *S. feltiae* no produjo mortalidad, seguramente debido a la melanización, que si bien no se evaluó en este experimento, en el ensayo de invernadero mostró la mayor frecuencia con esta cepa.

Por lo anterior, se puede indicar que el efecto de los nemátodos entomopatógenos sobre esta plaga se ve influenciado tanto por la especie como por la cepa del nematodo, las condiciones ambientales, el estado de desarrollo de la plaga, el fenómeno de melanización, que impide que estos microorganismos causen la muerte del insecto, entre otros: Estos factores se deberían tener en cuenta al diseñar un programa de control biológico con la especie más promisoría, para las condiciones ambientales en las cuales se liberen estos entomopatógenos.

### Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Cooperación Económica (BMZ) de Alemania; además, los autores agradecen a Rodrigo Zúñiga, Catalina Ramírez y Rómulo Riascos, por brindar el material insectil necesario para el desarrollo del mismo.

### Literatura citada

- AGUILAR, J. A.; GONZÁLES, A.; LÓPEZ, J.; CONCEPCIÓN, J.; GORDÓN, R. 1991. Evaluación y Control de daño ocasionado por el chinche subterráneo *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) en el cultivo de la yuca var. Brasileña. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP). 127 p.
- ARIAS, V. B.; BELLOTTI, A. C. 1985. Aspectos ecológicos y de manejo de *Cyrtomenus bergi* Froeschner, chinche de la viruela en el cultivo de la yuca *Manihot esculenta* Crantz. Revista Colombiana de Entomología 11 (2): 42-46.
- BARBERENA, M. F.; BELLOTTI, A. C. 1998. Parasitismo de dos razas del nematodo *Heterorhabditis bacteriophora* sobre la chinche *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae) en laboratorio. Revista Colombiana de Entomología 24 (1-2): 7-11.
- BEDDING, R. A. 1981. Low cost in vitro mass production of *Neoplectana* and

*Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insects pests. Nematology. 27: 109-114.

- BEDDING, R. A.; MOLYNEUX, A. S.; ARHURST, R. J. 1983. *Heterorhabditis* spp., *Neoplectana* spp., and *Steinernema kraussei*: interspecific and intraspecific differences in infectivity for insects. Experimental Pathology 55: 249-257.
- BELLOTTI, A. C.; GARCÍA, C. A. 1983. The subterranean Chinch Bug, a new pest of cassava. Cassava Newsletter 7: 10-11.
- BELLOTTI, A. C.; VARGAS, O.; ARIAS, B.; CASTAÑO, O.; GARCÍA, C. 1988. *Cyrtomenus bergi* Froeschner. A new pest of cassava: Biology, Ecology and Control. VII Symposium of the International Society for Tropical Root Crops, Gosier (Guadalupe) Ed. INRA, Paris. p: 551-560.
- BELLOTTI, A. C.; SMITH, L.; LAPOINTE, S. L. 1999. Recent advances in cassava pest management. Annual Review of Entomology 44: 343-70
- CAICEDO, A. M.; BELLOTTI, A. C. 1994. Evaluación del potencial del nematodo entomógeno *Steinernema carpocapsae* Weiser (Rhabditida: Steinernematidae) para el control de *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae) en condiciones de laboratorio. Revista Colombiana de Entomología 20 (4): 241-246.
- CARBALLO, M.; SAUNDERS, J. L. 1990a. Labranza del suelo e insecticidas: efecto sobre la incidencia de *Cyrtomenus bergi* Froeschner en maíz. Turrialba 40: 165-168.
- CARBALLO, M.; SAUNDERS, J. L. 1990b. Manejo del suelo, rastrojo y las plagas: interacciones y efecto sobre el maíz. Turrialba 40: 183-189.
- CIAT. 1980. Cassava Program Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. p: 11-17.
- CIAT. 1983. Cassava Program Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. p: 325-370.
- CIAT. 1985. Cassava Program Report. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. p: 223-264.
- CIAT. 2003. Cassava Entomology. p. 1-42. En: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Annual Report. Integrated Pest and Disease Management in Major Agroecosystems. Cali, Colombia. 258 p.
- CIAT. 2004. Soil pests-Cassava and other crops. p. 116-165. En: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Annual Report. Integrated Pest and Disease Management in Major Agroecosystems. Cali, Colombia. 417 p.
- CLAVIJO, S. 1981. Variaciones estacionales de poblaciones de adultos de *Spodoptera frugiperda* y *Cyrtomenus bergi* en cinco localidades de los alrededores del lago de Valencia, medidas mediante trampas de luz. Revista Facultad de Agronomía, Maracay 12: 63-79.
- DOWNES, M. J.; GRIFFIN, C. T., 1996. Dispersal behaviour and transmission

- strategies of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* and *Steinernema*. *Biocontrol Science and Technology* 6: 347-356.
- EHLERS, R. U. 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Biocontrol Science and Technology* 6: 303-316.
- FEDERICI, B. A. 1999. A perspective on pathogens as biological control agents for insect pests. p. 517-547. En: Bellows, T. S.; Fisher, T. W. (eds.). *Handbook of Biological Control: Principles and Applications*. Academic Press, San Diego, New York. 1046 p.
- GARCIA, C. A.; BELLOTTI, A. C. 1980. Estudio preliminar de la biología y morfología de *Cyrtomenus bergi*, Froeschner, nueva plaga de la yuca. *Revista Colombiana de Entomología* 6 (3): 55-61.
- GOLD, C. S.; VARGAS, O.; WIGNIMAN, J. 1988. Intercropping effects on insect pest of cassava in Colombia and of groundnut in India. CP479. International Crop Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Patancheru, Andhra Pradesh, India. p: 1-18.
- ICA. 1980. Notas y Noticias Entomológicas (Sep. - Oct.). Instituto Colombiano Agropecuario, Bogotá. p. 68.
- INFOSTAT. 2004. Manual del usuario. Grupo INFOSTAT, FCA., Universidad Nacional de Córdoba. 1 ed. Editorial Brujas Argentina. 318 p.
- JANSSON, R. K. 1993. Introduction of exotic entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) for biological control of insects: potential and problems. *Florida Entomologist* 76 (1): 83-96.
- JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, C.; EBSSA, L.; GAIGL, A.; TOBÓN, R.; ZIMMERMANN, G. 2005. Effect of combined applications of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) strain CIAT 224 and different dosages of imidacloprid on the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). *Biological Control* 34: 12-20.
- KAYA, H. K.; STOCK, S. P. 1997. Techniques of insect nematology. p. 281-324. En: Lacey, L. (eds.) *Manual of techniques in insect pathology*. Biological Techniques Series. Capítulo VI. Academic Press, San Diego, California. 409 p.
- LACERDA, J. I. 1983. Dano causados au dendê (*Elais guineensis*) por ação do *Cyrtomenus bergi* (Froeschner, 1960) (Hemiptera: Cydnidae). *Revista Floresta (Brazil)* 14: 59-60.
- KING, A. B. S.; SAUNDERS, J. L. 1984. The invertebrate pests of annual food crops in Central America. Overseas Development administration, London, UK. p. 117-118.
- RIIS, L. 1990. The Subterranean Burrowing Bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner, an increasing Pest in Tropical Latin America: Behavioral studies, Population Fluctuations, Botanical Control, with Special Reference to Cassava. M.Sc. Thesis, Department of Ecological and Molecular Biology, Section of Zoology, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen. 85 p.
- RIIS, L. 1997. Behavior and Population growth of the Burrower Bug, *Cyrtomenus bergi* Froeschner: Effects of host plants and abiotic factors. Ph.D. Thesis, Department of Ecological and Molecular Biology, Section of Zoology, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen. 167 p.
- SANCHEZ, D. 1996. Patogenicidad de hongos hyphomycetes sobre *Cyrtomenus bergi* F. (Hemiptera: Cydnidae) chinche subterráneo de la yuca en condiciones de laboratorio. Trabajo de Grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira. 93 p.
- SHENK, M.; SAUNDERS, J. L. 1984. Vegetation management systems and insect responses in the humid tropics of Costa Rica. *Tropical Pest Management*. 30: 186-193.
- SODERHALL, K.; ASPAN, A. 1993. Prophe-noloxidase Activating System and its role in cellular communication. En: J.P.N. Pathak editor. *Insect Immunity*. New Delhi. Oxford and IBH Publishing Co. p. 113-129.
- STRUCK, E.; EBSSA, L.; EHLERS, R-U.; POEHLING, H-M.; GAIGL, A.; BORGEMEISTER, C. 2004. Interactions between host plants, the subterranean burrower bug, *Cyrtomenus bergi*, and the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis*. *Nematology* 6 (5): 633-639.
- URIBE, S. 1997. Mecanismos de respuesta inmune en insectos. *Revista Colombiana de Entomología*. 23 (3-4): 177-185.
- VARGAS, H. L. 1996. Resistencia de variedades de yuca a *Cyrtomenus bergi*. *Revista Nataima* 1: 27-30.

## Evaluación de métodos para cuantificar poblaciones de broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), en fincas de caficultores experimentadores

Evaluation of methods to quantify populations of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in farms of coffee growers experimenters

HÉCTOR IVÁN TRUJILLO E.<sup>1</sup>, LUIS FERNANDO ARISTIZÁBAL A.<sup>2</sup>, ALEX ENRIQUE BUSTILLO P.<sup>3</sup>, MAURICIO JIMÉNEZ Q.<sup>4</sup>

**Resumen.** A través de investigación participativa se compararon dos planes de muestreo para registrar la abundancia de poblaciones de broca en el campo, con el objetivo de contribuir a su manejo integrado. Este experimento se realizó en 11 fincas: cuatro en Quimbaya, dos en Belalcazar, una en Viterbo, tres en Balboa y una en Risaralda. Se seleccionó un lote comercial de café en cada finca y se evaluó la infestación por broca utilizando dos métodos: Método de las 30 Ramas (se cuantifica el número total de frutos verdes por rama y el número de frutos infestados por la broca, posteriormente se determina el porcentaje de infestación). Método de la Medida: (inicialmente en 100 ramas se calibra la medida en centímetros, equivalente a la distancia que contiene 50 frutos verdes, posteriormente se asume dicha distancia para hacer los muestreos mensuales cuantificando únicamente los frutos infestados en 30 ramas y finalmente se determina el porcentaje de infestación). El plan de muestreo de las 30 ramas obtuvo resultados similares al método de la medida, con la ventaja de que este último se realiza en un tiempo menor. Los diferentes niveles de infestación de broca encontrados tuvieron un comportamiento similar entre los dos métodos de muestreo. Los caficultores tienen interés en continuar evaluando este nuevo método de muestreo (Método de la medida). Manifiestan que con el nuevo método de muestreo pueden ahorrar más tiempo.

**Palabras clave:** Investigación participativa, métodos de muestreo, manejo integrado de plagas.

**Abstract.** Through participatory research two methods for sampling the abundance of coffee berry borer (CBB) populations were compared in the field with the objective of contributing to the integrated management of this insect. This experiment was carried out on 11 farms: four in Quimbaya, two in Belalcazar, one in Viterbo, three in Balboa and one in Risaralda. One commercial coffee plot was selected from each farm and CBB infestation was evaluated using two methods: 30-Branch Method (the number of green fruits per branch and the number of fruits infested by CBB are quantified, followed by determination of percent infestation). Measure Method (initially, the distance that contains 50 green fruits is assessed through direct measurement in 100 branches; this distance is then used to make the monthly samplings counting the fruits infested in only 30 branches; finally the percent infestation is determined). The 30-branch sampling plan obtained similar results to the measure method, but the latter requires less time. The different levels of CBB infestation were similar between the two sampling methods. The coffee growers show interest in continuing to evaluate this new sampling method (measure method). They indicated that with this new sampling method they can save more time.

**Key words:** Participatory research, sampling methods, integrated pest management.

### Introducción

La investigación participativa con agricultores (IPA) es considerada una herramienta novedosa que ha permitido desarrollar tecnologías bajo las condiciones reales que tienen los agricultores, te-

niendo en cuenta los aspectos socio-económicos, culturales y agroecológicos locales de cada comunidad. (Ashby 1992; Ashby *et al.* 1999; Castellanos *et al.* 1999; Stroud 1993; Tripp y Woolley 1989). La participación de los agricultores en la investigación agrícola es el dia-

logo sistemático entre agricultores y científicos para resolver los problemas con la finalidad de mejorar el impacto de la investigación agrícola (Bellon 2001, citado por Bentley *et al.* 2002). La participación de los agricultores debe ser decisoria, es decir que son ellos, con la guía de los

<sup>1</sup> Ingeniero Agrónomo. Convenio Colciencias – Cenicafé – FEDERACAFÉ. Disciplina de Entomología, Cenicafé. Hector.trujillo@cafedecolombia.com

<sup>2</sup> Autor para correspondencia: Ingeniero Agrónomo Esp. en Agroecología. Convenio Colciencias – Cenicafé – FEDERACAFÉ. Disciplina de Entomología, Cenicafé. A. A. 2427 Manizales. aristizabalbioproteccion@yahoo.com

<sup>3</sup> Ingeniero Agrónomo, Ph. D. Líder Disciplina de Entomología, Cenicafé. Alex.bustillo@cafedecolombia.com

<sup>4</sup> Auxiliar II, Disciplina de Entomología, Cenicafé. mauricio.jimenez@cafedecolombia.com

profesionales, quienes definen los problemas que se deben investigar, las alternativas de solución que se deben buscar, y las recomendaciones tecnológicas que se deben transferir. De esta forma, los proyectos de investigación y/o transferencia que se formulen y ejecuten, obedecerán necesaria y directamente a la demanda de la clientela. La IPA se lleva a cabo con y para los productores, en las fincas de estos y durante todo el proceso de investigación científica que investigadores y productores desarrollan en conjunto (desde la definición del problema hasta el análisis de los datos obtenidos), se establece un proceso mutuo de enseñanza - aprendizaje y una gran sinergia en el desarrollo de todas las actividades que demanda el proceso de investigación, hechos estos que repercuten en una gran credibilidad entre ambos y en la adaptación de las tecnologías evaluadas a las condiciones de los agricultores (Arévalo 2002; Aristizábal *et al.* 2002).

La broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) es el principal insecto plaga del café en Colombia y ocasiona pérdidas que ameritan su control. La broca del café es una plaga muy compleja debido a que puede causar varios tipos de daño: 1- Caída de frutos pequeños (disminuye los volúmenes de producción), 2- Pérdidas en peso (afecta el factor de rendimiento) y 3- Pérdidas en calidad (afecta el precio de venta del café). Estos daños son percibidos directamente por el caficultor al ver reducidos significativamente sus ingresos (FNC 1995). El daño causado por la broca del café exige medidas de control eficientes en forma oportuna y cuando el insecto amenace con causar pérdidas económicas. Por tanto, un requisito importante en un programa de manejo integrado de plagas, es poder cuantificar el tamaño de una población en el campo en un momento dado y relacionarla con el daño que se puede obtener cuando el productor venda su cosecha. Para cuantificar una población de un insecto plaga, es necesario establecer métodos de conteos directos o indirectos que establezcan el número de individuos existentes en un momento dado en un área específica. En el caso de la broca del café es imposible hacer censos, debido a la cantidad de frutos existentes en un árbol y a la alta densidad de árboles por hectárea, lo cual sería antieconómico. Por tanto, se debe acudir al muestreo apoyado en fundamentos estadísticos, que permitan cuantificar las poblaciones de broca a través de mediciones indirectas (Baker 1999; Bustillo *et al.* 1998).

La toma de decisiones en el manejo integrado de plagas (MIP), se basa en el diseño de métodos de muestreo de plagas y sus enemigos naturales y en el establecimiento de niveles de daño, que le permitan al profesional determinar, con base en la dinámica de población de las plagas, cuándo es prudente y necesario efectuar un control (Baker 1999; Bustillo *et al.* 1998). Sólo mediante un adecuado proceso de evaluación y cuantificación del daño podrá tenerse un criterio acertado sobre la necesidad de actuar. Para acertar oportuna y eficientemente con una medida de control de una plaga, es necesario tomar decisiones basadas en la medición del tamaño poblacional de la plaga (Baker 1999). El muestreo de insectos plagas y enemigos naturales, la evaluación del daño de la planta y el efecto del daño en los rendimientos son de gran importancia en el manejo de plagas. De hecho, no puede concebirse la utilización de un umbral de acción para tomar decisiones si no se conoce la densidad de población que se está manejando en el cultivo.

Cuando el muestreo se hace para tomar decisiones es necesario usar un método confiable que permita la rápida clasificación de situaciones en categorías de decisión. Las funciones que debe cumplir un método de muestreo son: determinar la presencia o ausencia de un organismo (Cualitativo), Cuantificar el tamaño o la densidad de la población mediante métodos directos o indirectos y delimitar zonas de mayor abundancia de la plaga. Un método de muestreo debe cumplir las siguientes características: 1- Confiable: que permita hacer inferencias o deducciones acerca de la población. 2- Económico: su ejecución no debe ocasionar costos tan altos que no lo justifiquen. 3- Fácil de ejecutar: se debe desarrollar sin muchos contratamientos. 4- Rápido: La información sobre la población estimada se debe lograr en el menor tiempo posible.

Para el caso de la broca del café, se utiliza un método de estimación de poblaciones relativa (indirecto); donde la población se cuantifica a partir del conteo de frutos de café, permitiendo solo comparaciones en espacio o tiempo. El muestreo aleatorio nos permite hacer inferencias estadísticas de los parámetros estimados; cada unidad de muestreo tiene la misma probabilidad de ser escogida. El método de muestreo aleatorio se define como una muestra de tamaño  $n$  (número de muestras tomadas) de una población de tamaño  $N$  (número

de muestras posibles de tamaño  $n$  en el universo de muestreo), que se toma en tal forma que cada unidad de muestreo tiene una probabilidad igual de ser incluida en el muestreo (Montoya 1997).

Los niveles de infestación de broca son difíciles de estimar por la distribución agregada del insecto y la heterogeneidad de las plantaciones. Sin embargo, varios autores han propuesto varios métodos: Decaszy *et al.* (1988), plantean un muestreo sobre sitios conformados por cinco árboles seguidos, de los cuales se toman en total 100 frutos. Rémont *et al.* (1993) proponen hacer un muestreo en el 3,3% de los árboles de la población y evaluar todas las ramas con frutos, para estimar la proporción media de frutos perforados por árbol.

Una forma práctica de medir las poblaciones de broca, es a través de un muestreo aleatorio de 30 sitios por cada 5.000 árboles/ha (método de muestreo de las 30 ramas), recorriendo el lote en forma aleatoria, (o formando las letras X o W), para distribuir los sitios de muestreo a través del cafetal de la mejor manera posible; en cada sitio seleccionar un árbol, en éste, una rama productiva en la cual se cuantifica el total de frutos verdes sanos e infestados por la broca, para finalmente calcular el porcentaje de infestación (Cenicafé 1993a, 1993b; Bustillo *et al.* 1998). Según Baker (1999), este método presenta los siguientes inconvenientes: 1- La mayoría de los caficultores no lo aplican, ya que debido a su bajo nivel de escolaridad no saben calcular porcentajes, 2- En los meses con baja cantidad de frutos de cafés en las ramas, los porcentajes de infestación son altos, lo cual puede confundir al caficultor y hacerle tomar una medida de control innecesaria. Sin embargo, este método de las 30 Ramas, constituye una medida aproximada de la infestación, que le permite a caficultores y técnicos estimar poblaciones de broca, identificar los sitios de mayor concentración de la broca, conocidos como "focos", conocer el grado de penetración de la broca en los frutos y evaluar en un momento dado las medidas de control utilizadas.

Con el fin de mejorar la propuesta de muestreo de las poblaciones de broca recomendado por Cenicafé, a través de la investigación participativa con caficultores, se evaluó el método de muestreo de la Medida, el cual busca hacer más ágil y menos costosa esta labor del diagnóstico de la infestación de broca en campo. El objetivo de la investigación fue

evaluar en el campo el plan de muestreo de la Medida y compararlo con el método de las 30 Ramas recomendado por FEDERACAFE, con los caficultores del proyecto de Investigación participativa de adelantado por Cenicafé en convenio con Colciencias.

### Materiales y Métodos

El experimento se llevó a cabo con 11 caficultores del proyecto de investigación participativa de los municipios de Quimbaya (Quindío), Balboa (Risaralda), Belalcázar, Viterbo y Risaralda (Caldas); en donde se seleccionó un lote comercial de café en cada una de las fincas, y se evaluaron los dos métodos de muestreo denominados: 1- Método de las 30 Ramas y 2- Método de la Medida, ambos para estimar las poblaciones de broca en el campo. A cada caficultor se le explicó el procedimiento para realizar el plan de muestreo y se le entregó un formato para registrar la información. En la tabla 1 se observa la localización y las características de cada una de las fincas participantes.

#### Método de muestreo de las 30 Ramas.

En general, se ha establecido que para una hectárea de café de 5.000 árboles, (N = universo de muestreo), se seleccionan al azar 30 sitios (n = tamaño de la muestra), distribuidos en forma aleatoria dentro del lote; posteriormente se selecciona un árbol y en éste se selecciona al azar una rama en la zona productiva que tenga entre 30 y 100 frutos (unidad de muestreo); se cuantifica el número de frutos verdes hechos y el número de frutos verdes hechos infestados. Esta evaluación se tarda en promedio 42 minutos por hectárea. Las evaluaciones se hacen mensualmente con el fin de tener un seguimiento de la evolución de las poblaciones de broca en los diferentes lotes. El

nivel de infestación por broca para el muestreo de las 30 Ramas se estima como el porcentaje de frutos infestados con relación al número total de frutos evaluados.

**Método de muestreo de la Medida.** Denominado método de la regla o medida evaluado en Cenicafé por la Disciplina de Entomología. En este plan de muestreo, se tiene una medida estándar conformada por 50 frutos, la cual equivale a una distancia x dada en centímetros según la calibración de la medida o regla, la cual se realiza a través del conteo en 100 árboles distribuidos en forma aleatoria dentro del lote, en los cuales se selecciona una rama productiva para hacer el conteo de 50 frutos verdes y se mide la distancia que contenga dichos frutos. La distancia x dada en centímetros corresponde al promedio de las mediciones realizadas en las 100 ramas productivas.

Después de hacer la calibración de la medida o regla, se aplica el plan de muestreo en forma similar al método de la 30 Ramas, pero sin tener que cuantificar el número total de frutos de cada rama productiva. Simplemente se cuantifican los frutos infestados por al broca, contenidos en la mitad establecida. En este método el número total de frutos evaluados siempre será constante para cada lote (1500 frutos por cada 30 árboles evaluados). La medida o regla que se calibra en centímetros es variable, debido a las diferentes edades de cosecha de cada lote.

El nivel de infestación por broca para el muestreo de la Medida se estima como el porcentaje de frutos infestados con relación al número total de frutos evaluados que equivale a 1500 frutos.

Ambos métodos de muestreo se aplicaron mensualmente en los 11 lotes de café

seleccionados. Las evaluaciones se realizaron desde febrero de 2003, hasta junio de 2004. En total se realizaron 166 evaluaciones de infestación por broca.

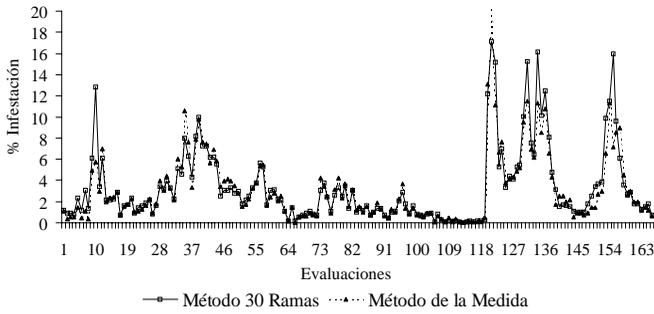
La información se analizó comparando la media, la varianza, el error estándar y el coeficiente de variación obtenidos de cada método. Debido a la condiciones heterogéneas de los lotes seleccionados (variedad del café, edad de cosecha, densidad de árboles por hectárea, altitud, localidad, poblaciones de broca, etc.), cada finca fue considerada como un estudio de caso particular, pero si se compararon ambos métodos de muestreo en diferentes escenarios. Se aplicó una prueba de "T" para comparar los niveles de infestación obtenidos mensualmente a través de los dos métodos de muestreo en cada una de 11 fincas.

### Resultados y Discusión

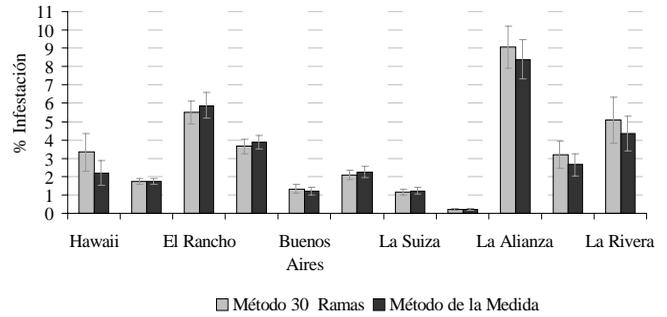
Los resultados muestran similitud en ambos métodos de muestreo en las 166 evaluaciones realizadas (Fig. 1). El método de muestreo de la medida, presentó resultados similares frente al método de las 30 ramas, bajo los diferentes niveles de infestación de broca presentadas en los lotes evaluados, es decir, en lotes con niveles de infestación bajos (menores a 2,5%), medios (entre 2,5 y 5%) y altos (mayores 5%). En otros estudios de campo, Bustillo y Mejía (2003), encontraron similitud en los niveles de infestación por broca al evaluar por primera vez ambos métodos de muestreo. En relación con los diferentes niveles de infestación de broca encontrada en cada finca durante varios meses de evaluación se observó un comportamiento similar en los valores arrojados por los dos métodos de muestreo propuestos (Figs. 2 y 3).

**Tabla 1.** Localización de las fincas y características de los lotes donde se realizaron las evaluaciones de campo.

Municipio	Finca	Altitud	Área	Número de plantas	Edad	Café variedad	Topografía
Quimbaya	La Esperanza	1450	0,76	4700	2	Colombia	Ondulada
Quimbaya	Buenos Aires	1400	0,75	3600	3	Colombia	Plana
Quimbaya	La Suiza	1420	0,5	2000	2	Colombia	Ondulada
Quimbaya	San Diego	1400	1,6	8000	2	Caturra	Ondulada
Belalcázar	La Rivera	1400	1,4	5000	5	Colombia	Ondulada
Belalcázar	La Quiteña	1400	0,45	1800	4	Caturra	Ondulada
Viterbo	La Alianza	1350	2	8800	2	Colombia	Pendiente
Balboa	El Porvenir	1400	0,1	1000	2	Colombia	Plana
Balboa	EL Rancho	1500	0,5	2000	2	Colombia	Pendiente
Balboa	Guadualito	1500	1,1	5000	2	Colombia	Pendiente
Risaralda	Hawai	1250	1,5	12000	3	Colombia	Pendiente



**Figura 1.** Niveles de infestación por broca obtenidos a través de los dos métodos de infestación evaluados



**Figura 2.** Promedio de los niveles de infestación por broca en promedios para diferentes fincas, según métodos de muestreo de las 30 Ramas y la Medida.

La media, el coeficiente de variación, la variación relativa y el error estándar de la media presentaron valores similares para los dos métodos. Así mismo, la prueba de T no mostró diferencias significativas entre los niveles de infestación por broca estimados mensualmente a través de ambos métodos de muestreo (Tabla 2).

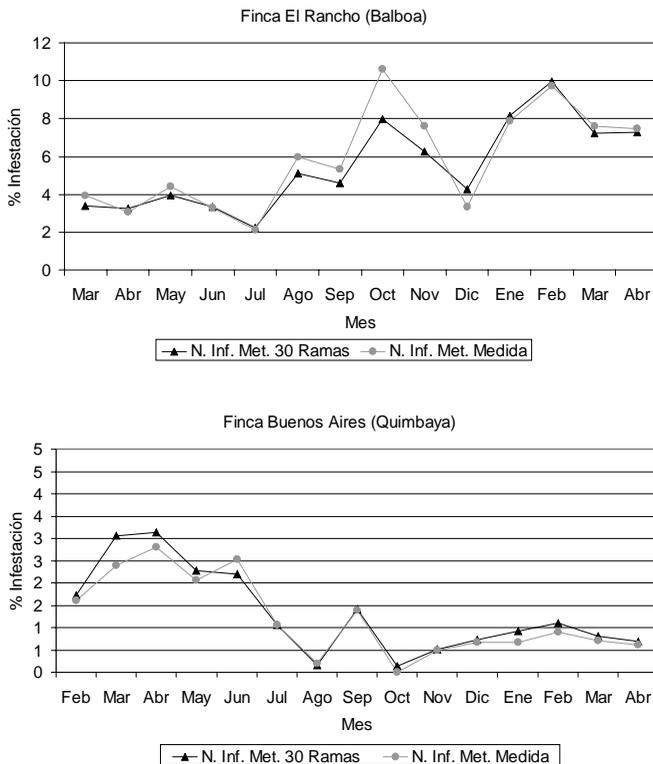
Si bien no se determinó el tiempo de duración de cada método, los caficultores que los usaron manifiestan que con el método de la medida pueden ahorrar más tiempo al aplicarlo en el campo frente al método de las 30 ramas ya que no tienen que cuantificar el número de frutos por rama. Bustillo y Mejía (2003) al com-

parar ambos métodos encontraron un ahorro en tiempo cercano al 38%.

Del análisis del método de muestreo para medir mensualmente la broca, se concluye que el registro del número de frutos brocados por rama de 50 frutos, revisando 30 ramas por cada 5.000 árboles/ha es suficiente para conocer la dinámica poblacional de la broca en el cafetal y para tomar decisiones de manejo. El método de la Medida, al igual que el método de las Ramas propuesto por Bustillo *et al.* (1998), se convierten en una medida aproximada de la infestación, que le permite a caficultores y técnicos estimar poblaciones de broca, identificar los si-

tios de mayor concentración de la broca, "focos", conocer el grado de penetración de la broca en los frutos y evaluar en un momento dado las medidas de control utilizadas. Esta información es básica para tomar decisiones acertadas dentro del manejo integrado de la broca del café.

Los caficultores tienen interés en continuar evaluando este nuevo método de muestreo (Método de la medida), ya que han observado estimaciones de infestación muy similares frente al método de las 30 ramas. Al analizar los resultados, a través de estadística descriptiva y la prueba de "T", se encontraron valores muy similares entre los promedios de infesta-



**Figura 3.** Porcentajes de infestación de broca en campo determinados por los métodos de muestreo de las 30 Ramas y la Medida, en cuatro fincas del estudio.

**Tabla 2.** Descripción de los niveles de infestación por broca obtenidos para cada finca y para cada uno de los métodos de muestreo evaluados. Descriptores estadísticos y Prueba de T.

Finca	Media	Error S.	S	S <sup>2</sup>	V. R.	C. V.	P**
Hawai 1/2*	3,34 / 2,20	1,02 / 0,68	3,54 / 2,37	12,57 / 5,64	30,54 / 31,36	106,29 / 108,18	0,82
Guadualito	1,74 / 1,71	0,15 / 0,16	0,59 / 0,64	0,36 / 0,40	8,62 / 9,36	34,48 / 37,43	0,9
El Rancho	5,50 / 5,88	0,62 / 0,71	2,31 / 2,64	5,35 / 7,00	11,27 / 12,08	42,00 / 45,07	0,7
El Porvenir	3,74 / 3,97	0,37 / 0,38	1,50 / 1,53	2,24 / 2,34	9,87 / 9,57	40,00 / 38,54	0,67
Buenos Aires	1,32 / 1,21	0,24 / 0,23	0,96 / 0,88	0,91 / 0,78	18,18 / 19,01	72,73 / 72,73	0,74
La Esperanza	2,09 / 2,24	0,26 / 0,31	1,04 / 1,23	1,08 / 1,51	12,44 / 13,84	49,76 / 54,91	0,67
La Suiza	1,17 / 1,22	0,16 / 0,20	0,64 / 0,81	0,41 / 0,66	13,68 / 16,26	54,70 / 65,85	0,87
San Diego	0,20 / 0,22	0,04 / 0,04	0,18 / 0,18	0,03 / 0,03	25,00 / 22,73	90,00 / 81,82	0,58
La Alianza	9,06 / 8,40	1,17 / 1,07	4,71 / 4,28	22,21 / 18,33	12,91 / 12,74	51,98 / 50,95	0,86
La Quiteña	3,17 / 2,65	0,73 / 0,62	3,00 / 2,58	9,03 / 6,64	23,03 / 22,77	94,64 / 97,36	0,58
La Rivera	5,07 / 4,35	1,27 / 0,93	4,77 / 3,49	22,76 / 12,22	25,05 / 21,38	94,08 / 80,23	0,65

\*1= valor obtenido con el método de las 30 ramas, 2= valor obtenido con el método de la Medida. S= Desviación Estándar, S<sup>2</sup> = Varianza, V. R.= Variación Relativa, C. V.= Coeficiente de Variación. \*\* valor de P para una prueba de T entre los dos métodos para cada finca

ción de ambos métodos para cada finca. De este análisis se infiere que el método de la medida es el más apropiado y aconsejable para evaluar niveles de infestación de la broca del café en campo, siempre y cuando se realice un muestreo aleatorio que permita ubicar 30 sitios por cada 5.000 árboles de café y recorrer el lote en zig-zag.

**Comentarios de los caficultores sobre los dos métodos de muestreo.** Los comentarios que realizan los caficultores son muy importantes dentro de los esquemas de investigación participativa, ya que ellos al hacer las evaluaciones en el campo pueden apreciar los aspectos positivos o negativos que tiene la aplicación de cualquier tecnología, en este caso relacionada con el manejo integrado de la broca del café y en particular con los métodos de muestreo. Según Aristizábal *et al.* (2003, 2004) en reuniones y encuentros llevados a cabo en el transcurso del proyecto de investigación participativa con agricultores de Cenicafe, se recogieron textualmente los siguientes comentarios por parte de los caficultores:

“Los resultados son casi iguales. La diferencia en porcentaje es mínima”. “La medida es más rápida para realizar el conteo de la broca”. “Se tiene plena confianza para tomar una decisión a la hora de hacer el conteo de la broca con la medida”. “Si funciona en una finca grande, creo que también funciona en una finca pequeña”. “Este método de evaluación (la medida) es bueno, es más rápido, más fácil y económico, y puede ser mejor porque el resultado es igual”. “Es fácil, por lo menos es mucho más rápido. General-

mente la broca no pica en la punta, sino en el centro de la rama”.

**Dificultades en la aplicación de ambos métodos.** Después de establecer el método de muestro para cuantificar las poblaciones de la broca (métodos de las 30 ramas), la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, realizó la transferencia de este método a los caficultores, a través de las campañas para el manejo de la broca del café. En relación con la adopción del muestreo de la broca del café, Bentley (1997), opina que en el ámbito mundial, los agricultores de pequeña escala tienden muy poco a adoptar el muestreo como una práctica importante dentro del manejo integrado de plagas. Según Duque y Chaves (2000), en una encuesta de adopción realizada en nueve departamentos cafeteros de Colombia se encontró que el 42,56% de los caficultores no evalúan el nivel de infestación de la broca recomendado por Cenicafe (método de las 30 ramas), el 46,02% lo aplican en forma ineficiente y solo el 11,41% evalúa en forma eficiente, es decir aplica bien el método de muestreo. El índice de adopción del nivel de infestación de broca fue de 0,24 sobre 1 (Duque y Chaves 2000).

A pesar que los caficultores recibieron capacitaciones sobre ambos métodos de muestreo, se presentan algunas deficiencias en la aplicación de estos métodos en el campo. Al seleccionar incorrectamente las ramas productivas (demasiado arriba o demasiado abajo, ramas con menos de 30 frutos etc.), podría resultar una valoración imprecisa del porcentaje de infestación. El método de muestreo de la

medida presenta el inconveniente que se requiere calibrarlo para cada caso (lotes, fincas, cosechas, etc.)

Según Baker (1999), la mayoría de los caficultores no aplican el muestreo de infestación, debido a su bajo nivel de escolaridad pues no saben calcular un porcentaje. En los meses con baja cantidad de frutos verdes en las ramas, los porcentajes de infestación son altos, lo cual puede confundir al caficultor y hacerle tomar una medida de control innecesaria. El estimado del porcentaje de frutos atacados solo constituye una medida muy aproximada de la infestación. Sin embargo, durante varios años se ha aplicado el método de las 30 ramas recomendado por Cenicafe en numerosas fincas, obteniendo buenos resultados en relación con la toma de decisiones sobre las medidas de control más apropiadas para aplicar en un momento dado.

### Conclusiones

Los resultados indican que el método de la medida es igual de apropiado al de las 30 ramas. Por tanto, es aconsejable para evaluar niveles de infestación por broca en el campo. El método de la medida es confiable ya que identificó niveles de infestación por broca similares al método de las 30 ramas en diferentes condiciones de campo y con diferentes niveles de infestación: bajos (menores a 2,5%), medios (entre 2,5 y 5%) y altos (mayores a 5%). Los caficultores manifestaron mayor agrado y conformidad por el método de la medida frente al método de las 30 ramas. Por tanto, estarían dispuestos a implementarlo dentro del manejo inte-

grado de la broca del café. Los caficultores pueden presentar dificultades al aplicar ambos métodos de muestreo, especialmente al hacer los cálculos de los porcentajes de infestación, debido a su bajo nivel de escolaridad.

### Agradecimientos

A los caficultores vinculados al proyecto de Investigación Participativa de Cenicafe pertenecientes a los municipios de Viterbo, Belalcázar y Risaralda (Caldas), Quimbaya (Quindío) y Balboa (Risaralda) por su colaboración y apoyo permanente durante el desarrollo del proyecto. A todas las personas de la Disciplina de Entomología y de Cenicafe que ayudaron a que se realizara este trabajo. Al Convenio COLCIENCIAS – FNC – Cenicafe por la financiación conjunta del proyecto Ent 0308 “Investigación Participativa con pequeños Caficultores para el Manejo Integrado de la Broca del Café.”

### Literatura citada

- ARÉVALO, A., M. 2002. Primeros Frutos de la Investigación Participativa con Agricultores en Corpoica. PRONATTA-Corpoica. Bogota Colombia. 170 p.
- ARISTIZÁBAL, A., L. F.; SALAZAR, E., H. M.; MEJÍA, M., C. G. 2002. Informe Final del Proyecto Manejo Integrado de la Broca del cafeto CFC/ICO/02 1998 - 2002. Un informe de las actividades del proyecto en Colombia, Guatemala, Honduras, México y Jamaica. Parte I. Investigación Participativa con Agricultores en el Manejo Integrado de la Broca del Café en Colombia. Convenio ICO – CFC – CABI Bioscience – FEDERACAFÉ – CENICAFÉ. Chinchiná, Caldas, Colombia. Enero 2002, p. 11 - 101.
- ARISTIZÁBAL, A., L. F.; JIMENEZ Q. M.; TRUJILLO E. H. I. 2003. Memorias IV Encuentro de Caficultores Experimentadores. Manejo Integrado de la Broca del Café a través de Investigación Participativa. Convenio Colciencias - Federacafé – Cenicafe. Fundación Manuel Mejía, Chinchiná diciembre 10 y 11 de 2003. 42 p.
- ARISTIZÁBAL, A., L. F.; BUSTILLO P. A., E.; JIMENEZ Q. M.; TRUJILLO E. H. I. 2004. Memorias V Encuentro de Caficultores Experimentadores. Manejo Integrado de la Broca del Café a través de Investigación Participativa. Convenio Colciencias - Federacafé – Cenicafe. Fundación Manuel Mejía, Chinchiná septiembre 21 y 22 de 2004. 70 p.
- ASHBY, J. A. 1992. Manual para la evaluación de tecnologías para productores. IPRA / Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Cali (Colombia). 127 p.
- ASHBY, J. A.; GARCIA, T.; HERNÁNDEZ, L. A. 1999. Investigación participativa con productores: Una metodología orientada a la vinculación temprana y activa de los destinatarios potenciales de las tecnologías. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT. Tomado de: <http://WWW.ciat.cgiar.org/tropicleche/48795.html>
- BAKER, P. S. 1999. La broca del café en Colombia; Informe final del proyecto MIP para el café DFID – Cenicafe – CABI Bioscience (CNTR 93/1536 A). Chinchiná (Colombia), DFID. 154p.
- BENTLEY W. J. 1997. Informe de la misión de consultoría a Colombia. Proyecto ODA –IICB-Cenicafe. No publicado. Cochabamba (Bolivia). 28 p.
- BENTLEY, W. J.; BAKER, S. P.; ARISTIZÁBAL, A. L. F.; CAMPOS, O.; CHILAN, W.; GARCIA, A.; JARQUÍN, R.; MEJÍA, C. G.; MUÑOZ, R., LARCO, A., SALAZAR, E. H. M. 2002. Manual for collaborative research with smallholder farmers. “What we learned from the CFC IPM coffee project”. CABI Commodities. Egham, Surrey TW20 9 TY UK. May 2002.)
- BUSTILLO, P., A. E.; CÁRDENAS, M., R.; VILLALBA, G., D. A.; BENAVIDES, M., P.; OROZCO, H., J.; POSADA, F., F. J. 1998. Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Centro Nacional de Investigaciones del Café CENICAFÉ. Chinchiná (Colombia). 134 p.
- BUSTILLO, P., A. E.; MEJIA M. C. G. 2003. Un plan de muestreo más rápido para determinar la infestación de broca en un cafetal. Memorias, Curso Tecnología y Equipos de Aspersión para el Control de la Broca del Café. Chinchiná (Colombia), Marzo 25 -27, 2003. 40 p.
- CASTELLANOS, C. P. A.; GIRALDO, C., M. J.; MUÑOZ, V. C. I.; RAMÍREZ, R., C. A.; RIOS, G. G.; RIOS, G. W. 1999. Manual para la investigación en fincas de productores. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, SENA. Manizales (Colombia). 178 p.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. 1993. Cenicafe. Como determinar la infestación de broca en un cafetal. Brocarta N° 5. 2 p.
- CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. 1993. Cenicafe. Otra forma de conocer la infestación por broca en un cafetal. Brocarta N° 6. 2 p.
- DECAZY, B. 1988. Control de la broca del café *Hypothenemus hampei*. In: PROMECAFE, diez años de labores 1978-1988. Informe Guatemala, PROMECAFE. p 53-72.
- DUQUE O. H.; CHAVES C. B. 2000. Estudio sobre la adopción del manejo integrado de la broca del café. Chinchiná, (Colombia). Cenicafe. 100 p.
- FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. 1995. Manejo Integrado de la Broca. Boletín de Extensión. No. 76: 1-25.
- MONTOYA, R. E. C. 1997. Estudio de muestreo estadístico para estimar la infestación causada por la broca del café. Cenicafe 48 (3). p. 156-172.
- RÉMOND, F.; CILAE, C.; VEGAR, M. I.; GONZALEZ, M. O. 1993. Méthologie déchantillonge pour estimer les attaques des baies du caféier par lles scolytes *Hypothenemus hampei* Ferr. Café Cacao Thé (Francia). 37(1): p 35–52.
- STROUD, A. 1993. Conducting on farm experiments. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. Cali (Colombia). 118 p.
- TRIPP, R.; WOOLLEY, J. 1989. La etapa de la planificación de la investigación en campos de agricultores: Identificación de factores para la experimentación. CIMMYT y CIAT México D. F. (México) y Cali (Colombia). 85 p.

## Effect of *Jatropha gossypifolia* leaf extracts on three Lepidoptera species

Efecto de extractos de hojas de *Jatropha gossypifolia* sobre tres especies de Lepidoptera

ARNUBIO VALENCIA J.<sup>1,4</sup>, BRIGITTE FRÉROT<sup>2</sup>, HERVE GUÉNEGO<sup>2</sup>, DIEGO F. MÚNERA<sup>3</sup>, MARIA FÁTIMA GROSSI DE SÁ<sup>4</sup>, PAUL-ANDRÉ CALATAYUD<sup>5\*</sup>

**Abstract.** Leaf extracts of *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) contain compounds that are toxic to insects. In this study, these extracts were tested against larvae of three lepidopteran species, *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae), *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae) and *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae), which are important pests of maize in Africa, Europe and Mediterranean countries, respectively. Leaf extracts were shown to be highly toxic to neonate larvae of *B. fusca* and *O. nubilalis* quickly after they were ingested. In contrast, no effect was found on fourth instar *O. nubilalis* and a low level of toxicity was observed on neonates of *S. nonagrioides*. Given the toxicity of *J. gossypifolia* to larval neonates of *B. fusca* and *O. nubilalis*, this extract can be used for the control of these species when they are colonizing the plant.

**Key words:** Euphorbiaceae. Noctuidae. *Busseola fusca*. Pyralidae. *Ostrinia nubilalis*. *Sesamia nonagrioides*. LC<sub>50</sub>

**Resumen.** Los extractos foliares de *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) contienen compuestos que son tóxicos a los insectos. En este estudio, se probaron estos extractos sobre las larvas de tres especies de lepidópteros, *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae), *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae) y *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae); las cuales son plagas importantes del maíz en África, Europa y países mediterráneos respectivamente. Se encontró que los extractos foliares eran altamente tóxicos contra larvas neonatas de *B. fusca* y *O. nubilalis* rápidamente después de que fueron ingeridos. En contraste, no se encontró toxicidad frente a larvas en cuarto instar de *O. nubilalis* y un bajo nivel de toxicidad fue observado con neonatos de *S. nonagrioides*. Debido a la toxicidad de *J. gossypifolia* hacia larvas neonatas de *B. fusca* y *O. nubilalis*, se puede usar este extracto para el control de estas especies cuando están colonizando plantas de maíz.

**Palabras clave:** Euphorbiaceae. Noctuidae. *Busseola fusca*. Pyralidae. *Ostrinia nubilalis*. *Sesamia nonagrioides*. LC<sub>50</sub>

### Introduction

Maize and sorghum are two important food crops in Africa for commercial and resource-poor small-scale farmers (Kfir 1998; Seshu Reddy 1998); these crops are cultivated primarily for human consumption, and surpluses are used for feeding livestock (Sibanda 1985). In Africa, the productivity of these crops is very low partly due to the damage caused by lepidopteran stemborers (Haile and Hofsvang 2002). Among them, the stem borer *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae) is considered one of the major insect pests (Kfir *et al.* 2002).

The use of insecticides to control stem borers has been proven inefficient due to

the cryptic habit of the larvae, which protects them against insecticide sprays. In addition, insecticides are generally not favorable in durable pest management systems due to eco-toxicity and are not affordable to African peasant farmers. Botanicals are one of the alternatives considered environmentally friendly.

This method does not only reduce application of synthetic insecticides, but also reduce the cost with pest management, which is an important factor for farmers in developing countries. The efficacy of botanicals are largely demonstrated in grain storage insects (Huang *et al.* 1997, 2000; Liu and Ho 1999; Dal Bello *et al.* 2001; Taponjou *et al.* 2002). Further-

more, extracts from the Indian neem tree, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), are widely used to control various insect species (Saxena 1989; Schmutterer 1990).

The bellyache bush (*Jatropha gossypifolia* L. [Euphorbiaceae]), native of tropical America is now widespread in the tropics. It is used for medicinal purposes in Africa, Thailand and tropical America and is cultivated as an ornamental plant in Florida. Few insects have been observed to be associated with this plant species apart of a single whitefly species (Sauvion N., pers. observ.) and occasional infestations by thrips and a polyphagous mealybug species (Calatayud P.-A., pers.

1 Profesor Asociado. Dpto de Fitotecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas. Calle 65. N° 26-10. Manizales-Colombia. Tel. (68) 861250. E-mail: arnubio@laciudad.com

2 Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Unité de Phytopharmacie et Médiateurs Chimiques, Route de St Cyr, 78026 Versailles, France. E-mail: frerot@versailles.inra.fr

3 International Center for Tropical Agriculture (CIAT), Cassava Entomology, CIAT AA 6713, Cali-Colombia. E-mail: difemusa@hotmail.com

4 EMBRAPA, Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brazil.

5\* Corresponding author: Institut de Recherche pour le Développement (IRD) c/o International Center for Insect Physiology and Ecology (ICIPE), P.O. Box 30772, Nairobi-Kenya. E-mail: pcalatayud@icipe.org.

observ.). Leaf extracts of the plant were shown to be toxic to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Phenacoccus herreni* William & Cock (Sternorrhyncha: Pseudococcidae) (Dev and Koul 1997; CIAT 2001). To our knowledge, nothing have been reported showing toxicity of *J. gossypifolia* leaves to Lepidoptera insects.

The purpose of this work was to evaluate the toxicity of *J. gossypifolia* leaf extracts towards *B. fusca*, to *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae), and to *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae), which are important pests in many countries in Africa and Europe respectively.

### Materials and Methods

**Insects and plant material.** *Busseola fusca* (Fuller) was provided by the ICIPE mass-rearing unit (Nairobi, Kenya) and was reared on an artificial diet under laboratory conditions (Onyango and Ochieng'-Odero 1994). To regenerate the colony, new insects collected from the field were added three times per year. *Ostrinia nubilalis* and *Sesamia nonagrioides* larvae were collected from the South part of France and then reared for more than two generations on an artificial diet at the Institut National de Recherche Agronomique (INRA, Versailles, France) (Poitout and Bues 1974). The insects were maintained in a controlled chamber under the following conditions:  $25.3 \pm 0.9$  °C,  $68.6 \pm 12.8$  % r.h. (means  $\pm$  SE) and L12:D12 reversed photoperiod. Both neonate larvae (0 to 24 h old) and fourth instar larvae (about 20-25 days old) were used in these experiments. All experiments were carried out in France at the INRA, Versailles.

Two-month old *J. gossypifolia* L. plants were used. Cuttings were planted in individual cylindrical plastic pots (ID = 30

cm; height = 22 cm) containing peat and sand, and kept in a glasshouse at 28-35 °C and L12:D12 photoperiod. Only mature leaves were selected for active material extractions (CIAT 2001).

**Leaf sample collection and crude extraction method.** Leaves were harvested and frozen in liquid nitrogen. Thirty minutes later, extraction, based on the method described by Valencia-Jiménez et al. (2000) for plant proteins, was performed. One gram of fresh leaves was powdered in a mortar containing liquid nitrogen. Thereafter, 4 ml of 0.1 M sodium chloride solution were added. The mixture was stirred for 6h at 4 °C. The slurry was filtered and centrifuged at 8,000 rpm at 4°C during 20 min. The supernatant was centrifuged one more time until no pellet was obtained. Then, the supernatant was dialyzed against water with a MWCO 3.5 kDa cellulose membrane at 2 - 4°C for 3 days and freeze-dried. The resulting powder was stored at -20°C and used for toxicity experiments.

**Toxicity tests.** Leaf extract was added to the artificial diet of Onyango and Ochieng'-Odero (1994) at six concentrations ranging from 0.01 to 100 mg/ml. Its toxic effect was tested on *B. fusca* larvae. The highest concentration (100 mg/ml) was also tested on larvae of *O. nubilalis* and *S. nonagrioides* by mixing the extract with the artificial diet of Poitout and Bues (1974). In another experiment, the leaf extract was boiled for 10 min before adding it to the artificial diet, and then the toxicity was tested at 100 mg/ml for each Lepidoptera species.

Five individual insects were introduced into a Petri dish ( $\varnothing$  35 mm) containing 1g of diet. Mortalities were recorded 24 and 48 hours later. Each test was replicated four times. To verify that the larvae

fed normally, a mixture containing diet and 1% (w/w) of bromocresol purple pH indicator as described by Sinha (1959) was prepared and used in the same condition.

All experiments were conducted at  $25.3 \pm 0.9$  °C,  $68.6 \pm 12.8$  % r.h. (means  $\pm$  SE) and L12:D12 reversed photoperiod. For each experiment, the controls corresponded to the meridic diets without leaf extract.

**Data analysis.** Statistical analyses were performed with Statview version 5.0 (© 1998, SAS Institute Inc., Abacus Concept, USA). When possible to calculate the variance, homogeneity of variance and data normality were examined by *F*-test and Kolmogorov-Smirnov methods respectively, before running the ANOVAs. All proportions were transformed to arcsin before being subjected to ANOVA. Fisher's PLSD (Protected Least Significant Difference) test was used for mean separation. For *B. fusca* neonates, the four replicates used for each leaf extract concentration yielded four mortality percentages, allowing toxicity indices to be calculated. The Log (C) and probit (%) transformations were used to calculate  $LC_{50}$  and  $LC_{90}$ , and their confidence intervals at 5% level (Bliss 1935). A program allowing the easy calculation and statistical analyses of these indices is freely available from the authors (Febvay and Rahbé 1991).

### Results and discussion

The effect on the mortality of *B. fusca* neonate larvae was analyzed using six leaf extract concentrations. The results are presented in Table 1. With the increase in the concentration, a significantly level of larval mortality were found at both, after 24 and 48 hours of feeding, indicating that *J. gossypifolia* leaf extracts are highly toxic to the insect. The  $LC_{50}$  and  $LC_{90}$  after 24 hours were 0.9 and 79 mg/ml, respectively. After 48 hours feeding, only the  $LC_{90}$  could be calculated for the lower concentration (9 mg/ml). A high mortality at 70% was still obtained with the lowest concentration tested.

The highest mortality of *B. fusca* after 24 hours was found at 100 mg/ml. Based on this data, the toxicity of *J. gossypifolia* leaf extracts to both *O. nubilalis* and *S. nonagrioides* was determined using this concentration.

The table 2 shows that 100 mg/ml of extract in the artificial diet induced 75% and 100% of mortality of neonates of *O.*

**Table 1.** Percent mortality,  $LC_{50}$  and  $LC_{90}$  of *B. fusca* neonate larvae due to exposure to leaf extract of *J. gossypifolia* at different concentrations in the diet.

Extract concentration in the diet (mg/ml)	% <sup>1</sup> Mortality (means $\pm$ SE <sup>2</sup> )	
	24h after	48h after
0	0 a	0 a
0.01	30.0 $\pm$ 10.0 b	70.0 $\pm$ 7.0 b
0.1	45.0 $\pm$ 17.1 c	80.0 $\pm$ 6.2 bc
1	50.0 $\pm$ 5.8 bc	85.0 $\pm$ 5.8 bc
10	65.0 $\pm$ 5.0 cd	90.0 $\pm$ 10.0 c
50	70.0 $\pm$ 5.8 d	100 d
100	100 e	100 d
$LC_{50}$ [confidence interval, $P=0.05$ ] (mg/ml)	0.9 [0.3-1.5]	not possible to calculate
$LC_{90}$ [confidence interval, $P=0.05$ ] (mg/ml)	79 [67-91]	9 [6-12]

<sup>1</sup>% without correction; <sup>2</sup>Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level (Fisher's PLSD test following ANOVA).

**Table 2.** Percent mortality of *B. fusca*, *O. nubilalis* and *S. nonagrioides* neonate larvae due to exposure to leaf extract of *J. gossypifolia* at 100 mg/ml in the diet before or after boiling.

Insect	% Mortality (means $\pm$ SE <sup>1</sup> , n=20)	
	24h after	48h after
<b><i>B. fusca</i></b>		
Control diet	0	0
With extract	100	100
With extract (after boiling)	100	100
<b><i>O. nubilalis</i></b>		
Control diet	5.0 $\pm$ 5.0 a	10.0 $\pm$ 5.8 a
With extract	75.0 $\pm$ 9.6 b	100 b
With extract (after boiling)	65.0 $\pm$ 9.6 b	100 b
<b><i>S. nonagrioides</i></b>		
Control diet	5.0 $\pm$ 5.0	10.0 $\pm$ 10.0
With extract	25.0 $\pm$ 12.6	45.0 $\pm$ 9.6
With extract (after boiling)	20.0 $\pm$ 8.2	20.0 $\pm$ 8.2

<sup>1</sup>Means followed by the same letter are not significantly different at 5% level (Fisher's PLSD test following ANOVA). For *B. fusca*, no letter was given because the data do not fit ANOVA requirements. For *S. nonagrioides*, no letter was given because  $p > 0.05$  for ANOVA.

*nubilalis* after 24 hour and 48 hour of feeding period, respectively. In contrast, no effects were found when the same extract was evaluated with *S. nonagrioides* larvae.

For each insect species, the bromocresol-containing diet induced a color change of the larvae intestinal duct, after 60 min of feeding. This confirms that larvae fed normally on the modified diet and indicate that the mortality was linked to diet toxicity. Moreover, its toxicity to *B. fusca* and *O. nubilalis* was not affected after boiling the leaf extracts (Table 2), indicating that the toxicity could be due to thermo-stable compound(s). For the fourth instar larvae of *B. fusca*, no mortality was recorded after 24 hours at 100 mg/ml; however 70% of mortality was obtained after 48 hours. Thus, the toxicity of *J. gossypifolia* leaf extract for *B. fusca* decreases with the age of the larvae. In the case of *O. nubilalis* and *S. nonagrioides*, no mortality was recorded at 100 mg/ml in the diet after 48 hours or after five days. All species larvae showed a colored intestinal tract when these had been fed on the diet containing pH indicator, thus, the low toxicity on old larvae was not related with starvation but more probably to an increased tolerance of the larvae to the toxin.

In conclusion, *J. gossypifolia* leaf extracts demonstrated to be highly toxic to both *B. fusca* and *O. nubilalis*. Neonate larvae revealed to be more sensitive than older larval stage. Other reports demonstrated the presence of several secondary compounds from *J. gossypifolia* leaves and its implication in the toxicity, includ-

ing flavonoids (e.g. apigenin, isovitexin, vitexin) and diterpenoids (e.g. jatrophone) (Kupchan *et al.* 1970; Subramanian *et al.* 1971). However, these compounds are generally not water soluble, and thus could not have been extracted from the leaves in our study. In addition, these molecules possess a molecular weight lower than 3.5 kDa and would have been removed during the dialysis. Only molecules with molecular weight greater than 3.5 kDa could therefore be involved in the toxicity. Also, Euphobiaceae plants are known to possess polyisoprenes with high molecular weights, in the form of latex (Archer 1980). Such compounds are mostly soluble in organic solvents such as benzene and chloroform. Their presence in the leaf extract described here can be ruled out. Therefore, compounds having molecular weights of over 3.5 kDa and a thermo-stable characteristic appeared as the most plausible chemical involved in the toxicity for moth neonates.

Plant extracts have been proven successful for the control of grain storage insects in the form of essential oil from plant leaves (Taponjou *et al.* 2002), specially using neem seed oil (Schmutterer 1990). To control maize stemborers, the treatments should be aimed at the first instar, when these migrate from the oviposition site to the whorl, where the larval feeding causes conspicuous leaf damage. However, such extract will probably not control all Lepidoptera species to the same extent, as a quasi-absence of toxicity was found in *S. nonagrioides*. Additionally, a formulation and an easier process to extract the leaves should be developed.

## Acknowledgements

The work was supported by grants from COLCIENCIAS (Colombia) and the "Institut National de la Recherche Agronomique" (INRA-France) for A.V.J. We are pleased to thank Dr. Marie-Louise Milat and Dr. Fritz Schulthess for their valuable critical readings of the manuscript and for their English corrections.

## Cited literature

- ARCHER, B. L. 1980. Polyisoprene. In: E. A. Bell and B. V. Charlwood (eds), Encyclopedia of Plant Physiology. New Series. Volume 8. Secondary Plant Products. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 310-327.
- BLISS, C. I. 1935. The calculation of the dosage mortality curve. *Annals of Applied Biology* 22: 134-167.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) 2001. Annual Report IPM Project, Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical 211 pp.
- DAL BELLO, G.; S. PADIN; C. LOPEZ-LASTRA; FABRIZIO, M. 2001. Laboratory evaluation of Chemical-biological control of the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.) in stored grains. *Journal of Stored Products Research* 37: 77-84.
- DEV, S.; O. KOUL. 1997. Insecticides of natural origin. Taylor and Francis, New York. 352 pp.
- FEBVAY, G.; Y. RAHBÉ. 1991. 'Toxicology', un programme pour l'analyse des courbes de mortalité par la méthode des probits sur MacIntosh. *Cahiers Techniques INRA* 27: 77-78.
- HAILE, A.; T. HOFVANG. 2002. Host plant preference of the stem borer *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Protection* 21: 227-233.
- HUANG, Y.; J. M. W. TAN; R. M. KINI; HO, H. S. 1997. Toxic and antifeedant action of Nutmeg oil against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motschulky. *Journal of Stored Products Research* 33: 289-298.
- HUANG, Y.; S. L. LAM; HO, S. H. 2000. Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 36: 11-17.
- KFIR, R. 1998. Maize and grain sorghum: southern Africa. In: A. Polaszek (ed), African Cereal Stem Borers: Economic Importance, Taxonomy, Natural enemies and Control. CABI, Wallingford, UK, pp. 29-37.
- KFIR, R.; W. A. OVERHOLT; Z. R. KHAN; POLASZEK, A. 2002. Biology and management of economically important lepidopteran cereal stem borers in Africa. *Annual Review of Entomology* 47: 701-731.
- KUPCHAN, S. M.; C. R. WANGER; R. F. BRYAN. 1970. Jatrophone, a novel

- macrocyclic diterpenoid tumor inhibitor from *Jatropha gossypifolia*. Journal of American Chemical Society 92: 4476-4477.
- LIU, Z. L.; S. H. HO. 1999. Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. & Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motschulky and *Tribolium cataneum* (Herbst). Journal of Stored Products Research 35: 317-328.
- ONYANGO, F. O.; J. P. R. OCHIENG'-ODERO. 1994. Continuous rearing of the maize stem borer *Busseola fusca* on an artificial diet. Entomologia Experimentalis et Applicata 73: 139-144.
- POITOUT, S.; R. BUES. 1974. Elevage de 28 espèces de lépidoptères Noctuidae et de 2 espèces d'Arctiidae sur milieu artificiel simplifié. Particularités selon les espèces. Annales de Zoologie et d'Ecologie Animale 6: 431-441.
- SAXENA, R. C. 1989. Insecticides from neem. In: J. T. Arnason, B. J. R. Philogene and P. Morand (eds), Insecticides of plant origin. ACS Symposium Series No.387. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 110-135.
- SESHU REDDY, K. V. 1998. Integrated pest management. In: A. Polaszek (ed), African Cereal Stem Borers: Economic Importance, Taxonomy, Natural enemies and Control. CABI, Wallingford, UK, pp. 39-45.
- SCHMUTTERER, H. 1990. Properties and potentials of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Annual Review of Entomology 35: 271-297.
- SIBANDA, S. 1985. The use of sorghum and millets for feeding livestock. Proceedings of the Regional Workshop of Sorghum Millets for South Africa, Gaborone, Botswana, pp 228-247.
- SINHA, R. N. 1959. The hydrogen-ion concentration in the alimentary canal of beetles infesting stored grain and grain products. Annals of the Entomological Society of America 52: 763-765.
- SUBRAMANIAN, S. S.; NAGARAJAN S.; SULOCHANA N. 1971. Flavonoids of the leaves of *Jatropha gossypifolia*. Phytochemistry 10: 1690.
- TAPONJOU, L. A.; C. ADLER; H. BOUDA; FONTEM D. A. 2002. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. Journal of Stored Products Research 38: 395-402.
- VALENCIA-JIMENEZ, A.; BUSTILLO A. E.; OSSA G. A.; CHRISPEELS M. J. 2000.  $\alpha$ -amylases of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) and their inhibition by two plant amylase inhibitors. Insect Biochemistry and Molecular Biology 30: 207-213.

Recibido: 10-nov-04 • Aceptado: 10-ene-06

**Sección Médica****Estructura genética de *Anopheles darlingi* Root, *An. nuneztovari* Gabaldon y *An. marajoara* Galvão & Damasceno de Colombia mediante RAPD-PCR**Genetic structure of *Anopheles darlingi* Root, *An. nuneztovari* Gabaldon and *An. marajoara* Galvão & Damasceno from Colombia using RAPD-PCRCARMEN ELISA POSSO G.<sup>1</sup>, RANULFO GONZÁLEZ O.<sup>1</sup>, HEIBER CÁRDENAS H.<sup>1</sup>  
Y RICARDO TASCÓN<sup>1</sup>

**Resumen.** La variación y estructura genética de poblaciones colombianas de tres vectores de malaria fue analizada mediante RAPD-PCR. Los análisis incluyeron poblaciones de los mosquitos de diferentes áreas geográficas: (1) Para *An. darlingi*, poblaciones de Medio Atrato, Granada y Tierralta; (2) para *An. nuneztovari*, poblaciones de Buenaventura, Tierralta y Tibú y (3) para *An. marajoara*, poblaciones de Fuente de Oro, San Carlos de Guaroa, Yaguará y Cúcuta. Se siguieron protocolos similares de colecta con cebo humano protegido y para la extracción de ADN. La heterocigosidad esperada de las tres especies varió de 0,28 a 0,34. Las tasas de migración/generación entre poblaciones de cada especie, variaron entre 1,7 y 30,4. El AMOVA reveló poca estructura genética; entre 8,30% y 11,31% de la variación fue explicada por diferencia entre las poblaciones de cada especie. En general, las poblaciones de cada una de estas especies en Colombia presentan apareamientos al azar, con un mayor flujo de genes dependiendo del grado de separación geográfica. Los valores de  $F_{ST}$  y  $\Phi_{ST}$  para *An. darlingi* y *An. nuneztovari* confirmaron mayor flujo genético entre las poblaciones del Occidente (Buenaventura, Medio Atrato y Tierralta) y para *An. marajoara* entre las poblaciones del Oriente (Cúcuta, Fuente de Oro y San Carlos de Guaroa).

**Palabras clave:** Culicidae. Diversidad genética. Marcadores moleculares. Malaria.

**Abstract.** The genetic variation and structure of Colombian populations of three malaria vectors were analyzed by RAPD-PCR. Analysis included mosquito populations from different geographical areas: (1) For *An. darlingi*, populations from Medio Atrato, Granada and Tierralta; (2) for *An. nuneztovari*, populations from Buenaventura, Tierralta and Tibú, and (3) for *An. marajoara*, populations from Fuente de Oro, San Carlos de Guaroa, Yaguará and Cúcuta. Similar collection protocols were followed for using protected human bait and for DNA extraction. The expected heterozygosity of the three species varied from 0,28 to 0,34. The migration/generation rates among populations of each species varied between 1,7 and 30,4. The AMOVA values revealed little genetic structure; between 8,30 and 11,31% of the variation was explained by differences between populations of each species. In general, the populations of each of these species in Colombia display random mating, with a greater gene flow according to degree of geographical separation.  $F_{ST}$  and  $\Phi_{ST}$  values for *An. darlingi* and *An. nuneztovari* confirmed that the higher genetic flow occurred among western populations (Buenaventura, Medio Atrato, and Tierralta) and for *An. marajoara* among the eastern populations (Cúcuta, Fuente de Oro, and San Carlos de Guaroa).

**Key words:** Culicidae. Genetic diversity. Molecular markers. Malaria.

**Introducción**

La malaria, una de las enfermedades de mayor importancia en salud pública en América Tropical y el mundo, produce trastornos a la salud y puede ocasionar la muerte sino se trata adecuadamente. En Colombia la malaria representa un grave problema, estimando que 18 millones de personas se encuentran en riesgo de enfermar o morir por esta causa (OPS/OMS 2000). La malaria es transmitida por vectores del género *Anopheles* (Fleming 1986) entre los que figuran las especies objeto de estudio.

Los programas para el control de los vectores de malaria, requieren un conocimiento exacto de la determinación taxonómica de éstos, ya que se registran en ellos, diferencias en su ecología, capacidad vectorial y respuesta a las medidas de control. Estudios taxonómicos registran en Colombia 41 especies de anofelinos incluido el subgénero *Nyssorhynchus* (Suarez *et al.* 1987), al cual pertenecen las principales especies vectores primarios de malaria en nuestro país. Estos vectores se caracterizan por presentar variaciones en la actividad de picadura

hematófaga y en el comportamiento de picadura y de reposo post-hematofágico, sumado a un polimorfismo fenotípico, lo cual dificulta y podría ocasionar orientaciones erróneas en las medidas de control, por lo cual la importancia de una correcta determinación de las especies vectoras es indispensable especialmente en lugares donde ocurren especies morfológicamente similares que difieren en su desarrollo y ecología. Esta determinación taxonómica se dificulta cuando se presentan complejos de especies enmascarados en especies isomórficas con importancia epidemio-

1. Biólogos, Departamento de Biología, Universidad del Valle, A.A. 25362 Cali. E-mail: ceosso@univalle.edu.co, ranulfo@univalle.edu.co, heiber@univalle.edu.co.

lógica variable. Tal es el caso de *Anopheles albitarsis*, un complejo conformado por cuatro especies (*An. albitarsis* s.s., *An. deaneorum*, *An. marajoara* y la especie *C* aún sin describir) (Wilkerson *et al.* 1995) ó por variaciones citotípicas como es el caso de *An. nuneztovari* para la que se reportan tres citotipos (A, B y C), (Conn *et al.* 1993, 1998).

El entendimiento de la variación genética en poblaciones vectoras, ofrece la base para el entendimiento del papel de estos en la epidemiología de enfermedades. Los factores que conforman la variación genética en una especie vectora también influyen en su capacidad y competencia vectorial (Tabachnick y Black IV, 1996).

Para propósitos taxonómicos, sistemáticos y de poblaciones, el uso de marcadores morfológicos ha sido reforzado y en muchos casos reemplazado por los marcadores de tipo molecular, herramientas muy útiles para analizar individuos de diferentes grupos naturales. La aplicación de técnicas moleculares ha permitido nuevas interpretaciones en la sistemática de vectores de enfermedades y ha estimulado el descubrimiento y caracterización de complejos de especies crípticas (Munstermann y Conn 1997). Los parámetros de estructura genética obtenidos a partir de un marcador molecular permiten además, determinar variabilidad genética inter ó intrapoblacional y ayudan al entendimiento de la variación en el comportamiento hematofágico de las especies vectoras.

Los marcadores moleculares RAPD-PCR generan información que podrían diferenciar subespecies ó especies crípticas; aunque con limitaciones, como ser considerados un carácter dominante y su baja reproducibilidad, han sido utilizados invariablemente por diferentes investigadores de vectores para estudios taxonómicos, relaciones genéticas entre poblaciones y para explicar el papel epidemiológico de diferentes poblaciones geográficas de una especie (Ferreira y Grattapaglia 1998). Para definir el estatus taxonómico y/o estructura genética en cada una de las siguientes especies vectoras: *An. darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. marajoara* en Colombia, se utilizó este marcador. Se determinó dentro de cada una de las especies, su diversidad genética y flujo de genes entre las poblaciones estudiadas.

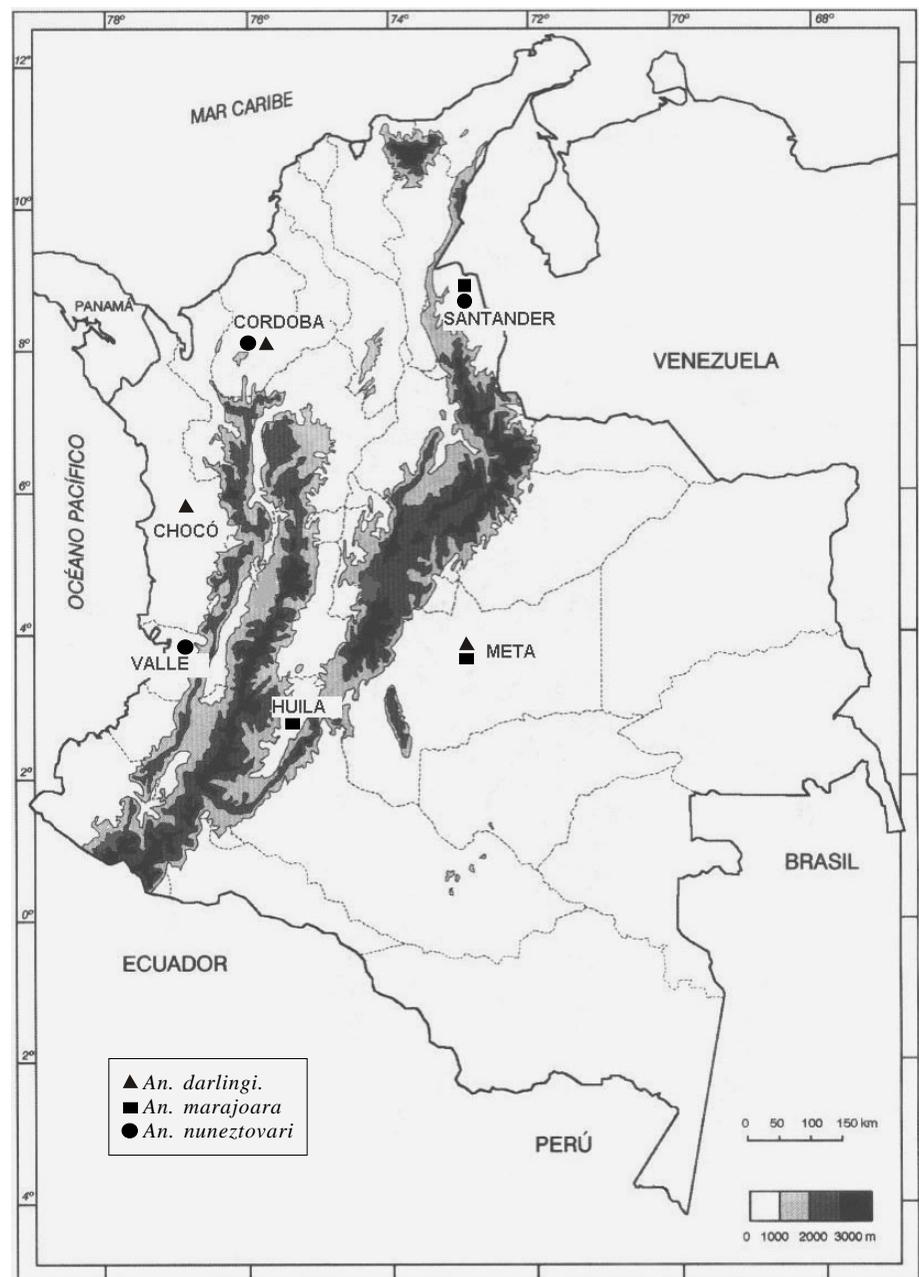
### Materiales y Métodos

**Colección de mosquitos.** Para cada especie se seleccionaron mosquitos de zonas

geográficas de Colombia donde se constituyen vectores primarios de malaria, considerando en este estudio como poblaciones, las localidades donde se efectuaron las colectas. Para *An. darlingi*, el municipio de Tierralta ( $8^{\circ}10'N$ ,  $76^{\circ}04'W$ ), Departamento de Córdoba; el municipio de Granada ( $3^{\circ}32'N$ ,  $73^{\circ}43'W$ ), Departamento del Meta y el municipio de Medio Atrato ( $5^{\circ}41'N$ ,  $76^{\circ}40'W$ ), en el Departamento del Chocó. Los especímenes de *An. nuneztovari* se colectaron en el municipio de Tierralta; en el municipio de Tibú ( $8^{\circ}39'N$ ,  $72^{\circ}59'W$ ) en Norte de Santander y el municipio de Buenaventura ( $3^{\circ}54'N$ ,  $77^{\circ}05'W$ ) en el

Departamento del Valle. Para *An. marajoara* el municipio de Cúcuta ( $7^{\circ}54'N$ ,  $72^{\circ}30'W$ ) en el Departamento de Norte de Santander; los municipios Fuente de Oro ( $3^{\circ}28'N$ ,  $73^{\circ}38'W$ ) y San Carlos de Guaroa ( $3^{\circ}43'N$ ,  $73^{\circ}15'W$ ) en el Departamento del Meta, y el municipio de Yaguará ( $2^{\circ}40'N$ ,  $75^{\circ}31'W$ ) en el Departamento del Huila (Fig. 1).

La recolección de los mosquitos se realizó mediante capturas con cebo humano protegido. Los insectos se llevaron vivos al laboratorio de Entomología de la Universidad del Valle para la identificación de las especies por medio de carac-



**Figura 1.** Ubicación geográfica de poblaciones de *An. darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. marajoara* de Colombia, analizadas con marcadores RAPD-PCR. (mapa: Torres, 2004)

teres morfológicos (Faran 1980; Delgado y Rubio-Palis 1993; Linthicum 1988) y preservados individualmente a  $-20^{\circ}\text{C}$  en tubos de microcentrifuga de 1,5ml con etanol al 100%.

**Extracción de ADN y condiciones del RAPD-PCR.** Se realizó en los laboratorios de Biotecnología del Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT (*An. darlingi* y *An. nuneztovari*) y el laboratorio del Instituto de Inmunología de la Universidad del Valle (*An. marajoara*). Para la extracción del ADN se utilizó el método de Coen *et al.* (1982) con las modificaciones de Pat Romans (Black IV y Du Teau 1997). Con el propósito de lograr patrones de bandas bien definidas, consistentes y reproducibles se estandarizaron las condiciones del RAPD-PCR para cada uno de las especies, obteniendo para *An. darlingi* y *An. nuneztovari*: 1ng/ $\mu\text{l}$  de ADN, Buffer PCR 1X, 2,5mM de  $\text{MgCl}_2$ , 0,2mM de oligonucleótidos y 1U de taq polimerasa, ajustados a 25  $\mu\text{l}$  con agua destilada ultrafiltrada. Para *An. marajoara* las condiciones variaron, utilizando 5ng/ $\mu\text{l}$  de ADN, Buffer PCR 1X, 2,0mM de  $\text{MgCl}_2$ , 0,1mM de oligonucleótidos y 0,5U de taq polimerasa, ajustados a 25  $\mu\text{l}$  con agua destilada ultrafiltrada. Los productos de amplificación se visualizaron en geles de agarosa al 1,5% de acuerdo con el método de Sambrook *et al.* (1989). Los geles se corrieron a 300V durante una hora aproximadamente. En cada gel se utilizó una muestra del fago  $\lambda$  digerido con la enzima PstI como referencia para la determinación de los tamaños moleculares aproximados de los productos de amplificación. Las bandas se visualizaron con bromuro de etidio (0,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Los geles y patrones de bandas se visualizaron y registraron en un equipo Eagleye II (Stratagene).

**Selección de oligonucleótidos polimórficos.** Se utilizaron cebadores de Operon, Technologies®, (Alameda California). La selección de los oligonucleótidos polimórficos se hizo a partir de 70 y 540 cebadores para *An. darlingi* y *An. nuneztovari*, respectivamente. Para *An. marajoara* se utilizaron los cuatro cebadores que produjeron marcadores diagnósticos para la especie C del complejo *An. albitalis* s.l. (Wilkerson 1995). Para descartar artefactos de la técnica y verificar la producción de un proceso de amplificación confiable, se emplearon controles negativos (muestra sin ADN) y positivos (la misma muestra de ADN en todos los geles), para cada población y especie. Seis oligonucleótidos fueron

seleccionados para evaluar 64 individuos de *An. darlingi* (14 de Tierralta, 24 de Medio Atrato y 26 de Granada); diez cebadores fueron empleados para evaluar 119 individuos de *An. nuneztovari* (42 de Buenaventura, 39 de Tierralta y 38 de Tibú). (Posso *et al.* 2003). Para *An. marajoara* se evaluaron 99 individuos (45 de Cúcuta, 42 de Fuente de Oro y San Carlos de Guaroa y 12 de Yaguará).

#### Análisis de los fragmentos RAPD-PCR.

**Análisis taxonómico.** Mediante un análisis independiente, para cada especie se derivó una matriz de distancia (1-M) generada con el programa RAPDLOT de Black IV (1995) esta matriz se estima de la fracción de emparejamientos ( $M$ ), mediante la fórmula  $M = N_{AB} / N_T$ , donde  $N_{AB}$  es el número total de emparejamientos entre los individuos  $A$  y  $B$  (tanto para las bandas ausentes ó presentes) y  $N_T$  el número total de "loci" (fragmentos) del estudio. De esta matriz se derivó otra de distancias (1- M) la cual fue analizada con el programa Neighbor en PHYLIP 3.5C (Felsenstein 1993) y se generó un dendrograma con el método UPGMA. Con el propósito de analizar la consistencia con la cual el dataset RAPD de cada una de las especies soportaba la relación fenética entre las posibles taxa, se realizaron tres análisis bootstrap de 100 pseudoréplicas, utilizando el programa RAPDBOOT 1.0 (Black IV 1996). Con estos se generaron los respectivos juegos de 100 matrices para cada especie, que fueron leídas por PHYLIP 3.5C Cada matriz del juego fue colapsada utilizando el algoritmo de Neighbor para generar un juego de dendrogramas a partir de los cuales, por medio de la opción consenso estricto y regla de la mayoría, se obtuvieron los respectivos árboles consenso de cada especie.

**Análisis genético.** Las distancias genéticas entre las poblaciones de cada una de las especies, fueron analizadas con el programa RAPDDIST 1.0 (Black IV 1997). A partir de cada juego de datos específicos RAPD se generó una matriz de distancia (1-S) (similitud de Nei 1972);  $S = 2N_{AB} / (N_A + N_B)$ , donde  $N_{AB}$  es el número de fragmentos que los individuos  $A$  y  $B$  comparten en común,  $N_A$  es el número de fragmentos del individuo  $A$  y  $N_B$  el número de fragmentos del individuo  $B$ . Los valores fueron corregidos por el factor de Lynch y Milligan (1994). La consistencia con la cual el juego de datos RAPD de cada especie, soportaba las relaciones estimadas entre las poblaciones, también fue evaluada por medio de un bootstrap

de 100 pseudoréplicas, como fue descrito en el análisis taxonómico.

La estructura genética de las poblaciones de cada una de las especies, se estudió mediante el cálculo de heterocigosidad, los estadísticos  $F_{ST}$ , las tasas de migración/generación y el análisis molecular de varianza (AMOVA). Para el cálculo de la heterocigosidad se utilizaron dos métodos: el tradicional de raíz cuadrada de la frecuencia del genotipo "recesivo", asumiendo Hardy-Weinberg (Apostol *et al.* 1996) y el método de Lynch y Milligan (1994). Para realizar este cálculo, se asumió: primero, que las regiones genómicas amplificadas por RAPD-PCR segregan como alelos dominantes; segundo, que los genotipos en los loci RAPD están en equilibrio Hardy-Weinberg; tercero, la identidad en estado entre alelos dominantes amplificados y cuarto, la identidad en estado entre alelos nulos. Utilizando los cuatro supuestos, se estimó  $qj(i)$ , la frecuencia de alelos nulos  $a$  en el locus  $i$  en la población  $j$ .

Para analizar las tasas de migración por generación entre las poblaciones de cada vector estudiado, se calculó el estadístico  $F_{ST}$  de Wright (1951). El estadístico  $F_{ST}$  es la proporción entre la varianza observada ( $S^2$ ) de la frecuencia de un alelo entre las poblaciones y su varianza máxima en la población total. Este estadístico toma los valores extremos de cero (0) cuando todas las poblaciones tienen frecuencias genéticas idénticas y uno (1) cuando la población tiene fijados alelos diferentes, reflejando diferenciación poblacional completa. Los cálculos se llevaron a cabo a partir de las matrices utilizadas en el análisis de agrupamiento, mediante el programa RAPDFST 4.01 (Black IV 1997). La tasa de migración por generación ( $Nm$ ) entre poblaciones fue estimada de  $F_{ST}$ , Wright, Theta ( $\theta$ ) y Lynch y Milligan, asumiendo un modelo de islas, mediante la fórmula  $Nm = (1 - F_{ST}) / 4F_{ST}$ . El valor de  $Nm$  es el producto de un tamaño de población ( $N$ ) potencialmente grande y la tasa de migración ( $m$ ) potencialmente pequeña.

La distancia genética entre los individuos de las poblaciones de cada especie se midió también como una distancia métrica euclidiana con base en el número total de bandas polimórficas y el número de bandas compartidas. Los archivos se crearon con el programa AMOVA-PREP 1.01 (Miller 1998) diseñado para ser utilizado únicamente con marcadores dominantes como los RAPDs. Con el programa WINAMOVA, versión 1.5

**Tabla 1.** Oligonucleótidos RAPD polimórficos en poblaciones colombianas de *Anopheles darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. marajoara*.

Especie	Oligo-nucleótidos	Bandas Polimórficas	Rango de Frecuencias (%)	Rango de Tamaño (Pb)
<i>An. darlingi</i>	A05	11	26,6-84,4	116,5-1702,2
	A13	7	43,7-85,9	400,7- 823,1
	B05	6	43,8-67,2	1104,6-1904,4
	B12	5	14,1-48,4	643,0-1058,8
	B14	9	14,1-89,1	392,7-1138,2
	W09	9	6,3-57,8	457,4-1052,1
<i>An. nuneztovari</i> *	A05	5	12,1-91,7	622,4-1464,0
	A17	7	15,4-56,2	553,0-1430,8
	E03	6	13,7-58,8	482,9-1782,3
	L02	8	32,6-64,9	747,4-1778,5
	M04	4	37,2-85,3	969,4-1460,7
	M09	8	6,8-67,7	626,9-1333,5
	N08	6	17,4-59,8	396,3-1508,8
	P17	7	17,7-79,2	478,1-1121,3
	Y17	5	23,3-66,7	548,2-1123,6
	Z10	9	27,3-59,0	479,7-1370,1
<i>An. marajoara</i>	A01	13	11,0-84,5	670,0-2650,0
	C16	11	7,8-74,0	570,0-2520,0
	C19	6	17,3-81,3	930,0-2160,0
	D01	12	8,6-94,5	530,0-2395,0

\* Ver Posso *et al.* 2003

(Excoffier *et al.* 1992), se realizó el análisis de varianza molecular (AMOVA) con el cual se estimaron los componentes de las varianzas internas y se calcularon los valores de las estadísticas  $F_{IS}$  con el término análogo  $\Phi_{ST}$ . El valor de  $\Phi_{ST}$  estima el grado de estructura de la población.

### Resultados y Discusión

#### Análisis de los fragmentos RAPD-PCR.

Los seis oligonucleótidos polimórficos para *An. darlingi* produjeron 46 bandas con frecuencias que oscilaron entre 6,3 y 85,9%. Para establecer este rango de frecuencias se consideró el criterio de restricción de Lynch y Milligan (1994), que permite realizar estimados no sesgados de los parámetros genéticos. La banda de mayor tamaño molecular presentó 1904,4 pares de bases y la de menor tamaño registró 116,5 pb (Tabla 1). Para *An. nuneztovari* los 10 cebadores que resultaron polimórficos produjeron 65 bandas cuyas frecuencias oscilaron entre 6,8% y 91,7%. La banda de mayor tamaño molecular presentó 1782,3 pares de bases y la de menor tamaño registró 396,3 (Tabla 1). El patrón de amplificación generado por uno de los oligonucleótidos del estudio (M09), se presenta en la figura 2. Para *An. marajoara* los cuatro cebadores diagnósticos de la especie C de *An. albitarsis* s. l. produjeron 42 bandas polimórficas, con frecuencias entre 7,8 y 94,5% y tamaños moleculares entre 530,0 y 2650,0 pares de bases (Tabla 1).

En todos los casos y para cada especie analizada, las diferencias en la frecuencia de bandas entre y dentro de los oligonucleótidos evaluados para cada población, indicaron que aunque los individuos pertenecen a la misma población, presentaron diferencias en el patrón RAPD.

Los cuatro cebadores que produjeron marcadores diagnósticos para la especie C del complejo *An. albitarsis* s. l. en los trabajos de Wilkerson *et al.* (1995), fueron reproducidos con éxito en este estudio y permitieron establecer que en Colombia, está presente únicamente *An. marajoara*, descartando las otras tres especies del complejo (*An. albitarsis* s.s., *An. daeneorum* y *An. albitarsis* sp. B). Este resultado adquiere más importancia si se tiene en cuenta que *An. marajoara*, presente también en el noreste de la Amazonía en Brasil, después de considerarse como especie vectora de menor importancia en la zona, se convirtió en vector principal de malaria, presentando además abundancia poblacional superior al vector considerado primario en la zona, *An. Darlingi* (Conn *et al.* 2002). De acuerdo con estos resultados se hace necesario realizar un análisis poblacional de estas especies en Colombia, en zonas donde se encuentren simpátricamente y estudiar en ellas, el efecto de factores tales como: migración humana y/o cambios en el uso del suelo, mencionados por Conn *et al.* (2002) como causantes

del cambio en la importancia vectora de estas dos especies en la zona amazónica de Brasil.

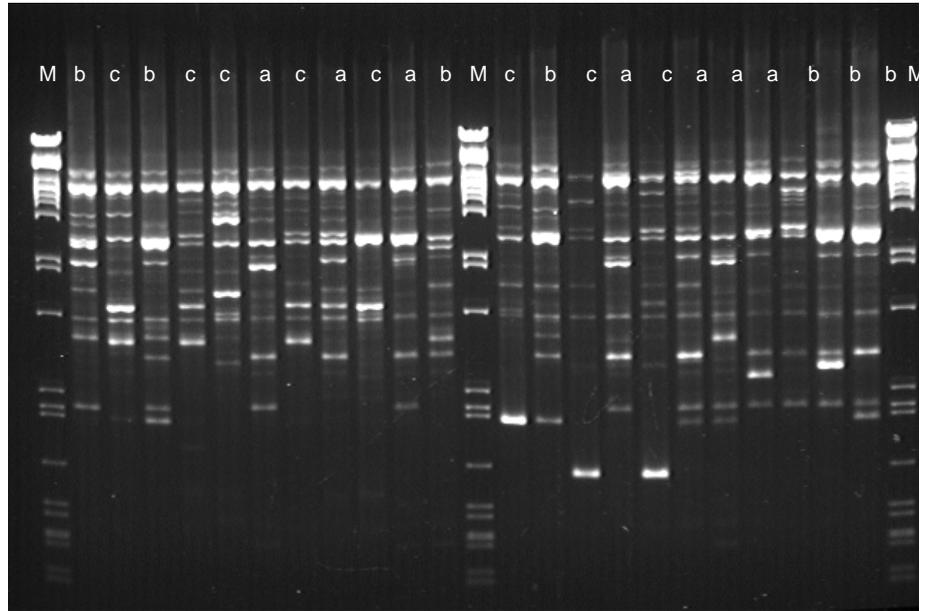
El análisis taxonómico realizado con RAPDPLOT entre los individuos y su respectivo "Bootstrapping", para cada una de las tres especies, determinó que la constitución genética promedio de los individuos de las diferentes poblaciones no varió con respecto a la de la población total, es decir que no se encuentran subdivididas en unidades que difieran genéticamente (Chakraborty y Leimar 1987). A partir de los "loci" RAPD-PCR de cada especie no se observó una clara separación genética entre las poblaciones y se mostraron claramente conespecíficas (Conglomerados no presentados). En los dendrogramas consenso resultantes de cada especie, las ramas formadas contenían individuos de diferentes poblaciones de cada especie, y por otro lado no fueron significativamente diferentes para un gran número de loci. Estos resultados implican que en Colombia no se registran hasta el presente, complejos en ninguna de las tres especies analizadas.

**Análisis genético.** A pesar de la conespecificidad observada, al computar las distancias genéticas de Nei entre las poblaciones (análisis con el programa RAPDDIST), la frecuencia de alelos de las poblaciones de cada una de las especies, analizadas por separado, fue consistentemente diferente para un gran número de loci ya que el bootstrap que soporta las ramas derivadas fue mayor que el 90% (Fig. 3), es decir que a pesar de no ser especies claramente estructuradas, existe una diferenciación genética, explicada por un gradiente de separación geográfica. En *An. darlingi* y *An. nuneztovari*, el árbol consenso estricto determinó un mayor parecido (genético) entre las dos poblaciones del Occidente, mientras que en *An. marajoara* la rama derivada relacionó a las poblaciones del oriente (Figs. 3a y 3b). En *An. darlingi*, Medio Atrato (Chocó) y Tierralta (Córdoba) conformaron un agrupamiento significativamente separado de Granada (Meta) (Fig. 3a). Para *An. nuneztovari* la mayor relación genética se observó entre las poblaciones de Buenaventura (Valle) y Tierralta, claramente diferenciada de Tibú (N. De Santander) (Fig. 3b). Para *An. marajoara* la rama derivada agrupó a las poblaciones de Cúcuta y Meta, diferenciada significativamente de la población de Yaguara (Huila), (Fig. 3c). Los análisis genéticos siguientes soportan estas observaciones.

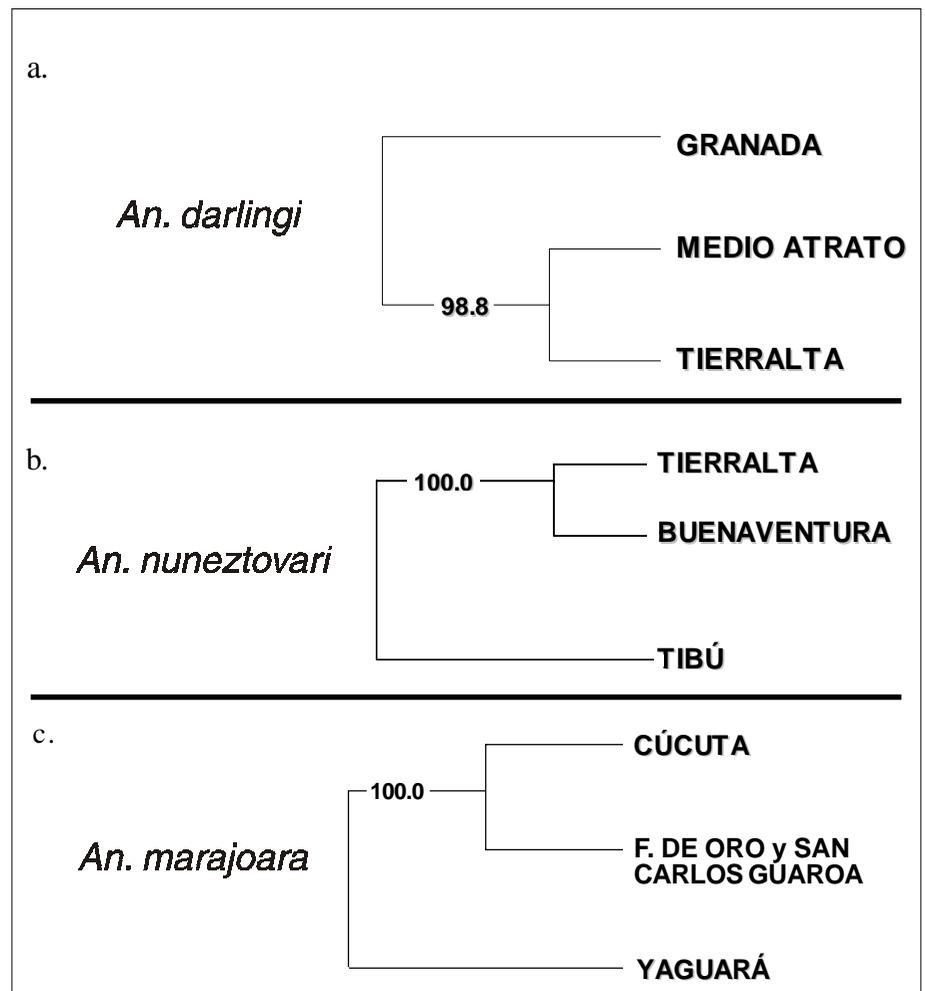
La heterocigosidad promedio esperada, calculada para cada vector con el método estimado de la raíz de la frecuencia de homocigotos “recesivos” (Tabla 2), indicó para las poblaciones de *An. darlingi* y *An. nuneztovari* un alto polimorfismo genético de loci-RAPD, con valores similares para cada población de cada vector y una heterocigosidad total de 0,3718 en el caso de *An. darlingi* y 0,3434 para *An. nuneztovari*. Para *An. marajoara*, se obtuvo un polimorfismo genético menor que osciló entre 0,2511 y 0,2797 para las poblaciones y un valor total de 0,2935, indicando con este resultado una variabilidad genética menor, muy probablemente por la utilización de oligonucleótidos que definen bandas diagnósticas, haciéndose necesario la evaluación de otros oligos que generen otras bandas polimórficas. El hecho de obtener en todos los casos, valores similares de heterocigosidad para cada una de las poblaciones, indica que la heterocigosidad obtenida para cada subpoblación, puede representar la heterocigosidad de la población general y validan la efectividad del muestreo de las poblaciones de mosquitos.

Los valores de heterocigosidad obtenidos con el método de Lynch y Milligan (Tabla 2), indicaron también la existencia de poblaciones heterogéneas de *An. darlingi* y *An. nuneztovari* con un alto nivel de polimorfismo. Aunque para *An. marajoara* se obtuvo un menor valor (0,2936) estos niveles de polimorfismo, indican que existe un flujo genético dentro y entre las poblaciones, el cual permite la expresión de un rango de caracteres y comportamientos que aunque variables, confirman características que definen la especie de cada uno de estos vectores.

Comparar estos resultados de heterocigosidad (Tabla 2), con los obtenidos por otros investigadores, implica una comparación con trabajos en los que la heterocigosidad se haya obtenido a partir de este mismo tipo de marcador molecular pues carece de sentido la comparación con heterocigosidades obtenidas a partir de marcadores bioquímicos, siempre menores. Para evitar comparaciones innecesarias, vale la pena enfocar esta discusión en la implicación de calcular esta heterocigosidad con base en un marcador de tipo dominante de acuerdo con lo expuesto por Yan *et al.* (1999) quienes implican la viabilidad de utilizar este marcador dominante para calcular este parámetro de diversidad genética poblacional, al obtener para *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762, una heterocigosidad mayor con datos RFLPs que con datos



**Figura 2.** Patrones RAPD generados con el cebador M09 y ADN de *Anopheles nuneztovari* en tres poblaciones colombianas: Buenaventura (a), Tierralta (b) y Tibú (c); M: marcador de tamaño molecular PstI



**Figura 3.** Árboles consenso para poblaciones colombianas de a) *An. darlingi*, b) *An. nuneztovari* y c) *An. marajoara*, basado en el análisis de loci polimórficos RAPD-PCR. El número en las ramas, indica el número de veces que la topología fue consistente. Fig. 3b tomada de Posso *et al.* 2003.

AFLPs y datos similares a los obtenidos por Apóstol *et al.* (1996) para la misma especie con marcadores RAPDs.

Al analizar el estadístico  $F_{ST}$  (Tabla 3) aunque los coeficientes de correlación de Pearson para todas las poblaciones combinadas a través de los loci RAPD fueron altos, los promedios estimados para *An. darlingi* y *An. nuneztovari* fueron variables, siendo ligeramente menores para *An. nuneztovari* con el estadístico de Wright que con el estadístico de Theta y Lynch-Milligan. También para *An. marajoara* se obtuvieron promedios menores con el estadístico de Wright lo que indica un grado relativamente bajo de diferenciación de las tres poblaciones de este vector.

Al comparar los valores  $F_{ST}$  (Tabla 3) entre grupos de pares de poblaciones para cada especie, se confirmó una menor variabilidad genética entre las poblaciones occidentales de *An. darlingi* y *An. nuneztovari*, y las poblaciones orientales de *An. marajoara*, al presentar valores más bajos de  $F_{ST}$  comparados con los valores entre estas poblaciones y las poblaciones localizadas geográficamente en el oriente u occidente, respectivamente para cada especie. Lo anterior se reflejó en las tasas de migración por generación entre las poblaciones de cada especie. En el caso de *An. darlingi*, indicaron un mayor flujo genético entre las poblaciones occidentales de Tierralta y Medio Atrato con los tres tipos de estadísticos  $F_{ST}$  (Tabla 3). Para *An. nuneztovari*, los valores de  $Nm$  fueron mayores entre las

poblaciones de Buenaventura y Tierralta, que entre cada una de estas dos poblaciones y la de Tibú donde el número de migrantes por generación fue relativamente menor. Para *An. marajoara* fue más alto el número efectivo de migrantes por generación entre las poblaciones del oriente, Fuente de Oro-San Carlos de Guaroa y Cúcuta. Comparados con los otros dos vectores estudiados los migrantes por generación entre pares de poblaciones de *An. marajoara* fueron menores, probablemente subestimados por la utilización de cebadores diagnósticos.

Lo anterior confirmó la existencia de un flujo genético diferencial entre las po-

blaciones de estos tres vectores en Colombia y es muy probable que estas tasas de migrantes por generación estén asociadas con la presencia o ausencia de barreras geográficas (cordilleras) entre las regiones en las cuales se ubican las diferentes localidades, más que por un aislamiento geográfico por distancia. De igual modo, los análisis de componentes de varianza de los AMOVAS indicaron poca diferencia entre las poblaciones de cada una de las especies, ya que únicamente entre el 8,43% y el 11,31% de la variación es atribuible a varianza entre las poblaciones, mientras que el resto de la variación se presentó entre los individuos de cada población (Tabla 4). Este resul-

**Tabla 2.** Cálculo de la heterocigosidad promedio esperada en poblaciones colombianas de *An. darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. marajoara* con marcadores RAPD-PCR.

Especie	Población		Heterocigosidad Esperada	
	Departamento	Municipio	Estimado de raíz de la frecuencia "aa"	Lynch y Milligan (L y M)
<i>An. darlingi</i>	Meta	Granada	0,3518	0,3722
	Chocó	Medio Atrato	0,3507	0,3729
	Córdoba	Tierralta	0,3555	0,3785
	<b>Todas</b>		<b>0,3718</b>	<b>0,3935</b>
<i>An. nuneztovari</i> *	Valle	Buenaventura	0,3217	0,3168
	Córdoba	Tierralta	0,3274	0,3219
	N. de Santander	Tibú	0,3304	0,3266
	<b>Todas</b>		<b>0,3434</b>	<b>0,3565</b>
<i>An. marajoara</i>	N. de Santander	Cúcuta	0,2511	0,2690
	Meta	Fuente de Oro S. Carlos de Guaroa	0,2797	0,2693
	Huila	Yaguará	0,2794	0,2970
	<b>Todas</b>		<b>0,2856</b>	<b>0,2395</b>

\* Datos basados en Posso *et al.* 2003

**Tabla 3.** Estimados de  $F_{ST}$  y  $N_m$  con marcadores RAPD-PCR entre poblaciones de *An. darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. marajoara* de Colombia.

Especie	Poblaciones (municipios)	$F_{ST}$			$N_m$		
		Wright	Theta ()	L y M	Wright	Theta ()	L y M
<i>An. darlingi</i>	Tierralta-Medio Atrato	0,029	0,023	0,008	8,5	10,8	30,4
	Tierralta-Granada	0,049	0,090	0,071	4,3	2,5	3,3
	Medio Atrato-Granada	0,049	0,074	0,065	4,9	3,1	3,6
	Tierralta-Granada-M.Atrato	0,060	0,068	0,057	3,9	3,4	4,2
<i>An. nuneztovari</i> *	Buenaventura-Tierralta	0,024	0,039	0,035	10,1	6,2	6,8
	Buenaventura-Tibú	0,054	0,091	0,086	4,4	2,5	2,7
	Tierralta-Tibú	0,051	0,085	0,081	4,7	2,7	2,8
	B/ventura-Tierralta-Tibú	0,058	0,072	0,079	4,1	3,,2	2,9
<i>An. marajoara</i>	FdeOro/S.C.Guaroa-Cúcuta	0,021	0,038	0,032	11,6	6,3	7,5
	Fde Oro/S.C.Guaroa-Huila	0,053	0,140	0,127	4,5	1,5	1,7
	Cúcuta-Yaguará	0,059	0,166	0,147	4,0	1,3	1,5
	Fde Oro/S.C.Guaroa-Yaguará- Cúcuta	0,051	0,083	0,119	4,6	2,8	1,8

\* Datos basados en Posso *et al.* 2003

**Tabla 4.** Valores del análisis molecular de varianza (AMOVA) para tres poblaciones colombianas de *An. darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. marajoara*.

Especie	Fuente de Variación	Suma de Cuadrados SS	Media de Cuadrados MS	Varianza explicada	P
<i>An. darlingi</i>	Entre poblaciones	55,739	111,477	8,43%	<0,001
	Dentro de Poblaciones	19,508	1190,014	91,57%	<0,001
<i>An. nuneztovari</i> *	Entre poblaciones	280,022	140,011	11,31%	<0,001
	Dentro de Poblaciones	2683,927	23,137	88,69%	<0,001
<i>An. marajoara</i>	Entre poblaciones	49,825	24,913	8,36%	<0,001
	Dentro de Poblaciones	646,033	6,730	91,64%	<0,001

\* Datos basados en Posso *et al.* 2003

tado indicó que *An. darlingi*, *An. nuneztovari* y *An. marajoara* de Colombia presentan poca subdivisión geográfica entre poblaciones de la respectiva especie. La diferencia observada es comparable con apareamientos al azar, con un flujo de genes suficiente para mantener un grado bajo de estructuración genética, el cual puede depender del grado de separación geográfica entre sus poblaciones. Esto es posiblemente algo diferente a como lo plantean Lounibos y Conn (2000) los cuales citan aislamientos geográficos por distancia en poblaciones de *An. albimanus* de Guatemala (De Mérida *et al.* 1999). Para *An. nuneztovari* Conn *et al.* (1998) reportaron valores de  $F_{ST}$  que aunque obtenidos con otro tipo de marcador molecular, indican también variaciones en las frecuencias génicas entre y dentro de poblaciones de Bolivia, Brasil y Venezuela, coincidentes con los resultados obtenidos para los vectores analizados en este estudio.

También Conn *et al.* (1999), utilizando un marcador codominante, demostraron un aislamiento significativo por distancia entre poblaciones de *An. darlingi* de Bolivia, Brasil y Venezuela, debido a la restricción de flujo genético a un nivel local, sugiriendo que las poblaciones aisladas pueden poseer fenotipos distintivos para factores que afectan su capacidad vectorial. En este estudio no se observó una marcada restricción al flujo genético, incluso entre poblaciones geográficamente separadas por la barrera de las cordilleras, pero esto puede ser atribuido también a que la información fue obtenida con un marcador dominante (RAPD).

### Conclusiones

Las poblaciones de *An. darlingi*, y *An. nuneztovari* presentaron en Colombia un alto polimorfismo genético de loci RAPD-PCR, mientras que para las poblaciones de *An. marajoara*, el polimorfismo fue menor.

Los cuatro cebadores que produjeron marcadores diagnósticos para la especie C de *Anopheles albitarsis* s.l. en los trabajos de Wilkerson *et al.* (1995) fueron reproducidos con éxito en este estudio, reportando con esto la presencia en Colombia de únicamente *An. marajoara*. El análisis taxonómico y genético, determinó que las otras dos especies (*An. darlingi* y *An. nuneztovari*) conforman independientemente, una sola población.

Los análisis de distancia genética entre individuos de las poblaciones de *An. darlingi*, indicaron subdivisión geográfica entre las del occidente (Medio Atrato y Tierralta) y la población del oriente (Granada). Para *An. nuneztovari* sugieren evidencia de separación geográfica entre las poblaciones occidentales (Buena Ventura y Tierralta), con la del nororiente (Tibú). En *An. marajoara* se presentó una mayor relación genética entre las poblaciones orientales de Cúcuta, Fuente de Oro y San Carlos de Guaroa.

En general, para cada uno de estas tres especies vectoras de malaria en Colombia se registraron diferencias intrapoblacionales que podrían indicar apareamientos al azar, con un flujo de genes suficiente para mantener un bajo grado de estructuración genética, el cual puede depender del grado de separación geográfica entre las poblaciones de cada especie.

### Literatura citada

APOSTOL, B. L.; BLACK IV W.C. ; REITER, P.; MILLER B. R. 1996. Population genetics with RAPD-PCR markers: The breeding structure of *Aedes aegypti* in Puerto Rico. Heredity 76: 325-334.  
 BLACK IV, W. C. 1993. PCR with arbitrary primers: Approach with care. Insect Molecular Biology 2 (1):1-6.  
 BLACK IV, W. C. 1995. Statistical analysis of arbitrary primed PCR patterns in molecular taxonomic studies. En Clapp JP (ed.), Methods in Molecular Biology, vol 50:

Species Diagnostic Protocol PCR and Other Nucleic Acid Methods, Human Press, Totowa, NY, p. 39-55.  
 BLACK IV, W. C. 1996. Tutorial of RAPDFST 4.01 Program. Department of Microbiology. Colorado State University.  
 BLACK IV, W. C.; ANTOLIN, M. 1997. Tutorial of RAPDBOOT 1.0 Program. Department of Microbiology. Colorado State University.  
 BLACK IV, W. C.; DU TEAU, N. M. 1997. RAPD-PCR and SSCP analysis for insect population genetic studies. *En Molecular Biology of Insect Disease Vectors: A methods manual*. Edited by J. M. Crampton, C. B. Beard and C. Louis. Chapman & Hall. 362-363pp.  
 COEN, E. S.; STRACHA, T.; DOVER, G. 1982. Dynamics of concerted evolution of ribosomal DNA and histone gene families in the *Melanogaster* species subgroup of *Drosophila*. Journal of Molecular Biology 158: 17-35.  
 CONN, J.; WILKERSON, R. C.; NAZARÉ, M.; SEGURA, O.; DE SOUZA, R. T. L.; SCHLICHTING, C. D.; WIRTZ, R. A.; PÓVOA, M. M. 2002. Emergence o a new neotropical malaria vector facilitated by human migration and changes in land use. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 66(1): 18-22.  
 CONN, J. E.; ROSA-FREITAS, M. G.; LUZ, L. B.; MOMEN, H. 1999. Molecular population genetics of the primary neotropical malaria vector *Anopheles darlingi* using mtDNA. Journal of the American Mosquito Control Association 15(4): 468-474.  
 CONN, J.; MITCHELL, S.E.; COCKBURN, A. F. 1998. Mitochondrial DNA analysis of the Neotropical malaria vector *Anopheles nuneztovari*. Genome 41(3): 313-327.  
 CONN, J.; RANGEL, Y.; SEAWRIGHT, J. A. 1993. A new cytotype of *Anopheles nuneztovari* from western Venezuela and Colombia. Journal of the American Mosquito Control Association 9(3): 294-301.  
 CHAKRABORTY, R.; LEIMAR, O. 1987. Genetic variation within a subdivided population. In: Population genetics and fishery management. N. Ryman y F. Ulter (Eds) Washington Sea Gant Program. University of Washington Press. Pp. 87-120.

- DELGADO, N.; RUBIO-PALIS, Y. 1993. Morphometric characterization of the malaria vector *Anopheles nuneztovari* (Diptera: Culicidae) from western Venezuela. *Mosquito Systematics* 24: 231-241.
- DE MERIDA, A. M. ; PALMIERI, M. ; YURRITA, M. ; MOLINA, A.; MOLINA E. ; BLACK, W. C. IV. 1999. Mitochondrial DNA variation among *Anopheles albimanus* populations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 61(2): 230-239.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction sites. *Genetics* 131: 479-491.
- FARAN, M. E. 1980. Mosquito studies (Diptera: Culicidae) XXXIV. A revision of the *Albimanus* Section of the subgenus *Nyssorrhynchus* of *Anopheles*. *Contributions of the American Entomological Institute* 15(7): 1-215.
- FELSENSTEIN, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Department of Genetics. University of Seattle, Washington.
- FERRREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, H. 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Ministerio de Agricultura e do Abastacimento EMBRAPA, Cenargen. Brasília, D.F.
- FLEMING, G. 1986. Biología y Ecología de los vectores de la malaria en las Américas. Publicación 86-72 de la Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C. 54 pp.
- LINTHICUM, K. J. 1988. A revision of the *Argyritarsis* Section of the Subgenus (*Nyssorrhynchus*) of *Anopheles* (Diptera: Culicidae) *Mosquito Systematics* 20: 98-271.
- LOUNIBOS, L. P.; CONN, J. E. 2000. Malaria vector heterogeneity in South America. *American Entomologist* 46(4): 238-249.
- LYNCH, M.; MILLIGAN, B. G. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* 3: 91-99.
- MILLER, M. P. 1998. AMOVA-PREP. 1.01. A program for the preparation of AMOVA input files from dominant-marker row data. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ.
- MUNSTERMANN, L. E.; CONN, J. E. 1997. Systematics of mosquito disease vectors (Diptera: Culicidae): Impact of molecular biology and cladistic analysis. *Annual Review of Entomology* 42: 351-369.
- NEI, M. 1972. Genetic distances between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- OPS/OMS. 2000. Informe sobre la implementación de la iniciativa hacer retroceder la malaria en Colombia. 6-12 p.
- POSSO, C. E.; GONZALEZ, R.; CARDENAS, H.; GALLEGU, G.; DUQUE, M. C.; SUAREZ, M. F. 2003. Random amplified polymorphic DNA analysis of *An. nuneztovari* (Diptera: Culicidae) from western and northeastern Colombia. *Memorias of Institute Oswaldo Cruz.* (98)4: 469-476.
- SAMBROOK, J. C.; FRITSCH, R.; MANIATAS, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y, p. 6.3-6.34.
- SUAREZ, M. F.; QUIÑONEZ, M. L.; FLEMING, G. A.; ROBAYO, M. 1987. Clave gráfica de los anofelinos de Colombia. Ministerio de Salud Pública de Colombia, 57pp.
- TABACHNICK, W. J.; BLACK IV, W. C. 1996. Population genetics in vector biology. In Beaty BJ, Marquet WC. *The Biology of the Disease Vectors*, University Press of Colorado, Niwot Colorado, p. 417-437.
- TORRES, C. 2004. La tribu Pentatomini (Hemiptera: Pentatomidae) en Colombia. En: Fernández, *et al.* (eds), *Insectos de Colombia*. Vol 3, Universidad Nacional de Colombia, p. 61-128.
- WILKERSON, R. C.; PARSONS, T.J.; KLEIN, T. A.; GAFFIGAN, T. V.; BERGO, E.; CONSOLIN, J. 1995. Diagnosis by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction of four cryptic species related to *Anopheles (Nyssorrhynchus) albitarsis* (Diptera: Culicidae) from Paraguay, Argentina and Brazil. *Journal of Medical Entomology* 32: 697-704 .
- WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics.* 15: 323-354.
- YAN, G.; ROMERO-SEVERSON, J.; WALTON, M.; CHADEE, D. D.; SEVERSON, D. D. 1999. Population genetics of the yellow fever mosquito in Trinidad: Comparisons of amplified fragment length polymorphism (AFLP) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Molecular Ecology* (8): 951-963.

Recibido: 01-oct-04 • Aceptado: 05-dic-05

## Caloric content of the sand fly *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae) vector of *Leishmania*

Contenido calórico del flebotomíneo *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae) vector de *Leishmania*.

PEDRO NOGUERA, MARITZA RONDON, ELSA NIEVES\*

**Abstract.** Females of the sand fly *Lutzomyia ovallesi* (Ortiz) (Diptera: Psychodidae) were fed with blood from various species of vertebrates and analyzed to determine energy reserves under laboratory conditions. *L. ovallesi* specimens were allowed to artificially feed to satiation through chicken membranes on blood from horse, dog, cow, chicken, goat, pig or human. Caloric reserves were calculated spectrophotometrically after females were homogenized in a solution of sodium dichromate and sulfuric acid. The caloric content of *L. ovallesi* varied according to the type of vertebrate blood on which it had fed. The highest content (cal/insect) was found in females fed on human blood (0.33), followed in decreasing order by dog, pig, cow, chicken, goat and horse (0.26). Statistical analysis showed significant differences ( $P < 0.05$ ) among sources. The results showed that human and dog blood meals were more nutritionally efficient. The most inefficient diet for *L. ovallesi* was horse blood manifested by its poor nutritional quality.

**Key words:** Sand flies, caloric reserves, biological potential, bloodmeal, insect vectors.

**Resumen.** Hembras del flebotomíneo *Lutzomyia ovallesi* (Ortiz) (Diptera: Psychodidae) fueron alimentadas con sangre proveniente de varias especies de vertebrados y analizadas para determinar las reservas energéticas en condiciones de laboratorio. Ejemplares de *L. ovallesi* se alimentaron artificialmente a repleción a través de membrana de pollo con sangre de caballo, perro, vaca, gallina, chivo, cerdo o humano. Las reservas calóricas se estimaron espectrofotométricamente, después de homogenizar las hembras en una solución de dicromato de sodio en ácido sulfúrico. El contenido calórico de *L. ovallesi* varió de acuerdo con el tipo de sangre con que se alimentaron. El mayor contenido calórico (cal/insect) fue encontrado en hembras alimentadas con sangre de humano (0,33), seguido en orden decreciente: perro, cerdo, vaca, pollo, chivo y caballo (0,26). El análisis estadístico mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las fuentes. Los resultados mostraron que la sangre de humano y perro fueron más eficientes nutricionalmente. La dieta más ineficiente para *L. ovallesi* fue la sangre de caballo manifestada por su pobre calidad nutricional.

**Palabras clave:** Flebotomínos, contenido calórico, potencial biológico, fuentes sanguíneas, insectos vectores.

### Introduction

The ability of any hematophagous insect to survive and transmit pathogens depends principally on its caloric reserves (Van Handel 1972; Magnarelli and Modi 1988; Briegel *et al.* 2001). The energy requirements of female phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) are supplied by three sources: caloric reserves built up during the larval stage and sugar and vertebrate blood ingested as an adult (Van Handel 1972, 1984; Magnarelli and Burger 1984; Magnarelli and Modi 1988; Mostowy and Foster 2004).

Fecundity variations in sand flies according to bloodmeal source may be attributed to significant differences in the caloric content of carbohydrates, lipids, and proteins from the ingestion and metabolization of blood. Large caloric reserves could provide greater potential

energy for egg production, oviposition survival, and flight capacity (Magnarelli and Modi 1988; Harre *et al.* 2001), increasing the biological potential of a specific sand fly population, resulting in increased transmission of *Leishmania* (Kinetoplastida) (Schlein *et al.* 1983; Daba *et al.* 1997; Schlein and Jacobson 1998; Hurd 2003). When available energy reserves in both sexes of the sand flies *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) and *Phlebotomus papatasi* (Scopoli) were quantified, those with access to fructose or sucrose solutions in the laboratory had higher levels than those supplied with labeled glucose. Caloric assays can be used to evaluate larval and adult diets (Magnarelli and Modi 1988).

The sand fly *L. ovallesi* (Ortiz) is the principal vector of *Leishmania braziliensis* in western and central Venezuela (Bonfante-Garrido *et al.* 1991a; 1991b;

Feliciangeli 1991) and one of the most important vectors in the Venezuelan Andes (Añez *et al.* 1988). The purpose of the present study was to determine caloric contents of *L. ovallesi* fed with vertebrate blood from different sources, under laboratory conditions.

### Materials and methods

**Sand flies.** Sand flies of the species *L. ovallesi* were reared in a closed laboratory colony and only females were used in the experiments. The colony originated from specimens collected at 1360 masl at El Arenal (8° 35' N, 71° 9' W), Ejido, in the Venezuelan state of Mérida. The colony was maintained in an incubator at 25°C ± 1° and RH 80% ± 10% and provided with saccharose solution *ad libitum*, in the Experimental Parasitology Laboratory of the University of Los Andes, Mérida, using the methods of Killick-Kendrick *et al.* (1977).

\* Laboratorio de Parasitología Experimental LAPEX, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. La Hechicera, Mérida-EDO-Mérida, 5101. Venezuela. FAX: 00 58 02 74 2401286, e-mail:nevelsa@ula.ve

**Bloodmeal sources.** Blood was collected in heparinized tubes from humans and healthy animals horse *Equus caballus*, chicken *Gallus domesticus*, pig *Sus scrofa domestica*, cow *Bos taurus*, goat *Capra hircus* and dog *Canis familiaris*. It was used when fresh and at least six replicate samples were taken from each species.

**Artificial feeding.** Two day-old females of *L. ovallesi* (n = 811) were allowed to take blood from an artificial feeding apparatus across a chick-skin membrane, with water circulating at a temperature of 39 °C. Females were separated into batches of 100 in plastic containers (5.5 cm. per 2.0 cm.) and fed on blood from different vertebrate sources. The flies were allowed to feed through a chick-skin membrane fitted to a glass feeding apparatus with a well into which blood was introduced. Only fully engorged females were used in the analyses. These insects were maintained individually in glass tubes within an incubator at 25 ± 1°C, RH 80 ± 10% and 12:12 light/dark cycle. As a dietary supplement they were provided with saccharose solution *ad libitum*, which was renewed daily. The control group was fed with saccharose solution alone.

**Caloric content.** Caloric contents were calculated for all groups of females fed on different sources of vertebrate blood under laboratory conditions. Results are presented as calories per female, the mean being calculated using between 84 (human) and 108 (goat) blood-fed females. Values were calculated after bloodmeals had been fully digested, based on microscopic examination of sand fly guts. A solution of sodium dichromate in sulfuric acid was used to determine caloric reserves in individual insects, as described by Van Handel (1972). This involved homogenizing each female in 1.2 ml sodium dichromate solution in sulfuric acid within a glass test tube and boiling for 20 min. After heating, 1.8 ml of distilled water was added to each preparation. Color changes in the test solutions were then measured using a Milton Roy Spectronic 20D spectrophotometer. Optical density (OD) values of test solutions were compared with a standard curve for densities of various saccharose concentrations to convert readings into calories. All assays included saccharose standards as references, the color produced by 1 mg of saccharose (0.1 ml of 1% solution) with an optical density of 0.38 being equiva-

lent to 4 cal. One cal is equivalent to an optical density of 0.095.

**Statistical analysis.** The data from optical density value of the sand flies were analysed by means of one-way ANOVA and statistical analyses for significance were based on the Tukey's test for different values of n. All statistical analyses were carried out using the MINITAB computer program (version 10) and the program Statistics version 6.0.

## Results

Caloric contents of *L. ovallesi* fed on blood from each of seven vertebrate species are shown in Figure 1. The highest caloric content (cal/female) was obtained from insects fed on human (x = 0.33; range 0.18-0.47), and the lowest from those fed on horse blood (x = 0.26; 0.15-0.39). In decreasing order of magnitude the caloric content for *L. ovallesi* fed on different types of blood was as follows: control < horse < goat < chicken < cow < pig < dog < human. Significant differences (P ≤ 0.05) were seen for the following comparisons: cow vs dog, human vs control; pig vs horse, goat, chicken and control; dog vs cow, horse, goat, chicken blood and control; horse vs pig, dog, human and control; and human vs cow, horse, goat, chicken, and control (Table 1).

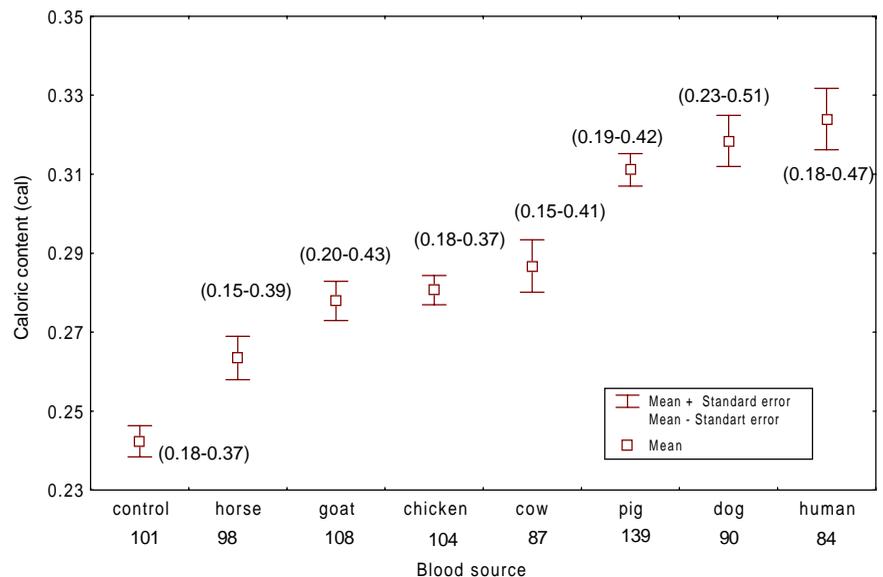
## Discussion and Conclusions

The enormous reproductive potential of hematophagous insects is largely due to

the female's success in locating a host, approaching it to feed, utilizing the blood to mature an optimal number of eggs and then finding a suitable site for oviposition. This pattern of behavior also means that females can transmit pathogens between hosts (Briegel 1990).

Ingestion of blood swells the epithelial cells, causing reversible phenomena such as secretion of the peritrophic matrix and liberation of proteolytic enzymes. The main products of blood digestion are amino acids. When blood is digested, the final product is excreted as ammonium urate (Rudin and Hecker 1982; Magnarelli and Burger 1984).

Dichromate solution oxidizes the insect completely, with proteins, carbohydrates, lipids and chitin being converted into carbon dioxide (Van Handel 1984; Magnarelli and Modi 1988). This technique is both rapid and sensitive and can be used to determine the nutritional state of females in a laboratory colony or assess the value of blood from different vertebrate hosts. Based on our results, all the blood sources provided energy for *L. ovallesi* although the caloric value of sand flies fed on horse blood was not significantly greater than that of unfed flies. These values obtained do not necessarily reflect the total caloric reserves available to the females, since they were gravid; a large proportion of the caloric reserves is used in egg production,



**Figure 1.** Caloric contents of sand flies *L. ovallesi* fed on blood from seven vertebrate hosts. Numbers in parentheses are ranges and numbers given below the blood source are values of n.

**Table 1.** Statistical analyses of caloric contents of *L. ovallesi* fed on blood of seven vertebrate hosts

A: One-way analysis of variance							
Source	Sum of squares	Degrees of Freedom	Mean Squared	F	P		
Effect	0.552435	7	0.078919	27.72645	0.000		
Error	2.285623	803	0.002846				

B: Tukey's HSD test for different values of n								
	Control	Horse	Goat	Chicken	Cow	Pig	Dog	Human
Control		0.102884	0.000088*	0.00004*	0.000033*	0.000032*	0.000032*	0.00003*
Horse	0.102884		0.556179	0.318605	0.076632	0.000032*	0.000032*	0.000032*
Goat	0.000088*	0.556179		0.999952	0.957644	0.000153*	0.00004*	0.000033*
Chicken	0.00004*	0.318605	0.999952		0.99522	0.00102*	0.000083*	0.000035*
Cow	0.000033*	0.076632	0.957644	0.99522		0.053253	0.002292*	0.00019*
Pig	0.000032*	0.000032*	0.000153*	0.00102*	0.053253		0.983949	0.772795
Dog	0.000032*	0.000032*	0.00004*	0.000083*	0.002292*	0.983949		0.997722
Human	0.000032*	0.000032*	0.000033*	0.000035*	0.00019*	0.772795	0.997722	

P\*, Values for which the means corresponding to the blood sources compared are significantly different

with very little used for female nutrition (Rudin and Hecker 1982; Magnarelli and Burger 1984).

Nasci (1986) reported that large females of the mosquito species *Aedes aegypti* possess large energy reserves at eclosion, providing them with great flight potential and the ability to contact more hosts and transmit pathogens. However, Landry *et al.* (1988) found that significant seasonal differences in the body size of *Ae. triseriatus* had no effect on flight potential or life-span. Harre *et al.* (2001) found that *P. papatasi* fed on blood from eight species of mammals and detected no appreciable difference between these hosts with respect to sand fly mortality rates after 24h, number of eggs laid per blood-fed female or egg viability. Laboratory-reared males and females of both *L. longipalpis* and *P. papatasi* which had access to fructose or sucrose solutions had greater mean available energy reserves ( $x = 1.3$  cal/insect) than individuals provided with glucose solution ( $x = 0.55$ ). Available caloric reserves were low in natural populations of *P. papatasi* and these insects probably must feed repeatedly on vertebrate hosts and sugar sources to obtain sufficient nutrients for survival and reproduction (Magnarelli and Modi 1988).

Although, a high number of sand fly species have been successfully colonized during the last decade, the factors limiting their productivity and fecundity in

the laboratory are unknown (Montoya *et al.* 1998; Luitgards-Moura *et al.* 2000). Knowledge about the physiological events taking place in the vector is important in understanding vector-parasite interactions necessary for disease transmission. Nutritional quality of blood varies between host species and may influence egg productivity, reduces development rates, longevity, and fecundity of the insects (Alexander *et al.* 2002). For an understanding the role of blood meal sources on sandfly biology, physiology, and *Leishmania* transmission both more field observations and laboratory studies comparing egg productivity of sandflies fed on different hosts, are necessary (Alexander *et al.* 2002; Hurd 2003).

The compatibility of the sand fly and its specific *Leishmania* parasite depends on the choice of host animals available, it could be an important factor in the distribution of leishmaniasis (Schlein *et al.* 1983). The proteins from the blood meal are digested by the sand fly gut. It appears that the enzymatic processes in the sand fly gut, functions differently when triggered by different types of meals, and the blood meal from distinct animal sources can be lethal to *Leishmania* (Adler 1964). *L. tropica* infection was inhibited in *P. papatasi* fed on turkey blood because a relatively high DNAase activity level was induced in the sand fly gut by nucleated erythrocytes (Schlein *et al.* 1983). However, the blood meals from

different species of vertebrates have no deleterious effect on the development of either *L. braziliensis* and *L. amazonensis* in the gut of *L. migonei*; also, parasite development was compatible with digestion, independent of the blood meal source (Nieves and Pimenta 2002). The development of *L. infantum* infection was associated with suppression of blood protein digestion by sand flies fed on human or dog blood (Schlein *et al.* 1983; Daba *et al.* 1997). It also was demonstrated that the rate of blood meal digestion in *P. langeroni* varied according to the source of the vertebrate blood and *Leishmania* species involved (Daba *et al.* 1997).

Very little is known about how these nutrients are used during adulthood. Sand fly reproduction depends on the availability of blood meal sources such as domestic animals and synanthropic species. In endemic areas where some species of domestic animals are sources of blood meals, a higher number of sand fly vectors with more parasites occur. This fact provides a selective advantage to the vector competence in transmitting *Leishmania* to vertebrates. This was possible due to the relatively high isoleucine content in rodent blood, as opposed to its role as a limiting factor for oogenesis with human blood. Important role of isoleucine explained the results of several previous reports that showed variable mosquito fecundity with different host

(Briegel 1990). Similar physiological mechanisms may play a role in the sand flies. Although, feeding on blood from rodents was superior to that from humans with respect to fecundity in *Ae. aegypti*, it may be sub-optimal energetically (Briegel 1990). *L. braziliensis* has been found in domestic animals as dogs and equines as well as in wild mammals such as rodents, edentata and opossums (Aguilar *et al.* 1984; Grimaldi and Tesh 1993). *L. ovallesi* feeds upon a variety of vertebrate hosts, and could be considered as an opportunistic species (Añez *et al.* 1988; Nieves *et al.* 2004). Based on the results of the present study, there are significant differences in the caloric contents of female *L. ovallesi* fed on blood from different sources, with human, dog, and pig blood providing most energy. It might therefore, benefit females of this species to feed preferentially on these hosts. Values for females fed on horse blood were as low as those in the control group, which had been fed only in sugar. Further studies are required to determine how certain dietary factors affect vector potential and their consequences for *Leishmania* transmission. This information may enable health authorities to adopt policies concerning the presence of domestic animals in endemic areas and may comprise factor risk for *Leishmania* transmission.

#### Acknowledgments

We thank Carlos Araque for assistance with the laboratory colony; Luis Chavez for his invaluable help and cooperation; Efrain Entralgo, Guillermo Bianchi and Paolo Ramoni for guidance in statistical analysis; Leyda Quintero for help in providing blood samples; and the CDCHT-ULA (C-1278-04-03-B) and CONICIT (S1-2000000818) for providing financial support for this work.

#### References cited

- ADLER, S. 1964. *Leishmania*. *Advances in Parasitology* 2: 35-96.
- ALEXANDER, B.; CARVALHO, R.L.; MCCALLUM, H.; PEREIRA, M.H. 2002. Role of the domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil. *Emerging Infectious Diseases* 8 (12): 1480-1485.
- AGUILAR, C.M.; FERNANDEZ, E.; DE FERNANDEZ, R.; DEANE, L.M. 1984. Study of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in Venezuela. The role of domestic animals. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 79 (2): 185-195.
- AÑEZ, N.; CAZORLA, D.; NIEVES, E.; CHATAING, B.; CASTRO, M.; DE YARBUH, A. L. 1988. Epidemiología de la leishmaniasis tegumentaria en Mérida, Venezuela. I. Diversidad y dispersión de especies flebotomínicas en tres pisos altitudinales y su posible role en la transmisión de la enfermedad. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 83 (4): 455-463.
- BONFANTE-GARRIDO, R.; URDANETA, R.; URDANETA, I.; ALVARADO J. 1991a. Natural infection of *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae) with leishmaniasis in Duaca, Lara State, Venezuela. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 85 (1): 61.
- BONFANTE-GARRIDO, R.; SPINETTI, H.; CUPILLO, E.; MOMEN, H.; GRIMALDI, G. 1991b. *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae) as a vector of cutaneous leishmaniasis in Venezuela. *Parasitologia* 33 (suppl): 99-104.
- BRIEGEL, H. 1990. Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology* 36 (3): 165-172.
- BRIEGEL, H.; WALTERT, A.; KUHN, A. R. 2001. Reproductive physiology of *Aedes (Aedimorphus) vexans* (Diptera: Culicidae) in relation to flight potential. *Journal of Medical Entomology* 38 (4): 557-565.
- DABA, S.; MANSOUR, N. S.; YOUSSEF, F. G.; SHANBAKY, N. M.; SHEHATA, M. G.; SAWAF, B. M. 1997. Vector-host-parasite inter-relationships in leishmaniasis. III. Impact of blood meal from natural vertebrate host on survival and the development of *Leishmania infantum* and *L. major* in *Phlebotomus langeroni* (Diptera: Psychodidae). *Journal of Egypt Society of Parasitology* 27(3): 781-794.
- FELICIANGLI, M. D. 1991. Vector of leishmaniasis in Venezuela. *Parasitologia* 33 (suppl): 229-236.
- GRIMALDI, G.; TESH, R. B. 1993. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. *Clinical Microbiology Reviews* 6 (3): 230-250.
- HARRE, J. G.; DORSEY, K. M.; ARMS-TRONG, K. L.; BURGE, J. R.; KINNAMON, K. E. 2001. Comparative fecundity and survival rates of *Phlebotomus papatasi* sandflies membrane fed on blood from eight mammal species. *Medical and Veterinary Entomology* 15 (2): 189-196.
- HURD, H. 2003. Manipulation of medically important insect vectors by their parasites. *Annual Review of Entomology* 48 (4): 141-161.
- KILLICK-KENDRICK, R.; LEANEY, A. J.; READY, P. D. 1977. The establishment, maintenance and productivity of a laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology* 13 (4-5): 429-440.
- LANDRY, S. V.; DEFOLIART, G. R.; HOGG, D. B. 1988. Adult body size and survivorship in a field population of *Aedes triseriatus*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 4 (2): 121-128.
- LUITGARDS-MOURA, J.F.; CASTELLON, E.G.; ROSA-FREITAS, M.G. 2000. Aspects related to productivity for four generations of a *Lutzomyia longipalpis* laboratory colony. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 95 (2): 251-257.
- MAGNARELLI, L. A.; BURGER, J. F. 1984. Caloric reserves in natural populations of blackfly, *Simulium decorum* (Diptera: Simuliidae), and deerfly, *Chrysops ater* (Diptera: Tabanidae). *Canadian Journal of Zoology* 62 (12): 2589-2593.
- MAGNARELLI, L. A.; MODI, G. B. 1988. Caloric determinations of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology* 25(2): 127-130.
- MONTOYA, J.; CADENA, H.; JARAMILLO, C. 1998. Rearing and colonization of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae), a vector of visceral leishmaniasis in Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 93 (2): 263-268.
- MOSTOWY, W. M.; FOSTER, W. A. 2004. Antagonistic effects of energy status on meal size and egg-batch size of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology* 29 (1): 89-93.
- NASCI, R.S. 1986. The relationship between adult mosquito body size and parity in field populations. *Environmental Entomology* 15 (4): 874-876.
- NIEVES, E.; PIMENTA, P. F. 2002. Influence of vertebrate blood meals on the development of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in the sand fly *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). *American Journal Tropical Medicine and Hygiene* 67 (6): 640-647.
- NIEVES, E.; DÁVILA-VERA, D.; PALACIOS-PRÜ, E. 2004. Daño ultraestructural del intestino medio abdominal de *Lutzomyia ovallesi* (Ortiz) (Diptera: Psychodidae) ocasionado por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Parasitologia Latinoamericana* 59 (3-4): 115-122.
- RUDIN, W.; HECKER, H. 1982. Functional morphology of the midgut of sandfly as compared to other hematophagous nematocera. *Tissue & Cell* 14 (4): 751-758.
- SCHLEIN, Y.; WARBURG, A.; SCHNUR, L.F.; SHLOMAI, J. 1983. Vector compatibility of *Phlebotomus papatasi* dependent on differentially induced digestion. *Acta Tropica* 40 (1): 65-70.
- SCHLEIN, Y.; JACOBSON, R. L. 1998. Resistance of *Phlebotomus papatasi* to infection with *Leishmania donovani* is modulated by components of the infective bloodmeal. *Parasitology* 117 (5): 467-473.
- VAN HANDEL, E. 1972. Simple biological and chemical methods to determine the caloric reserves of mosquitoes. *Mosquito News* 32 (4): 589-591.
- VAN HANDEL, E. 1984. Metabolism nutrients in the adult mosquito. *Mosquito News* 44 (4): 573-579.

## Sección Morfología, Comportamiento, Ecología, Evolución y Sistemática

### Efecto del estrés fisiológico en dos especies de hormigas (formicidae) propias de cafetales con y sin sombra

Effect of the physiological stress in two species of ants (Formicidae) that inhabit coffee plantations with and without shade

GERMÁN A. VARGAS O<sup>1</sup>, LEONARDO F. RIVERA<sup>2</sup>, INGE ARMBRECHT<sup>3</sup>

**Resumen.** Se ha encontrado que la biodiversidad de hormigas se reduce con la transición de cultivos de café tradicionales (sombra) a sistemas intensificados (sol) y también que la composición de especies de hormigas cambia en los cafetales según su manejo. Se hipotetiza que las hormigas de cafetales de sol tienen adaptaciones fisiológicas que les permiten colonizar estos hábitat en comparación con las hormigas de los cafetales de sombra. Tomando como indicador de fluctuación microclimática la temperatura, se analizó el comportamiento de *Tetramorium simillimum*, exclusiva de cafetales de sol, y de *Paratrechina steinheili*, abundante mas no exclusiva en cafetales de sombra (en Apía, Risaralda, Colombia), en dos ensayos de fluctuación térmica entre 17°C y 32°C y uno de choque térmico (12°C y 35°C) en cámara ambiental. Colonias testigo se mantuvieron a temperatura constante (24 +/- 1°C). Se evaluó la actividad de las hormigas fuera del nido, forrajeo y mortalidad. En los dos primeros ensayos se encontró que *P. steinheili* presentó una mortalidad relativa menor que *T. simillimum*. En ambos casos las colonias sometidas a estrés en la cámara perdieron más obreras que los testigos. En el ensayo de choque térmico se detectó un incremento en la mortalidad de *P. steinheili*, pero sin superar a *T. simillimum*. Se concluye que no hay evidencia de adaptación fisiológica, al menos detectable, de *T. simillimum* al estrés térmico en comparación con *P. steinheili* y que otros factores ecológicos, como limitación de recursos para nidificar, podrían restringir la presencia de esta última en cafetales de sol.

**Palabras clave:** *Tetramorium simillimum*, *Paratrechina steinheili*. Intensificación agrícola. Cafetal. Fluctuación térmica.

**Abstract.** It has been found that ant biodiversity is reduced with the transition from traditional coffee plantations (shade) to intensified (sun) systems and also that the composition of ant species changes in coffee plantations according to management. It has been hypothesized that ants from sun coffee plantations have physiological adaptations that permits them to colonize these habitats in comparison with ants from shade plantations. Using temperature as an indicator of microclimatic fluctuation, the behavior of *Tetramorium simillimum*, exclusive to sun plantations, and of *Paratrechina steinheili*, abundant but not exclusive to shade plantations (in Apía, Risaralda, Colombia), were analyzed in two thermal fluctuation tests between 17°C and 32°C, and one thermal shock test (12°C and 35°C) in an environmental chamber. Control colonies were maintained at constant temperature (24 +/- 1°C). Ant activity outside the nest, foraging and mortality were evaluated. In the first two tests *P. steinheili* exhibited a relatively lower mortality than *T. simillimum*. In both cases the colonies submitted to stress in the environmental chamber lost more workers than controls. In the thermal shock test an increase in *P. steinheili* mortality was found, but it did not exceed that of *T. simillimum*. It is concluded that there is no evidence for physiological adaptation, at least detectable, of *T. simillimum* to thermal stress in comparison to *P. steinheili* and that perhaps other ecological factors, such as limitation of nesting resources, may restrict the presence of the latter to sun coffee plantations.

**Key words:** *Tetramorium simillimum*, *Paratrechina steinheili*. Agriculture intensification. Coffee crops. Thermal fluctuations.

#### Introducción

En diferentes países de Latinoamérica se ha demostrado que la transición de sistemas de cultivo tradicional de café, con sombrío de árboles acompañantes, a sistemas intensificados en donde se practica el monocultivo sin sombra, ejerce una drástica reducción de la diversidad de hormigas asociadas (Perfecto *et al.* 1997; Moguel y Toledo 1999; Armbrecht y Perfecto 2003; Rivera y Armbrecht 2005).

Para explicar por qué se afecta negativamente la biodiversidad asociada a los cultivos, al ser simplificados e industrializados, se han planteado como posibles causas la limitación en el suministro alimenticio, la disponibilidad y estabilidad de los sitios de anidamiento (Philpott y Foster 2005) y las fluctuaciones microclimáticas (Andersen 2000). Estas últimas se relacionan con la respuesta fisiológica que diferentes especies pueden tener a los cambios microclimáticos

(Perfecto y Vandermeer 1996) al igual que a los procesos evolutivos que la adaptaron a estas condiciones de bosque. La vulnerabilidad a las condiciones se puede explicar en términos de temperatura y humedad del microambiente, ya que las hormigas especializadas de hojarasca son altamente susceptibles a la pérdida de agua (Kaspari 1996; Andersen 2000; Ramírez 1998). En este estudio, se investigó la hipótesis que los cambios microclimáticos no afectan de igual for-

1 Autor para correspondencia: Ingeniero Agrónomo, Asistente de Investigación, Área de Entomología Cenicaña, Cali. e-mail: gavargas@cenicana.org

2 Biólogo, Estudiante de maestría, Grupo investigación en hormigas, Universidad del Valle, Cali. e-mail: endimión\_x@yahoo.com

3 Bióloga PhD, Profesora Departamento de Biología, Grupo investigación en hormigas, Universidad del Valle, Cali. e-mail: inge@univalle.edu.co

ma a todas las especies de una comunidad de hormigas, sobreviviendo sólo aquellas que posean adaptaciones fisiológicas que les permitan soportar el estrés generado por las nuevas condiciones de hábitat abiertos en los cafetales de sol (a libre exposición).

Para las hormigas de hojarasca puede existir un intercambio de costo-beneficio entre ser altamente competitivo y ser resistente al estrés ambiental, es decir, en condiciones similares al bosque se verían favorecidas especies altamente competitivas, mientras que en agroecosistemas intensificados se favorecerían aquellas preadaptadas al estrés ambiental. Tilman *et al.* (1994) determinaron un modelo que muestra como la destrucción (incluso moderada) de hábitats naturales relictuales causa extinciones determinísticas (es decir no estocásticas, sino predecibles) de los competidores dominantes de los parches remanentes. Este modelo predice que las especies se extinguen en orden del mejor al peor competidor a medida que la destrucción del hábitat se incrementa. En el contexto de los cafetales, el empobrecimiento de la diversidad y estructura de las plantas de sombra durante la intensificación conlleva a una disminución de la abundancia de las especies de hormigas de sombra mientras que las especies resistentes a condiciones abiertas aumentan en abundancia hasta dominar en cultivos a plena exposición (Risch y Carroll 1982; Nestel y Dickschen 1990; Roth *et al.* 1994). Un posible mecanismo para que este intercambio de especies se lleve a cabo es que las especies de áreas abiertas, que son pobres competidores en condiciones de sombra, se vean favorecidas con la intensificación debida a que están bien adaptadas al estrés fisiológico de esos hábitats abiertos. Si este mecanismo está en acción, es posible pensar que la exclusión de la especie dominante en condiciones de sombra permitirá el establecimiento de la especie dominante de condiciones de sol pero no viceversa, pues la limitación para las especies de sombra sería más de tipo fisiológico (Perfecto y Vandermeer 1996).

Se predijo, por tanto, que dos especies de hormigas, una proveniente de cafetales de sol y una proveniente de cafetales de sombra responderían diferencialmente a condiciones controladas de estrés por calor (amplias fluctuaciones de temperatura). Para examinar la hipótesis descrita anteriormente, se realizaron experimentos bajo condiciones de laboratorio, con la temperatura como indicador de fluctuación microclimática, para comparar su efecto sobre el comportamiento y mortalidad de dos especies de hormigas. Estas son: la primera *Tetramorium simillimum* (F. Smith), abundante en cafetales a libre exposición de la región de Apía, y la segunda *Paratrechina steinheili* (Forel, 1893), que se encuentra tanto en cafetales de sol como de sombra, con preferencia a estos últimos (Armbrecht *et al.* 2005).

### Materiales y métodos

**Sitios de recolección de colonias.** Con base en las experiencias dejadas por el proyecto de estudios de la biodiversidad y su relación con el manejo de los cafetales (Armbrecht 2003; Rivera y Armbrecht 2005), las colonias de hormigas fueron recolectadas en el municipio de Apía, Departamento de Risaralda (5°08'N; 75°56'W), en las fincas La María y El Convenio. El área de trabajo se encuentra entre los 1400 y 1700 msnm. Según Holdridge (Espinal 1967) el sitio se define como bosque húmedo premontano (bh-Pm), con una topografía montañosa, una temperatura promedio anual de 18-20 °C, humedad relativa del 80% y precipitación promedio anual de 2320 mm.

Treinta nidos de *P. steinheili* fueron recolectados en la finca El Convenio, en donde esta especie, es abundante especialmente en cafetales de sombra monogénicos (con *Inga edulis* Mart.). Otros 30 nidos de *T. simillimum* fueron recolectados en la finca La María, en este sitio esta especie es la más abundante en cafetales de sol o libre exposición. Las colonias se trasladaron al laboratorio de entomología de la Universidad del Valle, en donde se adecuaron, en nidos artificiales según método adaptado de Passera *et al.* (1988) y se mantuvieron en un cuarto de cría con temperaturas entre los 23 y 25°C y una humedad relativa entre 63 y 67%.

Ambas especies de hormigas fueron sometidas a tratamientos que buscaron simular las fluctuaciones de temperatura encontradas en el monocultivo a libre exposición, mientras que se mantenían colonias testigo (control) a la temperatura del cuarto de cría.

**Tabla 1.** Fluctuación horaria de la temperatura de acuerdo al tipo de experimento.

Hora	Fluctuación térmica gradual	Choque térmico °C
7 AM	17	17
9 AM	20	
11 AM	24	
1 PM	32	35
3 PM	24	
5 PM	20	
7 PM	17	

**Fluctuación térmica.** Para establecer las fluctuaciones de temperatura presentes en los cafetales bajo libre exposición y con sombra, en la finca La María (cafetal de sol o sin árboles de sombra) y en la finca El Convenio (cafetal con sombra de *Inga* spp.), se ubicaron termómetros de registros máximos y mínimos. Este registro se realizó entre el 11 y 18 de marzo de 2003. Además, en la finca La María, con un termómetro adicional de lectura instantánea (digital), se tomaron registros de temperatura y humedad relativa a distintas horas del día durante cinco días, esto para conocer la fluctuación horaria de estas variables y establecer la simulación bajo condiciones de laboratorio. Ya que sobre estos datos se realizaron los experimentos de laboratorio, es necesario destacar que en La María se presentó una mayor amplitud térmica que en El Convenio (con temperaturas máximas mayores en promedio y menor promedio para las mínimas). Como consecuencia, el gradiente de fluctuación en la temperatura es mayor en el cafetal de sol que en el cafetal de sombra. Las variaciones de temperatura fueron de 17-31°C en el cafetal de sol y 18-28°C en el cafetal de sombra. Además, la humedad relativa fue mayor en El Convenio (75.6%) que en La María (65.0%).

Para la simulación de las fluctuaciones de temperatura de un monocultivo bajo libre exposición, se trabajó con una cámara ambiental (Industrias IFV, Minitron I, Florez-Vélez CIA. Ltda), que permitió controlar temperaturas entre los 5 y 40°C y que se programó para brindar 12 horas luz entre las 7 AM y 7 PM. La humedad relativa se mantuvo entre 62 y 69%.

**Experimentos.** Se ubicaron simultáneamente seis colonias de cada especie en la cámara ambiental, mientras que otras seis colonias de cada especie eran mantenidas como testigo (control) bajo las condiciones del cuarto de cría. Para el montaje de los diferentes experimentos, el número de obreras de cada colonia fluctuó entre 105 y 135 para el caso de *Paratrechina* y entre 230 y 276 para *Tetramorium*.

Para la observación del comportamiento de las dos especies de hormigas se realizaron dos tipos de ensayos, uno de fluctuación térmica gradual, comenzando desde 17°C hasta 32°C (17, 20, 24 y 32°C), éste se realizó dos veces; y el otro ensayo consistió en un choque térmico manejando temperaturas de 17 y 35°C (Tabla 1).

El primer experimento fue llevado a cabo entre el 16 y 31 de julio de 2003, el segundo entre el 8 y el 15 de agosto de 2003 y el tercero, entre el 22 de agosto y el 3 de septiembre de 2003.

**Evaluación del comportamiento.** Las variables evaluadas en el comportamiento de las hormigas fueron: 1. Forrajeo: número de individuos participantes de la búsqueda de alimento; 2. Actividad fuera del nido: número de individuos en la superficie del nido y 3. Proporción de mortalidad. Se realizaron dos observaciones en cinco momentos del día (7AM, 9AM, 11AM, 2PM, 4PM), para contar con registros a diferentes temperaturas durante su fluctuación diaria. En el caso del tercer experimento las variables se evaluaron sólo a dos horas del día, 7AM y 1PM (Tabla 1).

**Análisis de datos.** Para dos variables de respuesta: actividad fuera del nido y forrajeo, se estimó el promedio de individuos observados por día. Mientras tanto, la proporción de individuos muertos se estimó relacionando la cantidad de individuos muertos registrados durante el experimento con respecto al número inicial de individuos de la colonia. Para comparar los resultados obtenidos entre las colonias utilizadas como testigo y aquellas sometidas al tratamiento térmico, se realizaron pruebas de *t* mediante las herramientas del programa Excel (XP) versión 2001.

## Resultados y discusión

**Fluctuación térmica gradual.** En el primer experimento (Tabla 2), la actividad de las obreras de *T. simillimum* fuera del nido no presentó diferencias entre lo observado para las colonias testigo y las sometidas al tratamiento. Sin embargo, en estas últimas hubo un menor número de obreras forrajeando. Por otro lado, hubo una mayor cantidad de individuos muertos en las colonias sometidas al tratamiento con respecto a las colonias testigo. Para *P. steinheili* no existió diferencia para ninguna de las tres variables consideradas (Tabla 2) y en lo referente a la mortalidad observada entre ambas especies, ésta fue mucho mayor para *T. simillimum* que para *P. steinheili* ( $t = 6.15$ ;  $gl = 6$ ;  $p < 0.01$ ) (Fig. 1).

En el segundo experimento (Tabla 2), en cuanto a *T. simillimum* no se corroboraron las diferencias encontradas en el primer experimento, ya que no hubo diferencias en ninguna de las variables evaluadas. Mientras tanto, *P. steinheili* presentó una mayor actividad de obreras

en las colonias sometidas a la cámara (Tabla 2), pero no presentó diferencias en cuanto a forrajeo y mortalidad, lo que no concuerda con lo encontrado en el primer experimento. Como hecho destacable, una vez más se presentó una mayor proporción en la mortalidad de las colonias de *T. simillimum* sometidas a la cámara ambiental con respecto a las colonias de *P. steinheili* ( $t = 4.41$ ;  $gl = 6$ ;  $p < 0.01$ ) (Fig. 2).

Estos dos experimentos de fluctuación térmica gradual, no fueron consistentes respecto al efecto que tiene la temperatura en los comportamientos actividad fuera del nido y forrajeo de las hormigas. Sin embargo, las colonias sometidas a la cámara evidencian una menor mortalidad relativa de *P. steinheili* que la especie propia de cafetal de sol, *T. simillimum*.

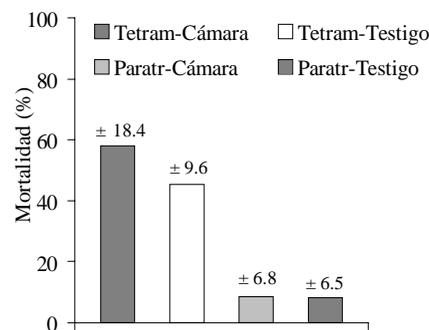
**Choque térmico.** La actividad fuera del nido en colonias de *T. simillimum* no presentó diferencia estadística, aunque sí un menor forrajeo en las colonias sometidas al tratamiento con respecto a las colonias testigo (Tabla 3). Además, existió una mayor mortalidad en las colo-

nias sometidas al choque térmico respecto a las testigo. *P. steinheili* tampoco mostró diferencia en la actividad y forrajeo fuera del nido (Tabla 3), aunque si se observó una alta mortalidad en las colonias sometidas a choque térmico con respecto a las colonias testigo (Tabla 3). Cabe señalar que la proporción de obreras muertas encontradas en *P. steinheili* no presenta diferencias con la proporción de individuos muertos observada en *T. simillimum*. ( $t = -0.46$ ;  $gl = 10$ ;  $p > 0.05$ ) (Fig. 3).

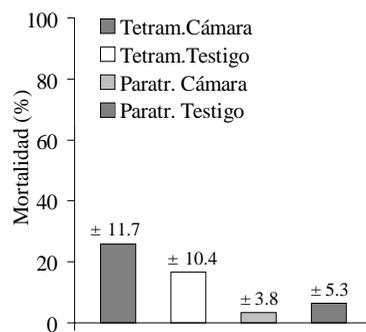
Nuestros resultados no sugieren la existencia de una adaptación fisiológica, al menos detectable, de *T. simillimum* al estrés térmico en comparación con *P. steinheili*. Se plantea la posibilidad de que otros factores sean los que determinan la preferencia de *P. steinheili* a los cafetales de sombra frente a los cafetales de sol. Al respecto, cabe señalar que la temperatura (como medida de la cantidad de calor) es muy importante en la regulación de las poblaciones de hormigas, particularmente de zonas frías (Holldobler y Wilson 1990). Teniendo en cuenta que estudios anteriores indican una alta influencia de la temperatura en la distribución de las especies de hormigas (Torres 1984; Bustos y Chacón 1996; Perfecto y Vandermeer 1996), quizá la mejor forma de entender el efecto de la temperatura, en el caso de las hormigas, sea desde una perspectiva más amplia, tal y como lo sugiere Andersen (2000), como el producto combinado del clima y de la estructura del hábitat, que determina el grado de radiación solar (insolación) de la superficie de forrajeo.

Dentro del conjunto de factores climáticos, la humedad relativa ha sido sugerida como un factor de gran importancia que determina la distribución de las hormigas de suelo y hojarasca (Kaspari y Weiser 2000). De igual forma la cobertura y diversidad de árboles mostró una alta relación con la riqueza del gremio de hormigas crípticas de hojarasca en agroecosistemas cafeteros de Risaralda, de donde se extrajeron las hormigas para el presente estudio, y este hecho estuvo altamente ligado a la temperatura que presenta un sitio (Rivera y Armbrrecht 2005). En el presente estudio sólo se analizó la fluctuación térmica manteniendo una humedad relativa entre 62 y 69%, que es semejante al promedio obtenido en el cafetal de sol La María (65%).

Es evidente que las fluctuaciones de temperatura pueden ser mayores en un cafe-



**Figura 1.** Primer experimento de fluctuación térmica gradual, comportamiento de las hormigas en mortalidad (promedio  $\pm$  desviación estándar).



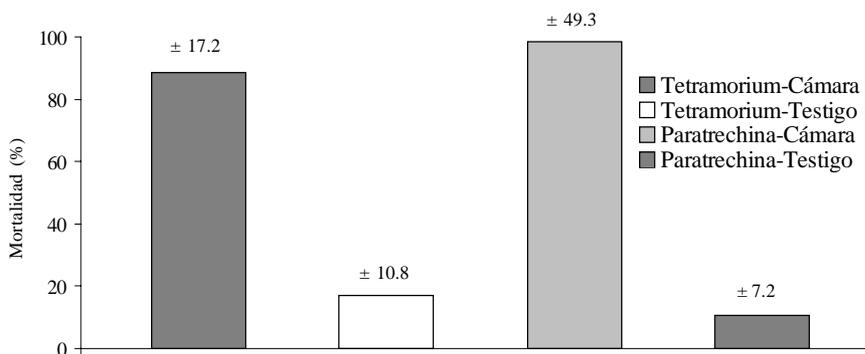
**Figura 2.** Segundo experimento de fluctuación térmica gradual, comportamiento de las hormigas en mortalidad (promedio  $\pm$  desviación estándar)

**Tabla 2.** Experimentos de fluctuación térmica gradual y su efecto en la actividad de las hormigas fuera del nido, forrajeo y mortalidad (promedio  $\pm$  desviación estándar)

	Actividad fuera del nido	Forrajeo	Mortalidad
	Hormigas / día		(%)
<i>Tetramorium</i> Cámara	144.6 $\pm$ 30.7	3.1 $\pm$ 1.7	58.0 $\pm$ 18.4
<i>Tetramorium</i> Testigo	112.0 $\pm$ 21.0	7.0 $\pm$ 1.4	30.5 $\pm$ 9.6
Test de t	( $t=2.15$ ; $gl=10$ ; $p>0.05$ ) <sup>1</sup>	( $t=-4.3$ ; $gl=10$ ; $p<0.01$ ) <sup>2</sup>	( $t=3.24$ ; $gl=10$ ; $p<0.01$ )
<i>Paratrechina</i> Cámara	5.5 $\pm$ 2.4	0.4 $\pm$ 0.2	8.7 $\pm$ 6.8
<i>Paratrechina</i> Testigo	5.7 $\pm$ 3.3	0.4 $\pm$ 0.4	8.2 $\pm$ 6.5
Test de t	( $t=-0.13$ ; $gl=9$ ; $p>0.05$ )	( $t=-0.2$ ; $gl=8$ ; $p>0.05$ )	( $t=0.13$ ; $gl=10$ ; $p>0.05$ )
<b>Experimento 2</b>			
<i>Tetramorium</i> Cámara	95.3 $\pm$ 34.7	3.0 $\pm$ 1.6	25.7 $\pm$ 11.7
<i>Tetramorium</i> Testigo	74.9 $\pm$ 41.8	3.2 $\pm$ 1.6	16.6 $\pm$ 10.4
Test de t	( $t=0.92$ ; $gl=10$ ; $p>0.05$ )	( $t=-0.29$ ; $gl=10$ ; $p>0.05$ )	( $t=1.43$ ; $gl=10$ ; $p>0.05$ )
<i>Paratrechina</i> Cámara	12.7 $\pm$ 6.1	0.5 $\pm$ 0.3	3.4 $\pm$ 3.8
<i>Paratrechina</i> Testigo	4.2 $\pm$ 1.5	0.4 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 5.3
Test de t	( $t=3.28$ ; $gl=10$ ; $p<0.05$ )	( $t=0.77$ ; $gl=10$ ; $p>0.05$ )	( $t=-1.14$ ; $gl=9$ ; $p>0.05$ )

<sup>1</sup>  $T_{0.05(2),10} = 2.28$ <sup>2</sup>  $T_{0.01(2),10} = 3.16$ **Tabla 3.** Experimento de choque térmico y su efecto en la actividad de las hormigas fuera del nido, forrajeo y mortalidad (promedio  $\pm$  desviación estándar).

	Actividad fuera del nido	Forrajeo	Mortalidad
	Hormigas / día		(%)
<i>Tetramorium</i> Cámara	48.0 $\pm$ 14.6	0.7 $\pm$ 0.2	88.5 $\pm$ 17.2
<i>Tetramorium</i> Testigo	60.0 $\pm$ 18.6	1.5 $\pm$ 0.7	17.2 $\pm$ 10.8
Test de t	( $t=-1.23$ ; $gl=9$ ; $p>0.05$ ) <sup>1</sup>	( $t=-2.69$ ; $gl=10$ ; $p<0.05$ )	( $t=8.58$ ; $gl=10$ ; $p<0.01$ ) <sup>2</sup>
<i>Paratrechina</i> Cámara	26.8 $\pm$ 18.5	0.6 $\pm$ 0.6	98.4 $\pm$ 49.3
<i>Paratrechina</i> Testigo	11.5 $\pm$ 2.4	0.3 $\pm$ 0.2	10.8 $\pm$ 7.2
Test de t	( $t=-0.13$ ; $gl=9$ ; $p>0.05$ )	( $t=1.24$ ; $gl=6$ ; $p>0.05$ )	( $t=4.30$ ; $gl=5$ ; $p<0.01$ )

<sup>1</sup>  $T_{0.05(2),10} = 2.28$ <sup>2</sup>  $T_{0.01(2),10} = 3.16$ **Figura 3.** Experimento de choque térmico, comportamiento de las hormigas en mortalidad (promedio  $\pm$  desviación estándar).

tal sin sombrío respecto a uno con árboles acompañantes (en nuestro caso se encontraron casi 4 grados centígrados, en promedio, de diferencia entre las fluctuaciones máximas y mínimas de la temperatura entre el cafetal de sol, La María, y el cafetal con sombrío, El Convenio), pero este factor no explicaría, por sí solo, la reducción en la diversidad de especies. Ramírez *et al.* (2004) en cultivos de caña de azúcar, desprovistos de todo tipo de sombrío, encontraron que la biodiversidad de hormigas estuvo asociada directamente con el manejo que recibe cada cañaduzal y que este manejo está relacionado básicamente con la acumulación de hojarasca (previa eliminación de la quema) y, aunque estos autores no lo sugieren, podría deberse también a la disminución de las prácticas de preparación del suelo (Robertson *et al.* 1994). Acorde con esto, ha sido demostrado que las prácticas de labranza afectan notablemente la diversidad de especies de hormigas y una labranza de conservación o una práctica de cero labranza, como es el caso de los cafetales bajo sombrío, permitirían una mayor disponibilidad y estabilidad de los sitios de anidamiento y por ende una mayor diversidad (Peck *et al.* 1998).

Por otro lado, aunque en bosques primarios neotropicales no parece haber una limitación marcada por recursos de nidificación para hormigas de suelo (Kaspari 1996), en experimentos realiza-

dos en la misma zona cafetera de Apía (Risaralda, Colombia) se encontró evidencia de limitación de recursos de nidificación para *Paratrechina steinheili* (Armbrecht y Perfecto 2002). Esto podría explicar la disminución de esta especie en cafetales de sol, en donde la capa de hojarasca y ramitas secas es menor que en cafetales de sombra. En un estudio simultáneo de campo en la misma zona, Rivera *et al.* (2004) hicieron experimentos de exclusión y adición de colonias de ambas especies. Se adicionaron *P. steinheili* provenientes de cafetal de sombra a cafetal de sol y *T. simillimum* de cafetal de sombra a cafetal de sol. El estudio encontró que los trasplantes de colonias de *P. steinheili* eran infructuosos cuando se llevaban a cabo en cafetal de sol y exitosos si se realizaban en cafetales de sombra (control), mientras que *T. simillimum* sobrevivía exitosamente en ambos tipos de cafetales. Los resultados del presente estudio apoyan la idea de que otros factores ecológicos, diferentes del estrés fisiológico, influyen negativamente la sobrevivencia de *P. steinheili* en el cafetal de sol. Esta especie anida en hojarasca y ramitas en el suelo, mientras que *Tetramorium simillimum* anida en el suelo y por tanto no estaría limitada por este recurso en cafetales sin sombrero.

Esta investigación fue realizada con dos especies de hormigas que eran fáciles de manipular en el laboratorio y se asumió que el comportamiento que éstas presentaron no se puede generalizar al resto de especies integrantes de estas comunidades. Este estudio no encontró evidencia de que la desaparición de alguna de estas especies de hormigas en la transformación de cafetales bajo sombrero a cafetales con libre exposición se origine ante una imposibilidad fisiológica para tolerar las mayores fluctuaciones de temperatura resultantes. Se propone en este caso, que algunas especies de hormigas no logran adaptarse a una menor complejidad del hábitat, en donde el área y el número de sustratos aprovechables por las hormigas (troncos en descomposición, hojarasca, entre otros) para anidamiento o forrajeo es limitada (Bustos y Chacón 1996). Sin embargo, cabe considerar que otros factores pueden estar actuando en el establecimiento de las poblaciones de estas hormigas como competencia interespecífica, mortalidad por causada por enemigos naturales y las características propias del ensamblaje de las comunidades de hormigas tanto en cafetales de sol como de sombra. (Vargas *et al.* 2004; Rivera y Armbrecht 2005; Philpott 2005).

## Conclusiones

- No se encontró evidencia que el estrés por fluctuaciones térmicas sea el factor que provoca la disminución en las poblaciones de una hormiga propia de cafetal de sombra en un agroecosistema que ha cambiado a cafetal de sol. En las dos especies de hormigas estudiadas no se detectaron efectos de fluctuación de la temperatura y choque térmico en las variables actividad fuera del nido y forrajeo.
- En la fluctuación gradual de temperatura *Tetramorium simillimum* presentó una mayor susceptibilidad que *Paratrechina steinheili* en cuanto a la proporción de obreras muertas, mientras que en condiciones de choque térmico no hubo diferencias.
- El efecto de la fluctuación térmica no explica por sí mismo el comportamiento de estas dos hormigas y la distribución en su espacio natural (agroecosistemas cafeteros) debe analizarse considerando otros factores como la estructura del hábitat, en términos de la mayor o menor complejidad del mismo y su oferta de sustratos de anidamiento disponible y otras variables ecológicas, que este estudio no abordó, como la competencia interespecífica, la regulación por enemigos naturales y el ensamblaje de las comunidades de hormigas.

## Agradecimientos

Los autores manifiestan sus agradecimientos a Patricia Chacón, Miguel A. Márquez, María C. Gallego, James Montoya, Patricia Rodas, Carmen E. Posso y a Loló. J. Longino identificó las especies de hormigas. Este proyecto fue financiado por Universidad del Valle-COLCIENCIAS, programa del Medio Ambiente y del Hábitat (Proyecto código 1106-12-11693 a I.A.).

## Literatura citada

ANDERSEN, A. N. 2000. Global Ecology of rainforest ants, functional groups in relation to environmental stress and disturbance. Pags. 25-34 En D. Agosti, J.D. Majer, L.E. Tennant de Alonso, y E. Schultz, Eds. Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for ants. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., USA.

ARMBRECHT, I. 2003. Diversity and function of leaf-litter ants in Colombian coffee agroecosystems. Disertación Ph.D. University of Michigan, School of Natural resources and Environment. 242 p.

ARMBRECHT, I.; PERFECTO, I. 2002. Limitation of nesting resources for ants in Colombian coffee plantations. Ecological

Society of America 87<sup>th</sup> meeting at Tucson, AZ Abstract book. 87:312-313.

ARMBRECHT, I.; PERFECTO, I. 2003. Litter twig dwelling ant species richness and predation potential within a forest fragment and neighboring coffee plantations of contrasting habitat quality in Mexico agriculture, Ecosystems and Environment 97: 107-115.

ARMBRECHT, I.; L. RIVERA, L.; PERFECTO 2005. Reduced diversity and complexity in the leaf litter ant assemblage of Colombian coffee plantations. Conservation Biology. 19 (3): 897-907.

BUSTOS, J.; CHACÓN, P. 1996. Mirmecofauna y perturbación en un bosque de niebla neotropical (Reserva Natural Hato Viejo, Valle del Cauca, Colombia). Revista de Biología Tropical 44/45:259-266.

ESPINAL, L. S. 1967. Apuntes sobre ecología colombiana. Universidad del Valle, Departamento de Biología, Cali, Colombia. 32p.

HOLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. 1990. The Ants. Harvard University press. USA. 732 732 pp.

KASPARI, M. 1996. Testing resource-based models of patchiness in four Neotropical litter ant assemblages. Oikos 76: 443-454.

KASPARI, M.; WEISER, M. D. 2000. Ant activity along moisture gradients in a neotropical forest. Biotropica 32:703-711.

MOGUEL, P.; TOLEDO, V. M. 1999. Biodiversity conservation in traditional coffee systems of Mexico. Conservation Biology 13:11-21.

NESTEL, D.; DICKSCHEN, F. 1990. Foraging kinetics of ground ant communities in different Mexican coffee agroecosystems. Oecologia 84:58-63.

PASSERA, L.; KELLER, L.; SUZZONI, J. P. 1988. Control of brood male production in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). Psyche. 1-2: 59-65.

PECK, S.; McQUAID, B.; CAMPBELL, L. 1998. Using ant species (Hymenoptera: Formicidae) as a biological indicator of agrosystem condition. Environmental Entomology. 27 (3): 1102-111.

PERFECTO, I.; VANDERMEER, J. 1996. Microclimatic changes and the indirect loss of ant diversity in a tropical agroecosystem. Oecologia 108:577-582.

PERFECTO, I.; VANDERMEER, J.; HANSON, P.; CARTIN, P. 1997. Arthropod diversity loss and the transformation of a tropical agroecosystem. Biodiversity and Conservation 6:935-945.

PHILPOTT, S. M.; S. M. FOSTER, P.F. 2005. Nest site limitation in coffee agroecosystems: artificial nests maintain diversity of arboreal ants. Ecological applications 15 (4): 1478-1485.

PHILPOTT, S. M. 2005. Trait mediated effects of parasitic phorid flies (Dip: Phoridae) on ants (Hym: Formicidae) competition and resource access in coffee agroecosystems Environmental Entomology. 34(5) (*in press*).

- RAMIREZ, M. 1998. Composición de la mirmecofauna de hojarasca de fragmentos de bosque seco en el Valle del río Cauca. Trabajo de grado en Biología, Universidad del Valle. Cali, Colombia.
- RAMÍREZ, M.; ARMBRECHT, I.; ENRÍQUEZ, M. L. 2004. Importancia del manejo agrícola para la biodiversidad: caso de las hormigas en caña de azúcar. *Revista Colombiana de Entomología*. 30(1): 115-123.
- RISCH, S. J.; CARROL, R. 1982. The ecological role of ants in two mexican agroecosystems. *Oecologia* 55:114-119.
- RIVERA, L.; ARMBRECHT, I. 2005. Diversidad de tres gremios de hormigas en cafetales de sombra, de sol y bosques de Risaralda. *Revista Colombiana de Entomología* 31(1): 89-96.
- RIVERA, L. G. VARGAS, I. ARMBRECHT. 2004. Efecto del estrés fisiológico en dos especies de hormigas propias de cafetales de sol y de sombra: Experimentos de campo. Página 123 *En: Sociedad Colombiana de Entomología. Libro de Resúmenes XXXI Congreso*. Bogotá.
- ROBERTSON, L. N.; KETTLE, B. A.; SIMPSON, G. B. 1994. The influence of the tillage practices on soil macrofauna in a semi-arid agroecosystem in northeastern Australia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 48: 149-156.
- ROTH, D. S., PERFECTO, I.; RATHCKE, B. 1994. The effects of management systems on ground-foraging ant diversity in Costa Rica. *Ecological Applications* 4:423-436.
- TILMAN, D., MAY, R. M.; LEHMAN, C. L.; NOWAK, M. A. 1994. Habitat destruction and the extinction debt. *Nature* 371: 65-66.
- TORRES, J. A. 1984. Diversity and distribution of ant communities in Puerto Rico. *Biotropica* 16: 296-303.
- VARGAS, G. A., DÍAZ, P. A., LASTRA L. A., MESA, N. C., ZENNER, I., GÓMEZ, L. A. 2004. Reconocimiento de enemigos naturales de la Hormiga Loca, *Paratrechina fulva* (Hym: Formicidae), en el municipio de El Colegio (Cundinamarca) y en el valle del río Cauca. *Revista Colombiana de Entomología* 30(2): 225-232.

Recibido: 07-jun-05 • Aceptado: 08-dic-05

## Anatomía comparada del tracto digestivo en imagos del complejo picudo (Coleoptera: Curculionidae) asociados al cultivo del plátano

Comparative anatomy of the digestive tract in imagos of the weevil complex (Coleoptera: Curculionidae) associated with plantain plantations.

JOSÉ DAVID RUBIO G.<sup>1</sup>, JOSÉ RICARDO ACUÑA Z.<sup>2</sup>.

**Resumen.** Mediante microscopía óptica se estudió el tracto digestivo en imagos de *Cosmopolites sordidus* Germar, *Metamasius hemipterus sericeus* L. y *Metamasius hebetatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), los cuales se consideran plagas en el cultivo del plátano y banano. Estos escarabajos tienen un sistema digestivo típico dividido en tres regiones: estomodeo, mesenterón y proctodeo. Estas regiones tienen forma tubular y están asociadas con numerosas tráqueas, que facilitan el intercambio gaseoso. El estomodeo inicia en la cavidad preoral y continúa con la faringe y el esófago, poco diferenciados morfológicamente, pero presentan músculos externos; el buche es una zona de ensanchamiento esofageal, recubierto por músculos circulares. Adosado a éste se encuentra el proventrículo, que presenta proyecciones cuticulares internas que ocultan el lumen. El mesenterón está dividido en dos ventrículos, el anterior de forma ovoide y el posterior de forma alargada, presentando estos abundantes ciegos gástricos. El proctodeo inicia en la válvula pilórica, continuando con el íleo y colon desembocando este ducto en el ano; ésta región presenta varios plegamientos, en los cuales se acoplan los órganos reproductivos. En las tres especies, se evidenciaron seis largos túbulos de Malpighi que inician en el píloro y se extienden hasta la región media del colon, los cuales están muy adheridos al canal alimenticio. Este trabajo contribuye a un mejor conocimiento en la estructura y función del tracto digestivo, describiendo y analizando la morfología de estas especies de curculiónidos.

**Palabras clave:** *Cosmopolites*, *Metamasius*, plagas plátano, morfología interna.

**Abstract.** Using optical microscopy, the digestive tract of imagos of *Cosmopolites sordidus* Germar, *Metamasius hemipterus sericeus* L. and *Metamasius hebetatus* Gyllenhal, which are considered pests of plantain and banana, was studied. These beetles have a typical digestive system divided into three regions: stomodeum, mesenteron and proctodeum. These regions have a tubular form and are associated with numerous tracheae that facilitate gas exchange. The stomodeum initiates in the preoral cavity and continues with the pharynx and the esophagus, with little morphological differentiation, but with the presentation of external muscles. The crop is a stretched esophageal region, covered by circular muscles. Adjacent to this is the proventriculus that has cuticular internal projections that occlude the lumen. The mesenteron is divided into two ventricles, the anterior with an ovoid shape and the posterior with a stretched shape, each presenting abundant gastric caeca. The proctodeum initiates in the pyloric valve, continuing with the ileum and colon with a duct leading to the anus; this region has various folds in which the reproductive organs are inserted. In all three species, six long Malpighian tubules were observed, which initiate in the pylorus and extend to the middle region of the colon, tightly adhered to the alimentary canal. This work contributes to a better understanding of the structure and function of the digestive tract, describing and analyzing the morphology in these curculionid species.

**Key words:** *Cosmopolites*, *Metamasius*, pest of plantain, internal morphology.

### Introducción

El plátano es uno de los frutos más importantes en el mundo y de gran importancia en el mercado internacional agropecuario. En Colombia el plátano se considera un alimento básico, ya que ocupa un lugar destacado en el suministro urbano de alimentos. El área sembrada es cercana a las 400.000 hectáreas, con una producción aproximada de 2,5 millones de toneladas anuales destinadas en un 96% al mercado interno. Cerca de

las dos terceras partes del área cultivada se encuentran en la región Andina, en la que sobresale la zona central cafetera (Caldas, Risaralda, Quindío, Norte del Valle del Cauca y Norte del Tolima) aportando el 32% de la producción nacional (Merchan 1998; CORPOICA 1999; Castrillón 2001). En la zona cafetera el plátano se encuentra comúnmente asociado con café, usándose como delimitador de linderos o como barreras rompe vientos (Belalcázar 1991). En años recientes se ha implementado como

monocultivo tecnificado en pequeñas extensiones (Castrillón 2000). Este cultivo se desarrolla muy bien desde el nivel del mar hasta los 2000 msnm y con un rango de temperatura que varía entre 18°C y 35°C (Belalcázar 1991).

El desconocimiento en el manejo de las plagas que afectan el cultivo del plátano ha ocasionado que en algunas regiones se hayan incrementado las poblaciones de éstas, generando niveles importantes de pérdidas económicas hasta incluso la

1 Autor para correspondencia. Ingeniero Agrónomo. Disciplina de Mejoramiento Genético y Biotecnología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. [josed.rubio@cafedecolombia.com](mailto:josed.rubio@cafedecolombia.com),

2 Biólogo, Ph. D., Investigador Científico I, Mejoramiento Genético y Biotecnología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia. [ricardo.acuna@cafedecolombia.com](mailto:ricardo.acuna@cafedecolombia.com)

pérdida total de la plantación (Belalcázar 1991). Para Colombia los principales insectos plaga registrados para el cultivo de plátano son: el picudo negro (*Cosmopolites sordidus* Germar), picudo rayado (*Metamasius hemipterus sericeus* Linnaeus), picudo amarillo (*Metamasius hebetatus* Gyllenhal), gusano tornillo (*Castniomera humboldtii* Maubl Ashby) gusano canasta (*Oiketicus kirbyi* Guilding) y gusano cabrito (*Opsiphanes tamarindi* Felder) (Cárdenas 1976; Castrillón 2000; Sánchez y Aranzazu 2000). Se considera que el complejo de picudos del plátano son la plaga más limitante del cultivo en la Zona Central Cafetera de Colombia; la expansión poblacional de estos insectos se encuentra favorecida por la sincronía temporal entre los estados de la plaga y la plantación, por los hábitos crípticos de los insectos y por su alta tasa de reproducción (Sánchez 2004).

Dentro del complejo de los picudos, *C. sordidus* es considerado la plaga más limitante del cultivo en la mayoría de países tropicales y subtropicales (Castrillón 2000; García *et al.* 1994; Merchán 1998). Aunque en los últimos años se ha visto un aumento en la población de *M. hemipterus* y *M. hebetatus* en la zona central cafetera (Castrillón 2000; Vallejo 2002), los picudos hacen parte de un complejo que se especializa en alimentarse de diferentes estructuras de la planta así: las larvas y adultos de *C. sordidus* se alimentan del rizoma, las larvas y adultos de *M. hemipterus* consumen el pseudotallo y los adultos de *M. hebetatus* prefieren los primeros centímetros del pseudotallo cerca del rizoma, mientras que las larvas consumen el pseudotallo (Cárdenas y Arango 1987; Castrillón 2000; Sánchez y Aranzazu 2000; Vallejo 2002).

Los trabajos relacionados al complejo picudo del plátano han sido investigaciones enfocadas al manejo y control, descuidando así la generación de información básica, como lo es la morfología interna. Debido a ello y al escaso conocimiento relacionado al sistema digestivo de estos insectos se comenzaron a evaluar las diferencias y similitudes en cuanto a la forma, tamaño y función de los órganos que componen su sistema digestivo. Esta investigación presenta la primera descripción de estos órganos y está dirigida a proporcionar información básica a biólogos y científicos sobre la morfología interna de estas tres especies.

## Materiales y métodos

**Localización.** Esta investigación se llevó a cabo en los laboratorios del Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, “Pedro Uribe Mejía”, (Chinchiná, Caldas) de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.

**Material Biológico.** Adultos de *C. sordidus*, *M. hemipterus* y *M. hebetatus*, se recolectaron en la Estación Central “Naranjal” de Cenicafé (Chinchiná – Caldas), localizada a 04°58’ de latitud Norte, 75°39’ de longitud Oeste y a una altitud de 1400 msnm. Las condiciones climáticas anuales son las siguientes: lluvia de 2.556mm, brillo solar de 1.817 horas, humedad relativa del 78% y una temperatura media de 20,8°C (FEDE-RACAFE Archivos climáticos 1956-1998).

Las capturas se hicieron usando trampas tipo sándwich (Castrillón 2001), los insectos se depositaron en viales y se transportaron al laboratorio de Cenicafé, donde se mantuvieron en un cuarto bajo condiciones controladas: 27°C de temperatura y 70% de humedad relativa, dispuestos individualmente en cajas magenta de acrílico de 250 ml y alimentados con trozos de rizoma y pseudotallo de plátano hasta el momento de la disección.

**Disección.** Para el estudio morfológico del tracto digestivo del complejo picudo, se disectaron los insectos aletargados en frío (-5°C por 10 minutos), con la ayuda de un Estereoscopio Zeiss Stemi 2000. Se disectaron 12 individuos de cada especie en cajas Petri pequeñas, a las cuales se les adicionó 10ml de solución Ringer’s, pH 7,0 (Martínez 2000), que ayuda a preservar los tejidos. La disección de los insectos se inició con el desprendimiento de los músculos que unen el protórax con el mesotórax, seguidamente se retiraron los élitros y alas posteriores. Con estiletos entomológicos y pinzas de disección, se separaron las placas dorsales y ventrales del meso y metatórax, así como los tergitos y esternitos abdominales, dejando expuesta la zona comprendida desde el proventrículo hasta el ano, a continuación se separó el sistema reproductor y el digestivo, realizando primero la extracción del tejido graso que recubre ésta zona. La región anterior del estomodeo compuesta por la cavidad preoral, faringe, esófago y buche, se extrajo seccionando el protórax y la cabeza así como la proyección del aparato bucal (rostrum), retirando

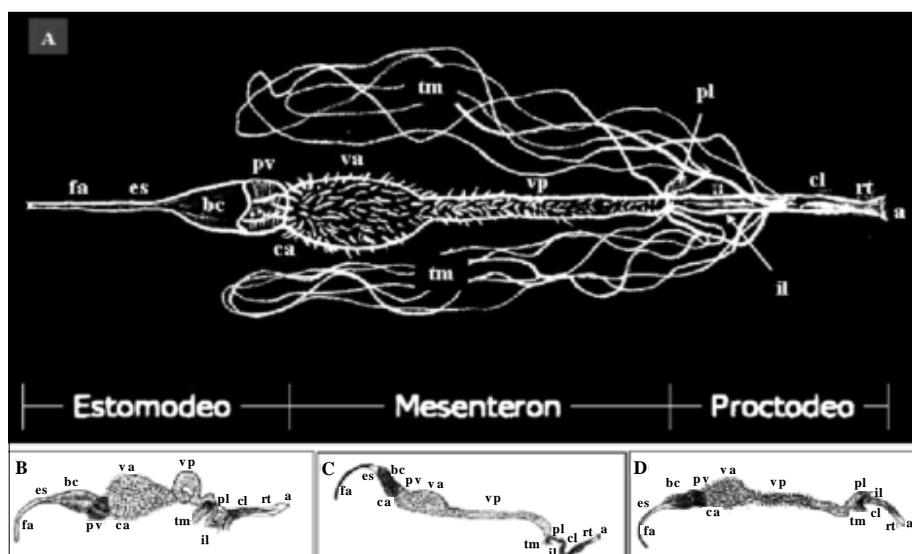
do todas las placas cuticulares dejando así todo el tracto digestivo a exposición. Los órganos fueron teñidos con azul de toluidina, para facilitar la diferenciación de los órganos que componen al tracto digestivo. Luego se midieron con un microscopio Zeiss Axiophot y un estereoscopio Zeiss Stemi 2000, equipados con reglilla micrométrica. Todos los órganos del tracto digestivo fueron fotografiados y medidos para establecer su forma y su tamaño, posteriormente se preservaron en glutaraldehído 2% en fosfato buffer pH. 7.0.

## Resultados

El tracto digestivo del complejo picudo se encuentra dividido en tres regiones el estomodeo o intestino anterior, el mesenteron o intestino medio y el proctodeo o intestino posterior (Fig. 1a), siendo el proctodeo y el estomodeo de origen ectodérmico y el mesenteron originado por el mesoderma (Snodgrass 1935).

El tracto digestivo de estos insectos varía en cada región y la longitud supera para el caso de *C. sordidus* 1 ½ veces la extensión de su cuerpo (Fig. 1b), en cambio en *M. hemipterus* (Fig. 1c) la extensión del tracto digestivo puede llegar a ser tres veces la longitud del insecto y para *M. hebetatus* (Fig. 1d) el tracto digestivo supera el doble la longitud total del insecto (Tabla 1), esto debido a plegamientos generados en el ventrículo posterior del mesenteron como también plegamientos formados en toda la porción del proctodeo (Fig. 4b). Las tres regiones del tracto digestivo estomodeo, mesenteron y proctodeo, se ajustan a las proporciones presentadas por Calder (1998), el cual realizó la evaluación de la proporción de las tres regiones del tracto digestivo a diversas especies de curculiónidos (Tabla 2), así como lo registrado en *Rhynchophorus palmarum* (Sánchez *et al.* 2000), *Anthonomus grandis* (MacGown y Sikorowki 1981) y en *Hypera postica* (Tombes y Marganian 1967).

El estomodeo en las tres especies (Figs. 2a, 2b y 2c) es un tubo largo y recto, que se comunica en su extremo posterior con el mesenteron, en su región anterior inicia con la faringe (Fig. 2d), siendo este un tubo angosto y delgado, extendiéndose desde el ápice del rostro hasta la región posterior de la cabeza, este se encuentra ubicado al centro de la cavidad cefálica, por encima de los notables tendones mandibulares y maxilares. En su



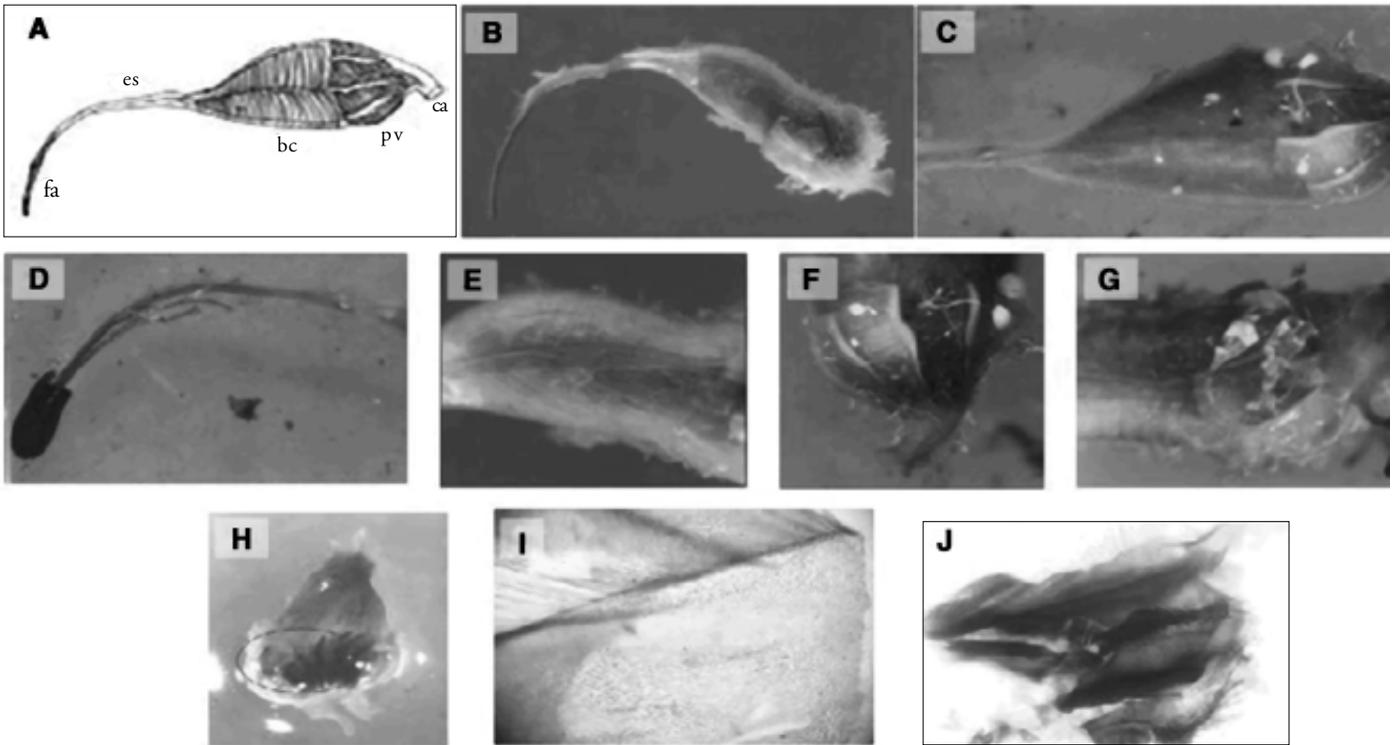
**Figura 1.** Aspecto general del tracto digestivo de las especies del complejo picudo del plátano. **a)** Conformación característica del sistema digestivo de *Cosmopolites sordidus*, *Metamasius hemipterus* y *Metamasius hebetatus*, la cual consta de las siguientes partes; faringe (fa), esófago (es), buche (bc), proventrículo (pv), cardias (ca), ventrículo anterior (va), ventrículo posterior (vp), piloro (pl), íleo (il), túbulos de Malpighi (tm), colon (cl), recto (rt) y ano (a). **b)** Vista general del tracto digestivo de *C. sordidus*. **c)** Vista general del tracto digestivo *M. hemipterus*. **d)** Vista general del tracto digestivo de *Metamasius hebetatus*.

**Tabla 1.** Tamaño (mm)  $\pm$  Error estándar (ee) de los diferentes órganos componentes del estomodeo, mesenteron y proctodeo en *C. sordidus*, *M. hemipterus* y *M. hebetatus*.

Órgano	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>Metamasius hemipterus</i>	<i>Metamasius hebetatus</i>
<b>Estomodeo</b>			
Largo	8,76 $\pm$ 0,0071	8,625 $\pm$ 0,0213	6,97 $\pm$ 0,0056
Esófago y Faringe			
Largo	4,76 $\pm$ 0,0117	4,81 $\pm$ 0,0250	3,78 $\pm$ 0,0527
Buche			
Largo	2,44 $\pm$ 0,0209	2,25 $\pm$ 0,0324	1,84 $\pm$ 0,0763
Ancho	1,04 $\pm$ 0,0689	1,12 $\pm$ 0,0361	0,91 $\pm$ 0,0398
<b>Proventrículo</b>			
Largo	1,20 $\pm$ 0,0301	1,19 $\pm$ 0,0398	1,06 $\pm$ 0,0045
Ancho	1,12 $\pm$ 0,0600	1,18 $\pm$ 0,0435	1,10 $\pm$ 0,0730
Cardias			
Largo	0,36 $\pm$ 0,0393		
<b>Mesenteron</b>			
Largo	10,87 $\pm$ 0,0482	15,94 $\pm$ 0,0551	10,13 $\pm$ 0,0085
Ventrículo anterior			
Largo	3,6 $\pm$ 0,0541	4,94 $\pm$ 0,0346	3,2 $\pm$ 0,0652
Ancho	2 $\pm$ 0,1260	1,94 $\pm$ 0,0058	1,78 $\pm$ 0,0002
Ventrículo posterior			
Largo	6,75 $\pm$ 0,0630	11,06 $\pm$ 0,0824	6,75 $\pm$ 0,0673
Ancho	0,625 $\pm$ 0,0409	0,69 $\pm$ 0,0570	0,593 $\pm$ 0,0361
<b>Proctodeo</b>			
Largo	9,6 $\pm$ 0,0163	9,25 $\pm$ 0,0370	5,72 $\pm$ 0,0398
Íleo			
Largo	4,3 $\pm$ 0,0255	4,63 $\pm$ 0,0624	2,72 $\pm$ 0,0472
Colon			
Largo	5,3 $\pm$ 0,0334	4,62 $\pm$ 0,0056	3,0 $\pm$ 0,0435
Ancho	0,7 $\pm$ 0,0085	0,69 $\pm$ 0,0296	0,375 $\pm$ 0,0650
<b>Tamaño Total</b>	29,23 $\pm$ 0,0405	33,815 $\pm$ 0,0358	22,82 $\pm$ 0,0374

recorrido está relacionado con fibras musculares estriadas, con orientación al exoesqueleto. Seguido a este se encuentra el esófago (Fig. 2c) el cual tiende a engrosarse, especialmente en el protórax, es una región que presenta una intima esclerotizada, externamente su conformación es similar a la faringe. La región posterior del estomodeo continúa con una zona de ensanchamiento esofageal conocida como buche (Figs. 2b y 2c), aunque se puede apreciar que es un órgano esclerotizado, este es flexible pues cumple la función de almacenamiento y digestión parcial del alimento (Fig. 2e); externamente se encuentra rodeado de músculos estriados. Internamente en el buche se presenta una gran cantidad de proyecciones espinosas esclerotizadas (Fig. 2i). Adosada a este órgano y con un diámetro ecuatorial similar, se encuentra el proventrículo (Fig. 2g) de forma casi ovoide y de constitución gruesa, este es el órgano más esclerotizado presente en todo el tracto digestivo. Internamente presenta ocho placas cuticulares con forma aristada y disposición octagonal (Fig. 2h), las cuales están adornadas con proyecciones espinosas cuticulares de diversos tamaños. Por el grosor, tamaño, disposición radial y convergente de las proyecciones espinosas cuticulares (Fig. 2j), se podría asumir que su función además de la maceración del alimento es el filtrado de este, siendo similar en otros insectos, tales como la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) (Rubio *et al.* 2003) y ortópteros de las familias Gryllidae y Tettigoniidae (Chapman 1982; Snodgrass 1935). Envolver estas placas se presentan gruesas bandas de músculos circulares. Concluyendo el estomodeo está el cardias (Figs. 2a y 2c), el cual es una válvula que se encuentra oculta en la región anterior del mesenteron, siendo ésta la válvula la que separa el mesenteron del proctodeo.

Por otra parte, el mesenteron es una estructura formada por dos regiones claramente diferenciables, el ventrículo anterior y el ventrículo posterior (Fig. 3a), siendo común en otros escarabajos descritos de la familia Curculionidae (Wigglesworth 1950; Crowson 1981; MacGown y Sikorowski 1981). El ventrículo anterior aparece bien definido, de forma ovoide, adornado con numerosos ciegos gástricos, uniformes y de tamaños diferentes en las tres especies (Figs. 3b, 3c y 3d), entre ellos se entrecruzan los túbulos de Malpighi y la región adya-



**Figura 2.** Morfología del estomodeo en las tres especies estudiadas del complejo picudo del plátano. **a)** Aspecto general del estomodeo en *M. hebetatus*, en la cual se observan las siguientes partes: faringe (fa), esófago (es), buche (bc), proventrículo (pv) y cardias (ca). **b)** Vista lateral del estomodeo de *M. hemipterus*. **c)** vista general del esófago, buche, proventrículo y cardias de *C. sordidus*. **d)** detalle de la región anterior del estomodeo, la cual en *C. sordidus* es una prolongación de la faringe. **e)** vista lateral del buche de *M. hemipterus*. **f)** proventrículo y cardias de *C. sordidus*, vista general. **g)** vista lateral de la unión entre el estomodeo y mesenteron en *M. hebetatus*. **h)** Vista general de las placas cuticulares internas que presenta el proventrículo en estos insectos. **i)** Observación del epitelio interior presente en el buche del complejo picudo, en el cual se notan sendas espinas de formación cuticular en la región superior y en la región central proyecciones espinosas de tamaño pequeño. **j)** Observación de las placas internas presentes en el proventrículo, en las cuales se evidencia el grado de esclerosamiento así como las proyecciones cuticulares de diversos tamaños que se presentan en las regiones laterales de cada una de las ocho placas.

**Tabla 2.** Relación proporcional de las tres regiones componentes del tracto digestivo de los picudos del plátano, comparados con las proporciones características de la Subfamilia Rhynchophorinae evaluadas por Calder (1989).

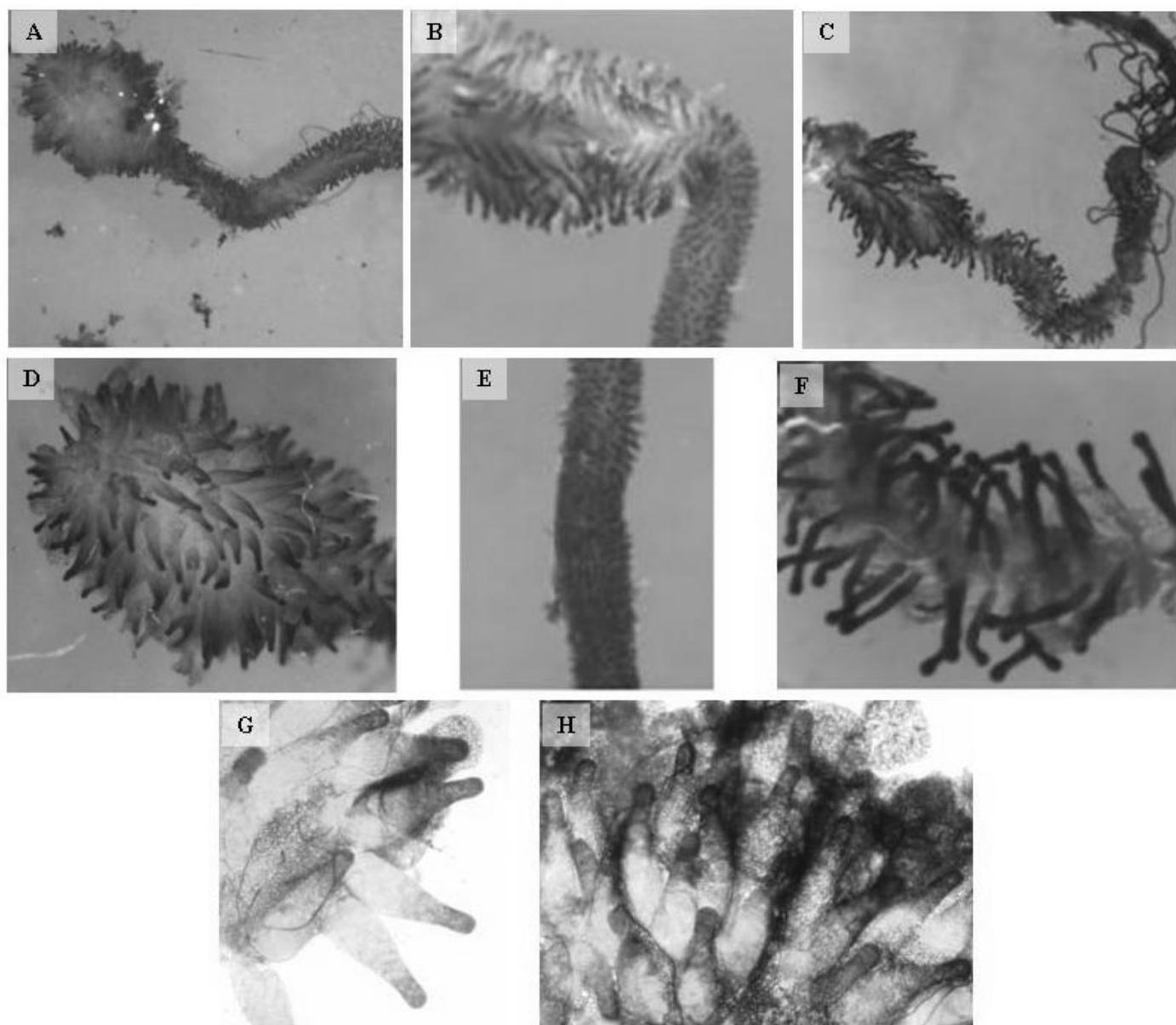
	Proporción de cada una de las regiones que compone el tracto digestivo			Curculionidae: Rhynchophorinae
	<i>C. sordidus</i>	<i>M. hemipterus</i>	<i>M. hebetatus</i>	(Calder 1989)
% Estomodeo	29.96	25.51	30.54	15 - 30 %
% Mesenteron	37.19	47.14	44.39	30 - 50 %
% Proctodeo	32.85	27.35	25.07	25 - 35 %

cente conocida como ventrículo posterior, ésta presenta una longitud similar a la anterior, pero el diámetro se reduce casi a la tercera parte, en ésta región también se proyectan una gran cantidad de ciegos gástricos uniformes (Fig. 3h) los cuales, en las dos regiones, se abren independientemente hacia el lumen. En el mesenteron de los tres insectos (Figs. 3e, 3f y 3g), se pueden observar las diferencias en forma y tamaño de los ciegos gástricos comprendidos en los dos ventrículos de las tres especies. Las descripciones realizadas al tracto digestivo

de éstas tres especies nos muestran como la principal diferencia se centra en la forma y tamaño de los ciegos gástricos, ya que para el caso de *C. sordidus*, los ciegos gástricos del ventrículo anterior son más gruesos y alargados, de forma cónica y terminación lobular, mientras que los del ventrículo anterior de forma cilíndrica, presentan un diámetro más reducido. El ventrículo anterior de *M. hemipterus*, presenta unos ciegos gástricos alargados, de forma cilíndrica, los cuales son diferentes a los del ventrículo posterior pues son muy pequeños, obser-

vándose una disposición uniforme; para *M. hebetatus*, la forma y tamaño de los ciegos gástricos con relación a los otros dos picudos estudiados, son los más largos, de forma cilíndrica y disposición uniforme, los cuales presentan una terminación ovoide. Tanto en su ventrículo anterior como posterior la cantidad de estos ciegos es menor a la observada en las otras dos especies.

El proctodeo de las tres especies (Figs. 4b, 4c y 4d) se encuentra separado del mesenteron por una válvula designada píloro (Fig. 4a), ésta se caracteriza por ser una corta región definida por una discreta disminución del diámetro, presencia de ondulaciones y el comienzo de la capa íntima de la región posterior del tubo digestivo. En el píloro, se localiza la unión de los seis túbulos de Malpighi, en las tres especies (Fig. 4a), cuatro túbulos que emergen de una cámara común y los otros dos situándose aparte (lateralmente), estos túbulos son uniformes en todo su recorrido y se disponen como trenzados o



**Figura 3.** Morfología de los órganos que constituyen el mesenteron en los tres picudos del plátano. **a)** Vista general del ventrículo anterior (ovoide) y el ventrículo posterior (tubular) en *C. sordidus*. **b)** Vista general de los ventrículos constitutivos en *M. hemipterus*, así como la disposición y tamaño de los ciegos gástricos de éstas dos regiones. **c)** Vista lateral de los ventrículos constitutivos en *M. hebetatus*, como también la forma y tamaño de los ciegos gástricos en éstas dos regiones. **d)** Ventrículo anterior de *C. sordidus*, en el cual se observa la disposición y tamaño de los ciegos gástricos, nótese la diferencia de estos con los otros dos picudos. **e)** Forma y tamaño de los ciegos gástricos del ventrículo posterior de *M. hemipterus*, los cuales son cilíndricos y pequeños. **f)** Vista general de los ciegos gástricos presentes en la región posterior de *M. hebetatus*, estos son los mas grandes de las tres especies y están caracterizados por una prominencia en la parte superior. **g)** y **h)** Ciegos gástricos en el ventrículo anterior en *C. sordidus*, caracterizados por la forma semicónica; de las tres especies, es la que más presenta este tipo de proyecciones.

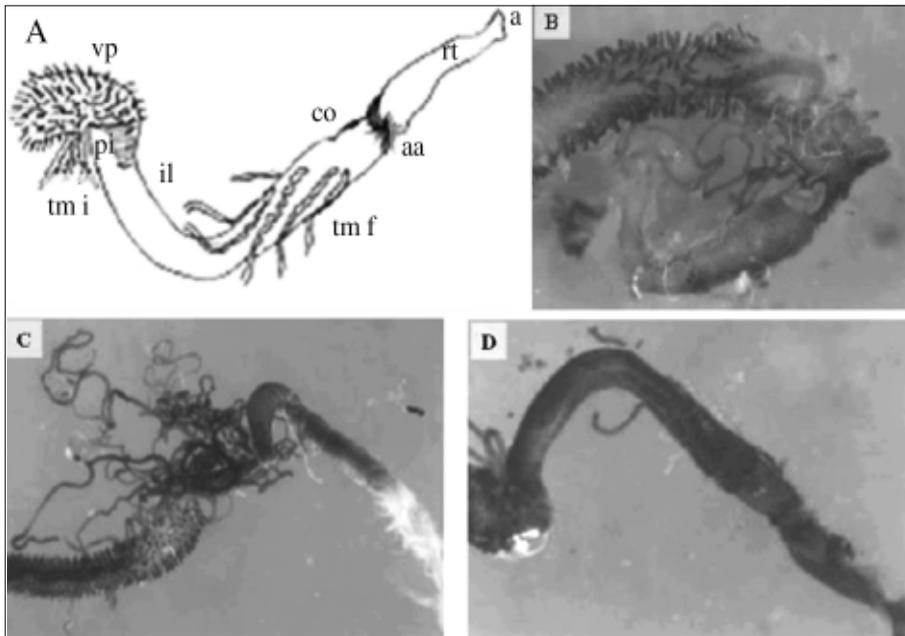
enlazados sobre la región del mesenteron y el proctodeo, lo cual coincide con los trabajos de Wigglesworth (1950); Crowson (1981) y Calder (1998), quienes han registrado cuatro o seis túbulos en los coleópteros de la familia Curculionidae. Estos túbulos desembocan en la región media del colon, los cuales se introducen formando unas sinuosidades en la capa íntima (Fig. 4a). Seguido al píloro

se genera una disminución en el diámetro del proctodeo, conocida como íleo, que viene acompañada en su región posterior por el colon, siendo similares morfológicamente, es ésta última una dilatación del proctodeo. El proctodeo culmina en el recto, de tamaño corto que se inicia en la válvula rectal, constituida por una simple constricción circular, semejante a la reportada por Snodgrass (1935).

La longitud y diámetro de las regiones antes mencionadas de las tres especies se muestran en la Tabla 1.

### Conclusiones

De los datos expuestos podemos decir que las tres especies de picudos estudiadas, muestran similares características para el consumo tanto del tallo como el pseudotallo del plátano, ya que la se-



**Figura 4.** Morfología del proctodeo en las tres especies estudiadas. **a)** Diagrama de las partes constitutivas características del proctodeo, ventrículo posterior (vp) “del mesenteron”. Píloro (pi), túbulos de Malpighi “lugar de inicio” (tm i), íleo (il), colon (cl), túbulos de Malpighi “lugar de finalización” (tm f), anillo anal (aa), recto (rt) y ano (a). **b)** Vista lateral del proctodeo en *C. sordidus*, presentando varios plegamientos, en los cuales se insertan los órganos reproductivos. **c)** Vista general del proctodeo en *M. hemipterus*, observándose el aglomerado “parte superior” que forman los largos túbulos de Malpighi. **d)** Vista lateral del proctodeo en *M. hebetatus*, notándose muy bien el anillo anal y la zona donde se insertan los túbulos de Malpighi (señalado con flecha) en la región media del colon.

mejanza en las proporciones de los diferentes órganos del tracto digestivo es evidente; solamente se presenta una diferencia en la relación proporcional en las secciones del proctodeo, pues en el caso de *M. hebetatus* ésta sección es más reducida que en *M. hemipterus* y *C. sordidus*. Las descripciones suministradas en este trabajo sobre las características anatómicas internas de estas tres especies abren las puertas a estudios relacionados con el metabolismo intestinal y asimilación nutricional de estos insectos.

#### Agradecimientos

Al Dr. Alex E. Bustillo P. por la revisión del artículo. Al Centro Nacional de Investigaciones de Café, por el apoyo financiero y logístico.

#### Literatura citada

BELALCAZAR C. S. L. 1991. El cultivo del plátano (*Musa AAB Simmonds*) en el trópico. Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Armenia. 376 p.

CALDER, A. A. 1989. The alimentary canal and nervous system of Curculionioidea (Coleoptera): gross morphology and systematic significance. *Journal of Natural History*. 23: 1205-1265.

CÁRDENAS M, R. 1976. El Picudo Rayado del Plátano (*Metamasius hemipterus* Oliver). En: Avances Técnicos. Cenicafé. Chinchiná, Colombia No. 54.

CÁRDENAS M, R.; ARANGO B, L. G. 1987. Control del picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar 1824) del Plátano *Musa AAB Simmonds* Mediante prácticas Culturales. *Revista Cenicafé*. 38 (4): 50-61.

CASTRILLÓN A., C. 2000. Distribución de las especies de picudo del plátano y evaluación de sus entomopatógenos nativos en el departamento de Risaralda. UMATAS-FNC-CORPOICA, Manizales. 72 p.

CASTRILLÓN A., C. 2001. Evaluación de dos tipos de trampas “disco de cepa” en plátano, en el departamento de Risaralda. Resúmenes. X Congreso Sociedad Colombiana de Entomología. p. 65. Bogotá

CHAPMAN R. 1982. The insects: Structure and function. Cambridge (USA). Harvard University. 919 p.

CORPOICA - Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. 1999. Plan de investigación y transferencia para aumentar la sostenibilidad y competitividad del plátano en Colombia. Plan Operativo. p. 57.

CROWSON, R. A. 1981. The biology of the Coleoptera. London, Academic Press, England. 802 p.

GARCIA R., F.; GOMEZ G., J.E.; BELALCAZAR C., S. 1994. Manejo biológico y cultural de *Cosmopolites sordidus* (Ger-

mar) en plátano. En: Reunión de la Asociación para la Cooperación en Investigaciones de Banano en el Caribe y América Tropical - ACORBAT, 11. San José (Costa Rica), Febrero 13-18, Memorias. San José (Costa Rica), ACORBAT. 385-395.

MACGOWN, M. W.; SIKOROWSKI, P. P. 1981. Digestive anatomy of the adult boll weevil, *Anthonomus grandis grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). *Annals of the Entomological Society of America* 74(1): 117-126.

MARTÍNEZ, M. I. 2000. Técnicas básicas de anatomía microscópica y de morfometría para estudiar los Insectos. *Aracnet 9 – Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*. 30: 187-195.

MERCHAN, V. V. M. 1998. Manejo de problemas fitosanitarios del cultivo del plátano en la zona central cafetera. Seminario Internacional sobre producción de plátano. Armenia, Mayo 4-8, Memorias. Armenia, Universidad del Quindío-Comité de Cafeteros del Quindío. 177-191.

RUBIO G, J. D.; BUSTILLO P. A. E.; VALLEJO E, L. F. 2003. Morfología externa de la broca del café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolityidae). Una búsqueda de mycangias. Trabajo de grado Ingeniero Agrónomo. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Manizales. 180 p.

SÁNCHEZ T, M. H.; ARANZAZU, H. F. 2000. El cultivo del plátano en el Magdalena medio. CORPOICA – Regional nueve. Manizales, septiembre. p. 28.

SÁNCHEZ. B., R. 2004. Caracterización morfológica del complejo de picudos (Coleoptera: Curculionidae) asociados a cultivariedades de plátano en Colombia Trabajo de grado Ingeniero Agrónomo. Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Manizales. 91 p.

SÁNCHEZ, P. A.; SÁNCHEZ, F.; CAETANO F. H.; JAFFÉ, K. 2000. El tubo digestivo en adultos de *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): Morfología y ultraestructura. *Boletín Entomología Venezolana*. 15(2): 195-216.

SNODGRASS, R. E. 1935. Principles of insect morphology. McGraw-Hill, New York, 667 p.

TOMBES, S. A y MARGANIAN, L. 1967. Aestivation (Summer diapause) in *Hyperia postica* (Coleoptera: Curculionidae), II. Morphological and histological studies of the alimentary canal. *Annals of the Entomological Society of America* 60(1):1-8.

VALLEJO, F. 2002. Interacciones entre coleópteros asociados a cultivariedades de plátano de la granja Montelindo, Municipio de Palestina (Caldas). *Revista Fitotecnia*. Universidad de Caldas. Manizales, marzo. No. 061. 2 p.

WIGGLESWORTH, V. B. 1950. The principles of insect physiology, E.P. Dutton and Co. New York (Estados Unidos) 544 p.

## Foraging activity of the solitary andean bee, *Anthophora walteri* (Hymenoptera: Apidae, Anthophorini)

Actividad de forrajeo de la abeja andina solitaria, *Anthophora walteri* (Hymenoptera: Apidae, Anthophorini)

VÍCTOR H. GONZALEZ<sup>1</sup>, BERNARDO MANTILLA<sup>2</sup>, ELIANA PALACIOS<sup>2</sup>

**Abstract.** This note reports observations on the pollen collecting behavior and foraging activity of the solitary bee, *Anthophora walteri* Gonzalez on *Salvia bogotensis* in the Eastern Andes of Colombia. Bees foraged from 7:00–17:00 h, or when the temperature exceeded 15°C. Peak visits occurred between 8:00–9:00, when the temperature was about 18°C and the humidity was 60%. On average, bees spent 3 seconds at each flower and collected pollen throughout the day, although pollen-collecting trips were twice as frequent in the morning as in the afternoon. The daily number and duration of foraging trips per bee ranged from 1–13 trips ( $x = 6.8 \pm 4.3$ ) and 4–88 min ( $x = 21.7 \pm 23.8$ ). Some possible morphological and behavioral adaptations for pollen collection on flowers of *Salvia*, as well as thermal constraints on the foraging activity of *A. walteri* in the Andes are also discussed.

**Key words:** *Anthophora walteri*. Foraging behavior. *Salvia*. Andes. Colombia.

**Resumen.** En esta nota se registran observaciones del comportamiento de recolección de polen y actividad de forrajeo de la abeja solitaria, *Anthophora walteri* Gonzalez sobre *Salvia bogotensis* en la cordillera Oriental de Colombia. Las abejas forrajearon desde las 7:00–17:00 h o cuando la temperatura superó los 15°C. El pico de visita ocurrió entre 8:00–9:00, cuando la temperatura fue aproximadamente 18°C y la humedad 60 %. En promedio, las abejas gastaron 3 segundos por flor y colectaron polen todo el día; sin embargo, los vuelos de colecta de polen fueron dos veces más frecuentes en la mañana que en la tarde. El número diario y duración de los vuelos de forrajeo por abeja variaron de 1–13 viajes ( $x = 6.8 \pm 4.3$ ) y 4–88 min ( $x = 21.7 \pm 23.8$ ). También se discuten algunas adaptaciones morfológicas y comportamentales para la recolección del polen de flores de *Salvia*, como también el efecto de las condiciones climáticas de los Andes sobre la actividad de forrajeo de *A. walteri*

**Palabras clave:** *Anthophora walteri*. Comportamiento de forrajeo. *Salvia*. Andes. Colombia.

### Introduction

*Anthophora (Mystacanthophora) walteri* Gonzalez 2004 (Hymenoptera: Apidae, Anthophorini) is a solitary bee species, about the size of a honeybee worker (12–15 mm long), endemic to isolated xeric highlands (2000–3000 m) in the Eastern Andes of Colombia (Gonzalez & Chavez 2004; Gonzalez & Engel 2004; Gonzalez *et al.* 2005). Nests are usually found in aggregations of 5–65 nests per square meter in flat ground or small banks in very hard soils in open, barren areas. As in other species of the subgenus *Mystacanthophora*, and certain bee genera in the families Andrenidae, Colletidae and Megachilidae, females of *A. walteri* have a face with a flat supraclypeal area and a clypeus covered with apically hooked hairs. Such modified hairs are apparently related to pollen collection from *Salvia* (Lamiaceae) (Michener 2000; Gonzalez & Chavez 2004). Palynological

analysis of *A. walteri* brood provisions in Mondoñedo (Departamento of Cundinamarca, Colombia) showed that nearly all pollen within each nest cell was from *Salvia bogotensis* Bentham, 1824 (Gonzalez & Chavez 2004). Because little is known about the foraging ecology of *A. walteri* or any neotropical *Anthophora*, herein we report observations on its foraging and pollen-collecting behavior. Possible morphological and behavioral adaptations to pollen collection on flowers of *Salvia*, as well as the effect of climatic conditions on its foraging activity, are also discussed.

### Materials and Methods

This study was conducted on December 18–20, 2004, in Mondoñedo (4° 39' 52.9" N; 74° 17' 2" W), about 10 km W of Bogotá city (Cundinamarca, Colombia), at 2720 m. Mondoñedo is a semiarid area that is highly disturbed by cattle

ranching, gravel extraction and waste dumping. The rainy season is bimodal with a maximum in April–June and the other in September–October, never reaching above 100 mm of precipitation monthly. The median temperature is approximately 13 °C. The most predominant plant is *Salvia bogotensis*, a small shrub (< 1 m tall) that provides sparse but spatially aggregated shade in the area (Gonzalez & Chavez 2004).

The daily foraging activity of *A. walteri* was studied at a nest aggregation consisting of 21 nests per square meter, and on three patches (8–9 m<sup>2</sup> each) of *S. bogotensis*. Early in the morning, before bees started to forage, nests entrances were marked with small pieces of paper (~ 2x2 cm), which were attached to the ground with an insect pin. The departure and arrival times were recorded for each bee, as well as the presence or absence of pollen on the scopae. Pollen carrying fe-

<sup>1</sup> Department of Ecology and Evolutionary Biology, Snow Hall, 1460 Jayhawk Boulevard, University of Kansas, Lawrence, Kansas 66045-7523; e-mail: vhgonza@ku.edu

<sup>2</sup> Departamento de Biología. Universidad Javeriana. Santa Fé de Bogotá, Colombia; e-mail: bernarmantilla@hotmail.com; eliana\_p@hotmail.com

males were easy to distinguish by the yellow pollen loads on their hind leg scopae. Unlike arrivals, bees left the nest very quickly and did not exhibit an orientation flight at the nest entrance; thus, it was difficult to observe the exact departure time in some cases. We therefore only used data on arrival times to build figure 3. Observations were made about 1.0–1.5 m away from the nest aggregation.

At the flowers, the numbers of *A. walteri* individuals were recorded every 30 minutes from 6:00 to 18:00 during a 10 min scan sampling ( $n = 2$  h total) on Dec. 20, 2004. When possible, focal observations were taken from marked females ( $n = 34$ ) that were uniquely painted on the mesosoma with quick-drying Decocolor® paint markers 24 h before observations. Bees were captured on the selected patches with an insect net and placed into plastic vials and immobilized on ice for about 3–4 min. Once marked, bees were released on the same patch where they had been captured. Ambient temperature and relative humidity taken in shade were recorded using a digital hygrometer (Extech®).

We used a linear regression analysis to test the effect of ambient temperature and relative humidity on the frequency of bee visits. Mean values are given with standard deviations.

## Results

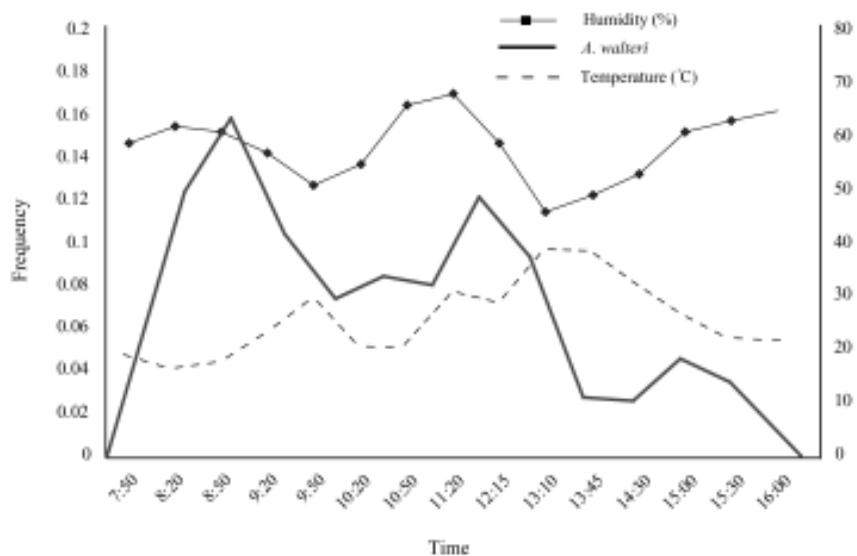
**Pollen collecting behavior.** Bees landed on *S. bogotensis* flowers with the tongue extended and held onto the petals with the anterior and middle legs. Then, they introduced the tongue into the corolla while quickly moving the head back and forth. Bees spent on average 3 seconds per flower ( $\pm 1.0$ ,  $n = 19$  bees), although visits seemed to be shorter when another bee had previously visited the same flower. After visiting several flowers, a female would fly to a tiny branch of *S. bogotensis* or a dead branch of a nearby plant and gripped it firmly with her mandibles. Then, she would raise her body and used the forelegs to remove pollen from her face while actively moving her body laterally and passing the pollen to the middle legs and finally, to the hind tibial scopae. Bees spent between 5–40 seconds ( $\bar{x} = 17$  s  $\pm 1.0$ ,  $n = 5$ ) loading pollen onto scopae. Afterwards, bees immediately returned to foraging or remained motionless for a few minutes (1–4 min) ( $n = 3$ ). The exact number of flowers that a female required before transferring

pollen to her scopae was difficult to establish because bees did not stay long enough in the patch or because they already had pollen on their scopae at the beginning of observation. However, in one instance, a female visited 130 flowers in 419 s ( $\sim 7$  min) before we observed her transferring pollen onto her scopae. Unlike bees without pollen, pollen-carrying bees visited inflorescences in a more organized fashion, starting from the bottom and visiting almost every flower while moving up to the top.

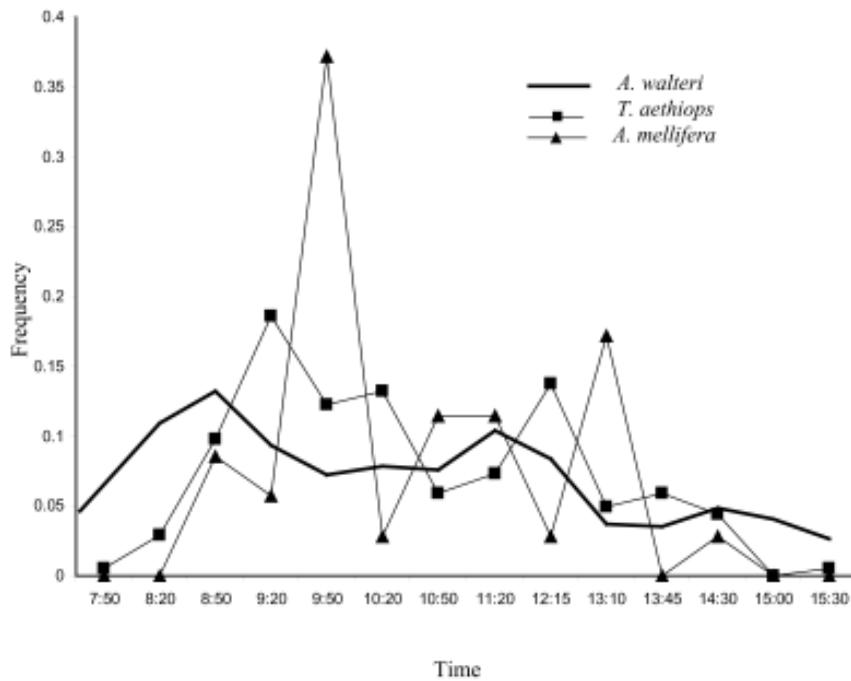
**Foraging activity.** About 11 % of all *A. walteri* individuals (total  $n = 597$ ) observed on *S. bogotensis* flowers were males. Females visited flowers for pollen and nectar whereas males visited just for nectar and to chase females for mating. During the study period, atmospheric temperature ranged 15.3–25.7 °C ( $\bar{x} = 20.8$ ,  $\pm 0.1$ ,  $n = 15$ ) and humidity 46–68 % ( $\bar{x} = 58.3 \pm 0.1$ ,  $n = 15$ ). Bees started to forage as early as 7:00 or, on cooler days, when temperature reached above 15 °C. No bees were seen on flowers or entering or leaving the nest after 17:00. Males and females of the solitary bee, *Thygater aethiops* (Smith, 1854) ( $n = 204$  individuals) (Apidae, Eucerini), and honey bee workers *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 ( $n = 135$ ) (Apidae, Apini) were also frequently seen on *S. bogotensis* flowers. Queens and workers of the bumble bee, *Bombus atratus* Franklin, 1913 (Apidae, Bombini) also sporadically ( $n =$

17) visited flowers of *S. bogotensis* throughout the day. All of these bees visited *S. bogotensis* flowers for nectar. The highest visit peak of *A. walteri* on *S. bogotensis* occurred between 8:00–9:00. A second peak occurred late in the morning (11:00–12:30); in both cases, temperature was low and humidity high, contrasting with the activity peak of *T. aethiops* and *A. mellifera*, which occurred in periods when temperature was high and humidity low (Figs. 1, 2). There were not, however, a significant effect ( $P > 0.05$ ) of the ambient temperature and relative humidity on the visit frequencies of *A. walteri*, *T. aethiops* and *A. mellifera* on flowers of *S. bogotensis*. During strong winds or low temperatures ( $< 15$  °C) some bees remained motionless on flowers or among leaves until wind ceased or temperature increased.

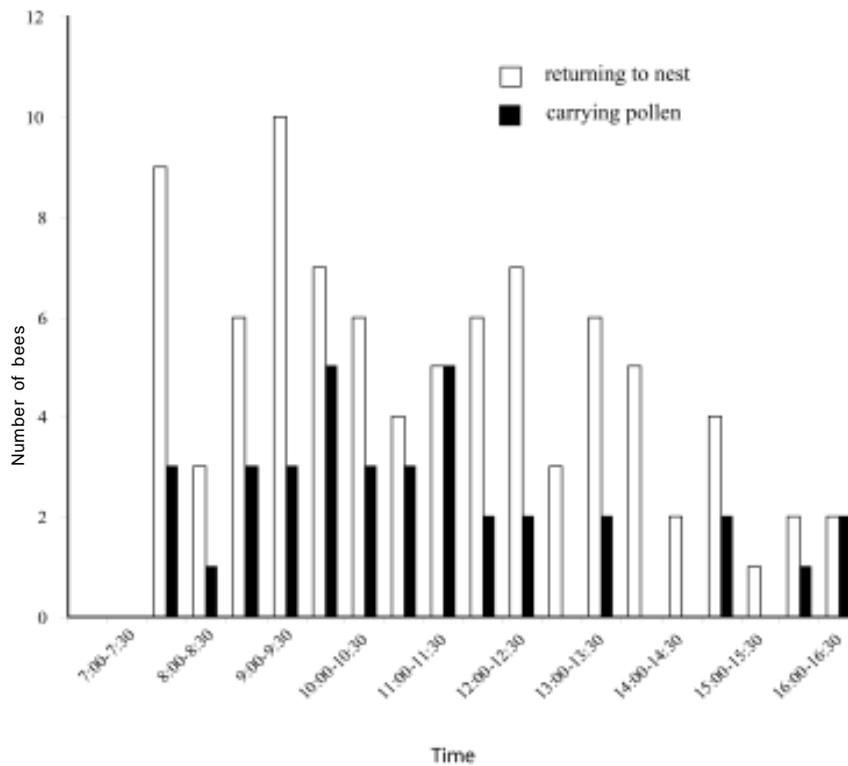
The daily number and duration of foraging trips per bee female ranged 1–13 trips per day ( $\bar{x} = 6.8 \pm 4.3$ ,  $n = 10$  bees) and 4–88 min per trip ( $\bar{x} = 21.7$  min  $\pm 23.8$ ,  $n = 24$  trips). Bees collected pollen throughout the day, although the percentages of pollen-collecting trips were twice as frequent in the morning as in the afternoon (Fig. 3). Pollen-collecting trips were observed in 42 % of the total observed foraging trips ( $n = 125$ ). Bees may have carried nectar or water in their crops during the remaining trips but we did not test this.



**Figura 1.** Foraging activity of *Anthophora walteri* on a flower patch of *Salvia bogotensis* in Mondoñedo (Colombia). Frequency of individuals observed is shown on left y-axis; temperature and humidity on right y-axis.



**Figure 2.** Comparative foraging activities of *Anthophora walteri*, *Thygater aethiops*, and *Apis mellifera* on flowers of *Salvia bogotensis*.



**Figure 3.** Number of *Anthophora walteri* females observed on Dec. 20, 2004, returning and carrying pollen of *Salvia bogotensis* to the nest.

## Discussion

All bee species that visited *S. bogotensis*, including *A. walteri*, seemed to be attracted to flowers primarily for nectar as

indicated by the extended tongue on approach to the flower. Although we do not have data, it is likely that pollen is accidentally transferred to the face in all species during a visit. However, the modified

hairs on the faces of *A. walteri* female may increase the amount of pollen transferred. Most bees, especially hairy bees like *B. atratus* and *T. aethiops*, comb off the pollen from the face using the forelegs during grooming (Thorpe 1979; 2000; Roubik 1989; Michener 2000) but the additional repertory of behaviors (*i.e.*, moving the abdomen while holding onto a stem with the mandibles) were only observed in *A. walteri*. In addition, some of the marked females ( $n = 8$  out of 34) returned several times during the day (1–4) to forage on the same patch where they had been captured. *Anthophora walteri* females also seemed to skip flowers that had previously been visited by other bees, suggesting they are capable of recognizing them. All these observations indicate morphological (modified hairs on face) and behavioral adaptations for collecting pollen from *Salvia*.

The genus *Salvia* comprises nearly 1000 species worldwide, and they are well known by their modified lever-like stamens, which play a key role in pollen transfer (Claßen-Bockhoff *et al.* 2003). A bee or bird (the main pollinators of *Salvia*) searching for nectar pushes one of the arms of the modified stamens that blocks the access to nectar, causing pollen to be loaded onto its head, bill or back. As a result, the pollen may be transferred to the stigma of another flower during a subsequent visit. This type of mechanism is often referred as nototribic pollination (Claßen-Bockhoff *et al.* 2004). Is *A. walteri* the only pollinator of *S. bogotensis*? We do not have data to answer this and related questions regarding pollen-transfer mechanisms involved in *S. bogotensis*. However, given that pollinator availability is very low for plants in high tropical altitudes in comparison with lower elevations due to climatic conditions (Primack 1985), specialization on a particular type of pollinator does not seem like a “best” strategy. Instead, even small contributions from a wide range of pollinators may be advantageous to high Andean plants such as *S. bogotensis* (Fagua & Gonzalez, in press). Undoubtedly, the pollination ecology of *S. bogotensis* needs to be studied in order to address such questions. Similarly, we do not know if *A. walteri* switches plant host when *S. bogotensis* is temporally unavailable as has been observed in others pollen specialist bees (Wcislo & Cane 1996).

Tropical high altitude ecosystems such as in Mondoñedo represent climatically hostile environments. Native species

must tolerate drastic diurnal temperature changes, freezing temperatures during the night and avoid desiccation during the day (Sarmiento 1986; Lüttge 1997). Low temperatures and inclement weather strongly influence flight activity of heterothermic animals such as bees. Therefore, foraging is primarily restricted to warmer daily periods and to those animals that can efficiently thermoregulate their body temperature (Bishop & Armbruster 1999). We did not find a significant effect of the ambient temperature and relative humidity on the foraging activity of *A. walteri* though we only have data from a single day. Nonetheless, *A. walteri* did not fly at temperatures below 15 °C, during light rain or even before sunrise as frequently reported for some temperate *Anthophora* species [e.g., *A. plumipes* (Pallas, 1772), and *A. bombooides stanfordiana* Cockerell, 1904] (Brook 1983; Batra 1994; Stone 1994). This agrees with the idea that unlike arthropods from temperate areas, tropical alpine arthropods apparently do not have time for physiological preparation before the onset of low temperatures (Sømme 1989; Sømme *et al.* 1996). Furthermore, diurnal changes in quality and quantity of available floral nectar and pollen in *S. bogotensis* may also influence *A. walteri* activity as noted for other oligolectic *Anthophora* species (Stone *et al.* 1999).

In addition to climatic conditions, the number and duration of foraging trips per day of bees may also depend on individual status in social species, nest activities (cell construction, provisioning), type of material collected (mud, pollen, nectar), resource distance, etc. The daily number and length of trips observed in *A. walteri* are within the range of trips reported for other social and solitary species (e.g., Michener 1974). Spending time away from the nest while foraging for food could increase the risk of brood parasitization, especially in solitary species. *Anthophora walteri* females spent as much as 7 min foraging on 130 flowers before loading pollen in the scopae; that is, they could visit more than 500 flowers to complete a full pollen load on each trip, and spend on average, at least, 3.5 h per day (~200 min) away from the nest. Unlike habitats containing *Anthophora* species in the Northern Hemisphere, no nest parasites (including parasitic bee species) are known to occur in Mondoñedo (Gonzalez & Chavez 2004). Al-

though we did not mark the bees from the nest aggregation under study, it was clear that sometimes a non-resident female entered a nest when it was already occupied. Buzzing and aggressive encounters usually occurred, and presumably those non-resident bees, then left the nest. Such intra-specific competition has also been reported in other *Anthophora* species (Batra 1994).

#### Acknowledgments

This paper is dedicated to Mr. Mauricio Palacios and Mrs. Rita Morillo, beloved parents of E. Palacios, for their encouragement, patient and unconditional support during our fieldwork in Mondoñedo. We thank Petra Wester, Daniel Bennett, Carlos Sarmiento, Marisol Amaya, and three anonymous reviewers for comments on the manuscript. Finally, we gratefully acknowledge the financial support of Idea Wild (to VHG). This is a contribution of the Division of Entomology, Natural History Museum and Biodiversity Research Center, University of Kansas.

#### References

- BATRA, S. W. 1994. *Anthophora pilipes villosula* Sm. (Hymenoptera: Anthophoridae), a manageable Japanese bee that visits blueberries and apples during cool, rainy, spring weather. Proceedings of the Entomological Society of Washington 96(1): 98–119.
- BISHOP, J. A.; S. ARMBRUSTER. 1999. Thermoregulatory abilities of Alaskan bees: effects of size, phylogeny and ecology. Functional Ecology 13: 711–724.
- BROOK, R. W. 1983. Systematics and biometrics of *Anthophora*: The *Bomboides* group and species group of the New World (Hymenoptera: Apoidea, Anthophoridae). University of California, Publications in Entomology 98: 1–86.
- CLAßEN-BOCKHOFF, R.; WESTER, P.; E. TWERASER. 2003. The staminal lever mechanism in *Salvia* L. (Lamiaceae) – a review. Plant Biology 5: 33–41.
- CLAßEN-BOCKHOFF, R.; SPECK, T.; TWERASER, E.; WESTER, P.; THIMM, S., & M. REITH. 2004. The staminal lever mechanism in *Salvia* L. (Lamiaceae): a key innovation for adaptive radiation? Organisms, Diversity and Evolution 4: 189–205.
- FAGUA, C.; V. H. GONZALEZ. *In press*. Growth rates, reproductive phenology and pollination ecology of *Espeletia grandiflora* (Asteraceae). Biotropica.
- GONZALEZ, V. H.; F. CHAVEZ. 2004. Nesting biology of a new high Andean bee, *Anthophora walteri* Gonzalez (Hymenoptera: Apidae: Anthophorini). Journal of the Kansas Entomological Society 77(4): 36–44.
- GONZALEZ, V. H.; M. S. ENGEL. 2004. The Tropical Andean bee fauna (Insecta: Hymenoptera: Apoidea), with examples from Colombia. Entomologische Abhandlungen 62(1): 65–75.
- GONZALEZ, V. H.; OSPINA, M.; D. BENNETT. 2005. Abejas altoandinas de Colombia: Guía de campo. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, D.C., Colombia. 80 pp.
- LÜTTGE, U. 1997. Physiological Ecology of Tropical Plants. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. 384 pp.
- MICHENER, C. D. 1974. The social behavior of bees. Harvard University Press; Cambridge, xii+ 404 pp.
- MICHENER, C. D. 2000. The Bees of the World. Johns Hopkins University Press; Baltimore, MD: xiv+[1]+913 pp.
- PRIMACK, R. 1985. Longevity of individual flowers. Annual Review of Ecology and Systematics 16: 15–37.
- ROUBIK, D. W. 1989. Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge University Press, Cambridge, 514 pp.
- SARMIENTO, G. 1986. Ecological features of climate in high tropical mountains. Pp. 11–45 in F. Vuilleumier, and M. Monasterio, editors. High Altitude Tropical Biogeography. Oxford University Press, Oxford.
- SØMME, L. 1989. Adaptation of terrestrial arthropods to alpine environments. Biological Reviews 64: 367–407.
- SØMME, L.; R. L. DAVIDSON.; G. ONORE. 1996. Adaptations of insects at high altitudes of Chimborazo, Ecuador. European Journal of Entomology 93: 313–318.
- STONE, G. N. 1994. Patterns of evolution of warm-up rates and body temperatures in flight in solitary bees of the genus *Anthophora*. Functional Ecology 8: 324–335.
- STONE, G. N.; F. GILBERT.; P. WILLMER.; S. POTTS.; F. SEMIDA.; S. ZALAT. 1999. Windows of opportunity and the temporal structuring of foraging activity in a desert solitary bee. Ecological Entomology 24: 208–221.
- THORP, R. W. 1979. Structural, behavioral, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collection pollen. Annals of the Missouri Botanical Garden 66(4): 788–812.
- THORP, R. W. 2000. The collection of pollen by bees. Plant systematics and evolution 222: 211–223.
- WCISLO, T.; J. CANE. 1996. Floral resource utilization by solitary bees (Hymenoptera: Apoidea) and exploitation of their stored foods by natural enemies. Annual Review of Entomology 41: 257–286.

## Abejas silvestres (Hymenoptera: Apoidea) en ecosistemas urbanos: Estudio en la ciudad de Bogotá y sus alrededores

Wild bees (Hymenoptera: Apoidea) in urban ecosystem: Preliminary survey in the city of Bogotá and its surroundings

GUIOMAR NATES-PARRA<sup>1</sup>, ALEJANDRO PARRA H<sup>2</sup>, ANGELA RODRÍGUEZ<sup>3</sup>, PEDRO BAQUERO<sup>4</sup>, DANNY VÉLEZ<sup>5</sup>

**Resumen.** La sabana de Bogotá está localizada a los 2600 msnm y tiene temperaturas que oscilan entre -5 y 25 °C (promedio: 14°C). Con base en archivos, notas de campo, revisión bibliográfica y la base de datos existente en el Laboratorio de Investigaciones en abejas de la Universidad Nacional de Bogotá (LABUN) se obtuvo información sobre las abejas silvestres presentes en la ciudad de Bogotá y localidades aledañas. Además se hicieron muestreos en diferentes sitios de la ciudad y alrededores, observaciones directamente en campo y se recopiló información sobre plantas visitadas por las abejas en la zona de estudio. Se encontraron 40 especies de abejas pertenecientes a 18 géneros, distribuidas en las cinco familias registradas para el país. Halictidae y Apidae fueron las familias más ricas en especies. El 82,5% de las abejas encontradas son de distribución neotropical y el 25 % de distribución típicamente andina. Se presentan datos sobre comportamiento de forrajeo, arquitectura de nidos y actividad externa para algunas especies de abejas silvestres urbanas. *Thygater aethiops* y *Caenohalictus* sp. nidifican principalmente en parques y en las proximidades de parches de plantas ornamentales, en tanto que *Anthophora walteri* nidifica en áreas secas y con escasa cobertura vegetal. Las abejas del género *Bombus* se encontraron nidificando fuera de los límites estrictamente urbanos. Las plantas más visitadas fueron principalmente especies ornamentales pertenecientes a las familias Acanthaceae, Asteraceae, Caprifoliaceae, Solanaceae y Scrophulariaceae.

**Palabras clave:** Andes. Colombia. Inventario. Diversidad. Recursos florales.

**Abstract.** The high altitude flat area of Bogotá is located at 2600 m elevation and has temperatures that oscillate between -5 and 25 °C (average 14°C). Based on archives, field notes, bibliographic review and a database from the Bee Research Laboratory of the National University in Bogotá (LABUN), information was obtained on the wild bees present in the city of Bogotá and nearby localities. In addition, surveys were made in different sites in the city and its surroundings, observations were taken directly in the field, and information was compiled on plants visited by bees in the study area. Forty bee species were found belonging to 18 genera and distributed among the five families recorded for the country. Halictidae and Apidae were the most speciose families. Among all bee species found, 82,5% are Neotropical in distribution and 25% typically Andean in distribution. Data is presented on the foraging behavior, nest architecture and external activity for some species of wild urban bees. *Thygater aethiops* and *Caenohalictus* sp. nest mainly in parks and near patches of ornamental plants, whereas *Anthophora walteri* nests in dry areas with little vegetation. Bees of the genus *Bombus* were found nesting outside of strictly urban boundaries. The most visited plants were mainly ornamental species belonging to the families Acanthaceae, Asteraceae, Caprifoliaceae, Solanaceae and Scrophulariaceae.

**Key words:** Andes. Colombia. Inventory. Diversity. Floral resources.

### Introducción

Los estudios sobre abejas silvestres en todo el mundo tienden a concentrarse en zonas de alta diversidad; sin embargo, es

evidente la necesidad de evaluar la influencia del hombre sobre los ecosistemas y faunas asociadas con el fin de proponer alternativas que eviten la desaparición de las especies nativas y de sus

hábitat; en algunas regiones del mundo se han realizado trabajos con este enfoque usando abejas en zonas urbanas: en Berlín Saure (1996) reportó un número relativamente alto de especies de abejas

1 Autor para correspondencia: Profesora Titular. Laboratorio de Investigaciones en Abejas (LABUN). Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia A.A. 14490, Bogotá, Colombia. E. mail: mgnatesp@unal.edu.co

2 Estudiante, Laboratorio de Investigaciones en Abejas (LABUN). Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia A.A. 14490, Bogotá, Colombia. E. mail: varnishpt@yahoo.com

3 Bióloga, Laboratorio de Investigaciones en Abejas (LABUN). Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia A.A. 14490, Bogotá, Colombia. E. mail: anyelus@eudoraimail.com

4 Zootecnista, Laboratorio de Investigaciones en Abejas (LABUN). Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia A.A. 14490, Bogotá, Colombia. E. mail: leotecnia@yahoo.com.ar

5 Biólogo. Laboratorio de Investigaciones en Abejas (LABUN). Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia A.A. 14490, Bogotá, Colombia. E. mail: elverdaderodanny@yahoo.com.mx

nativas (262 especies), casi la mitad del total de especies conocidas para toda Alemania; Frankie *et al.* (2002) estudiaron las abejas de Albany y Berkeley (USA) y su relación con la vegetación local.

En Brasil Laroca *et al.* (1982) y Cure (1983) realizaron un estudio de abejas en parques de la ciudad de Curitiba, acompañado de la fenología floral y visitas a flores; Camargo y Mazucato (1986) estudiaron las abejas de Ribeirao Preto (Brasil); Noll *et al.* (1993) encontraron 133 especies de abejas en el campus de la Universidad de Sao Paulo, localizado en la Ciudad de Sao Paulo.

Moreno (1995) determinó la importancia de las construcciones urbanas sobre los parámetros de nidificación de *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 en Guanare (Venezuela) Nates-Parra *et al.* (en prensa) hicieron un inventario y revisaron los hábitos de nidificación de abejas sin aguijón en cementerios de algunas ciudades en Colombia.

La diversidad de abejas de las regiones andinas, particularmente en las zonas altas del trópico es poco conocida. La fauna de abejas de los Andes (Perú hasta Venezuela) es quizás la menos estudiada de todas (Michener 2000); solo recientemente González y Engel (2004) publicaron un inventario de las abejas de las grandes alturas de los Andes, particularmente de Colombia. De acuerdo con Hernández-Camacho *et al.* (1992) esta región parece ser una de las áreas de mayores endemismos y riqueza de especies en Colombia, en gran parte debido a una topografía variada y diversidad de gradientes altitudinales. Particularmente el altiplano Cundiboyacense ha sido señalado por Hernández-Camacho *et al.* (1992) como uno de los 58 centros de endemismo (fauna y flora) existentes en el país. Sin embargo, esta es una de las regiones con mayor población y grado de modificación de sus ecosistemas. El efecto sobre las abejas silvestres ha sido demostrado por algunos autores. Hace más de 60 años Osorno y Osorno (1938) mencionaban que en la sabana de Bogotá se encontraban con facilidad por lo menos cinco especies de abejorros (género *Bombus*) y por datos de colección sabemos que en los jardines bogotanos era posible encontrar nidos de *B. atratus* Franklin, 1913 (Nates-Parra y González 2000); hoy es difícil encontrar nidos de cualquier especie de *Bombus* en la ciudad. Bogotá ha crecido y sigue creciendo aceleradamente y a menos que iniciemos trabajos con las abejas urbanas, podremos perder la oportunidad de saber de qué manera afecta la urbanización a los

artrópodos urbanos y en particular a las abejas.

Estas consideraciones nos han llevado a iniciar trabajos tendientes a conocer la fauna apoideológica urbana de ciudades por encima de los 2500 m. con el objetivo de saber que especies hay, establecer sus hábitat preferidos, determinar las especies vegetales que son utilizadas como fuente de obtención de recursos, detectar especies que estén amenazadas y proponer estrategias para su conservación.

### Materiales y métodos

Se revisaron las colecciones de abejas del Laboratorio de Investigaciones en Abejas (LABUN) y del Instituto de Ciencias Naturales, de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá; además se buscó información en la literatura correspondiente. Se hicieron 32 muestreos (aproximadamente tres muestreos por mes) con redes entomológicas en diferentes localidades de la ciudad y zonas aledañas entre enero y noviembre del año 2001. En los meses de octubre y noviembre del mismo año se realizaron además algunas observaciones sobre hábitos de forrajeo y nidificación de dos de las especies de abejas más frecuentes en el muestreo: *Caenohalictus* sp y *Thygater aetiops* Smith, 1854. Los datos se tomaron cada hora, durante 15 minutos desde las 9am hasta las 4pm por siete días. Se hizo además una colección de especies vegetales visitadas por las abejas.

Los muestreos se realizaron principalmente en la ciudad de Bogotá (Colombia, Sur América) situada al sur occidente de la sabana de Bogotá (4°35,56'N, 74°04,51' W, altitud promedio 2600 msnm, 2500ha, temperatura promedio 14 °C, rango -5-25 °C, precipitación media 1013mm, radiación solar 122-170 horas) (DAMA 1998). Bogotá limita por el norte con los municipios de Chía y Sopó, por el occidente con Cota, Funza, Mosquera y Soacha y hacia el oriente con el municipio de La Calera.

En Bogotá se tuvo información de las siguientes localidades: Bogotá Centro (UN, Teusaquillo, San Diego, Planetario, Parque Nacional, Jardín Botánico, Parque Simón Bolívar, Normandía, Modelia, Universidad de los Andes, Pablo VI); Bogotá Norte (Bachué, Av. Chile, Torca, Usaquen, Pontevedra); Bogotá Sur (parque El tunal, parque Timiza) y Suba; En los Alrededores se revisaron especímenes de: Alto el Cable, Cerro Monserrate (4° 45' N, 74°W), Páramo Cruz Verde (04°34' N, 74°01' W), Usme, La Calera

(04°45' N, 73°59' W), Mosquera (2°30' N, 78°27' W) (Fig. 1).

### Resultados

**Inventario.** Se registraron 40 especies de abejas correspondientes a cinco familias (Tabla 1). 61,5% respecto a las registradas para los andes colombianos (González y Engel 2004). Algunas especies solo se determinaron hasta género debido a la falta de revisiones y claves taxonómicas para esos grupos.

La mayor parte de las especies son Neotropicales (82,5%) mientras que el 17,5% son cosmopolitas. El 25% de las especies reportadas en este estudio tienen distribución típicamente altoandina.

La familia Halictidae presenta el mayor número de especies (19) seguida de Apidae (16).

El 95% de las especies registradas en este trabajo son solitarias y el 5% sociales.

*Sphecodes bogotensis* Meyer, 1922 y *Exaerete smaragdina* Guérin, 1845 son las únicas especies parásitas que aparecen en éste listado (Tabla 1).

Los abejorros del género *Bombus* se recolectaron principalmente en las afueras de la ciudad, en zonas menos perturbadas (La Calera, Cota, Madrid).

Las abejas registradas por encima de los 2500 m de altitud, particularmente en Bogotá y alrededores se pueden agrupar de la siguiente forma:

- Abejas con amplia distribución (A): Se refiere a aquellas abejas que tienen un amplio rango de distribución geográfica y altitudinal y que llegan a ecosistemas altoandinos (ej: *Colletes* sp, *Megachile* sp y *Bombus atratus*).
- Abejas con distribución andina restringida (AND): Son aquellas especies que habitan casi exclusivamente las altas altitudes de los Andes (ej: *Chilicola aequatoriensis* Benoist, 1942, *Neocorynurella seelleyi* Engel y Klein, 2004, *Bombus funebris* Smith, 1854 y *B. rubicundus* Smith, 1854).
- Abejas transeúntes (T) : Son abejas que a pesar de que habitan en zonas bajas, hay sido vistas y capturadas en regiones como la ciudad de Bogotá. En este trabajo se registran ocho especies, todas pertenecientes a la familia Apidae (ej: *Xylocopa fimbriata* Fabricius, 1804, *Eulaema cingulata* Fabricius, 1804).

**Tabla 1.** Lista de abejas silvestres registradas para la Sabana de Bogotá. Nivel de organización: Sol= solitario; soc= social; p= parásito. Distribución: N= neotropical; C= Cosmopolita. Distribución altitudinal: A=rango altitudinal amplio; AND= por encima de 2100 msnm; T= transeuntes; ?= sin datos

FAMILIA/ Subfamilia/Tribu Especie	Localidad	Altitud (msnm)	Nivel org.	Distribución	Dist. Altit.	Sustrato/captura	Referencias	
<b>COLLETIDAE</b>								
Xeromelissinae	<i>Chilicola aequatoriensis</i> Benoist, 1942	Usme, Cota	2400-2701	sol	Neotropical	AND	Al vuelo	Este trabajo, Michener 2002
Diphaglossinae	<i>Cadegualina andina</i> Friese, 1925	La Calera	2800-2951	sol	Neotropical	AND	Al vuelo	Este trabajo
Colletinae	<i>Colletes</i> sp.	La Calera	2851	sol	C	A	Al vuelo	Este trabajo
<b>ANDRENDAE</b>								
Panurginae	<i>Protandrena</i> sp.	Bogotá (H. Juan Amarillo)	2600	sol	Neotropical	AND	Al vuelo	Este trabajo
<b>HALICTIDAE</b>								
Halictini	<i>Caenohalictus</i> sp.	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?	vegetación	Este trabajo
	<i>Caenohalictus columbus</i> Vachal, 1903	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Caenohalictus lindigi</i> Vachal, 1911	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Caenohalictus eberhardorum</i> Michener, 1979	La Calera, Cota	2566-2850	sol	Neotropical	AND	<i>Taraxacum officinale</i>	Este trabajo
	<i>Sphcodes bogotensis</i> Meyer, 1922	Bogotá	2600	sol	C	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Lassioglossum (Didictus)</i> sp.	Bogotá	2600	sol	C	?	Lirio, Penstemon	Este trabajo
	<i>Lassioglossum</i> sp.	Mosquera	2700	sol	C	?	Cactus	Chávez, 2000
Augochlorini	<i>Augochlora repandirostris</i> Vachal, 1911	Bogotá	815-2600	sol	Neotropical	A		Moure y Hurd (1987)
	<i>Augochlora bogotensis</i> Vachal, 1911	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Augochlora dorsualis</i> Vachal, 1911	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Augochlora esox</i> Vachal, 1911	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Augochlora foxiana</i> Cockerell, 1900	Bogotá	815-2600	sol	Neotropical	A		Moure y Hurd (1987)
	<i>Augochlora aurinasis</i> Moure, 1944	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Augochlora ectasis</i> Vachal, 1911	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Augochlora laenifrons</i> Vachal, 1911	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Augochlora myrrhites</i> Vachal, 1911	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Neocorynurella cosmetor</i> Vachal, 1911	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
	<i>Neocorynurella seeleyi</i> Engel & Klein, 1997	Monserrate	2800-3230	sol	Neotropical	AND		Engel y Klein (1997)
	<i>Augochlorella (Pereirapis) simotes</i> Vachal, 1911	Bogotá	2600	sol	Neotropical	?		Moure y Hurd (1987)
<b>MEGACHILIDAE</b>								
	<i>Megachile</i> sp.	Bogotá, Facatativa	2600-3000	sol	C	A	Nidos, al vuelo	Este trabajo
<b>APIDAE</b>								
Eucerini	<i>Thygater aethiops</i> Smith, 1854	Bogotá, La Calera,	1400-3400	sol	Neotropical	A	Nidos, vegetación	Urban (1967), Ospina (2000)
Anthophorini	<i>Anthophora walteri</i> González & Chávez, 2004	Mosquera	2200-2700	sol	C	AND	Nidos, vegetación	Este trabajo
Xylocopini	<i>Xylocopa fimbriata</i> Fabricius, 1804	Bogotá, La calera (T)	2650	sol	C	T	Al vuelo	Cruz (1996), este trabajo
Euglossini	<i>Eulaema polyzona</i> Mocsary, 1897	Bogotá (T)	80- 2560	soc	Neotropical	T	Al vuelo	Bonilla (1990)
	<i>Eulaema bombiformis</i> Packard, 1869	Bogotá (T)	20-2560	soc	Neotropical	T	Al vuelo	Bonilla (1990)
	<i>Eulaema cingulata</i> Fabricius, 1804	Bogotá (T)	100-2560	soc	Neotropical	T	Al vuelo	Bonilla (1990), este trabajo
	<i>Eulaema nigrita</i> Lepeletier, 1841	Bogotá (T)	20-2560	soc	Neotropical	T	Al vuelo	Bonilla (1990), este trabajo
	<i>Eulaema polychroma</i> Mocsary, 1899	Bogotá (T), Monserrate	960-3000	soc	Neotropical	T	Al vuelo	Bonilla (1990), este trabajo
	<i>Exaerete smaragdina</i> Guérin, 1845	Bogotá (T)	2560	soc	Neotropical	T	Al vuelo	Bonilla (1990). Este trabajo
Centridini	<i>Centris</i> sp.	Bogotá, La Calera (T)	2600-2850	sol	Neotropical	T	Al vuelo	Este trabajo
Bombini	<i>Bombus atratus</i> Franklin, 1913	Bogotá, Madrid, Mosquera, Cajicá, La Calera, Cota	150-3500	soc	Neotropical	A	Nidos, Vegetación: <i>Dahlia</i> sp, <i>Taraxacum officinale</i> <i>Digitalis purpurea</i> <i>Trifolium repens</i> <i>Taraxacum</i> sp	Liévano y Ospina (1984)
	<i>Bombus foveolatus</i> Smith, 1854	Bogotá, La Calera	2850-4800	soc	Neotropical	AND	<i>Digitalis</i> sp	Liévano y Ospina (1984)
	<i>Bombus rubicundus</i> Smith, 1854	La Calera	2550-3690	soc	Neotropical	AND	<i>Lupinus</i> sp	Liévano y Ospina (1984)
	<i>Bombus hortulanus</i> Friese, 1904	Bogotá, Madrid, Cota, La Calera	2100-3180	soc	Neotropical	AND	Flores	Liévano y Ospina (1984)
	<i>Bombus robustus</i> Smith, 1854	Bogotá, La Calera, Cota	2320-3600	soc	Neotropical	AND	<i>Lupinus</i> sp, <i>Dahlia</i> , sp	Liévano y Ospina (1984)
Meliponini	<i>Partamona peckolli</i> Friese, 1900	Bogotá, La Calera	800-2850	soc	Neotropical	A	Nidos, al vuelo	Este trabajo

- Abejas urbanas (U). Son abejas que habitan en los ecosistemas urbanos beneficiándose de los jardines y construcciones urbanas. En este trabajo se registran dos especies: *Thygater aethiops*, *Caenohalictus* sp
- Abejas no urbanas (NU): Especies de abejas que habitaron alguna vez el

área que hoy es urbana y han sido desplazadas de su hábitat natural, es así para *Megachile* sp y *Anthophora walteri* González y Chávez, 2004 las cuales nidifican preferiblemente en la periferia de la ciudad.

**Recursos utilizados por las abejas.** En la tabla 2 se presenta la lista de 34 espe-

cies vegetales, pertenecientes a 25 familias botánicas, utilizadas como fuente de recursos alimenticios por 11 taxa de abejas silvestres. Entre las plantas se destacan las familias Asteraceae y Scrophulariaceae con el mayor número de especies visitadas. El 55.8% de las especies estudiadas provee solamente néctar,

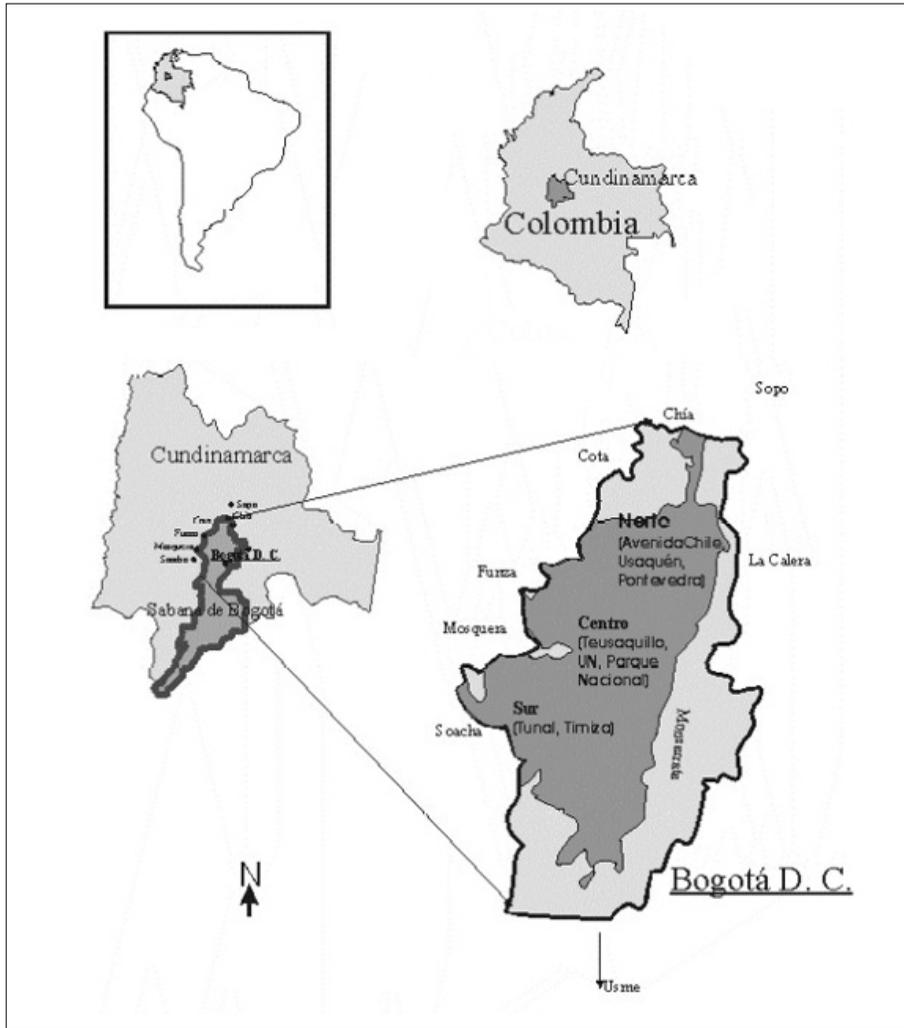


Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo.

el 23.5% solamente polen y un 20.5% ofrece tanto néctar como polen. El 59% de las plantas listadas en este trabajo son introducidas mientras que el 41% son nativas de Suramérica.

Los visitantes florales más abundantes en este estudio fueron *Thygater aethiops* Smith, 1854 (Eucerini: Apidae), *Bombus* spp (Bombini: Apidae) y especies de la familia Halictidae

*T. aethiops* es generalista porque obtiene recursos alimenticios de diversas plantas (24) pertenecientes a 21 familias, la mayor parte de ellas ornamentales e introducidas. El 44 % de las especies listadas en la tabla 2 ofrecen néctar para esta especie particular de abeja mientras que el 17,6% solamente aporta polen; dentro de estas últimas especies se encuentran algunas familias cuyas especies necesitan del sistema "polinización por zumbido" para poder liberar el polen. Las hembras de *T. aethiops* utilizan esta estrategia con las especies de Solanaceae y Cesalpi-

naceae (Urban 1967; Michener 1974; Roubik 1989)

Durante observaciones realizadas en el Parque Nacional se evidenció que *T. aethiops* visitaba flores de *Jasminun revolutum* (Oleaceae) y *Thumbergia alata* (Acanthaceae) con mayor frecuencia que *Caenohalictus* sp; en la misma fecha y durante el mismo tiempo de observación (noviembre 25 entre 09:00 y 16:00) las visitas de *T. aethiops* correspondieron al 76.9 % del total de visitas registradas (N= 48)

*Abelia grandiflora* (Caprifoliaceae) fue otra de las especies frecuentemente visitada por *T. aethiops*; es una planta exótica de uso ornamental, catalogada como una buena fuente de néctar y por tanto recurso de gran importancia para la supervivencia de las abejas (Sanford 1988; Delaplane *et al.* 1994) incluyendo a *T. aethiops*. Esta planta fue introducida hace algunos años en el Jardín Botánico

de Bogotá y actualmente se distribuye comercialmente.

Las cinco especies de *Bombus* (*Bombus atratus*, *Bombus funebris*, *Bombus hortulanus*, *Bombus robustus* y *Bombus rubicundus*) obtienen néctar de tan solo seis especies vegetales y polen solamente de una de ellas, la mayor parte de las cuales no son nativas. *Digitalis purpurea* (Scrophulariaceae) es una de las especies más intensamente visitada por néctar, mientras que *Dahlia* sp (Asteraceae) lo es por polen. Algunos abejorros (*B. hortulanus*) roban néctar de *D. purpurea* a través de agujeros en la base de la flor.

Dentro de la familia Halictidae se encontró que los géneros *Caenohalictus* y *Dialictus* visitan preferiblemente especies exóticas, ornamentales. Durante la época de observación (noviembre 2001) éstas abejas fueron vistas en las horas de la mañana (09:00 a 13:00) y en tiempo soleado. Jardineras y separadores con *Crocsmia aurea* (Lirio amarillo) (Iridaceae), *Jasminum* sp (Jazmín amarillo) (Oleaceae), *Anthirrhinum majus* (Boca de dragón) (Scrophulariaceae), dentro de la ciudad, fueron los lugares con mayor riqueza de abejas de ésta familia.

*Anthophora* (*Miscanthophora*) *walteri* (González y Engel, 2004) (Apidae) recientemente descrita y colectada en Mondoñedo (Municipio de Mosquera), es una especie de abeja para la cual se conoce muy poco acerca de su biología. La localidad tipo se caracteriza por la escasa precipitación y vegetación típica de zonas áridas.

Una de las especies vegetales presentes en esa localidad fue *Salvia bogotensis* (Lamiaceae), especie visitada intensamente por *A. walteri* (19.5  $\pm$  8,7 N 50). Observaciones en tres parches de *S. bogotensis* (octubre 2004) permitieron establecer que tanto machos como hembras obtienen néctar de esa especie y que además de *A. walteri* otras especies de abejas como *B. atratus*, *T. aethiops* y *Apis mellifera* Linnaeus 1748 también visitan esa planta.

**Hábitos de nidificación.** Se localizaron nidos de tres especies de abejas solitarias (*T. aethiops*, *Caenohalictus* sp y *A. walteri*). También se encontraron nidos de *Bombus atratus*, generalmente fuera de la ciudad. Las tres especies solitarias se encontraron nidificando en agregados que tenían aproximadamente siete nidos/m<sup>2</sup>; aquellos de *Anthophora walteri* y *Caenohalictus* sp se encontraron ocupando áreas pequeñas, en tanto que *Thygater*

**Tabla 2.** Especies vegetales utilizadas por abejas silvestres en la ciudad de Bogotá y alrededores.

Familia	Especie	Nombre común	Origen	Especie de abeja visitante	Sexo	Recurso obtenido
ACANTHACEAE	<i>Thunbergia alata</i>	Ojo de poeta Susanita	África meridional	<i>Thygater aetiops</i>	F(M)	néctar
APOCYNACEAE	<i>Vinca mayor</i>	Enamorado	Europa, Asia menor	<i>Thygater aetiops</i>	M	néctar
ASTERACEAE	<i>Dahlia</i> sp	Dalia	México	<i>Thygater aetiops</i> <i>Bombus atratus</i> , <i>Bombus robustus</i> ,	F(M)	néctar
	<i>Osteospermum ecklonis</i>		África	<i>Caenohalictus</i> sp.	F	polen
	<i>Taraxacum officinale</i>	Diente de león	Asia central	<i>Dialictus</i> sp, <i>Bombus</i> spp	F	néctar
	<i>Espeletia</i> sp	Frailejón	América tropical; Andes	<i>Bombus</i> spp	F	néctar
AMARYLLIDACEAE	<i>Astroemeria</i> sp	Astromelia	América Tropical	<i>Thygater aetiops</i>	F	néctar
BALSAMINACEAE	<i>Impatiens balsamina</i>	Bella-helena	Africa	<i>Thygater aetiops</i>		néctar
BEGONIACEAE	<i>Begonia</i> sp	Begonia	Asia	<i>Thygater aetiops</i>	F	polen
BIGNONIACEAE	<i>Tecoma stans</i>	Chicalá	Norteamérica	<i>Thygater aetiops</i>	M	néctar
CACTACEAE	<i>Wigginsia vorwerckiana</i>	Cactus	Suramérica	<i>Lassioglossum</i> sp.	F	polen
CAESALPINACEAE	<i>Senna viarum</i>	Alcaparro	Andes?	<i>Thygater aetiops</i> , <i>Bombus</i> spp	F(M)	polen
CAPRIFOLIACEAE	<i>Abelia grandiflora</i>		China	<i>Thygater aetiops</i> <i>Caenohalictus</i> sp.	F(M)	néctar
ERICACEAE	<i>Rhododendron indicum</i>	Azalea	Asia	<i>Thygater aetiops</i>		néctar
FABACEAE	<i>Lupinus</i> spp	Lupinus, Chocho	Norteamérica	<i>Bombus atratus</i> , <i>Bombus robustus</i> , <i>Bombus rubicundus</i>	F	néctar
GERANIACEAE	<i>Pelargonium</i> sp	Geranio	Suráfrica	<i>Thygater aetiops</i>	F(M)	polen/néctar
IRIDACEAE	<i>Crocossia aurea</i>	Lirio amarillo	Suráfrica	<i>Thygater aetiops</i> <i>Caenohalictus</i> sp. <i>Eulaema polyzona</i> *	F	polen
LAMIACEAE	<i>Salvia bogotensis</i>	Salvia	Andes americanos	<i>Anthophora walteri</i>	F(M)	polen/néctar
LEGUMINOSAE	<i>Trifolium pratense</i>	Trébol rojo	Europa	<i>Thygater aetiops</i> , <i>Bombus atratus</i>	F(M)	néctar
LILIACEAE	<i>Agapanthus orientalis</i>	Agapanto azul	África	<i>Thygater aetiops</i>	F(M)	polen/néctar
MELASTOMATAACEAE	<i>Blakia granatensis</i>		Sur América	<i>Thygater aetiops</i>	F	polen
MELASTOMATAACEAE	<i>Tibouchina lepidota</i>	Sietecueros	Sur América	<i>Thygater aetiops</i>	M	néctar
OLEACEAE	<i>Jasminum</i> sp	Jazmín amarillo	Asia	<i>Thygater aetiops</i> <i>Caenohalictus</i> sp.	F(M)	néctar
ONAGRACEAE	<i>Fuchsia denticulata</i>	Fucsia; bailarina	Sur América	<i>Thygater aetiops</i>	F(M)	néctar
ROSACEAE	<i>Rubus</i> spp	Mora	Europa, Asia	<i>Bombus atratus</i> , <i>Bombus hortulanus</i> , <i>Bombus robustus</i>	F	polen/néctar
SCROPHULARIACEAE	<i>Hebe</i> sp		Nueva Zelanda	<i>Thygater aetiops</i>	F	néctar
SCROPHULARIACEAE	<i>Pestemon</i> sp	Dedalera	Norte América	<i>Caenohalictus</i> sp, <i>Megachile</i> sp.	F(M)	polen/néctar
SCROPHULARIACEAE	<i>Anthirrhinum majus</i>	Boca de dragón	Europa	<i>Caenohalictus</i> sp.	F(M)	polen/néctar
SCROPHULARIACEAE	<i>Digitalis purpurea</i>	Digitalis	Europa	<i>Bombus atratus</i> , <i>Bombus robustus</i> , <i>Bombus hortulanus</i>	F	néctar
SOLANACEAE	<i>Solanum jasminoides</i>	Manto de maría	Sur américa	<i>Thygater aetiops</i>	F	polen
SOLANACEAE	<i>Solanum pseudocapsicum</i>	Mirto	Sur américa	<i>Thygater aetiops</i>	F	polen
SOLANACEAE	<i>Lycianthes lycioides</i>	Gurrubo	Andes?	<i>Thygater aetiops</i>	F	polen
VERBENACEAE	<i>Lantana camara</i>	Mermelada	Caribe	<i>Thygater aetiops</i>	M	néctar
VIOLACEAE	<i>Viola tricolor</i>	Pensamiento	Europa	<i>Thygater aetiops</i>	M	néctar

*aethiops* utiliza áreas de mayor tamaño (Tabla 3).

### *Thygater aethiops* Smith, 1854

*T. aethiops* pertenece a un grupo de abejas solitarias, silvestres y ampliamente distribuidas, reconocibles por su tamaño que oscila entre 10 y 16mm, las antenas de los machos son muy largas, el clípeo es negro y fuertemente protuberante, labro blanco o amarillento y los primeros segmentos flagelares de la hembra son más largos que el escapo (Michener 2000).

Esta especie nidifica tanto en zonas urbanas como en zonas mas o menos con-

servadas: En la ciudad de Bogotá se encontraron nidos en el Parque Nacional, Jardín Botánico, separadores de avenidas y jardines residenciales, sectores caracterizados por su gran variedad de especies vegetales ornamentales, florecidas durante la mayor parte del año. Otros nidos fueron encontrados y descritos en el Municipio de La Calera en áreas rurales dedicadas a la ganadería.

Los nidos se encontraron agrupados formando agregaciones (Tabla 3) con distancias desde 1 hasta 20 cm entre los agujeros de entrada (Tabla 4). Los nidos en zonas rurales parecen ser menos pro-

fundos que aquellos encontrados en zona urbana. La densidad (nidos por m<sup>2</sup>) también difiere entre los dos ecosistemas: urbano, mayor densidad (6,5 nidos por m<sup>2</sup>) y rural menor densidad (2,6nidos por m<sup>2</sup>) (Tabla 3). Descripción más detallada de los nidos rurales se encuentra en Ospina (1999).

### *Anthophora (Miscanthophora) walteri* González y Engel, 2004

Los nidos de esta especie se encontraron en una zona rural del Municipio de Mosquera (Lat. Norte 4° 12'; Long 0.74°14' 2546 msnm, aproximadamente a

**Tabla 3.** Características de los agregados de nidos en tres especies de abejas solitarias encontradas en Bogotá y alrededores (Octubre-Noviembre 2001)

Especies	No. agregados	Área (m <sup>2</sup> )	Nº Nidos	Densidad (nido/m <sup>2</sup> )
<i>Caenohalictus</i> sp (urbana)	1	8	56	7
<i>Anthophora walter</i> (rural)	4	5,21	37	7.1
<i>Thygater aethiops</i> (rural)	4	339	880	2.6
<i>Thygater aethiops</i> (urbana)	2	38	246	6.5

**Tabla 4.** Características de los nidos de tres especies de abejas solitarias en áreas urbanas de los Andes colombianos

Especie	Características	Bogotá (Parque Nacional) Octubre-noviembre 2001	La Calera
<i>Thygater aethiops</i>	No. nidos	246/38 m <sup>2</sup>	880/339 m <sup>2</sup>
	Diámetro de entradas:	0,85 cm	0,81 cm
	Separación entre un nido y otro	4 a 20 cm	1 a 6.3
	Longitud túnel	Más de 65 cm	0,65 m
	No. celdas/nido	s.i	10
	Tamaño celdas	s.i	largo: 11.6mm x ancho:8.5
	Túmulos entradas	presente	presente
	No hembras/nido	1	1
<i>Caenohalictus</i> sp.		Bogotá (U. Nacional) Octubre-noviembre 2001	
	No. nidos	56 en 8 m <sup>2</sup>	
	Diámetro entrada	0.4 cm	
	Separación entre nidos	8 cm	
	Longitud túnel de entrada	s.i	
	No. hembras/nido	2 a 3	
	Túmulos entradas	presente	
<i>Anthophora</i> sp.		Mondoñedo (Mosquera) Octubre 2003 y octubre 2004	
	No. nidos	37/5.21m <sup>2</sup>	
	Diámetro entrada	8.22mm	
	Separación entre nidos	7.5 cm	
	Longitud túnel de entrada	12 cm	
	No. hembras/nido	1	
	Túmulos entradas	ausente	

23 Km. de Bogotá) clasificada como subxerofítica, con pastoreo y alta población de *Salvia bogotensis* y asteráceas. La forma de los nidos de esta especie es similar a la de otras especies del género. Detalles de la arquitectura de los nidos están publicados en González y Chávez (2004).

En cuanto a nidos de las especies de la familia Halictidae solamente se encontraron agregaciones de *Caenohalictus* sp.; generalmente los nidos pasan desapercibidos ya que son pequeños y están escondidos bajo la vegetación. Para este caso en particular se encontraron 56 nidos localizados en las jardineras del Campus universitario, sembradas con *Pestemon* sp, *Anthirrhinum* sp, *Crocsmia aurea*. En las tablas 3 y 4 se registran algunas observaciones de su arquitectura externa.

### *Bombus atratus* Franklin, 1913

La arquitectura de esos nidos no difiere mucho de la registrada para la misma especie en tierras bajas del Brasil (Sakagami *et al.* 1967; Zucchi 1973): normalmente hacen sus nidos en el suelo en medio de raíces de pasto, no presentan entradas definidas y pueden encontrarse varias reinas activas. Los nidos así como otros aspectos de la biología de la especie fueron ampliamente descritos por Mejía (1999) a partir de material encontrado en Facatativá (2586 msnm) y la Calera (2950 msnm).

### Discusión y conclusiones

A medida que se asciende la tendencia es hacia una disminución en la diversidad de especies y el reemplazo de los grupos que componen los diferentes biomas (Andrade 1993). Sin embargo,

la biota de alta montaña aunque no es muy diversa si es rica en especies endémicas (Hernández- Camacho *et al.* 1992). En este estudio se registraron 40 especies de abejas silvestres, dato que debe ser considerado como preliminar por varias razones: 1. Algunos de los registros, especialmente los de Halictidae son tomados de la literatura (Moure y Hurd 1987) y no aparecen registros en las colecciones examinadas; es posible que en la época de colección de esas especies "Bogotá", se refiriera a una localidad más amplia de lo que es ahora y muchas de esas especies estén por fuera de estos límites. 2. Para este estudio solamente se revisaron dos colecciones y es posible que en otros museos tengan especies diferentes a las registradas aquí. Igualmente con muestreos más intensos y sistemáticos seguramente se descubrirán más especies e incluso nuevas; desde 1997 se han venido describiendo nuevas especies en los ecosistemas de los Andes; para Colombia ya se han descrito por lo menos 11 especies, todas por encima de los 1000 msnm (Engel y Klein 1997; Michener 2002; González y Michener 2004; González 2004; González y Engel 2004), dos de ellas encontradas en las proximidades de Bogotá: *Neocorynurella seeleyi* descrita del páramo de Monserrate, uno de los cerros circundantes de Bogotá (Engel y Klein 1997) y *Anthophora walteri* (González y Engel 2004) encontrada en los alrededores de Bogotá (Mosquera); esto muestra que realmente las regiones altas presentan una gran biodiversidad que aún está por descubrir y estudiar. 3. Las ciudades como Bogotá poseen diversidad de microambientes delimitados por características muy particulares como tipo de suelos, vegetación, nivel de exposición solar, entre otras, que inciden en el grado de atracción sobre las abejas. 4. La contaminación urbana y las actividades humanas causan diferentes grados de estrés sobre las plantas; esto ocasiona que ellas ejerzan diferentes grados de atracción sobre las abejas, por lo menos cuando se comparan con las mismas especies vegetales creciendo en ambientes rurales. Los factores anteriores se deberán tener en cuenta en los subsiguientes estudios para poder tener una visión más acertada sobre las especies de abejas que viven en las ciudades.

Las abejas registradas en Bogotá y alrededores, por encima de los 2600 mts de altitud, presentan varios patrones de distribución:

**Abejas con amplia distribución (A)** representadas por el 17,5% de las especies

presentes en este estudio y que se encuentran también fuera de la región neotropical. Son especies que además presentan un amplio rango altitudinal desde los 150 msnm hasta los 3500 msnm (*B. atratus*). Aparentemente se adaptan bien a diferentes condiciones ambientales; *Partamona peckolti* (neotropical) es una de las pocas especies de abejas sin aguijón que alcanzan grandes alturas; Pedro y Camargo (2003) la registraron hasta los 2000 msnm, en el parque Nacional Natural Ucumari (Risaralda) Camargo y Pedro (2003) se refieren a este género como las constructoras de nidos más formidables que se conoce, por su capacidad de hacer estructuras de entrada muy diversas y ornamentadas. Hasta ahora no hay descripción de nidos de especie alguna del género para estas alturas.

**Abejas con distribución estrictamente andina (AND)** representan el 25% de las especies aquí referidas. La mayor parte de ellas son neotropicales y se han encontrado por encima de los 2100 msnm. De este grupo hacen parte cuatro de las cinco especies de *Bombus* presentes en estas alturas; son abejas que tienen la capacidad de forrajear con bajas temperaturas y aún en tiempo lluvioso. *B. funebris* es la especie que alcanza el límite altitudinal más extremo para el género en Colombia y la única especie de abeja restringida a esta altitud particular.

**Abejas transeúntes (T)** En este grupo registramos ocho especies (20%) de abejas grandes pertenecientes a cuatro géneros (*Xylocopa*, *Eulaema*, *Exaerete* y *Centris*) típicas de tierras bajas y caracterizadas por tener amplio rango de vuelo. Es posible que estas abejas asciendan a estas alturas en búsqueda de recursos alimenticios, o que hayan sido transportadas por el hombre desde las tierras bajas, en cargamentos de madera, donde puede haber nidos particularmente de *Xylocopa*. *E. cingulata* se ha registrado tres veces desde el año 1983 y se ha visto recolectando néctar o polen en algunas plantas. *Eulaema polizona* Mocsary, 1897 es una especie que excepcionalmente se encuentra a más de 2000 msnm (Bonilla 1990), se colectó en la Universidad Nacional después de casi dos minutos de estar tomando néctar de *Crocasmia aurea*. Registros previos de abejas de las orquídeas (*Eulaema* y *Eufriesea*) cruzando lagos mientras cargaban polinios encontrados por lo menos a 40 o 50 km del sitio de colecta, apoyan la idea de que ellas podrían cruzar montañas (Dressler 1982). Estas especies tienen la capacidad de alcanzar desplazamientos muy amplios en

busca de alimento u otros recursos dada la capacidad de termorregulación y potencial de desecación ligados al tamaño del cuerpo, entonces las especies con relación área/volumen baja, pueden retener el calor interno más eficientemente que las especies pequeñas (Bonilla 1990; Cruz 1996).

Debido a los pocos registros presentados en este trabajo para la familia Halictidae es difícil hablar de su distribución altitudinal. Además, todavía hay mucho desconocimiento e imprecisiones en cuanto a la sistemática de la fauna altoandina y es posible que haya muchas especies sin describir (González y Engel 2004). *Caenohalictus eberhadorum* Michener, 1979 merece particular atención dado que esta especie sólo se ha reportado en Colombia para la región Pacífica (Michener 2000) y sin embargo en este trabajo se presentan registros en La Calera (2850 msnm) y Cota (2566 msnm). Otras especies del mismo género como *C. columbus* Vachal 1903, *C. lindigi* Vachal 1911, *C. modestus* y *C. moritzi* podrían ocurrir en la localidad puesto que son especies registradas típicamente en ambientes andinos (Moure y Hurd 1987).

*T. aethiops* y *Caenohalictus* sp. son dos de las especies que definitivamente están muy bien adaptadas a los ambientes urbanos; esto se evidencia por observaciones realizadas en parches florales en algunos sitios de la ciudad (Parque Nacional, Ciudad Universitaria, parques pequeños de barrios) donde se hicieron 170 registros de abejas de esas especies (09:00-13:00 horas, 17-25 noviembre). El 34% de las visitas fueron de *T. aethiops* mientras que el 66% correspondieron a *Caenohalictus* sp. Ambas especies nidifican en jardineras, separadores, parques, jardines en zonas densamente habitadas y aprovechan la vegetación existente en estas áreas como fuente de alimento y además lugares de descanso y apareamiento.

Frente a la aparente mayor densidad de nidos que presenta la especie *Thygater aethiops* en ambientes urbanos (6,5 nidos/m<sup>2</sup>, Tabla 3) se podría suponer que existen condiciones predominantes tanto ambientales como de abundancia de recursos de nidificación y alimentación que favorecen u obligan a esta concentración. Los nidos rurales de esta especie se encontraron siempre en un área sometida a pisoteo por ganado. Los nidos urbanos se encontraron en jardineras que mantienen una cierta humedad y donde la tierra esta relativamente suelta.

Así como hay especies particularmente adaptadas a ambientes urbanos, hay otras que por el contrario, se alejan de tales regiones. Los datos históricos de la colección del LABUN muestran mayor presencia de algunos grupos de abejas en épocas donde no había tanta densidad de construcción y contaminación atmosférica. En particular en el campus de la U. Nacional hace 20 años se encontraban con frecuencia nidos de *Megachile* y aún de *Bombus*; hoy ya no se encuentran. *Anthophora* también es un género que prefiere nidificar en localidades retiradas y preferiblemente xéricas.

A pesar de que Bogotá es una metrópoli contaminada y fría, es interesante notar que es posible encontrar representantes de las 5 familias de abejas que existen en Colombia. Esto implica que la ciudad les ofrece a las abejas recursos suficientes para mantener pequeñas poblaciones.

Algunas especies de abejas se “benefician” de la urbanización puesto que “descubren” nuevos sitios de nidificación, mientras que para otras se constituye en una invasión a su hábitat del cual poco a poco van desapareciendo. Para algunas especies de abejas nativas no parece haber dificultades en que visiten plantas exóticas o nativas. De hecho se observó, por ejemplo como *T. aethiops* (neotropical) visitaba intensamente *Abelia grandiflora* (originaria de China) o *Thumbergia alata* (Acanthaceae), proveniente del África meridional. Este es un aspecto que aquí no se ha explorado. Frankie *et al.* (2002) estudiaron el nivel de atracción de especies vegetales urbanas en California y encontraron que, a diferencia de lo encontrado por nosotros, las abejas nativas de esa región eran poco atraídas por plantas introducidas (de fuera de California); las plantas nativas ejercían una atracción casi cuatro veces mayor sobre las abejas nativas. Las explicaciones que los autores dan se relacionan en primera instancia con la selección que los horticultores hacen a favor de unas flores más vistosas a expensas de estambres más pequeños, por otro lado se menciona que no haya una historia evolutiva paralela entre abejas y plantas foráneas. Las especies del género *Bombus* que habitan en Colombia pertenecen a subgéneros que son neotropicales y algunos típicamente altoandinos; sin embargo visitan plantas exóticas como *Digitalis purpurea* (europea) de la cual obtienen tanto néctar como polen.

El Jardín Botánico, Parque Nacional, Campus Universitario (UN), Humedales,

jardines y parques residenciales son sitios donde se encontraron muchas de las especies aquí registradas (50%). Estos lugares ofrecen condiciones propicias para nidificar, territorios de apareamiento y lugares para los agregados de machos (grupos de dormir). Los resultados de este trabajo pueden ser de aplicabilidad en programas educativos orientados al conocimiento y conservación de la fauna apoideológica de los centros urbanos.

Por otro lado, los urbanizadores deberían considerar espacios para mantenimiento de plantas que ofrezcan recursos (alimento y nidificación) no solamente a las abejas sino a otro tipo de fauna para remediar en parte la destrucción de sus hábitat ocasionado por el desarrollo humano.

### Agradecimientos

A los evaluadores anónimos por sus sugerencias. A la Universidad Nacional de Colombia y en particular el Departamento de Biología por el apoyo logístico y el tiempo concedido para desarrollar este trabajo. A Idea Wild por el apoyo parcial a esta investigación.

### Literatura citada

- ANDRADE, G. 1993. Paisaje y biodiversidad en las Selvas de los Andes. 31-48. En: Carpanta, Selva nublada y páramo, G. I. Andrade, (Ed). Fundación Natura. Bogotá, 256 p.
- BONILLA, A. 1990. Abejas euglosinas de Colombia (Hymenoptera: Apidae). Trabajo de grado Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 130 p.
- CAMARGO, J. M.; M. MAZUCATO. 1986. Inventario da apifauna apícola de Ribeirão Preto, SP. Brasil. Dusenía 14 (2):55-87
- CAMARGO, J.M.; S.M. PEDRO. 2003. Meliponini neotropicales: o gênero *Partamona* Schwarz, 1939 (Hymenoptera, Apidae, Apinae) bionomía e biogeografía. Revista Brasileira de Entomologia 47(3): 311-372
- CRUZ, S. 1996. Abejas carpinteras de Colombia (Hymenoptera: Apidae: Xylocopini). Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 239 p.
- CURE, J. 1983. Estudo ecologico da comunidade de abelhas silvestres (Hymenoptera: Apoidea) do parque de cidade, comparado ao de outras áreas de Curitiba, Paraná. Tesis de Maestría, Universidade Federal do Parana. Curitiba. Brasil 86p.
- CHÁVEZ, F. 2000. Aspectos de la Biología reproductiva de una población de *Wigginsia vorwerckiana* (Cactaceae). Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- DAMA. 1998. Atlas ambiental de Santafé de Bogotá. Alcaldía Mayor de Bogotá.
- DELAFLANE K. S.; THOMAS A. P.; W. J. McLAURIN. 1994. Bee Pollination of Georgia Crop Plants. The University of Georgia. Bulletin 1106.
- DRESSLER, R. 1982. Biology of the orchids bees (Euglossini). Annual Review of Ecology and Systematics 13: 373-394
- ENGEL M. S.; B.A. KLEIN. 1997. *Neocorynurella*, a new genus of the augochlorine bees from South America (Hymenoptera: Halictidae) Deutsche Entomologische Zeitschrift 44: 155-163
- FRANKIE, F.; R. THORP; M. SCHINDLER; B. ERTTER; M. PRZYBYLSKI. 2002. Bees in Berkeley? Fremontia 30 (3-4) : 50-58
- GONZÁLEZ, V.H. 2004. A new species of *Acampopoeum* from Colombia (Hymenoptera: Andrenidae: Panurginae) Caldasia 26 (1):239-243
- GONZÁLEZ, V. H.; M. ENGEL. 2004. The tropical Andean bee fauna (Insecta: Hymenoptera: Apoidea), with examples from Colombia. Entomologische Abhandlungen 62(1): 65-75
- GONZÁLEZ, V. H.; F. CHÁVEZ. 2004. Nesting Biology of a New High Andean Bee, *Anthophora walteri* González (Hymenoptera: Apidae: Anthophorini) Journal of the Kansas Entomological Society 77(4): 584-592
- GONZÁLEZ, V.H.; CH. MICHENER. 2004. A new *Chilicola* Spinola from colombian páramo (Hymenoptera: Colletidae: Xeromelissinae). Journal of Hymenoptera Research. 13:24-30
- HERNANDEZ-CAMACHO, J.; A. HURTADO; R. ORTIZ T. WALSCHBURGER. 1992. Centros de endemismo en Colombia. p. 175-202. Halffter, G. (Ed.). La diversidad biológica de Iberoamérica I Acta Zoológica Mexicana. Vol. Especial. Mexico, 389 p.
- LAROCA, S.; CURE, JR.; BORTOLI, C. 1982. A associação de abelhas silvestres (Hymenoptera: Apoidea) de uma área restrita no interior da cidade de Curitiba (Brasil): uma abordagem bionótica. Dusenía 13 (3) : 93-117.
- LIEVANO, A.; R. OSPINA. 1984. Contribución al conocimiento de los abejorros sociales de Cundinamarca. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 163 p.
- MEJÍA A. 1999. Revisión de aspectos de nidificación y ciclo de desarrollo en *Bombus atratus* (Hymenoptera: Apoidea) con fines comerciales. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 123 p.
- MICHENER, C.D. 1974. The social behavior of the bees. A comparative Study. Cambridge, Belknap. 404 p.
- MICHENER, C.D. 2000. The Bees of the world. Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland, USA. 913 p.
- MICHENER, C.D. 2002. The bee genus *Chilicola* in the Tropical Andes, with observations on nesting biology and a phylogenetic analysis of the subgenera (Hymenoptera, Colletidae, Xeromelissinae) Scientific papers, Natural History Museum, University of Kansas 26: 1-47.
- MORENO, F. 1995. Parámetros biométricos en colonias de abejas criolla sin aguijón *Tetragonisca angustula* en construcciones civiles urbanas de la ciudad de Guanare (Portuguesa, Venezuela). I Reunión Sección Bolivariana de la Unión Internacional para el estudio de los Insectos Sociales IUSI: 19-20. Universidad del Valle, Cali, Colombia.
- MOURE, J.S. ; P.D. HURD Jr. 1987. An annotated catalog of the halictid bees of the Western Hemisphere (Hymenoptera: Halictidae) Smithsonian Institution Press, Washington 405 pp.
- NATES-PARRA, G.; V. GONZALEZ. 2000. Las abejas silvestres de Colombia: porqué y cómo conservarlas. Acta biológica Colombiana 5 (1): 37
- NATES-PARRA, G.; RODRIGUEZ, A.; VÉLEZ, D. (en prensa) Abejas sin aguijón (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) en cementerios de la cordillera oriental de Colombia. Acta biológica Colombiana.
- NOLL, F. R. N.; BEGO, L. R.; V. L. IMPERATRIZ- FONSECA. 1993. As abelhas em áreas urbanas. Um estudo no campus da Universidade de São Paulo. En Pirani, J. R. y M. Cortopassi –Laurino (Coord.) Flores e Abelhas em São Paulo. Editora da U. de São Paulo: 31-42
- OSPINA, M. 1999. El género *Thygater* Holmberg en Colombia. Trabajo de Grado, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá 85 p.
- OSORNO, E.; H. OSORNO. 1938. Notas biológicas sobre algunas especies de *Bombus* de los alrededores de Bogotá, Colombia, Sur América. Revista Entomológica Rio de Janeiro 9 (1/2):32-39
- PEDRO, S.M.; J.M. CAMARGO. 2003. Meliponini neotropicales: o gênero *Partamona* Schwarz, 1939 (Hymenoptera, Apidae) Revista Brasileira de Entomologia 47 (supl.) 1): 1-117
- ROUBIK, D. 1989. Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge University Press, New York, 520 p.
- SANFORD, M. 1988. Beekeeping: Florida Bee Botany. University of Florida. Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences. Circular 686, May 1988.
- SAKAGAMI, S.F.; Y. AKAHIRA; R. ZUCCHI. 1967. Nest architecture and brood development in a neotropical bumblebee, *Bombus atratus*. Insectes Sociaux 14(4): 389-414
- SAURE. C. 1996. Urban habitats for bees: the example of the city of Berlin:47-54. En: The conservation of bees. Cap. 4. Linnean Society Symposium Series No. 18. Academic Press.
- URBAN, D. 1967. As especies do gênero *Thygater* Holmberg, 1884. Boletim da Universidade Federal do Parana (Zoologia) 2: 177-307.
- ZUCCHI, R. 1973. Aspectos bionômicos de *Expomalopsis aureopilosa* e *Bombus atratus* incluindo considerações sobre a evolução do comportamento social (Hymenoptera, Apoidea). Ph.D. dissertation, Faculdade de Filosofia, ciências e letras de Ribeirão Preto, Brazil. 172 p.

## Mediación química entre *Allomerus demerarae* Wheeler, 1935 (Hymenoptera: Formicidae) y *Cordia nodosa* Lam. (Boraginaceae)

Chemical mediation between *Allomerus demerarae* Wheeler, 1935 (Hymenoptera: Formicidae) and  
*Cordia nodosa* Lam. (Boraginaceae)

ROXANA ARAUCO A.<sup>1,2</sup>, JOSE IANNAONE O.<sup>1,3</sup>, DAVID EDWARDS<sup>5</sup>, DOUGLAS YU<sup>4</sup>

**Resumen.** Se investigaron las interacciones químicas entre hormigas obreras “patrulladoras” y “de domacio” de *Allomerus demerarae* Wheeler, 1935 y la planta mirmecofila *Cordia nodosa* Lam. Se determinaron diferencias entre la intensidad de atracción de hormigas hacia los compuestos volátiles de cuatro estímulos químicos: extractos de hojas jóvenes, de hojas maduras, de inflorescencia de *C. nodosa*, y de huevos-larvas de *A. demerarae*. En el año 2002 se coleccionaron plantas y hormigas en el albergue turístico Libertador “Jungle Lodge” ubicado en la zona de amortiguamiento de la Reserva Nacional de Tambopata, Madre de Dios, Perú. En esta simbiosis se ha evidenciado la mediación química para hacer efectivo el comportamiento de *A. demerarae*. Los resultados mostraron que los compuestos volátiles emitidos por las hojas jóvenes son suficientes para desencadenar el comportamiento de patrullaje protector en las obreras de *A. demerarae*. En cambio, las hormigas obreras “de domacio” mostraron una atracción mayor hacia los huevos-larvas de *A. demerarae* y las flores de *C. nodosa*. Los resultados sugieren la existencia de polietismo en las colonias de *A. demerarae* en las que se han identificado dos grupos de obreras con funciones diferentes. Con base en estos resultados se sugieren dos subcastas; “las nodrizas” las cuales se encuentran hacia el interior del domacio y son las encargadas del comportamiento de “castración” de las flores de *C. nodosa*, y las “patrulladoras” las cuales fueron observadas sobre las hojas jóvenes.

**Palabras clave:** Comportamiento de patrullaje, comunicación química, mutualismo, nodriza, parasitismo.

**Abstract.** The chemical interactions between “patrolling” and “domatia” workers of *Allomerus demerarae* Wheeler, 1935 and the plant myrmecophylic *Cordia nodosa* Lam were investigated. Differences between the intensity of attraction of ants toward the volatile compounds of four chemical stimuli were determined: extracts of young leaves, of mature leaves, of *C. nodosa* inflorescences and of *A. demerarae* eggs-larvae. In 2002, plants and ants were collected at the tourist lodge “Libertador Jungle Lodge” located in the buffer zone of the Tambopata National Reserve, Madre de Dios, Peru. In this symbiosis, chemical mediation has been demonstrated to make the behavior of *A. demerarae* effective. The results showed that volatile compounds emitted by young leaves are sufficient to prompt the protective patrolling behavior of *A. demerarae* workers. In contrast, “domatia” worker ants showed a greater attraction to *A. demerarae* eggs-larvae and *C. nodosa* flowers. Results suggest the existence of polyethism in *A. demerarae* colonies in which two worker groups with different functions have been identified. On the basis of these results, two subcastes are suggested, “nursery ants”, which are found inside domatia and are in charge of the behavior of “castration” of *C. nodosa* flowers, and “patrolling ants”, which were observed on young leaves.

**Keywords:** chemical communication. Mutualism. Nursery. Patrolling behavior. Parasitism.

### Introducción

En comparación con cualquier otro ecosistema terrestre los bosques tropicales lluviosos son poseedores de la mayor diversidad de especies (Kricher 1997; du Toit *et al.* 2004). Además de la diversidad de especies, estos ecosistemas son diversos en las interacciones que los organismos establecen entre ellos para sobrevivir (Thompson 1982; 1999; Chapin

*et al.* 2000; Loreau *et al.* 2001; Heil y McKey 2003). La búsqueda de los factores y principios que gobiernan el mantenimiento y rompimiento de las interacciones entre especies, sobre todo, de los sistemas de cooperación, es aún un problema intrigante y persistente para la ecología evolutiva (Yu y Pierce 1998; Chapman 2003; Dejean *et al.* 2004). Aunque existen numerosas referencias en lo que concierne a las interacciones entre

plantas y animales aún no es posible tener una visión de los principios que regulan estas interacciones debido a su gran diversidad taxonómica y ecológica (Janzen 1966; Davidson *et al.* 1990; Bronstein 1998; Davidson y McKey 1993; Hoehberg *et al.* 2000; Thompson y Cunningham 2002; Gomulkiewicz *et al.* 2003; Solano y Dejean 2004; Frederickson 2005).

1 Laboratorio de Ecofisiología Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Universidad Nacional Federico Villarreal. Calle San Marcos 383, Pueblo Libre, Lima, Perú.

2 rp\_arauco@yahoo.com

3 Autor para correspondencia. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma. E-mail: joseiannaone@yahoo.es; Teléfono: ++ 012573227. Telefax: ++ 014600930.

4 Center for Ecology, Evolution and Conservation. University of East Anglia, Norwich. Norfolk. UK.

5 School of Biological Sciences. University of East Anglia, Norwich. Norfolk. UK.

Las interacciones planta – hormiga son sistemas de cooperación importantes para estudios que buscan encontrar los principios que regulan las interacciones interespecíficas, por tres razones fundamentales: 1) porque el número de asociaciones simbióticas de este tipo es suficientemente pequeño como para resumirse en una sola tabla y a la vez lo suficientemente grande para probar estadísticamente determinadas hipótesis; 2) porque su presencia en regiones tropicales alrededor del mundo facilita las comparaciones entre equivalentes taxonómicos y ecológicos que evolucionaron aisladamente en diferentes continentes; y, 3) porque a pesar de su considerable diversidad y amplia distribución, estas relaciones son relativamente uniformes en estructura (Davidson y McKey 1993; Hoechberg *et al.* 2000; Gaume *et al.* 2005).

La interacción planta - hormiga más importante es la que se da con las plantas mirmecofilas. Por definición, una verdadera mirmecofila es aquella planta que se ha adaptado a la presencia de las hormigas, modificando alguna de sus estructuras vegetativas, tales como tallos, estípulas foliares, pecíolo, etc., en domacios (del latín *domatia* que significa «casa pequeña») donde la colonia pueda desarrollarse (Davidson y McKey 1993). En la mayoría de los casos, tanto hormiga como planta no pueden establecerse, sobrevivir, ni reproducirse en ausencia del otro. La remoción de la colonia residente de hormigas conllevaría a un aumento del herbivorismo y/o la disminución del crecimiento, fecundidad y supervivencia de la planta (Janzen 1966; McKey 1984; Gaume *et al.* 2005).

Las interacciones planta – hormiga en la que la señal que desencadena el comportamiento de patrullaje no es la producción de nectarios florales, han llamado la atención de los científicos hacia la comunicación química interespecífica, aunque las observaciones sugieren que los compuestos químicos de las plantas juegan un rol importante en el funcionamiento de las interacciones específicas. La ecología química de las simbiosis planta - hormiga está virtualmente inexplorada (Brouat *et al.* 2000; Dufay *et al.* 2003). Existen algunos trabajos sobre el papel que desempeñan los compuestos químicos de determinadas plantas para atraer a hormigas específicas que dispersen y siembren sus semillas, pero los compuestos responsables de esta atracción aún no han sido bien identificados (Davidson *et al.* 1990).

Empleando bioensayos, Brouat *et al.* (2000), en el sistema *Leonardoxa africana* (Baill) Aubrev– *Petalomyrmex*

*phylax* Snelling, 1979 (Hymenoptera: Formicidae), han proporcionado las primeras evidencias sobre el comportamiento de patrullaje de hojas jóvenes en interacciones planta - hormiga en las que se descartan los nectarios florales como inductores del comportamiento de protección, y que éste es mediado químicamente por compuestos químicos presentes en las hojas jóvenes (McKey 1984).

Uno de los aspectos más interesantes para el éxito de una colonia de insectos sociales es su organización en castas (Wilson 1980; Hölldöbler y Wilson 1990; Hoyt 1998). En el caso de las hormigas, las castas son: la casta reproductora compuesta por la reina y los zánganos; la casta no reproductora constituida por las obreras. La casta obrera de las hormigas se subdivide en grupos especializados en realizar determinadas labores, es decir se caracteriza por presentar polietismo (de los términos en latín *poly* y *ethos* que significan “varios comportamientos”) (Hölldöbler y Wilson 1990; Sendova y Franks 1999). Se sugiere que este polietismo puede ser de dos tipos: físico y temporal. En el caso de colonias organizadas por polietismo físico, las castas son morfológicamente distintas (polimórficas), siendo normalmente de diferentes tamaños. En los casos de polietismo temporal, los individuos llevan a cabo diferentes tareas según la edad que tengan (Hölldöbler y Wilson 1990; F’eron *et al.* 1996; Hughes y Goulson 2001). Se han llevado a cabo numerosos trabajos sobre la división de labores al interior de la colonia, pero aún existen muchas interrogantes sobre los principios que la regulan (Gautrais *et al.* 2002).

La mirmecofila *Cordia nodosa* Lam. (Boraginaceae) es un arbusto o árbol ampliamente distribuido en los bosques tropicales de Madre de Dios, en Perú, y más ampliamente a través de Sudamérica. Esta mirmecofila vive en simbiosis con *Allomerus demerarae* Wheeler, 1935 (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae), *Azteca ulei* var. *cordiae* Forel, 1904 (Hymenoptera: Formicidae: Dolichoderinae), y cuatro especies de *Azteca* aún no descritas. Una planta individual aloja sólo a una de estas seis especies (Yu y Pierce 1998). La hormiga consigue protección hacia el interior de los domacios los cuales son ensanchamientos a nivel de las ramas donde la planta se beneficia del patrullaje protector de sus hojas jóvenes por parte de las hormigas (Yu y Wilson 2001). Cuando *C. nodosa* se asocia con *A. demerarae* la interacción es parasítica ya que *A. demerarae* no permite el desarrollo de frutos ni semillas en las plantas de *C. nodosa*.

Yu (1997) encontró que las colonias de *A. demerarae* se beneficiaban de este comportamiento de castración de las plantas de *C. nodosa*, puesto que la planta canalizaba su energía a la producción de más tejido vegetativo, que obviamente implicaba la producción de más domacios. Aun hay muchos estudios por hacer para ver con claridad el proceso de evolución de esta mirmecofila.

En *Cordia nodosa* no se ha establecido claramente si solo los nectarios u otro tipo de cuerpos alimenticios atraen las hormigas hacia las hojas jóvenes (Solano *et al.* 2005). Frederickson (2001) ha proporcionado evidencia experimental de que el comportamiento de patrullaje de las hormigas en este sistema también es mediado químicamente. Sin embargo, el uso de técnicas como “headspace” permitirá determinar si los compuestos naturalmente emitidos por las hojas jóvenes son suficientes para desencadenar el comportamiento de patrullaje. Para el caso de las colonias de *A. demerarae* no existe evidencia de diferencias morfológicas entre los miembros de la casta obrera, ni se han realizados estudios sobre la organización social al interior de esta colonia. Por esta razón, este estudio tiene por finalidad contribuir a la comprensión del funcionamiento de las interacciones planta-hormiga, explorando la comunicación química entre la colonia de hormigas de *A. demerarae* y la mirmecofila *C. nodosa*, para lo cual se determinó si existen diferencias significativas entre la intensidad de atracción hacia los compuestos volátiles de hojas jóvenes y hacia compuestos volátiles de hojas maduras por parte de hormigas de *A. demerarae*, y si existen diferencias significativas en el patrón de atracción de obreras “patrulladoras” y el de las obreras “de domacio” frente a cuatro estímulos químicos (extractos de hojas jóvenes, de hojas maduras, de inflorescencia de *C. nodosa* y de huevos-larvas de *A. demerarae*).

## Materiales y Métodos

**Sitio de estudio.** El trabajo se realizó en los alrededores del albergue turístico Libertador “Jungle Lodge”, ubicado dentro de la zona de amortiguamiento de la Reserva Nacional de Tambopata (9°57' - 13°20' S, 68°39' - 72°31' W; 200 m), Madre de Dios, Perú. La fase preliminar para estandarizar los parámetros se adelantó entre los meses de Junio-Agosto del 2001 y los bioensayos se realizaron en los períodos de Abril-Mayo, Junio-Septiembre y Noviembre del 2002.

Esta región está clasificada como Bosque Tropical Lluvioso según Holdridge *et al.* (1971). Tiene una precipitación pro-

medio de ~2100 mm año<sup>-1</sup>, con una estación seca desde Abril hasta Octubre y una estación lluviosa desde Noviembre hasta Marzo.

### Sistema de estudio

***Cordia nodosa*** (Boraginaceae): Es un arbusto o árbol de sotobosque conocido con el nombre vernacular de “huevo de gato”. Se encuentra ampliamente distribuido en la Amazonía Peruana, es una mirmecofila cuyos domacios están constituidos por ensanchamientos a nivel de las ramas (Fig. 1a). Estos domacios se originan con las yemas axilares, produciéndose seis hojas por cada domacio (Yu y Wilson 2001). Florece todo el año, aunque presenta picos entre Abril – Mayo y Agosto – Septiembre.

***Allomerus demerarae*** (Formicidae: Myrmicinae): Localmente conocido con el nombre vernacular de «pucacuro» por el dolor que causa la picadura de su aguijón, aunque cabe mencionar que el término local «pucacuro» agrupa a diversas especies de hormigas pequeñas y rojizas con iguales características de picadura. *A. demerarae* es simbionte específico obligatorio de *C. nodosa*, su reina depende enteramente de *C. nodosa* para el establecimiento y supervivencia de la colonia (Yu y Wilson 2001). Tienen una sola reina por colonia y como toda colonia de hormigas, presenta una organización social en castas. La casta obrera no presenta subcastas morfológicamente diferenciables pero se sugiere que existe división de labores (Yu y Wilson 2001). Los bioensayos se realizaron con obreras que fueron agrupadas en dos categorías: las «patrulladoras» definidas por encontrarse patrullando las hojas jóvenes al momento de la colecta (Fig. 1b) y las «hormigas de domacio» definidas así por ser coleccionadas del interior del domacio.

**Interacción *C. nodosa* – *A. demerarae*:** *C. nodosa* es un arbusto que sufre altos índices de herbivorismo si no se asocia con alguno de sus seis potenciales simbioses. Del mismo modo, estas hormigas son simbioses obligatorios específicos puesto que no pueden desarrollarse sin la presencia de su hospedero (Yu y Wilson 2001). A diferencia de la interacción *C. nodosa* – *Azteca*, la interacción *C. nodosa* – *A. demerarae* no es mutualista sino más bien parasítica (Yu y Pierce 1998). Una planta de *C. nodosa* que tiene *A. demerarae* como simbionte no llega a producir frutos, o lo hace con raras excepciones. Las obreras de *A. demerarae* cortan el pedicelo de las di-

minutas flores de *C. nodosa* (Fig. 1c), evitando que continúen su desarrollo en la producción de frutos, de este modo redireccionan la energía de la planta hacia la producción de domacios obteniendo así mayor espacio para anidar (Yu y Wilson 2001).

**Ubicación de plantas y colonias de hormigas.** Para individualizar la plantas de donde se extrajeron los compuestos y las hormigas, se localizaron plantas de *C. nodosa* en 50 transectos paralelos, de 100 m de longitud, cada 25 m a través de una trocha principal ya existente. Se adjudicó un código a cada individuo de *C. nodosa* y se registró la siguiente información: localización de la planta, altura (estimación relativa a la estatura personal), número de domacios (como referencia de la edad de la colonia), así como identidad del género de la hormiga que habitaba la planta. La identificación del género se hizo con base en diferencias morfológicas de *A. demerarae* versus *Azteca* sp.; hormigas del género *Allomerus* se diferencian de las del género *Azteca* en tamaño, coloración y en la forma de sus construcciones de cartón sobre la planta, además *Azteca*, despiden un olor a limonol característico que facilitó su identificación en campo. Los extractos y las hormigas que se emplearon en

los experimentos procedieron de individuos de *C. nodosa* provenientes de los censos. Para los bioensayos se obtuvieron los siguientes extractos de miembros del sistema *C. nodosa* – *A. demerarae*: hojas jóvenes, hojas maduras y huevos-larvas. Para obtener extractos de flores se emplearon las flores del sistema *C. nodosa*–*Azteca*. Los bioensayos fueron conducidos en un albergue que se implementó como Laboratorio.

**Extracción de muestras húmedas de hojas, flores y huevos-larvas.** Para la extracción de muestras húmedas de hojas jóvenes y de hojas maduras, se colectaron las hojas de un total de diez plantas. En el caso de los extractos de hojas maduras se colectó una hoja por planta y en el caso de los extractos de hojas jóvenes se colectaron todas las hojas jóvenes que tenía dicha planta, repitiéndose este procedimiento para las diez plantas. Este proceso disminuyó el efecto de las diferencias de área foliar entre hojas jóvenes y hojas maduras. Para la extracción de muestras húmedas de huevos - larvas de *A. demerarae* se colectaron tres domacios de diez plantas, luego se abrieron y se extrajeron los huevos y larvas de hormigas usando un par de pinzas. Para la extracción de muestras húmedas de flores de



**Figura 1.** a. Domacio de *C. nodosa*, botones de flores cubiertos de obreras de *A. demerarae* y la entrada al domacio ubicado al pie del pedicelo de las flores. b. Hojas jóvenes activamente patrulladas por las obreras de *A. demerarae*. c. Pedicelo de una flor de *C. nodosa* que ha sido cortado por las obreras de *A. demerarae*.

*C. nodosa*, se colectaron las inflorescencias de cinco plantas.

Las muestras se colocaron en un vaso de precipitado que contenía 25-50 ml de hexano. Se dejaron reposar por 30 min y luego se decantó el extracto húmedo. Los extractos fueron almacenados en un frasco que se mantuvo a bajas temperaturas (6°C).

**Colecta de compuestos volátiles.** Para colectar los compuestos volátiles naturalmente emitidos por las hojas jóvenes y hojas maduras, se utilizó la técnica denominada "headspace". Esta técnica consistió en aislar el órgano emisor de los compuestos volátiles (hoja joven, hoja madura) con una bolsa para microondas (5 L). A esta bolsa se le insertaron dos tubos en los lados opuestos, uno conectado a un filtro de carbón activado que purificó el aire que se bombaría a través de él y el otro conectado a un filtro (ARS) que atrapó los compuestos volátiles arrastrados por la corriente de succión de aire. Cada filtro estuvo conectado a su vez, a un tubo flexible que se conectó a una bomba de aire. El tubo conectado al filtro de carbón se conectó a una bomba que expulsa aire, y el tubo conectado al filtro se conectó a una bomba que succiona aire. Cada bomba funciona con la energía proporcionada por una batería de 12 V. El flujo de aire dentro del ambiente aislado por la bolsa se mantuvo constante empleando un flujómetro. Para proteger la instalación de la lluvia se construyó un techo provisional de plástico. Este sistema se mantuvo activo por 24 h. Se colectó el filtro y se le envolvió en papel aluminio para protegerlo de la contaminación y se trasladó al laboratorio. Se usaron 400 µL de hexano para extraer los compuestos atrapados por el filtro, que se conservaron en viales Wheaton® ámbar "320" de 2 mL. Este extracto se mantuvo en refrigeración a 4°C hasta que fue requerido en los bioensayos. El sistema de "headspace" se instaló en plantas asociadas a *A. demerarae* para la colecta de compuestos volátiles de hojas jóvenes y hojas maduras. Se diferenció la hoja madura de la joven por el color más claro de esta última, por su mayor fragilidad y su menor tamaño.

**Bioensayos.** Se realizaron 30 repeticiones como mínimo por cada ensayo, con hormigas patrulladoras y con hormigas de domacio. Los bioensayos se llevaron a cabo en placas Petri, cuyas paredes se rociaron previamente con Fluon® (copolímero de tetrafluoroetileno, Asahi Glass Company), para evitar que alguna

de las 30 hormigas escape. Para los bioensayos que emplearon hormigas «patrulladoras» se colectaron las mismas directamente de las hojas con la ayuda de un par de guantes, que disminuyen la adherencia de las hormigas hacia los dedos, y se colocaron rápidamente en una placa Petri, tratando de minimizar el estrés provocado. Para los bioensayos que requerían hormigas "de domacio", se colectaron domacios, que se abrieron con la ayuda de una tijera podadora, y auxiliados con un par de guantes las hormigas fueron rápidamente trasladadas del interior del domacio a la placa Petri. Los bioensayos se realizaron en un rango de temperatura no controlada de 26 a 31°C y entre las 11:00 a 16:00 h.

Los tratamientos fueron los siguientes: 1) Extracto de hojas maduras obtenido por la técnica de "Headspace" (M\*); 2) Extracto de hojas jóvenes obtenido por la técnica de "Headspace" (N\*); 3) Extracto de hojas maduras obtenido por extracción húmeda (M); 4) Extracto de hojas jóvenes obtenido por extracción húmeda (N); 5) Extracto de flores obtenido por extracción húmeda (F); 6) Extracto de huevos-larvas obtenidos por extracción húmeda (H). Tanto para los extractos obtenidos por extracción con "headspace" como para los extractos obtenidos por extracción húmeda, el control fue hexano puro, g.a. ©.

El procedimiento general para llevar a cabo los bioensayos fue el siguiente: se colocaron 30 obreras «patrulladoras» o 30 obreras "de domacio" dentro de una placa Petri. Se tomó un disco de papel filtro (Whatman® N°1, 3 cm de diámetro) y se aplicaron 100 µL del extracto correspondiente. Inmediatamente se colocó el disco de papel filtro en la placa Petri. Se repitió el procedimiento para aplicar el segundo extracto y para aplicar el hexano empleado aquí como control. Para evitar sesgo en los resultados y para minimizar el efecto de los diferentes tiempos de aplicación de los extractos, se procedió a rotar la distribución espacial de los tres discos en sentido horario, en ángulo de 120°. Además el orden de aplicación de los extractos se determinó al azar con el lance de un dado. El tiempo se registró desde el momento en que se colocó el tercer disco de papel filtro, con el extracto ya aplicado. En el primer minuto se registraron todas las hormigas que estuvieron sobre, debajo o tocando con sus antenas el papel filtro para cada tratamiento y para el control. Se repitió lo mismo para el minuto dos y así sucesivamente hasta el minuto 10. En cada bio-

ensayo se enfrentaron dos tratamientos y un control.

**Hipótesis analizadas.** Se probaron las siguientes hipótesis:

Hipótesis A: Las obreras patrulladoras son atraídas a extractos de hojas jóvenes con mayor intensidad que a los extractos de hojas maduras.

Hipótesis A': Las obreras de domacio son atraídas a extractos de hojas jóvenes con mayor intensidad que a los extractos de hojas maduras.

Para ambos casos, los tratamientos fueron: extracto de hojas jóvenes, extracto de hojas maduras y el control (hexano puro). En los bioensayos con obreras patrulladoras y de domacio se realizaron 37 y 66 repeticiones, respectivamente.

Hipótesis B: Las obreras patrulladoras son atraídas a extractos de hojas jóvenes con mayor intensidad que a los extractos de huevos-larvas.

Hipótesis B': Las obreras de domacio son atraídas a extractos de hojas jóvenes con mayor intensidad que a los extractos de huevos-larvas.

Para ambos casos los tratamientos fueron: extracto de hojas jóvenes, extracto de huevos-larvas de *A. demerarae* y el control (hexano puro). En los bioensayos con obreras patrulladoras y de domacio se realizaron 30 y 60 repeticiones respectivamente.

Hipótesis C: Las obreras patrulladoras son atraídas a extractos de flores con mayor intensidad que a los extractos de hojas jóvenes.

Hipótesis C': Las obreras de domacio son atraídas a los extractos de flores con mayor intensidad que a los extractos de hojas jóvenes.

Para ambos casos, los tratamientos fueron: extracto de hojas jóvenes, extracto de flores de *C. nodosa* y el control. En los bioensayos con obreras patrulladoras y de domacio se realizaron 32 y 31 repeticiones, respectivamente.

**Análisis estadístico.** Para evitar el efecto de las diferencias de actividad a nivel de colonia, el número de obreras atraídas a un determinado tratamiento en cada bioensayo fue expresado como número total de hormigas que respondieron en dicho bioensayo. En todos los casos, se excluyeron las hormigas que no fueron atraídas a ninguno de los tres tratamientos. Los datos fueron transformados a raíz cuadrada de  $x + 0,5$  con el fin de asegurar la homogeneidad de las varianzas me-

**Tabla 1.** Respuesta del número de obreras “patrulladoras” y “de domacio” de *Allomerus demerarae* frente a los extractos de hojas maduras, extractos de hojas jóvenes y control, mediante la técnica de “headspace” de uno a 10 minutos de exposición.

Tiempo de Exposición	X ± DE (hormigas patrulladoras, n=37)				X ± DE (hormigas de domacio, n=66)			
	Hojas maduras	Hojas jóvenes	Control	F	Hojas maduras	Hojas jóvenes	Control	F
1	2,78±1,73a	2,83±1,93a	2,94±1,80a	NS	3,87±2,42a	4,50±2,44a	3,69±2,17a	NS
2	2,62±1,72a	3,37±2,40a	3,75±2,86a	NS	4,46±2,71a	4,78±2,77a	3,86±2,75a	NS
3	2,97±1,81a	3,45±2,86ab	4,27±3,05b	*	4,59±2,73a	4,83±2,90a	4,15±2,43a	NS
4	3,08±1,84a	3,67±2,62ab	4,32±3,11b	*	4,66±2,83a	5,12±2,71a	4,40±2,67a	NS
5	2,75±2,07a	4,21±2,64b	4,24±3,12b	*	4,77±2,98a	4,95±2,98a	4,54±2,81a	NS
6	3,05±1,85a	3,83±2,93ab	4,16±3,16b	*	4,65±2,89a	5,16±3,27a	4,84±2,87a	NS
7	2,78±2,25a	4,02±2,66b	4,00±3,19b	*	4,53±2,79a	5,19±3,47a	4,71±2,84a	NS
8	2,75±2,00a	4,00±3,10b	3,70±2,67ab	*	4,93±2,99a	5,03±3,60a	4,65±3,14a	NS
9	2,75±2,11a	4,24±3,08b	3,89±2,62ab	*	4,66±3,19a	5,33±3,46a	4,77±3,24a	NS
10	2,64±2,18a	4,02±3,19b	3,59±2,72ab	*	4,81±3,41a	5,06±3,39a	4,92±3,13a	NS
r	-0,23(P=0,51)	0,83(P=0,003)	0,13(P=0,72)		0,70(P=0,02)	0,78(P=0,007)	0,91(P=0,001)	

\* = significativo. NS = No significativo. r = Coeficiente de correlación de Pearson. F = Estadístico de Fisher. Letras iguales en sentido horizontal indican que los promedios son estadísticamente iguales.

diante la prueba de Levene y la normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov (Zar 1996). Los registros de cada bioensayo fueron analizados por minuto, del uno al 10, pero debido a la naturaleza de reclutamiento de las obreras, para el análisis global se excluyeron los cuatro primeros minutos requeridos para que el comportamiento se estabilice. Se promediaron los datos expresados en porcentaje con respecto al total de obreras que respondieron a los tres tratamientos del minuto cinco al 10 y se empleó el ANDEVA (diferencias significativas con  $\alpha < 0.05$ ), para determinar

las diferencias entre tratamientos. Se usó el test de Tukey para determinar cuáles tratamientos difirieron entre sí. Adicionalmente, se usó el análisis de correlación de Pearson (r) para determinar la asociación entre los tiempos de exposición (min) y los diferentes tratamientos empleados en los bioensayos. Todos los cálculos estadísticos se realizaron empleando el programa estadístico SPSS® 12,0 (Norusis 2004).

### Resultados

#### Extractos de hojas maduras (M\*), extractos de hojas jóvenes (N\*) y con-

trol (C). Se llevaron a cabo 37 bioensayos con obreras patrulladoras. El ANDEVA mostró diferencias significativas entre tratamientos del minuto tres al 10 (Tabla 1). La atracción hacia el tratamiento hojas jóvenes (N\*) fue significativamente mayor que hacia hojas maduras (M\*). No hubo diferencias significativas entre hojas maduras y control, ni entre hojas jóvenes y el control (Tablas 1 y 2). Solo se encontró una correlación significativa entre el tiempo de exposición (min) y la respuesta de las obreras patrulladoras al extracto de hojas jóvenes (Tabla 1).

**Tabla 2.** Respuesta porcentual de las obreras “patrulladoras” y “de domacio” de *Allomerus demerarae* frente a: 1) los extractos de hojas maduras, extractos de hojas jóvenes y control, 2) los extractos de huevos-larvas de *A. demerarae*, extractos de hojas jóvenes y control, y 3) los extractos de flores de *Cordia nodosa*, extractos de hojas jóvenes y control.

Tratamiento 1	Bioensayos con hormigas patrulladoras	Bioensayos con hormigas de domacio
M*	28 ± 16a	33 ± 14a
N*	37 ± 18b	34 ± 16a
C	35 ± 17ab	33 ± 15a
F <sub>ANDEVA</sub>	3,17 (P= 0,04)	0,20 (P= 0,82)
<b>Tratamiento 2</b>		
H	30 ± 14a	41 ± 14c
N	43 ± 14b	33 ± 14b
C	27 ± 11a	24 ± 12a
F <sub>ANDEVA</sub>	12,98 (P= 0,001)	25,12 (P= 0,001)
<b>Tratamiento 3</b>		
F	33 ± 15a	45 ± 15c
N	41 ± 14b	23 ± 10b
C	27 ± 12a	32 ± 13a
F <sub>ANDEVA</sub>	8,37 (P= 0,001)	24,11 (P= 0,001)

Extractos de hojas maduras mediante la técnica de “headspace” (M\*). Extractos de hojas maduras por extracción húmeda (H). Extractos de hojas jóvenes mediante la técnica de “headspace” (N\*). Extractos de hojas jóvenes por extracción húmeda (N). Control (C). Extractos de huevos-larvas de *A. demerarae* por extracción húmeda (H). Extractos de flores por extracción húmeda (F). Sig. = significancia al 0,05. Letras iguales en sentido vertical indican que los promedios son estadísticamente iguales.

Se llevaron a cabo 66 bioensayos con obreras de domacio. El ANDEVA no mostró diferencias significativas entre tratamientos (Tablas 1 y 2). Se encontraron correlaciones significativas entre el tiempo de exposición (min) y la respuesta de las obreras de domacio a los extractos de hojas maduras y jóvenes, así como entre tiempo de exposición y el control (Tabla 1).

#### Extractos de huevos-larvas (H), extractos de hojas jóvenes (N) y control (C).

Se llevaron a cabo 30 bioensayos con obreras patrulladoras (Tabla 3). El ANDEVA mostró diferencias significativas entre tratamientos del minuto uno al diez (Tabla 3). La atracción hacia el tratamiento de hojas jóvenes (N) es significativamente mayor que huevos-larvas (H) y el control (C), y no hubo diferencias significativas entre H y C (Tabla 2). Se encontraron correlaciones significativas entre el tiempo de exposición y la respuesta de las obreras patrulladoras al extracto huevos-larvas; así como entre tiempo de exposición y el control (Tabla 3).

Se llevaron a cabo 60 bioensayos con obreras de domacio (Tabla 3). Se observaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, excepto en el minuto dos. La atracción hacia el tratamiento huevos-larvas (H) es significativamente mayor que la atracción hacia hojas jóvenes (N) y el control (C); y hojas jóvenes (N) es significativamente mayor que el control (C) (Tablas 2 y 3). Solo se encontró una correlación significativa entre el tiempo de exposición y la respuesta de las obreras de domacio al extracto huevos-larvas (Tabla 3).

**Resultados extractos de flores (F), extractos de hojas jóvenes (N) y control (C).** Se llevaron a cabo 31 bioensayos con

obreras patrulladoras. Se encontraron diferencias altamente significativas entre tratamientos (Tabla 4). La atracción hacia el tratamiento de hojas jóvenes (N) fue significativamente mayor que hacia flores (F) y que control (C), mientras que no hubo diferencias entre flores (F) y control (C) (Tabla 2). Solo se encontró una correlación significativa negativa entre el tiempo de exposición y la respuesta de las obreras patrulladoras al extracto flores (Tabla 4). Se llevaron a cabo 31 bioensayos con obreras de domacio. Se encontraron diferencias altamente significativas entre tratamientos (Tabla 4). La atracción hacia el tratamiento flores (F) fue significativamente mayor que

hacia hojas jóvenes (N) y que hacia el control (C). N fue significativamente menor que C (Tablas 2 y 4). Solo se encontró una correlación significativa entre el tiempo de exposición y la respuesta de las obreras de domacio al extracto flores y al control (Tabla 4).

**Discusión**

La intensidad de la respuesta de las obreras, en términos de número de obreras para cada tratamiento, fue en general bastante baja, en comparación con la actividad mostrada en su medio natural en la que normalmente actúan con decenas de individuos. Esto puede deberse a las bajas concentraciones de los químicos estimu-

**Tabla 3.** Respuesta del número de obreras “patrulladoras” y “de domacio” de *Allomerus demerarae* frente a los extractos de huevos-larvas de *A. demerarae*, extractos de hojas jóvenes y control de uno a 10 min de exposición.

Tiempo de Exposición	X ± DE (hormigas patrulladoras, n=30)				X ± DE (hormigas de domacio, n=60)			
	Huevos-Larvas	Hojas jóvenes	Control	F	Huevos-Larvas	Hojas jóvenes	Control	F
1	3,07±1,64a	4,96±3,28a	3,14±1,82a	*	3,60±1,91b	3,55±2,71b	2,66±1,65a	*
2	3,36±1,86a	5,53±3,42b	3,56±2,11a	*	3,91±2,16a	3,63±2,59a	3,13±1,93a	NS
3	3,46±1,61a	5,76±3,81b	3,50±2,12a	*	4,16±2,23b	4,10±2,64b	3,21±2,21a	*
4	3,70±2,40a	6,63±3,20b	3,63±2,15a	*	4,13±2,29b	4,21±2,61b	3,06±1,95a	*
5	3,80±2,36a	6,73±3,34b	3,43±1,91a	*	4,60±2,43b	3,68±3,01ab	3,03±2,10a	*
6	4,50±2,70ab	6,06±3,18b	3,40±2,06a	*	4,80±2,74b	3,93±2,90ab	3,10±2,13a	*
7	4,30±2,54a	5,93±3,47b	3,80±3,45a	*	4,73±2,48b	3,91±3,31ab	2,96±1,98a	*
8	4,03±2,31a	6,16±3,56b	3,76±2,50a	*	4,88±3,17b	3,95±2,56ab	2,83±1,85a	*
9	4,13±2,61a	5,83±3,61b	3,83±2,27a	*	5,20±3,14c	3,70±2,15b	2,71±1,73a	*
10	3,90±2,55a	5,90±3,53b	3,66±2,44a	*	5,38±3,48b	3,35±2,15a	2,90±2,14a	*
r	0,75(P=0,01)	0,35 (P=0,32)	0,72(P=0,01)		0,98(P=0,001)	-0,18(P=0,60)	-0,29(P=0,41)	

\* = significativo. NS = No significativo. r = Coeficiente de correlación de Pearson. F = Estadístico de Fisher. Letras iguales en sentido horizontal indican que los promedios son estadísticamente iguales.

**Tabla 4.** Respuesta del número de obreras “patrulladoras” y “de domacio” de *Allomerus demerarae* frente a los extractos de flores de *Cordia nodosa*, extractos de hojas jóvenes y control de uno a 10 min de exposición.

Tiempo de Exposición	X ± DE (hormigas patrulladoras, n=31)				X ± DE (hormigas de domacio, n=31)			
	Flores	Hojas jóvenes	Control	F	Flores	Hojas jóvenes	Control	F
1	3,90±3,21b	4,25±2,35b	2,21±1,73a	*	5,64±2,86b	2,80±1,68a	2,87±1,99a	*
2	4,34±2,48ab	5,15±2,51b	2,50±1,74a	*	6,48±2,96b	3,00±1,65a	3,32±2,08a	*
3	4,37±2,69b	4,56±2,50b	2,68±2,21a	*	6,29±2,93b	3,19±1,49a	3,95±2,36a	*
4	3,81±1,78ab	4,31±1,99b	2,93±2,31a	*	6,74±3,76b	2,93±1,87a	4,61±2,65ab	*
5	3,90±2,58ab	4,21±2,58b	2,78±2,12a	*	6,61±3,40b	3,32±1,59a	4,35±2,62ab	*
6	3,31±2,41a	4,65±2,41b	3,31±2,33a	*	6,67±3,05b	3,32±2,05a	4,67±2,72ab	*
7	3,50±2,59ab	4,46±2,73b	2,68±2,03a	*	6,74±3,29b	3,38±1,87a	4,77±2,66ab	*
8	3,18±2,08a	3,71±2,50a	2,78±2,02a	NS	6,67±3,15b	3,45±1,96a	4,67±3,16ab	*
9	3,65±2,43ab	4,21±2,79b	2,68±1,86a	*	6,41±4,02b	3,03±1,92a	4,90±3,03ab	*
10	3,03±2,55a	3,96±2,65a	2,81±1,95a	*	7,06±4,26b	3,22±1,99a	5,32±3,14ab	*
r	-0,81(P=0,004)	-0,58(P=0,07)	0,45(P=0,19)		0,69(P=0,02)	0,56(P=0,08)	0,91(P=0,001)	

\* = significativo. NS = No significativo. r = Coeficiente de correlación de Pearson. F = Estadístico de Fisher. Letras iguales en sentido horizontal indican que los promedios son estadísticamente iguales.

lantes presentes en los extractos aplicados a los discos de papel filtro. Por otro lado, para que una obrera realice determinada tarea (patrullaje, forrajeo, defensa, cuidado de la prole, etc.), su rol dependerá de la interacción con las otras obreras (Gordon 1999), es decir que, los resultados pueden explicarse sugiriendo que el comportamiento de reclutamiento de las obreras requiera de más señales que proporcionen el contexto adecuado para desencadenar la respuesta esperada. Sin embargo, las condiciones ofrecidas en este medio artificial han sido suficientes para evidenciar diferencias etológicas.

Los resultados de los bioensayos con obreras "patrulladoras" de *A. demerarae* frente a extractos de hojas nuevas y extractos de hojas maduras, verifica que de todos los compuestos secundarios emitidos por estas hojas, la porción volátil de los extractos de hojas jóvenes o nuevas es suficiente, por sí sola, para desencadenar una respuesta diferencial en el comportamiento de las obreras (Tablas 1 y 2).

Los resultados de los bioensayos llevados a cabo con obreras de domacio, por otro lado, no mostraron una mayor preferencia por alguno de los tres tratamientos (extractos de hojas jóvenes, extractos de hojas maduras y control) (Tablas 1 y 2). Sin embargo, esto no debe considerarse como evidencia en contra de la hipótesis que sugiere la potencia de los compuestos volátiles como señal suficiente para desencadenar el comportamiento de patrullaje, sino como evidencia de la diferente sensibilidad que poseen las obreras de domacio por ser un grupo especializado en otras labores.

Dadas las diferencias en el patrón de respuestas de hormigas procedentes del interior de los domacios y las de hormigas que están patrullando hojas jóvenes, frente al mismo conjunto de estímulos químicos, se evidencia la existencia de un sistema de asignación de roles regulado por mediación química al interior de la casta obrera de *A. demerarae*. Las obreras "patrulladoras" muestran una preferencia por los extractos de hojas jóvenes frente a extractos de hojas maduras, extractos de huevos-larvas y extractos de flores. Mientras que las obreras colectadas del interior del domacio mostraron preferencia por los extractos de huevos y de flores frente a los extractos de hojas nuevas, no mostrando preferencia por los extractos de hojas nuevas cuando están frente a los extractos de hojas maduras (Tabla 2).

Las hormigas que se colectaron de las hojas nuevas estarían encargadas de velar por el buen estado de salud de las ho-

jas nuevas de la planta y en este caso el término "patrulladora" estaría correctamente asignado; las hormigas procedentes del interior del domacio tendrían la función de tareas al interior del nido, es decir de cuidar los huevos, larvas y pupas, y por esto podríamos denominarlas "nodrizas".

La carencia de diferencias morfológicas sugiere que la división de labores en las colonias de *A. demerarae* esté basada en la asignación de roles según la edad de las obreras, es decir que estaríamos frente a un caso de polietismo temporal, en el que las obreras más jóvenes serían las nodrizas y las adultas serían las patrulladoras. Sin embargo, se requiere de un análisis morfométrico comparativo más exhaustivo de estos dos grupos de hormigas para determinar si existen o no diferencias morfológicas. Para determinar la existencia de polietismo temporal hace falta determinar las edades de las obreras o por lo menos su estado fisiológico y comparar las actividades que realizan los estadios juveniles versus los estadios adultos. Pie (2002) utilizó la coloración corporal como indicador de la madurez de las hormigas, en las que las de color más pálido serían juveniles y las de color más oscuro serían las más viejas.

Frederickson (2001) sugirió que es posible que las obreras de *A. demerarae* estén colectando sustancias presentes en las flores de *C. nodosa* para luego aplicarlas a sus huevos, basándose en las observación de que todos los compuestos químicos encontrados en los extractos de huevos de *A. demerarae* también estaban presentes en los extractos de las flores de *A. demerarae*. Los resultados de esta investigación refuerzan esta teoría al reportar que las obreras encargadas de castrar a *C. nodosa*, es decir, de cortar las flores, son las mismas que las encargadas del cuidado de la prole.

La mayoría de investigaciones que evalúan la existencia de grupos especializados de obreras parten de la observación de diferencias morfológicas en las obreras y se basan en observaciones etológicas llevadas a cabo en nidos artificiales (Traniello 1978; Traniello y Jayasurika 1985; Pie 2002). En estas investigaciones se usan químicos para determinar la diferencia entre grupos especializados. Sabiendo que el medio principal de comunicación entre hormigas es el olfato, sin descartar el tacto, se utiliza señales químicas para identificar los grupos especializados (Dicke 2000). Por lo pronto, aislando los compuestos químicos de

los huevos se han identificado a las obreras especializadas en el cuidado de los estadios juveniles, aislando los compuestos químicos de las hojas jóvenes se han identificado a las obreras especializadas en el patrullaje de las hojas jóvenes y finalmente aislando los compuestos químicos de las flores se ha determinado el grupo de obreras especializado en el comportamiento de castración. Este protocolo es de gran utilidad sobre todo porque aún no se han desarrollado técnicas eficientes para reproducir un nido de hormigas que viven en asociación con mirmecofilas.

### Conclusiones

El conjunto de compuestos volátiles emitidos por las hojas jóvenes de *C. nodosa* constituyen una señal suficiente para dirigir el comportamiento de patrullaje en las colonias de *A. demerarae*. En cambio, las hormigas obreras de domacio de *A. demerarae*, la atracción fue significativamente mayor hacia los huevos-larvas de *A. demerarae* y las flores de *C. nodosa*. Los resultados muestran evidencia de la existencia de polietismo en las colonias de *A. demerarae*, en la que se han identificado dos grupos de obreras con funciones diferentes. Se sugieren dos subcastas, las del interior del domacio serían las "nodrizas" y las colectadas de las hojas jóvenes serían las "patrulladoras". Las "nodrizas" serían además las encargadas del comportamiento de "castración" de las flores de *C. nodosa*.

### Literatura citada

- BRONSTEIN, J. L. 1998. The contribution of ant - plant protection studies to our understanding of mutualism. *Biotropica* 30: 150-161.
- BROUAT, C.; McKEY D.; BESSIERE, J.M.; PASCAL, L.; HOSSAERT - McKEY, M. 2000. Leaf volatile compounds and the distribution of ant patrolling in an ant - plant protection mutualism: Preliminary results on *Leonardoxa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and *Petalomyrmex* (Formicidae: Formicinae). *Acta Oecologica* 21: 349-357.
- CHAPIN, F.S.; ZAVALA, E.S.; EVINER, V.T.; NAYLOR, R.L.; VITOUSEK, P.M.; REYNOLDS, H.L.; HOPPER, D.U.; LAVOREL, S.; E.SALA, O.; HOBBIE, S.E.; MACK, M.C.; DIAZ, S. 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature* 405: 234-242.
- CHAPMAN, R.F. 2003. Contact chemoreception in feeding by phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 48: 455-484.
- DAVIDSON, D. W.; SEIDEL, J. L.; EPSTEIN, W.W. 1990. Neotropical ant gardens I. Chemical constituents. *Journal of Chemical Ecology* 16: 1791-1815.

- DAVIDSON, D. W.; McKEY, D. 1993. The evolutionary ecology of symbiotic ant – plant relationships. *Journal of Hymenoptera Research* 2: 13-83.
- DEJEAN, A.; QUILICHINI, A.; DELABIE, J.C.H.; ORIVEL, J.; CORBARA, B.; GIBERNAU, M. 2004. Influence of its associated ant species on the life history of the myrmecophyte *Cordia nodosa* in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology* 20: 701-704.
- DICKE, M. 2000. Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. *Biochemical and Systemic Ecology* 28:601-617.
- DUFAY, M.; HOSSAERT-McKEY, M.; ANSTETT, M.C. 2003. When leaves act like flowers: how dwarf palms attract their pollinators. *Ecology letters* 6: 28-34.
- Du TOIT, J.T.; WALKER, B.H.; CAMPBELL, B.M. 2004. Conserving Tropical nature: current challenges for ecologists. *Trends in Ecology and Evolution* 19: 12-17.
- F'EN'ERON, R.; DURAND, J. L.; JAISSON, P. 1996. Relation between behaviour and physiological maturation in a ponerine ant. *Behaviour* 133: 791-806.
- FREDERICKSON, M. 2001. Chemical ecology of a Neotropical ant – plant system: Interactions between *Cordia nodosa*, mutualistic symbionts *Azteca* spp., and the cheater species, *Allomerus demerarae*. Thesis. Harvard University. Boston. 66 p.
- FREDERICKSON, M. 2005. Ant species confer different partner benefits on two neotropical myrmecophytes. *Oecologia* 143: 387-395.
- GAUME, L.; ZACHARÍAS, M.; GROBOIS, V.; BORGES, R.M. 2005. The fitness consequences of bearing domatia and having the right ant partner: experiments with protective and non-protective ants in a semi-myrmecophyte. *Oecologia* 145: 76-86.
- GAUTRAIS, J.; THERAULAZ, G.; DENEUBOURG, J.L.; ANDERSON, C. 2002. Emergent polyethism as a consequence of increased colony size in insect societies. *Journal of Theoretical Biology* 214: 1-11.
- GOMULKIEWICZ, R.; NUISMER, S.L.; THOMPSON, J.N. 2003. Coevolution in variable mutualisms. *The American Naturalist* 162: S80-S93.
- GORDON, D.M. 1999. *Ants at work: how an insect society is organized*. Simon and Schuster Ed. New York, USA. 182 p.
- HEIL, M.; McKEY, D. 2003. Protective ant-plant interactions model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 34: 425-553.
- HOECHBERG, M.E.; GOMULKIEWICZ, R.; HOLT, R.D.; THOMPSON, J.N. 2000. Weak sinks could cradle mutualistic symbioses-strong sources should harbour parasitic symbioses. *Journal of Evolutionary Biology* 13: 213-222.
- HOLDRIDGE, L.R.; GRENKE, W.C.; HATHEWAY, W.H.; LIANG, T.; TOSI, J.A. 1971. *Forest Environments in Tropical Life Zones: A Pilot Study*. Pergamon Press. Oxford, England. 735 p.
- HOLLDÖBLER, B.; WILSON, E.O. 1990. *The Ants*. The Belknap Press of Harvard University Press. Cambridge. Massachusetts. 732 p.
- HOYT, E. 1998. Superorganism. p. 66-100. En: Hoyt E. (Ed.). *Earth dwellers: Adventures in the Land of Ants*. Mainstream Publishing Company. Edinburgh, UK. 301 p.
- HUGHES, W.O.H.; GOULSON, D. 2001. Polyethism and the importance of context in the alarm reaction of the grass-cutting ant, *Atta capiguara*. *Behavioral Ecological and Sociobiology* 49: 503-508.
- JANZEN, D. H. 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution* 20: 249-275.
- KRICHER, J. 1997. *A Neotropical companion: An introduction to the animals, plants and ecosystems of the New World Tropics*. Princeton University Press. Princeton. NJ. USA. 451 p.
- LOREAU, M.; NAME, S.; INCHAUSTI, P.; BENGTTSSON, J.; GRIME, J.P.; HECTOR, A.; HOOPER, D.U.; HUSTON, M.A.; RAFFAELLI, D.; SCHMID, B.; TILMAN, D.F.; WARDLE, D.A. 2001. Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science* 294: 804-808.
- McKEY, D. 1984. Interaction of the ant-plant *Leonardoxa africana* (Caesalpinoideae) with its obligate inhabitants in a rainforest in Cameroon. *Biotropica* 16: 81-99.
- NORUSIS, M. 2004. *SPSS 12.0 Guide to data analysis*. Prentice Hall. New Jersey. USA. 647 p.
- PIE, M. R. 2002. Behavioral repertoire, age polyethism and adult transport in *Ectatomma opaciventre* (Formicidae: Ponerinae) *Journal of Insect Behavior*. 15: 25-35.
- SENDOVA, A.B.; FRANKS, N.R. 1999. Self-assembly, self-organization and division of labour. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 354: 1395-1405.
- SOLANO, P.J.; DEJEAN, A. 2004. Ant-fed plants comparison between three geophytic myrmecophytes. *Biological Journal of the Linnean Society* 83: 433-439.
- SOLANO, P.J.; BELIN-DEPOUX, M.; DEJEAN, A. 2005. Formation and structure of food bodies in *Cordia nodosa* (Boraginaceae). *Comptes rendus biologies* 328: 642-647.
- THOMPSON, J. 1982. *Interaction and coevolution*. John Wiley & Sons Editors. NY. USA. 179 p.
- THOMPSON, J. 1999. Coevolution an escalation: are ongoing coevolutionary meandering important?. *The American Naturalist* 153: S92-S93.
- THOMPSON, J.; CUNNINGHAM, B.M. 2002. Geographic structure and dynamics of coevolutionary selection. *Nature* 417: 735-738.
- TRANIELLO, J. F. A. 1978. Caste in a primitive ant: absence of age polyethism in *Amblyopone*. *Science* 202:770-772.
- TRANIELLO, J. F. A.; JAYASURIYA, A. K. 1985. The biology of the primitive ant *Aneuretus simoni* (Emery) (Formicidae: Aneuretinae). II. The social ethogram and division of labor. *Insectes Sociaux*. 32: 375-388.
- WILSON, E.O. 1980. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 7:157-165.
- YU, D. W. 1997. Parasitic castration of the ant – plant *Cordia nodosa* and the consequences for a metapopulation model of species coexistence. Tesis Ph. D. University of Harvard. Boston. USA.
- YU, D. W.; PIERCE, N. E. 1998. A castration parasite of an ant – plant mutualism. *Proceedings of the Royal Society of London* 265: 375-382.
- YU, D. W.; WILSON, H. B. 2001. The competition-colonization trade-off is dead: Long live the competition-colonization trade-off. *The American Naturalist* 158: 49-63.
- ZAR, J. H. 1996. *Bioestatistical analysis*. 3th Ed. Prentice-Hall. Inc. Upper Saddle River, New Jersey. USA. 662 p.

## Dos especies nuevas de abejas (Hymenoptera) de la ciudad de Bogotá (Colombia)

Two new bee species (Hymenoptera) from Bogotá city (Colombia)

VICTOR H. GONZALEZ\*

**Resumen.** Se describen dos especies nuevas de abejas de la ciudad de Bogotá (Colombia) cuya biología es actualmente estudiada, con el fin de hacer disponible los nombres y facilitar la divulgación de esta información. Machos y hembras de las siguientes especies son descritos e ilustrados: *Lasioglossum (Dialictus) urbanus* (Halictidae, Halictini) y *Megachile (Cressoniella) amparo* (Megachilidae, Megachilini).

**Palabras clave:** Apoidea. *Megachile*. *Lasioglossum*. Andes. Colombia.

**Abstract.** Two new bee species are described from the city of Bogotá (Colombia) whose biology is currently under study, in order to make the names available and facilitate the divulgation of this information. Males and females of the following species are described and illustrated: *Lasioglossum (Dialictus) urbanus* (Halictidae, Halictini) and *Megachile (Cressoniella) amparo* (Megachilidae, Megachilini).

**Key words:** Apoidea. *Megachile*. *Lasioglossum*. Andes. Colombia.

### Introducción

Frecuentemente tenemos la tendencia a planear investigaciones de campo en bosques remotos, de difícil acceso y alto riesgo, olvidando casi por completo las especies que conviven con nosotros en las ciudades (especies sinantrópicas). En general se conoce muy poco sobre las comunidades de artrópodos en ambientes urbanos, lo que demuestra la falta de interés que aún se tiene y sobre todo, las oportunidades para investigar en este campo (McIntyre 2000). Información completa y detallada sobre la biología de estas especies sinantrópicas, así como los cambios en las poblaciones debido a la contaminación y desarrollo urbano, podrían estudiarse por varios años y a un costo relativamente bajo en parques, jardines botánicos y predios universitarios. Algunas de estas investigaciones podrían ser fácilmente objeto de estudio de cursos semestrales o trabajos de grado.

Recientemente la Pra. Guiomar Nates y su grupo de investigación del Laboratorio de Abejas de la Universidad Nacional de Colombia en Bogotá han centrado sus esfuerzos al estudio de los hábitos de nidificación y preferencias florales de las especies de abejas en algunas ciudades de Colombia, incluyendo Bogotá.

El propósito de este trabajo es describir dos especies de abejas de la ciudad de Bogotá, con el fin de hacer disponible los nombres y facilitar la divulgación de la información biológica. Sin incluir *Apis*

*mellifera* Linneaus, 1758 y las especies descritas en este trabajo, las siguientes especies son frecuentemente colectadas en Bogotá: *Bombus (Fervidobombus) atratus* Franklin, 1913, *B. (Robustobombus) hortulanus* Friese, 1904 (Apidae, Bombini), *Caenohalictus cuprellus* (Vachal, 1903) (Halictidae, Halictini), *Chilicola (Hylaeosoma) aequatoriensis* Benoist, 1942 (Colletidae, Xeromelissinae), *Protandrena* sp. (Andrenidae, Protandrenini) y *Thygater aethiops* (Smith, 1854) (Apidae, Eucerini). Además, *Eulaema polychroma* (Mocsáry, 1899) (Apidae, Euglossini) y *Xylocopa frontalis* (Oliver, 1789) (Apidae, Xylocopini) son abejas transeúntes que ocasionalmente pueden ser encontradas en Bogotá (Gonzalez y Engel 2004; Gonzalez *et al.* 2005).

### Materiales y Métodos

La terminología para la morfología y el formato de las descripciones siguen a Michener (2000) y Gonzalez (2004). Los dibujos, medidas y observaciones se realizaron en un microscopio estereoscópico Wild modelo M8. Las abreviaciones usadas en las descripciones son: F, S, T, DE, DO y DP para flagelómero antenal, esterno y tergo metasomal, diámetro del escape, diámetro del ocelo medio y diámetro de un punto del tegumento, respectivamente; las tres últimas son usadas como medidas relativas de la longitud de los pelos y puntuación del tegumento. Los especímenes serán depositados en

las siguientes colecciones: [IAvH] Instituto Alexander von Humboldt, Villa de Leyva, Boyacá. [UNCB] Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, A. A. 7495, Bogotá, y [SEMC] Snow Entomological Division, Natural History Museum, University of Kansas, Lawrence, KS, 66045-7523, USA.

### Resultados

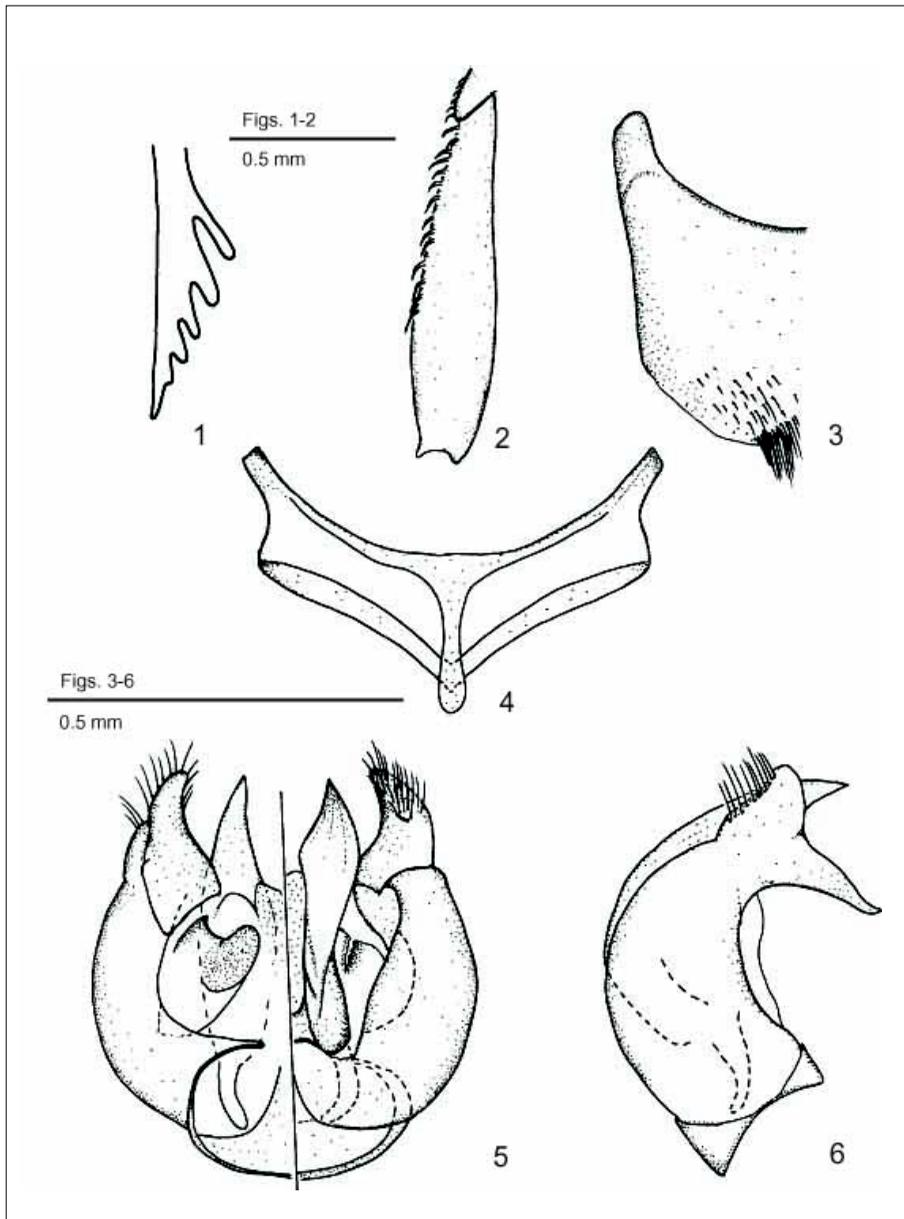
#### Familia Halictidae, Tribu Halictini

*Lasioglossum (Dialictus) urbanus*, especie nueva (Figs. 1–6)

**DIAGNOSIS.** Se distingue fácilmente de otras especies andinas del género por el tamaño corporal reducido (~ 5 mm), cara verde metálica fina y densamente punteada, contrastando con el mesosoma y metasoma predominantemente negros, lisos y brillantes.

**HEMBRA.** Longitud corporal 5 mm, longitud ala anterior 4.5 mm, ancho máximo cabeza 1.5 mm. **Estructura.** Cabeza redonda, casi tan ancha como larga; ojo compuesto 2.8 veces más largo que ancho, ojos en vista frontal ligeramente convergentes abajo; mandíbula con diente preapical pequeño; área malar linear (ausente); clípeo 2.6 veces más ancho que largo; distancia interalveolar ligeramente más grande que el diámetro alveolar, la mitad de la distancia alveolorbital; distancia interocelar 2.3 DO, casi del largo de la distancia ocelorbital; distancia

\* Department of Ecology and Evolutionary Biology, Snow Hall, 1460 Jayhawk Boulevard, University of Kansas, Lawrence, Kansas 66045-7523, USA; E-mail: vhgonga@ku.edu



**Figs. 1–6.** *Lasioglossum (Dialictus) urbanus* sp. nov. HEMBRA: 1 = Espolón externo de la tibia posterior; 2 = Tibia posterior. MACHO: 3 = Esterno seis; 4 = Esteros siete y ocho; 5, 6 = Cápsula genital, vista ventral (izquierda), dorsal (derecha) y lateral.

oceloccipital 1.8 DO. Escapo 5.6 veces más largo que ancho; pedicelo casi del ancho de F1, 1.6 veces más largo que ancho, F1–F3 casi del mismo largo, 1.5, 1.7 y 1.8 veces más anchos que largos, respectivamente; gena estrecha arriba, ancha abajo, ancho máximo 1.3 veces más ancha que ojo compuesto en vista lateral. Tibia posterior con espolón externo como en la Fig. 1. **Puntuación.** Área paraocular inferior, clípeo y área supraclipeal con puntos ampliamente separados (2–3 DP), integumento débilmente imbricado, resto de la cara fina y densamente punteada (puntos contiguos), puntos más separados y débiles en el vértice; gena superior fuertemente imbricada,

puntos pilíferos ampliamente separados (2–3 DP), gena inferior predominantemente lisa y pulida, algunas áreas débilmente lineoladas. Mesoescuto y mesoescutelo predominantemente liso y brillante (tegumento débilmente imbricado en zona basal del mesoescuto), con puntos finos y ampliamente separados (2–3 DP), más densos en márgenes laterales y línea media; metanoto fina y densamente punteada ( $\leq$  DP), tegumento liso entre puntos; triángulo propodeal con estrías en los dos tercios basales, tegumento imbricado entre estrías, tercio apical liso y pulido; mesopleura fuertemente imbricada, puntos separados (2–3 DP) y más fuertes que mesoescuto,

metaepisterno con mitad basal transversalmente estriada; parte posterior del propódeo débilmente imbricada. Tergos metasomales principalmente lisos y pulidos, puntos muy pequeños, ampliamente separados (2–4 DP), más densos en los lados y en T5; T3–T5 débilmente imbricados como los esternos. **Coloración.** Cara predominantemente con visos verde metálicos, opacos, excepto por: área paraocular inferior, clípeo y área supraclipeal negro, zona basal del clípeo y área supraclipeal con visos cobrizos débiles, antenas café oscuro, labro y mitad basal de mandíbula café oscuro a negro, mitad distal café rojizo; gena débilmente azul-verdosa, opaca. Mesosoma y metasoma predominantemente negros, excepto por: mesopleura débilmente azul-verdosa como gena, dos tercios basales del triángulo propodeal y superficie superior del propódeo con tintes cobrizos brillantes, tercio apical negro; patas, tégula (translúcida) y venas alares café oscuro (especialmente vena R), venas del tercio basal del ala anterior más claras y amarillentas que área apical, membrana alar subhialina, con tintes rojizos y verdosos débiles; esternos metasomales predominantemente café oscuros. **Pubescencia.** En general dispersa, ferrugínea clara a pálida; más abundante en clípeo, área paraocular inferior, márgenes del mesoescuto, mesoescutelo, tégula, lados del propódeo (2 DO), lados de T1–T4 y todo T5. Escapo con pelos cortos (= DE) erectos y dispersos; frente con dos tipos de pelos: muy cortos ( $\ll$  DO), erectos, simples y densos, y pelos largos ( $>$  DO), ramificados, dispersos; tibia posterior con pelos gruesos, simples (en forma de espinas), apicalmente curvados, a lo largo de los dos tercios basales del margen posterior (Fig. 2). T1 con base cubierta de pelos muy cortos ( $\ll$  DO), densos y simples.

**MACHO.** Como la hembra excepto por: Longitud corporal 5.1 mm, longitud ala anterior 3.8 mm, ancho máximo cabeza 0.9 mm. **Estructura.** Ojo compuesto 2.3 veces más largo que ancho, convergentes abajo; clípeo 2 veces más ancho que largo; distancia interalveolar 1.6 veces más larga que diámetro alveolar, casi tan larga como la distancia alveolorbital; distancia interocelar 2 DO. Escapo 3 veces más largo que ancho; flagelo alcanzando base del metasoma; pedicelo, F1–F3 similar en diámetro, pedicelo y F1 tan largo como anchos, F2 y F3 1.5 más largos que anchos; gena tan ancha como el ojo en vista lateral. Tibia posterior con espo-

lón externo finamente serrado. Metasoma más delgado, de lados paralelos. Genitalia y esternos asociados como en las Figs. 3–6. *Puntuación*. Clípeo con tegumento liso y brillante entre puntos, vértice rugoso. Mesosoma con puntos más grandes, fuertes y densos que en la hembra (1–2 DP), metanoto con tegumento imbricado entre puntos. *Coloración*. Márgenes del mesoescuto y mesoescutelo (otras áreas negro), todo el metanoto y propódeo verde metálico opaco, con visos cobrizos, especialmente en metanoto. Patas con tarsos amarillentos. Metasoma café oscuro a negro. *Pubescencia*. En general larga y dispersa, excepto en tergos metasomales un poco más densa que la hembra.

**ETIMOLOGÍA.** El nombre de esta especie (*Lat.* “urbanus”) hace referencia a su pertenencia a una ciudad, en este caso Bogotá.

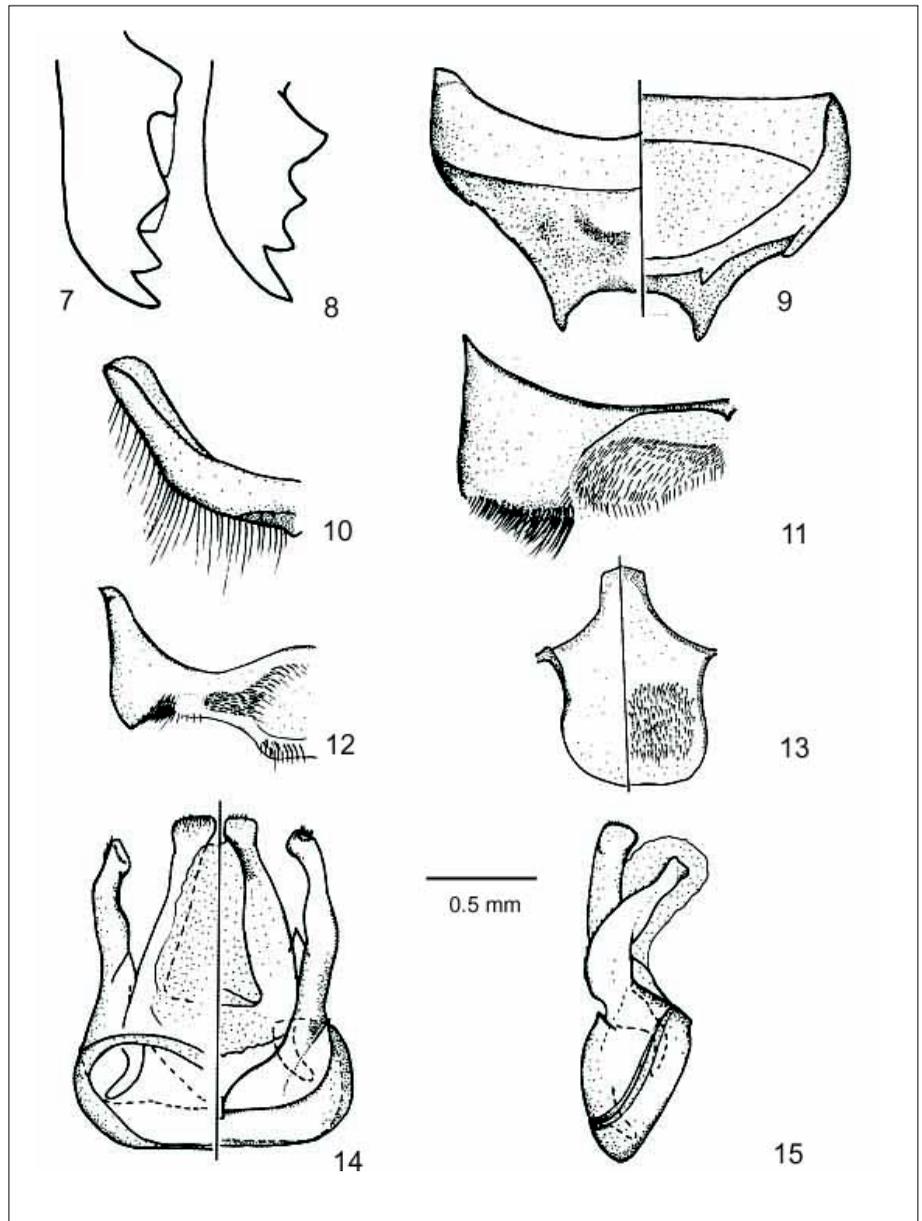
**MATERIAL TIPO.** *Holotipo*. COLOMBIA: *Cundinamarca*: ♀, Bogotá, Universidad Nacional de Colombia. 2600 m, Ago 15 1999, V. H. Gonzalez. *Paratipos*. Un macho con los mismos datos del Holotipo y una hembra de Mosquera, Mondoñedo, 4° 39' 52.9 "N, 74° 17' 2" W., 2720 m, Ene 4 2005, V. H. Gonzalez [UNCB].

**Familia Megachilidae, Tribu Megachilini**

*Megachile (Cressoniella) amparo*, especie nueva (Figs. 7–15)

**DIAGNOSIS.** Hembras y machos de esta especie se distinguen de las otras especies del subgénero *Cressoniella* por la pubescencia principalmente negra, excepto por la cabeza y márgenes del mesoescuto con pelos blanquecinos.

**HEMBRA.** Longitud corporal 13 mm, longitud ala anterior 8.8 mm, ancho máximo cabeza 4.2 mm. *Estructura*. Cabeza 1.4 veces más ancha que larga; ojo compuesto casi 3 veces más largo que ancho, subparalelos; mandíbula con 4 dientes, el más interno ligeramente dividido, borde cortante en espacios entre dientes 2 y 3 (enumerados de abajo a arriba), (Fig. 7); área malar linear (ausente); clípeo 2 veces más ancho que largo, suavemente elevado en perfil; distancia interalveolar 3.2 veces más larga que diámetro alveolar, 1.3 veces más grande que distancia alveolorbital; distancia interocelar 2.2 DO, ligeramente más corta que distancia ocelorbital; distancia oceloccipital 1.3 DO. Escapo 3 veces más largo que ancho; flagelo + pedicelo 0.8 veces el ancho máximo de la cabeza, terminando



**Figs. 7–12.** *Megachile (Cressoniella) amparo* sp. nov. 7 = Mandíbula de la hembra en vista lateral (dientes son enumerados de abajo a arriba; el borde cortante es indicado por la línea mas débil entre dientes). MACHO: 8 = mandíbula (vista lateral); 9 = Tergo seis (vista dorsal y ventral); 10 = Tergo siete (vista dorsal); 11–13 = Esternos cinco, seis y ocho; 14, 15 = Cápsula genital, vista ventral (izquierda), dorsal (derecha) y lateral.

mucho antes del margen posterior del mesoescuto; pedicelo casi del largo de F1, ligeramente más ancho que largo, F1 1.3 veces más largo que ancho, ligeramente más corto que F2 y F3; F2 y F3 ligeramente más ancho que largo. Gena estrecha arriba, ancha abajo, ancho máximo mucho más estrecho que ojo compuesto en vista lateral. Metasoma cordado. Tibia posterior 3.4 veces más larga que ancha; basitarso posterior 2.6 veces más largo que ancho, ancho máximo 0.6 veces el ancho máximo tibial. *Puntuación*. Cara fuertemente punteada, puntos más grandes en clípeo, más dis-

persos (1–2 DP) en el vértice, tegumento imbricado entre puntos. Mesoescuto débilmente imbricado, brillante a bajo aumento, puntos más densos a los lados (DP), al igual que mesoescutelo. Mesepisterno y metaepisterno con puntos (< DP) más grandes y fuertes que mesoescuto. Base del propódeo finamente imbricada. Tergos metasomales con puntos finos, dispersos (1–2 DP), más densos en áreas marginales, T6 fuerte y densamente punteado (<< DP). Esternos finamente imbricados, solo con puntuación pilígera. *Coloración*. Cuerpo completamente negro, excepto por las venas ala-

res café oscuro a negro; membrana alar subhialina, levemente manchada de café, especialmente a lo largo del margen costal de la celda submarginal y área de intersección entre vena R y primera celda submarginal. *Pubescencia*. Cara (excepto área abajo del ocelo medio) densamente cubierta (tegumento escasamente visible) con pelos blanquecinos largos ( $\geq 2$  DO), ramificados, área superior de la cara como en gena, mezclado con pelos negros y largos; vértice con pelos negros, largos ( $\geq 4$  DO), mezclados con pelos cortos ( $\leq$  DO), pálidos, semi-erectos. Escapo con superficie anterior cubierta de pelos predominantemente blanquecinos ( $\leq$  DE), finamente ramificados a simples, mezclados con algunos pelos negros; superficie anterolateral con pelos ramificados, blanquecinos (como en resto de cara), largos (2–3 DE). Mesosoma y Metasoma principalmente cubiertos con pelos largos (5–6 DO), negros y densos (tegumento visible), excepto por las siguientes áreas predominantemente con pelos blanquecinos: márgenes del mesoescuto (centro con pilosidad mucho más dispersa que en otras áreas) y mesoescutelo, mitad basal de tégula, área subalar, lóbulo pronotal y superficie posterior del fémur anterior; superficie interna de patas café rojizo oscuro. Tergos sin bandas apicales de pelos. T1 con cavidad basal cubierta de pelos pálidos, cortos (0.5 DO), simples y dispersos; lados de T1–T3 con pelos largos (5 DO), ramificados (más largos en T1); otras áreas de tergos T1–T6 principalmente con pelos más gruesos, rígidos, semi-erectos, pobremente ramificados (simples a bajos aumentos), más cortos (1.5–2 DO) y dispersos (tegumento visible); T6 densamente cubierto con pelos decumbentes, cortos ( $\ll$  DO), bien ramificados.

**MACHO.** Como la descripción para la hembra excepto por: Longitud corporal 10–11 mm, longitud ala anterior 7.3 mm, ancho máximo cabeza 3.7–4.2 mm. *Estructura*. Ojo compuesto casi 2.2 veces más largo que ancho, convergentes abajo; mandíbula con 4 dientes, sin proceso basal inferior (Fig. 8); clípeo casi dos veces más ancho que largo, medialmente más protuberante que la hembra; distancia interalveolar 3.5 veces más larga que

diámetro alveolar, 1.9 veces más grande que distancia alveolorbital; distancia interocelar 1.6 DO, 0.8 veces la distancia ocelorbital; distancia oceloccipital 1.2 DO. Escapo 2.6 veces más largo que ancho; flagelo + pedicelo casi tan largo como ancho máximo de la cabeza; pedicelo tan ancho como largo, casi del ancho de F1 y F2, más estrecho que F3 y corto que F1–F3 individualmente, F1 ligeramente más largo que ancho, F2 y F3 1.7 veces más largos que anchos. Gena ligeramente más estrecha que ojo compuesto. Mesoescuto convexo en vista lateral; patas no modificadas; coxa anterior sin espina; tibia posterior 3.5 veces más larga que ancha; basitarso posterior 3.6 veces más largo que ancho, ancho máximo cerca de la mitad del ancho máximo tibial. Metasoma subparalelo. T6, T7, genitalia y esternos asociados como en Figs. 9–15. *Puntuación*. Cabeza con puntos más pequeños y más finamente punteada que hembra. T5 y T6 fuerte y densamente punteado ( $\ll$  DP), T4 y T5 con margen apical lamelado, lamela estrecha ( $\sim 0.5$  DO) y sin puntos. S2–S4 con lamela apical estrecha, imbricada y translúcida. *Coloración*. Mandíbula con dientes débilmente café rojizo oscuro. *Pubescencia*. En general más larga y dispersa que en la hembra. Coxa y trocánter anterior, S1–S4 con pelos (2–3 DO); superficie externa de tibias y tarsos con pilosidad pálida.

**ETIMOLOGÍA.** Esta especie es dedicada a mi mamá, Amparo Betancourt Rivera, por además de tenerme paciencia, darme todo su amor, confianza y apoyo a largo de estos años.

**MATERIAL TIPO.** *Holotipo*. COLOMBIA: Boyacá: ♀, Santuario de Fauna y Flora de Iguaque, Cabaña Chaina. 2600 m, Oct 2000, V. H. Gonzalez [UNCB]. *Paratipos*. 3 ♂, *idem*, Cabaña Carrizal, Sept 2000; 2 ♂, *Cundinamarca*: Mosquera, Mondoñedo, 4° 39' 52.9" N, 74° 17' 2" W. 2720 m, 20 Dic 2004, W. Hoffmann [IAvH, UNCB, SEMC].

**MATERIAL EXAMINADO.** *Cundinamarca*: 2 ♀, Bogotá, Batam, 22 Nov 1982, J. M. Idrobo; 3 ♀ de la misma localidad pero colectadas en las siguientes fechas y personas: 6 Jul 1970, Hilda García; 18 Jul 1976, Myriam R. León [UNCB].

**COMENTARIOS.** Esta es la única especie *Megachile* conocida hasta el momento a alturas superiores a 2500 m en los Andes colombianos. Otras especies del subgénero *Cressoniella*, también de grandes alturas, han sido descritas de Ecuador y Perú. Estas especies tienen una coloración más blanquecina en el tórax y los pelos de las escopas del abdomen son de color amarillo. Algunas especies tienen pelos en forma de gancho en el clípeo como otras especies de abejas especialistas en polen de *Salvia* (Lamiaceae).

### Agradecimientos

Este trabajo está dedicado a todos los profesores de Colombia. A mis amigos y colegas A. Riveros, J. Hernández, B. Mantilla y N. Rueda-García por sus valiosos comentarios al manuscrito, finalmente a C. Sarmiento y dos evaluadores anónimos por las sugerencias a esta nota. A Beatriz Coelho por los comentarios sobre *Caenohalictus cuprellus* y D. Vélez por verificar la identidad del material de *M. amparo* depositado en el UNCB. Esta es una contribución del Programa de Entomología, Universidad de Kansas, USA.

### Literatura citada

- GONZALEZ, V. H. 2004. A new species of *Acamptopoeum* from Colombia (Hymenoptera: Andrenidae: Panurginae). *Caldasia* 26(1): 239–243.
- GONZALEZ, V. H.; ENGEL M. S. 2004. The Tropical Andean bee fauna (Insecta: Hymenoptera: Apoidea), with examples from Colombia. *Entomologische Abhandlungen* 62(1): 65–75.
- GONZALEZ, V. H.; OSPINA, M.; BENNETT D. 2005. Abejas altoandinas de Colombia: Guía de campo. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, D.C., Colombia. 80 p.
- MCINTYRE, N. E. 2000. Ecology of Urban Arthropods: A review and a call to action. *Annals of the Entomological Society of America* 93(4): 825–835.
- MICHENER, C. D. 2000. *The Bees of the World*. Johns Hopkins University Press; Baltimore, MD; xiv+[1]+913 pp.

## A new species of *Carebara* Westwood (Hymenoptera: Formicidae) and taxonomic notes on the genus

Una nueva especie de *Carebara* Westwood (Hymenoptera: Formicidae) y notas taxonómicas sobre el género

FERNANDO FERNÁNDEZ<sup>1</sup>

**Abstract.** A new ant species, *Carebara coqueta* sp.nov. from Colombia, is described, based on the soldier and worker castes. *Carebara semistriata* Fernández is considered a junior synonym of *Carebara reina* Fernández (syn. n.). *Carebara guineana* is proposed as a new name for *Oligomyrmex silvestrii* Santschi, 1914.

**Key words:** *Carebara coqueta*, new species, Neotropics, taxonomic notes

**Resumen.** Se describe una nueva especie de hormiga, *Carebara coqueta* n. sp. de Colombia, basada en soldado y obrera. *Carebara semistriata* Fernández se coloca como sinónimo menor de *Carebara reina* Fernández (n. sin.). *Carebara guineana* se propone como nuevo nombre para *Oligomyrmex silvestrii* Santschi, 1914.

**Palabras clave:** *Carebara*, nueva especie, Neotrópico, notas taxonómicas.

### Introduction

The recent revision of the myrmicine ant genus *Carebara* Westwood for the Western Hemisphere (Fernández 2004) broadened the generic limits of this name with the incorporation of *Oligomyrmex*, *Paedalgus*, *Afroxyidris* and *Neoblepharidatta*, as synonyms of *Carebara*. The genus in its new sense was split in three sections, the *concinna*, *lignata* and *escherischi* species groups. The first one, the *concinna* species group, corresponds to the concept of *Oligomyrmex*; the second, the *lignata* species group to the traditional *Carebara* s. str., and the *escherischi* species group to *Paedalgus*. The first two groups are probably paraphyletic taxa, with only the *escherischi* species group apparently monophyletic (Bolton and Belshaw 1993). This paper includes the description of a new species along with some other taxonomic changes and comments.

### Materials and Methods

Measurements were made using a micrometer in a Nikon SMZ 2T stereomicroscope at 80X magnifications, with a fiber ring lamp. All measurements are in mm: HL - Head length: Maximum length, in full face view, from the apex of the clypeal apron to the middle of vertex; HW - Head width: Maximum width in full face view; SL - Scape length (excluding basal condyle and neck), in straight line distance; PW - Pronotal width: Maximum width across pronotum in dorsal view; WL - Weber's length: In lateral view of mesosoma, the line from

posteroventral corner of mesosoma to farthest point on anterior face of pronotum; GL - Gaster length: In lateral view, the line from anterior edge of first gastral tergum to posteriormost point; TL - Total length (HL + Mandible length + WL + Petiole length + Postpetiole length + GL); CI - Cephalic index: HW/HL; SI - Scape index: SL/HW.

### Collections

IaVH. Insect Collection, Instituto Humboldt, Claustro de San Agustín, Villa de Leyva, Colombia.

INBio. Instituto Nacional de Biodiversidad, San José, Costa Rica.

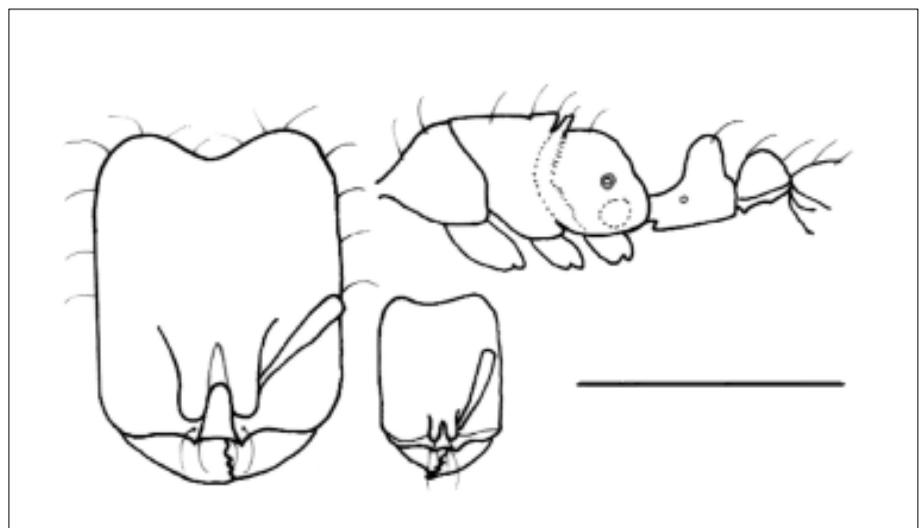
### Taxonomic section

#### *Carebara lignata* species complex

This complex comprises those dimorphic and monomorphic *Carebara* whose minor workers are always eyeless. In the *Carebara* revision (Fernández 2004) the name of the group was incorrectly written as "*Carebara concinna* species complex" in the heading of the section of this group in the page 211, the name must be changed to *Carebara lignata* species complex.

#### *Carebara coqueta* new species (Fig. 1)

Description (major worker). Head longer than broad, posterior border semicircularly



**Figure 1.** *Carebara coqueta* new species. Major worker head (left, HW 0.48 mm), mesosoma, petiole and postpetiole in lateral view (top); head of minor worker in full face view (lower right, HW 0.26 mm). Scale bar 0.5mm

<sup>1</sup> Profesor Asociado, Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Apartado 7495, Bogotá D.C., Colombia, ffernandezca@unal.edu.co

excised, sides straight, parallel. Masticatory border with five stout teeth. Clypeus narrow, medial portion slightly concave. Frontal triangle well-defined. Frontal lobes somewhat continued posteriorly as short longitudinal rugulae. Scapes very short. Ocelli and eyes absent. In lateral view mesosoma flat, mesonotum slightly higher, propodeum lower. Pronotal suture feebly impressed dorsally. Metanotum narrow. Dorsal face of propodeum sloping and then curving into the posterior face, without spines or angles. Propodeal spiracle relatively large, rounded, close to metapleural gland bullae. Petiole with short peduncle, lateral swellings and ventrally with strong spine. Postpetiole in posterior view campanuliform, ventrally with anterior carinae. Body smooth, somewhat shining. Head, promesonotum, sides of pronotum and mesopleura with longitudinal rugae. Metapleuron, propodeum, petiole and postpetiole (except dorsal sides) with fine reticulation. Pubescence very sparse over body except propodeum. Long hairs (about 0.13 mm) dense on head; several on promesonotum, petiole, postpetiole and gaster. Body brown.

Holotype major worker measurements: HW 0.48 HL 0.64 SL 0.25 PW 0.25 WL 0.53 GL 0.49 TL 2.03 CI 75 SI 52.

**Description (minor worker).** Head longer than wide. Posterior border slightly concave, lateral margins faintly concave. Mandibles with 4 teeth. Median portion of clypeus nearly flat. In frontal oblique view, clypeal lateral carinae strongly narrowed posteriorly and between frontal lobes, then continued as frontal triangle. Scapes fail to reach posterior border by 1/2 of head length. In side view, mesosoma slightly convex, interrupted by deep metanotal groove. Dorsal face of propodeum curving into posterior face. Propodeal spiracle relatively large, circular, high and very close to propodeal margin. Propodeal metapleural lobes reduced to narrow lamellae that reach the propodeal dorsum. Petiole with short peduncle, evenly continuous with the dorsal rounded node. Subpetiolar process produced as anterior spine directed forward, spine normally not visible in mounted specimens. Postpetiole dorsally concave, lower than petiole. In dorsal view petiole longer than wide, postpetiole globose, more or less as long as wide. Anterior margin of first tergum in side view straight. Body smooth and shining. Mandibles with several scattered punctures, head with scattered punctures (except in the central longitudinal area), each punctum

with a small hair. Anterior sides of head with very fine longitudinal striation. Sides of mesosoma (except pronotum), petiole, postpetiole and dorsum of petiolar peduncle with a faint to moderate reticulation. Short curved hairs (less than 0.03 mm) relatively abundant over body, especially dorsum. Medium length hairs (about 0.04 mm or longer): Four on clypeus projecting forward, four on promesonotum (two anteriorly, two posteriorly), two on petiole, four on postpetiole. Body yellow brown.

Minor worker measurements (n=1) Paratype. HW 0.26 HL 0.31 SL 0.18 PW 0.15 WL 0.29 GL 0.35 TL 1.04 CI 84 SI 69.

**Female, Male:** Unknown.

**Type data.** Holotype major worker: Colombia: Caquetá, Chiribiquete National Park, Mesay River, "Blue Green" Forest, site 5, 00°14'N 72°56'W, 8.ii.2000, Winkler 64 in Terra Firme forest, 300 m.o.s.l., F. Quevedo (Deposited in IAVH). Paratypes: 1 major worker, 2 minor workers, same data (Deposited in IAVH).

**Distribution.** Known only from the type locality.

**Comments.** The major worker of this species is smaller than that of *C. tenua* or *C. coeca*, and on the basis of size is more closely related to *C. panamensis*. Nevertheless, *C. panamensis* is even smaller (according to Wheeler 1925) with total length of 1.30 mm (vs. 2.03 mm in *C. coqueta*). The sculpturing differs between the two species, and is more extensive in *C. coqueta*. The *panamensis* major worker/ergatoid has eyes and a median ocellus, although this might be associated in some way with its ergatoid condition. The minor workers of the two species are undistinguishable, at least based on Wheeler's (1925) description. As I pointed out in a recent paper (Fernández 2004:212), there are several undescribed species in this complex whose limits and variation are not well understood, additionally, the minor workers are practically useless for species identification. Thus, I think that is better to postpone a key to species until more material (with soldiers and minor workers associated) are studied.

Longino (2004) calls attention to the paucity of samples of *Carebara (lignata)* group) with both workers and soldiers. In other myrmicine ants like *Pheidole* or *Solenopsis* it is not difficult to find workers and soldiers in the field, which suggests that soldiers of *Carebara* are not

present in the same foraging strata as workers. This suggests that, to obtain soldiers of *Carebara*, we need to dig in the soil or look for them in rotten logs (Longino 2004). The fact that many museums only have minor workers of the typical *Carebara* (that is, the *lignata* species group) could be due to the reason pointed out above, and in reality all of the species of this complex may be dimorphic. The exasperating monotony of the minor workers of the *lignata* species group (some of them only 0.90 mm long!) makes it desirable to obtain and to study collections that include soldiers, besides females and males. If my prediction is correct, and all the species of the *lignata* group possess major workers (although difficult to collect), it should be possible to revise the group on a global scale.

Finally, I want to call attention to the interesting intercaste phenomenon in this group. Kusnezov (1952) and Wheeler (1925) pointed out and described cases of intermediates between major workers (soldiers) and females. The great plasticity in the external attributes of the soldiers of the *lignata* species group (such as the presence / absence of ocelli and eyes, and vestigial alary sclerites) make this an ideal group for the study of the evolution of caste intergradations; as proposed by Baroni Urbani and Passera (1996), who suggest that in some cases the soldier developed not from the worker, but from the female (see Ward 1997 for a reply).

#### ***Escherischi* species complex**

The species in this complex (except by the enigmatic *C. intermedia* Fernández) correspond to the previously recognized genus *Paedalgus sensu* Bolton & Belsaw (1993). The head is slightly narrower anteriorly, the eyes, always present, are reduced to a few ommatidia and the propodeum is very short. In the treatment of the species of this complex (Fernández 2004) there is an error in the description of *Carebara reina*; moreover, new recent evidence throw suspicion on the validity of *Carebara semistriata* as good species. For these reasons, it is included the complete description of *C. reina*, below.

#### ***Carebara reina* Fernández**

*Carebara reina* Fernández, 2004:228 (worker)

= *Carebara semistriata* Fernández, 2004:229 (worker) **syn. nov.**

Eyes reduced to 1 ommatidium. Lamellae of metapleural lobes low. Dorsum of head densely sculptured with very small,

shallow foveolate punctures, broadly separated; mid dorsum to almost all of promesonotum with dense, fine longitudinal striations mixed with scattered small punctures, periphery of promesonotum, dorsal and posterior face of propodeum and petiole densely reticulated. Postpetiole and gaster smooth and shining. Scapes, dorsum of head, promesonotum and legs with appressed pubescence, denser on head. Body nearly naked of long hairs, with only few (about 0.05 mm) distributed as follows: four on clypeal area; two on each frontal lobe; two on head (each one near occipital corner), eight on promesonotum, two on propodeum, none on legs; two on petiole, four on postpetiole, several on first tergal dorsum. Body brown, appendages lighter, most of gaster dark brown.

*Female, male:* Unknown

**Distribution.** Nicaragua to Colombia (Bolívar, Valle del Cauca).

*New records:* 2 workers, COSTA RICA, Cartago, 4 km E Turrialba, 9°54'N 83°39'W, 550 m, 13 may 1987, J. Longino No. 1644-S, INBio CRI00 2280244; 1 worker, COSTA RICA, Limón, Hitoy-Cerere Biological Reserve, 9°40'N 83°02'W, 500 m, 30 aug 1985, J. Longino No. 970-S, INBio CRI00 2279068.

**Comments.** John Longino (2004) correctly notes an incongruence in part of the description of *Carebara reina*, and observes that the extension of the longitudinal striation on the promesonotal dorsum of *C. reina* and *C. semistriata* is a variable attribute, and I support his opinion, based on new material. The type material of *C. reina* has a distribution of erect hairs clearly as in the description above. Since in this group of species the hair patterns are the most reliable trait to recognize species. I accept the weakness of the striation extension as a good trait and I place *C. semistriata* as junior synonym of *C. reina*.

The key for the species in this complex (Fernández 2004) should be modified as follow:

9. Mid and hind tibiae without standing hairs ..... 10
- 9'. Mid and hind tibiae with standing hairs (Southwestern Colombia) ..... *C. kofana*
10. Standing hairs: none on dorsum of head, four in promesonotum, none on propodeum, two on first tergum of gaster (Colombia, Trinidad, Perú, Brazil) ..... *C. striata*
- 10'. Standing hairs: two in head dorsum, eight in promesonotum, two in propodeum, several in first tergum of gaster (Nicaragua, Costa Rica, Colombia) ..... *C. reina*

#### *Carebara inca* Fernández

Originally described from workers from Perú, Longino (2004) records this species for first time for Central America.

*New record:* 1 w, COSTA RICA, Puntarenas, Osa, Rancho Quemado, 8°42'N 83°33'W, 2-300m, 15 dec 1990, J. Longino No. 2760-S, INBio CRI001, 280880.

#### Final note

Gary Alpert (Museum of Comparative Zoology, Cambridge) and Barry Bolton (The Natural History Museum, London) alerted me to a unresolved junior secondary homonym between *Carebara silvestrii* Santschi and *Aneleus silvestrii* Santschi. The name *Carebara guineana* is proposed as new name for *Carebara silvestrii* Santschi 1914:362.

#### Acknowledgements

Special thanks are due to Dr. John T. Longino (INBio) and Mauricio Alvarez (IAvH) for the loan of critical material. Partial support came from NSF grant DEBS Nos. 9972024 and 0205982 to Dr. Michael Sharkey (University of Kentu-

cky) and Dr. Brian Brown (LACM) by way of the Instituto Humboldt, Colombia. Thanks to Fernando Gast (General Director), Mauricio Alvarez (Biodiversity Inventories Program) and GEMA team of the Humboldt Institute for their continuous support and the Parks Unit of the Ministerio del Medio Ambiente de Colombia for collecting and maintaining facilities in Colombia. William P. MacKay (University of Texas at El Paso) offered several corrections and suggestions and improve the English of the text. Thanks also to three anonymous reviewers for their comments. This paper is dedicated to the memory of my friend Favio Quevedo, collector of the samples from Chiribiquete, who recently past away in an accident in Caquetá.

#### Literature cited

- BARONI URBANI, C. PASSERA, L. 1996. Origin of ant soldiers. *Nature* 383: 223.
- BOLTON, B., BELSHAW, R.. 1993. Taxonomy and biology of the supposedly lestobiotic ant genus *Paedalgus* (Hym.: Formicidae). *Systematic Entomology* 18:181-189.
- FERNÁNDEZ, F. 2004. The American species of the myrmicine ant genus *Carebara* Westwood (Hymenoptera: Formicidae). *Caldasia* 26(1): 191-238.
- KUSNEZOV, N. 1952. El género *Oligomyrmex* Mayr en la Argentina (Hymenoptera, Formicidae). *Acta Zoológica Lilloana* 10: 183-187.
- LONGINO, J.T. 2004. Ants of Costa Rica Web Page: <http://www.evergreen.edu/ants/genera/carebara> (visited 12.XII.2005)
- SANTSCHI, F. 1914. Formicides de l'Afrique occidentale et australe du voyage de Mr. le Professeur F. Silvestre. *Bolletino del Laboratorio di Zoologia generale e agraria della R. Scuola superiore d'Agricoltura in Portici* 8:309-385.
- WARD, P.S. 1997. Ant soldiers are not modified queens. *Nature* 385:494-495.
- WHEELER, W. M. 1925. A new guest-ant and other new Formicidae from Barro Colorado Island, Panama. *Biological Bulletin* 49: 150-181.

Recibido: 03-ene-06 • Aceptado: 31-ene-06

## Reseñas de libros

***Introducción a las hormigas de la región neotropical*** [*Introduction to the ants of the neotropical region*]. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. Fernandez, F (ed.) 2003. XXVI+ 398 pp. US \$ 20 (Paperback). ISBN 958-8151-23-6. Available at: [mprudas@humboldt.org.co](mailto:mprudas@humboldt.org.co)

Fernando Fernandez, the editor, has made a marvelous effort to produce this high quality, inexpensive, comprehensive and well illustrated Spanish book that provides an overview of the neotropical ants from a world-wide perspective. The book is divided into 28 chapters, which are organized in six sections. There are more than 400 line drawing figures; some of them in chapter 15, however, are poor in quality. Widely known ant specialists, including E. O. Wilson, B. Bolton, and P.S. Ward, wrote some of the chapters. The first two sections treat the biology and current proposals on systematics, and biogeography of ants. Section three offers sampling protocols for use in field and data analy-

sis for ecological and habitat monitoring studies. Likewise, this section reviews the practical procedures to start and manage an ant collection. Two chapters are dedicated to the economic importance of ants as plague or pests in rural and urban ecosystems. The remaining sections provide a synopsis of Neotropical genera, including their diagnoses, distributions, biology and taxonomic revisions, as well as an updated checklist of all extant and fossil genera of the world, including the known Neotropical species and subspecies. However, Bolton's (2003) recent synopsis should be consulted to update some changes for the subfamilies and genera. Finally, the two annexes provide an explanation of the protocol ALL to sample ground-dwelling ants and a useful list of entomological museums with major collections of ants in the Americas, and type depository collections of ants in the world. In addition, widely used abbreviations of the museums in the scientific literature as well as contact e-mails and website addresses are include in the list.

The book is not designed as a field guide. In fact, its large size (about 21 cm x 28 cm) could make it difficult to use in the field. Nonetheless, this book will soon become an obligate textbook for young scientists and graduate students, not only for those whose interests are primarily Neotropical ants but also for any tropical biologist. The low price, high quality of the information and presentation, and its worldwide perspective, also makes this book of broad interest for everyone.

### Literature Cited

- BOLTON, B. 2003. Synopsis and classification of Formicidae. *Memoirs of the American Entomological Institute* 71:1-370
- HÖLLDOBLER, B. and E. O. WILSON. 1990. *The Ants*. Harvard University Press, Cambridge, MA. 732 p.
- Victor H. Gonzalez  
*Natural History Museum and Entomology Program, Department of Ecology and Evolutionary Biology, Snow Hall, 1460 Jayhawk Blvd. University of Kansas Lawrence, Kansas 66045-7523*

### FE DE ERRATAS

Por un imperdonable error en la revista 31 (2) se omitió el cuarto autor en el trabajo "Modificación de un método de extracción de ADN genómico de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)" Los autores son entonces: Yaxsier de Armas R., María M. Rodríguez C., Juan A. Bisset L., y Jorge Fraga N.

## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES (ver más información en página electrónica [www.socolen.org.co](http://www.socolen.org.co))

La Revista Colombiana de Entomología es el órgano oficial de divulgación científica de la Sociedad Colombiana de Entomología –SOCOLEN– y publica de artículos científicos, inéditos, basados en resultados de investigaciones en el campo de la entomología o afines. Según disponibilidad de espacio, la revista publica descripción de métodos, descripción de una especie, notas taxonómicas, notas cortas y reseñas de libros. La revista publica un trabajo de revisión por número. La aceptación de los trabajos para su publicación dependerá de la evaluación de pares académicos nacionales e internacionales. No hay costo a los autores por publicación en la Revista. Por cada artículo publicado se entregará al autor en forma gratuita una copia en pdf.

Los artículos se pueden enviar en papel (original y dos copias), a: Revista Colombiana de Entomología, A. A. 11366 Bogotá, Colombia. También se reciben trabajos en versión electrónica a la dirección [publicaciones@socolen.org.co](mailto:publicaciones@socolen.org.co) bajo el título “artículo para Revista”. El envío electrónico del trabajo agiliza sensiblemente su evaluación por lo que se sugiere fuertemente. Envíe su trabajo en documento Word o pdf con opción para inserción de comentarios. Indique el tipo de documento para tablas y figuras. El autor puede sugerir hasta tres potenciales evaluadores. Todo trabajo recibirá un código que el autor deberá usar para correspondencia con la Revista.

Los manuscritos se deben acoger a las normas indicadas en las instrucciones. Una versión detallada de estas se encuentra en la página electrónica de la Sociedad [www.socolen.org.co](http://www.socolen.org.co). Se invita a revisar este documento. Se recomienda además revisar un número reciente de la revista para identificar su estilo. Trabajos que no sigan estas normas, serán devueltos independientemente de su calidad académica.

El manuscrito se debe escribir en hoja tamaño carta, con márgenes de 2.5cm en todos los lados, páginas numeradas en la parte superior derecha y escrito a espacio y medio en letra tipo “Times New Roman” 11 puntos. Justificación a la izquierda. El trabajo puede tener una extensión máxima de 25 páginas, incluidas figuras, tablas y bibliografía. El lenguaje debe ser corto y preciso, use voz pasiva. Las tablas y figuras deben ir en páginas separadas al final del documento, deben ser de alta calidad y aportar información valiosa para el artículo; omite tablas o figuras si esta información puede aparecer fluidamente en el texto.

En caso de que un trabajo remitido en papel haya sido aceptado para su publicación, se solicitará el correspondiente disquete con la versión final. El trabajo debe ir en formato Word; para las tablas y figuras emplee programas de amplio uso pues esto agiliza la edición. En el disquete se deben indicar los programas de computador empleados.

### Estructura del artículo

La sección “Capítulos” no se aplica a los trabajos de revisión ni las notas científicas. Antes de enviar trabajos de revisión consulte al editor ([publicaciones@socolen.org.co](mailto:publicaciones@socolen.org.co)).

**Título:** No debe exceder 15 palabras. Deben incluirse una traducción fiel al inglés y un título breve para los encabezados de página. Debe señalar el orden y la familia de las especies entomológicas y de los grupos supragenéricos mayores estudiados.

**Autores:** Deben escribir los nombres completos. En pie de página indicar: título académico mayor, institución a la cual pertenece, dirección postal y dirección electrónica.

**Resumen:** Debe ser conciso con información sobre: justificación, objetivos, metodología y resultados completos de la investigación. Además, debe indicar los límites, validez e implicaciones de los resultados. No debe exceder las 250 palabras en un solo párrafo y no incluir citas bibliográficas, figuras, ni tablas.

**Summary:** Debe ser una traducción fiel al inglés del resumen respetando la gramática de cada lenguaje. Antes de enviar el trabajo a la Revista, solicitar la revisión de esta sección a una persona cuya lengua nativa sea el inglés.

**Palabras clave:** Se deben listar hasta cinco palabras separadas por punto, diferentes de las incluidas en el título, que indiquen temas críticos tratados en el trabajo. Al final del summary se deben incluir las “key words” que son traducción al inglés de las palabras clave.

**Capítulos:** Un artículo debe constar de los siguientes capítulos: Introducción; Materiales y Métodos; Resultados y Discusión (la Discusión puede ir como capítulo aparte); Conclusiones; Agradecimientos y Literatura citada. Si es necesario se pueden incluir subtítulos dentro de los capítulos principales. Use el sistema métrico decimal.

**Tablas:** Deben estar citadas en el texto. Disponer en páginas separadas. El título debe ir en la parte superior de la tabla y como nota de pie de página deben ir las claves explicativas.

**Figuras:** Deben estar citadas en el texto. Fotografías, dibujos, gráficos y mapas deben presentarse en páginas separadas con su correspondiente leyenda en la parte inferior. Deben ser de alta definición. Figuras impresas deben venir muy bien elaboradas en tinta china y en papel pergamino. Las fotografías se aceptarán en blanco y negro y en papel brillante. Envíe los documentos impresos sólo cuando se acepte su trabajo. Si las figuras van en formato digital, envíelas como documentos TIFF o JPEG (presentes en la mayoría de programas editores gráficos). Prefiera enviar sus figuras con los siguientes anchos (58mm, 120mm, ó 183mm). Cuando tenga varias fotos o dibujos prefiera disponerlos en mosaico y numérelas con ordinales (1a, 1b, etc.). Ilustraciones no originales deben venir acompañadas de su crédito respectivo. Se publicarán figuras a color si los autores cubren el costo adicional.

**Cita de especies:** Nombres científicos de género y especie van en cursiva y siguiendo las nor-

mas de los códigos internacionales de nomenclatura. La primera vez que cite una especie, adicione el descriptor y el año (p. ej.: *Apis mellifera* L., 1752)

**Citas bibliográficas:** Revise un número reciente o las instrucciones en la página web de la Sociedad para ver estilo ([www.socolen.org](http://www.socolen.org)), aquí se presentan ejemplos para distintas situaciones:

Bustillo (1998), (Gutiérrez 1999), (Bustillo y Rodríguez 1999), (Ramírez *et al.* 1999), (Bueno 1998, 1999), (Portilla 1998a, 1998b), (Ramírez 1999; Rodríguez 1998; Gutiérrez 1987) para citación múltiple en orden descendente, (Parra, en prensa), (P. Reyes, com. pers.).

**Literatura citada:** Revise un número reciente o las instrucciones en la página web de la Sociedad para ver estilo ([www.socolen.org](http://www.socolen.org)), aquí se presentan ejemplos para distintas situaciones:

POSADA F., F. J. 1992. Ciclo de vida, consumo foliar y daño en fruto de melón por *Diaphania hyalinata* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). Revista Colombiana de Entomología 18 (1): 26-31.

VALLEJO, L. F.; ORDUZ, S. 1996. Producción de un plaguicida a base de *Bacillus thuringiensis*, en laboratorio. Revista Colombiana de Entomología 22 (1): 61-67.

PENNAK, R. W. 1978. Fresh-water invertebrates of the United States. John Wiley, New York. 767p.

SAMUELSON, A.; EVENHUIS, N.; NISHIDA, G. 2001. Insect and spider collections of the world web site. <http://www.bishopmuseum.org/bishop/ento/codens-r-us.html>

Fecha última revisión: 27 marzo 2001. Fecha último acceso: [14 abril 2001]

ADPOSTAL